

УДК 547.814.5:547.787.1

DOI: [https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1\(58\).12](https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1(58).12)

Олег ШАБЛИКІН, канд. хім. наук, ст. наук. співроб.

ORCID ID: 0000-0001-6810-9860

e-mail: shablykin@gmail.com

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України, Київ, Україна

Ольга ШАБЛИКІНА, канд. хім. наук, доц.

ORCID ID: 0000-0002-5362-0831

e-mail: shablykina@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПОХІДНІ 3-(5-АМІНО-4-ЦІАНООКСАЗОЛ-2-ІЛ)КУМАРИНІВ: СИНТЕЗ І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Вступ. Практичне використання похідних 3-гетарилкумаринів обумовлене їхніми цінними спектральними й біологічними характеристиками, що визначаються характером замісників у базовій структурі. Раніше на основі 2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилу (ADAN) нами було розроблено метод синтезу нових похідних оксазолу, зокрема етеру (5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)оцтової кислоти, і показано можливість його циклізації у кумариновий цикл. Метою цього дослідження був синтез нових 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів, а також визначення їхньої можливості інгібувати ріст ракових клітин.

Об'єктами дослідження є гетероциклізація як метод одержання 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів, а також спектральні та біологічні характеристики синтезованих речовин.

Методи. Органічний синтез нових похідних (5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)оцтової кислоти та 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумарину; доведення будови й характеристика синтезованих речовин за допомогою спектроскопії ЯМР на ядрах ^1H , ^{13}C і хроматомаспектрометрії; одноступеневі випробування протиракової активності окремих похідних на 60 ліній ракових клітин.

Результати. На основі ADAN синтезовано ряд нових похідних 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумарину в різні способи: 1) утворення дією аміну на ADAN похідної (5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)оцтової кислоти та її подальша циклізація із саліциловим альдегідом у кумарин; 2) ацилювання аміногрупи ADAN хлороангідридом кумарин-3-карбонової кислоти й подальше утворення у положенні 3 кумарину оксазолного замісника дією аміну. Установлено, що середні показники протиракової активності 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів загалом дуже низькі та здатні дещо уповільнювати ріст лише окремих ліній.

Висновки. Показано, що для синтезу похідних 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів, зокрема сполук з активними функціональними групами (гідроксильна, етерна), однаково успішно можуть бути застосовані дві альтернативні послідовності сполучення реагентів, а завдяки зручності методик можна легко досягти великого різноманіття таких похідних. Низька протиракова активність окремих представників синтезованих похідних цілком узгоджується із припущенням більшості 3-гетарилкумаринів низькою токсичністю.

Ключові слова: 2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрил, (2-іміно)кумарин, 5-аміно-4-ціанооксазол, гетероциклізація, вплив на ріст ракових клітин.

Вступ

Серед 3-гетарилкумаринів неважко знайти приклади речовин із корисними властивостями. Легкість синтезу сполук цього класу, хімічна стійкість кумаринового циклу в багатьох перетвореннях і переважно низька токсичність посприяли запровадженню їх у практику як, зокрема, флуоресцентних барвників для біологічних досліджень (Cellier-Rastit et al., 2019; Kuziv, Dubey, 2020); широко відомі також барвники для лазерів і оптичних сенсорних систем Coumarin 6 (Duong, Shin, Rhee, 2020), Coumarin 7 (Chen et al., 2021) та Coumarin 30 (Kobayashi et al., 2021). Активно досліджуються і біологічні властивості 3-гетарилкумаринів; серед останніх даних можна згадати гіпоглікемічну активність 3-(піразол-3-іл)кумаринів (Chaudhry et al., 2017), антиоксидантну та протигрибкову дію 1,3,4-тіадіазинових похідних (Čačić et al., 2014), дослідження протиракової активності 8-амінометильних похідних 3-((бензо)тіазол-2-іл)кумаринів (Frasinyuk et al.,

2022). Серед різноманіття варіацій структури 3-гетарилкумаринів нашу увагу привернули похідні оксазолу (Takechi et al., 2000), перелік яких, на нашу думку, міг би бути значно розширений за рахунок функціоналізації оксазолного ядра.

Більшість підходів до синтезу 3-гетарилкумаринів поділяються на дві групи згідно з порядком утворення гетероциклів: або побудова кумаринового циклу за участю функціональних груп іншого гетероциклу, або побудова останнього за рахунок активних функціональних груп у положенні 3 кумарину (Хиля та ін., 2021). Раніше нами було отримано низку функціоналізованих похідних 5-аміно-4-ціанооксазолів (Merzhyievsky et al., 2021), серед яких були й етери 2-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)оцтових кислот **1a,b**. Метиленова ланка цих похідних виявилась достатньо активною для утворення кумаринового циклу конденсацією Кневенагеля із саліциловим альдегідом **2a**, що було підтверджено синтезом похідних **3a,b** (рис. 1).

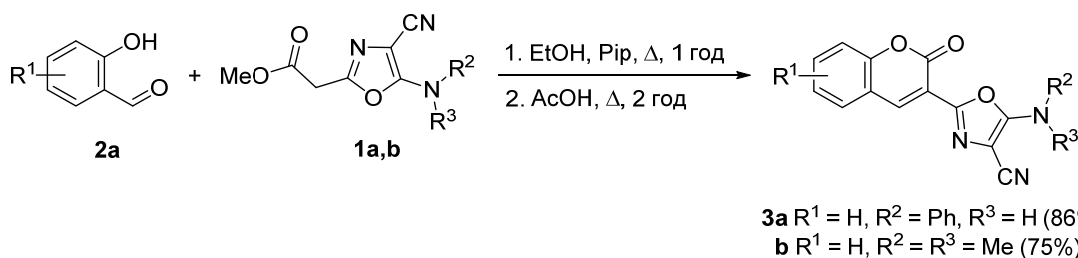


Рис. 1. Схема синтезу кумаринів **3a,b** (попередні дослідження)

Для одержання оксазолів типу **1** було використано 2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрил (ADAN) (Matsumura, Saraie, Hashimoto, 1976), на який послідовно діяли ацилювальним агентом і активним аміном. Отже, у синтезі кумаринів **3** задіяні чотири ключові субстрати (рис. 2), із яких лише ADAN не допускає варіацій.

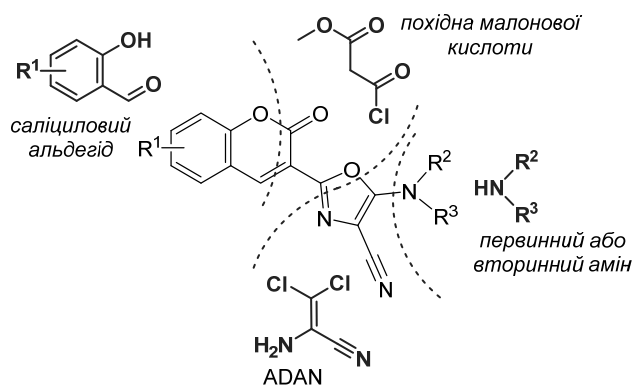


Рис. 2. Принцип побудови 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів **3**

Зацікавленість у розвитку цієї тематики поставила перед нами низку запитань: чи буде результативним застосування заміщених саліцилових альдегідів та інших амінів; чи можливо синтезувати й залучити в цю реакцію 2-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)ацетонітрили, отримавши імінокумарини; чи можливо змінити порядок сполучення чотирьох субстратів? Також для нас було важливим окреслити подальші напрями застосування 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів і провести первинне оцінювання їхньої протиракової активності.

Методи

Контроль за проходженням реакції, чистотою та ідентифікацією одержаних продуктів здійснювався методом ТШХ на пластинках Alugram Xtra-Sheets SIL G/UV254 з використанням як елюента системи розчинників CHCl_3 –MeOH, 19 : 1. Спектри ^1H ЯМР виміряні при частоті 400 та 500 МГц, спектри ^{13}C ЯМР – 100 та 126 МГц на спектрометрах Varian та Bruker, відповідно; залишкові сигнали розчинника використовували як внутрішній стандарт. Дані хроматомаспектрометрії отримано на вискоефективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, обладнаному діодною матрицею із мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL, метод іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Дані елементного аналізу, проведеного в аналітичній лабораторії ІБОНХ НАН України ім. В. П. Кухаря, відповідають розрахованим. Температури топлення визначені на установці Fisher-Johns.

N-(2,2-дихлоро-1-ціановініл)-2-ціаноацетамід (**1e**) синтезовано ацилюванням ADAN (0,073 моль) хлороангідридом 2-ціанооцтової кислоти за методикою (Merzhyievsky et al., 2021). За тією самою методикою ацилюванням ADAN (0,073 моль) хлороангідридом кумарин-3-карбонової кислоти синтезовано *N*-(2,2-дихлоро-1-ціановініл)-2-оксо-2H-хромен-3-карбоксамід (**6**).

Загальна методика синтезу кумаринів **3** за реакцією Кневенегеля із саліцилових альдегідів і метилових етерів 2-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)оцтових кислот. Відповідний етер **1c-f** (4 ммоль) та альдегід **2** (4,4 ммоль) розчиняють (чи суспендують) у EtOH (25 мл), додають піперидин (1–2 краплини) і кип'ятять отриману суміш протягом 1 год. Після цього додають льодяної АсОН (1 мл) і продовжують кип'ятіння протягом

2 год. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують і промивають холодним EtOH, отримуючи спектрально чистий цільовий продукт.

Синтез 2-імінокумарину 5. Нітрил **1e** (0,87 г, 4 ммоль) та альдегід **2d** (0,61 г, 4,4 ммоль) розчиняють у EtOH (25 мл), додають піперидин (1–2 краплини) і кип'ятять отриману суміш протягом 1 год. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують і промивають холодним EtOH, отримуючи спектрально чистий цільовий продукт.

Синтез кумарину 3g. До 2-імінокумарину **5** (0,68 г, 2 ммоль) додають EtOH (5 мл) та АсОН (5 мл) і кип'ятять отриману суміш протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують і промивають послідовно водою та холодним EtOH, отримуючи спектрально чистий цільовий продукт.

Кумарин **3g** був також отриманий однокольовим методом за вищенаведеною загальною методикою з використанням еквівалентної кількості нітрилу замість етеру.

Первинний скринінг протиракової активності сполук **3b,c,f** було проведено в межах міжнародної програми DTP Національного інституту здоров'я США у Національному інституті раку (NCI, Бетезда, Меріленд, США) (<http://dtp.cancer.gov>) на 60 лініях ракових клітин (https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/default.htm).

Результати

Із використанням викладених у попередньому розділі методик було синтезовано низку нових похідних оксазолу й кумарину, характеристики яких наведено нижче.

Метиловий етер 2-(5-((2-гідроксиетил)аміно)-4-ціанооксазол-2-іл)оцтової кислоти (1c). Вихід 88 %. $T_{\text{пл}}$ 77–78 °С. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч. (J, Гц): 3.27–3.32 (2H, м, NCH_2), 3.54 (2H, т, $J = 5.3$, OCH_2), 3.66 (3H, с, CH_3), 3.80 (2H, с, CH_2), 4.77 (1H, уш. с, OH), 8.18 (1H, т, $J = 5.3$, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч.: 33.5, 45.4, 52.4, 59.6, 81.9, 115.9, 146.1, 161.6, 167.9. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 226 [$\text{M}+1$]⁺ (100).

Метиловий етер 2-(5-((1R,5S)-8-оксо-1,5,6,8-тетрагідро-2H-1,5-метанопіридо[1,2-a][1,5]діазоцин-3(4H)-іл)-4-ціанооксазол-2-іл)оцтової кислоти (1d). Вихід 81 %. Некристалічна склоподібна речовина. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч. (J, Гц): 1.92–2.10 (2H, м, CH_2), 2.63 (1H, уш. с, CH), 3.27 (1H, уш. с, CH), 3.45 (1H, д, $J = 12.3$, NCH), 3.51 (1H, д, $J = 12.3$, NCH), 3.71–3.83 (4H, м, 2 NCH, CH_2), 3.90–4.02 (2H, м, 2 NCH), 3.65 (3H, с, OCH_3), 6.13–6.28 (2H, м, H-9', 11'), 7.32 (1H, т, $J = 7.9$, H-10'). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч.: 24.1, 26.2, 33.1, 33.3, 48.6, 52.3, 52.5, 53.6, 85.2, 104.7, 115.2, 116.4, 138.7, 147.1, 148.9, 160.4, 162.0, 167.2. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 355 [$\text{M}+1$]⁺ (100).

5-Морфоліно-2-(ціанометил)оксазол-4-карбонітрил (1e). Вихід 89 %. $T_{\text{пл}}$ 108–109 °С. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч. (J, Гц): 3.41–3.50 (4H, м, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 3.68–3.77 (4H, м, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$), 4.34 (1H, с, CH_2). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч.: 17.4, 46.0, 64.9, 85.0, 114.7, 115.4, 144.5, 160.8. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 219 [$\text{M}+1$]⁺ (100).

5-((2-Гідроксиетил)аміно)-2-(2-оксо-2H-хромен-3-іл)оксазол-4-карбонітрил (3c). Вихід 74 %. $T_{\text{пл}}$ 239–240 °С. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч. (J, Гц): 3.41 (2H, уш. с, NCH_2), 3.60 (2H, уш. с, OCH_2), 4.92 (1H, уш. с, OH), 7.32–7.45 (2H, м, H-6,8), 7.65 (1H, т, $J = 7.4$, H-7), 7.84 (1H, д, $J = 7.4$, H-5), 8.49 (1H, с, H-4), 8.64 (1H, уш. с, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMCO-d_6), δ , м. ч.: 45.5, 59.6, 84.1, 113.5, 115.7, 116.1, 118.4, 124.9, 129.3,

133.0, 141.3, 144.9, 153.3, 155.7, 161.3. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 298 $[M+1]^+$ (100).

5-((2-Гідроксиетил)аміно)-2-(6-метокси-2-оксо-2H-хромен-3-іл)оксазол-4-карбонітрил (**3d**). Вихід 68 %. $T_{\text{пл}}$ 267–268 °C. Спектр ^1H ЯМР (100 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 3.40–3.42 (2H, м, NCH_2), 3.61 (2H, уш. с, OCH_2), 3.82 (3H, с, OCH_3), 4.77 (1H, уш. с, OH), 7.15 (1H, уш. д, $J = 9.0$, H-7), 7.27 (1H, д, $J = 9.0$, H-8), 7.31 (1H, уш. с, H-5), 8.42 (1H, с, H-4), 8.51 (1H, уш. с, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 45.5, 55.5, 59.5, 84.3, 110.6, 113.6, 115.3, 116.9, 118.7, 120.5, 141.0, 144.8, 147.7, 155.5, 155.7, 161.2. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 328 $[M+1]^+$ (100).

2-(7-Гідрокси-2-оксо-2H-хромен-3-іл)-5-морфолінооксазол-4-карбонітрил (**3e**). Вихід 87 %. $T_{\text{пл}}$ 277–278 °C. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 3.53 (4H, уш. с, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 3.76 (4H, уш. с, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$), 6.70 (1H, с, H-8), 6.81 (1H, д, $J = 8.4$, H-6), 7.57 (1H, д, $J = 8.4$, H-5), 8.43 (1H, с, H-4); сигнал 7-OH не спостерігається внаслідок обмінних процесів. Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 45.9, 65.0, 86.0, 102.0, 107.8, 110.6, 114.2, 115.9, 130.8, 142.8, 146.7, 155.8, 156.0, 159.8, 163.6. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 340 $[M+1]^+$ (100).

5-((1R,5S)-8-оксо-1,5,6,8-тетрагідро-2H-1,5-метанопіридо[1,2-а][1,5]діазоцин-3(4H)-іл)-2-(2-оксо-2H-хромен-3-іл)оксазол-4-карбонітрил (**3f**). Вихід 70 %. $T_{\text{пл}}$ 255–256 °C. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 2.03 (2H, с, CH_2), 2.65 (1H, уш. с, CH), 3.55 (1H, д, $J = 12.8$, NCH), 3.63 (1H, д, $J = 12.4$, NCH), 3.76 (1H, дд, $J = 15.7$, 5.7, NCH), 3.93 (1H, д, $J = 12.4$, NCH), 4.05 (1H, д, $J = 15.7$, NCH), 4.16 (1H, д, $J = 12.8$, NCH), 6.19 (1H, д, $J = 8.6$, H-11'), 6.28 (1H, д, $J = 6.3$, H-9'), 7.31–7.46 (3H, м, H-6,8,10'), 7.68 (1H, т, $J = 8.0$, H-7), 7.85 (1H, д, $J = 7.2$, H-5), 8.60 (1H, с, H-4); сигнал одного з аліфатичних протонів збігається із сигналом води. Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 24.0, 26.3, 33.1, 48.6, 52.5, 53.6, 86.1, 105.0, 113.0, 116.1, 116.3, 118.3, 125.0, 129.3, 133.3, 139.1, 142.1, 145.6, 149.1, 153.4, 155.5, 160.0, 162.0, 172.0. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 427 $[M+1]^+$ (100).

2-(8-Гідрокси-2-іміно-2H-хромен-3-іл)-5-морфолінооксазол-4-карбонітрил (**5**). Вихід 68 %. $T_{\text{пл}}$ ~250 °C розкл. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 3.62 (4H, уш. с, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 3.78 (4H, уш. с, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$), 6.95–7.02 (2H, м, H-6,7), 7.17 (1H, д, $J = 7.2$, H-5), 7.97 (1H, с, H-4),

9.50 (1H, уш. с, NH), 10.10 (1H, уш. с, OH). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 45.9, 65.0, 85.8, 115.2, 118.7, 119.1, 119.4, 123.5, 124.7, 134.4, 140.9, 144.2, 146.8, 155.3, 159.4. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 339 $[M+1]^+$ (100).

2-(8-Гідрокси-2-оксо-2H-хромен-3-іл)-5-морфолінооксазол-4-карбонітрил (**3g**). Вихід 98 % (унаслідок гідролізу імінокумарину **6**), 83 % (за загальною методикою із нітрилу **1e** та альдегіду **2e**). $T_{\text{пл}}$ 278–279 °C. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 3.53–3.67 (4H, м, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 3.72–3.84 (4H, м, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$), 7.12–7.22 (2H, м, H-6,7), 7.25 (1H, д, $J = 7.2$, H-5), 8.57 (1H, с, H-4), 10.22 (1H, уш. с, OH). Спектр ^{13}C ЯМР (126 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 45.9, 65.0, 86.3, 112.8, 115.6, 119.2, 119.2, 119.5, 124.9, 142.0, 142.6, 144.4, 146.0, 155.4, 160.0. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 340 $[M+1]^+$ (100).

Етиловий етер (2-(2-оксо-2H-хромен-3-іл)-4-ціанооксазол-5-іл)гліцина (**3h**). Вихід 76 %. $T_{\text{пл}}$ 211–212 °C. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 1.23 (3H, т, $J = 6.2$, CH_3), 4.11–4.25 (4H, м, 2 CH_2), 7.35–7.48 (2H, м, H-6,8), 7.68 (1H, т, $J = 7.1$, H-7), 7.85 (1H, д, $J = 7.1$, H-5), 8.57 (1H, с, H-4), 9.04 (1H, уш. с, OH). Спектр ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 14.1, 44.0, 61.2, 85.2, 113.4, 114.9, 116.1, 118.4, 1255.0, 129.4, 133.2, 142.0, 145.7, 153.4, 155.7, 161.2, 169.3. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 340 $[M+1]^+$ (100).

N-(2,2-дихлоро-1-ціановініл)-2-ціаноацетамід (**4**). Вихід 62 %. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 3.95 (2H, с, CH_2), 10.68 (1H, с, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (126 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 25.7, 110.2, 112.2, 115.1, 132.3, 162.0. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 202 $[M-1]^-$ (100).

N-(2,2-дихлоро-1-ціановініл)-2-оксо-2H-хромен-3-карбоксамід (**6**). Вихід 84 %. $T_{\text{пл}}$ 203–204 °C. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. ч. (J , Гц): 7.48 (1H, т, $J = 7.2$, H-6), 7.54 (1H, д, $J = 8.2$, H-8), 7.81 (1H, т, $J = 7.6$, H-7), 8.02 (1H, д, $J = 7.6$, H-5), 8.99 (1H, с, H-1), 10.58 (1H, с, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (126 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.ч.: 110.4, 112.0, 112.1, 116.3, 117.0, 118.2, 125.4, 130.7, 135.1, 149.6, 154.2, 159.5, 160.4. LCMS, m/z ($I_{\text{відн}}$, %): 309 $[M+1]^+$ (100).

Окремі дані щодо впливу сполук **3b,c,f** на ріст ракових клітин наведено у табл. 1: середній показник по усіх 60 лініях, діапазон значень і рекордні показники інгібування росту певних ліній ракових клітин; указані показники виражені у % порівняно з початковим значенням.

Таблиця 1

Кількісні параметри протиракової активності речовин **3b, c, f**, визначені на 60 лініях ракових клітин у ході однодозових випробувань ($C = 10^{-5}$ М)

Сполука / код NCI	Ріст ракових клітин, %		
	Середній показник	Діапазон значень	Найбільше інгібування росту (лінія клітин / тип раку)
3b / NSC 802729	96.6	33.8	79.1 (MCF7 / рак молочної залози) 81.9 (HS 578T / рак молочної залози) 82.7 (MDA-MB-468 / рак молочної залози)
3c / NSC 830702	99.4	41.2	77.7 (UO-31 / рак нирок) 85.5 (CAKI-1 / рак нирок) 87.8 (MCF7 / рак молочної залози)
3f / NSC 830703	100.8	40.1	85.7 (HOP-92 / недрібноклітинний рак легень) 86.4 (CAKI-1 / рак нирок)

Дискусія і висновки

Синтезовані нами в попередній роботі (Merzhyievsky et al., 2021) 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумарини **3a,b** не містили активних функціональних груп, і амінові замісники біля оксазольного кільця були досить простими – диметиламіновий та аніліновий. Проте нинішні експериментальні показали, що не менш успішними є реакції за участю саліцилових альдегідів із додатковими електронодонорними угрупованнями (гідроксильною та

метоксигрупами) і похідних оксазолілоцтових кислот, що містили залишки функціоналізованих амінів, таких як аміноетанол (етер **1c**) і природний алкалоїд цитизин (етер **1d**). Спектральний аналіз реакційної суміші, утвореної на першій стадії процесу внаслідок нагрівання вихідних сполук в етиловому спирті з каталітичною кількістю піперидину, показав наявність кількох речовин. Вочевидь, утворенню лактонового фрагмента перешкоджала основність середовища, тому на другій стадії синтезу необхідним

було додавання до реакційної суміші оцтової кислоти й додаткове нагрівання; що дозволило добути кумарини **3c,d,f** (рис. 3). Така методика утворення кумаринового циклу дозволяє без змін процедури використовувати не лише етери оксазоліацетонітрилів, але й нітрили, на зразок нітрилу **1e**. Варто нагадати, що зазвичай на другій стадії такої синтетичної схеми для циклізації кумаринової сис-

теми використовують сильні мінеральні кислоти – соляну (Belokon' et al., 1997) чи сірчану (Khilya et al., 2001). Однак така методика не рекомендується у випадку оксазолікумаринів **3**, адже у сильноокислому середовищі заміщений оксазол може зазнавати небажаних перетворень, наприклад розкриття (Zhao et al., 2001), отже, для одержання похідних типу **3** застосування оцтової кислоти є оптимальним варіантом.

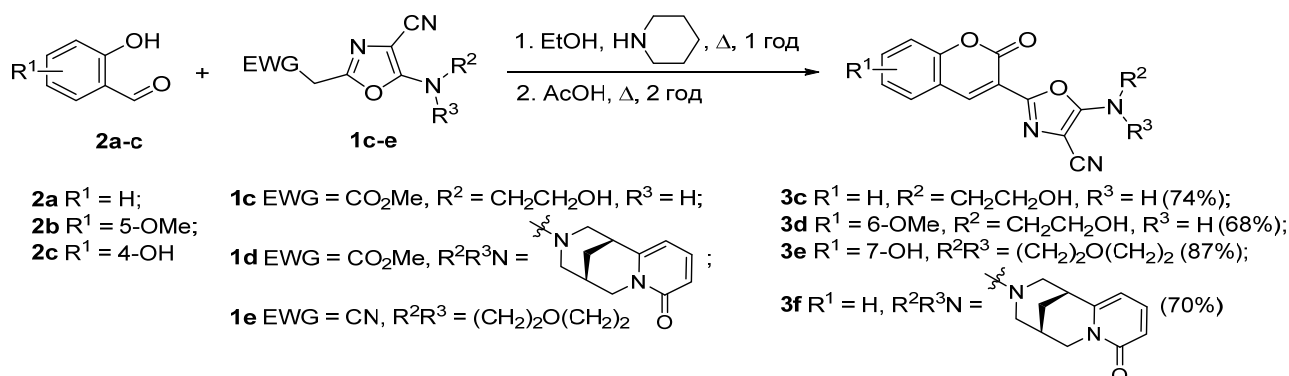


Рис. 3. Схема синтезу кумаринів 3с-ф за реакцією Кневенагеля із етерів 1с,д та нітрилу 1е

З використанням вищезгаданого оксазоліацетонітрилу **1e** ми досліджували можливість одержання 2-іміно-3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів (рис. 4). Синтез самого нітрилу **1e** не викликав жодних труднощів і, як викладено у розділі "Методи", відбувався з достатньо високим виходом за методикою, розробленою для синтезу 5-аміно-4-ціанооксазолів із фрагментами карбонових кислот та їхніх похідних у положенні 2 (Merzhyevsky et al., 2021). На жаль, наведений на рис. 4 імінокумарин **5** був єдиним, який вдалося вилучити з достатньою чистотою.

В усіх інших випадках, а саме внаслідок реакцій нітрилу **1e** із саліциловими альдегідами **2a-c**, утворенню чистого імінокумарину перешкоджали як уповільнена циклізація продукту конденсації Кневенагеля, так і швидкий гідроліз уже утвореного імінокумарину в реакційній суміші. Звісно, гідроліз вилученого імінокумарину **5** із майже кількісним виходом дозволяє отримати відповідний кумарин **3g**, хоча, якщо метою є одержання останнього, то кращим вибором буде однокольовий метод, проілюстрований на рис. 3.

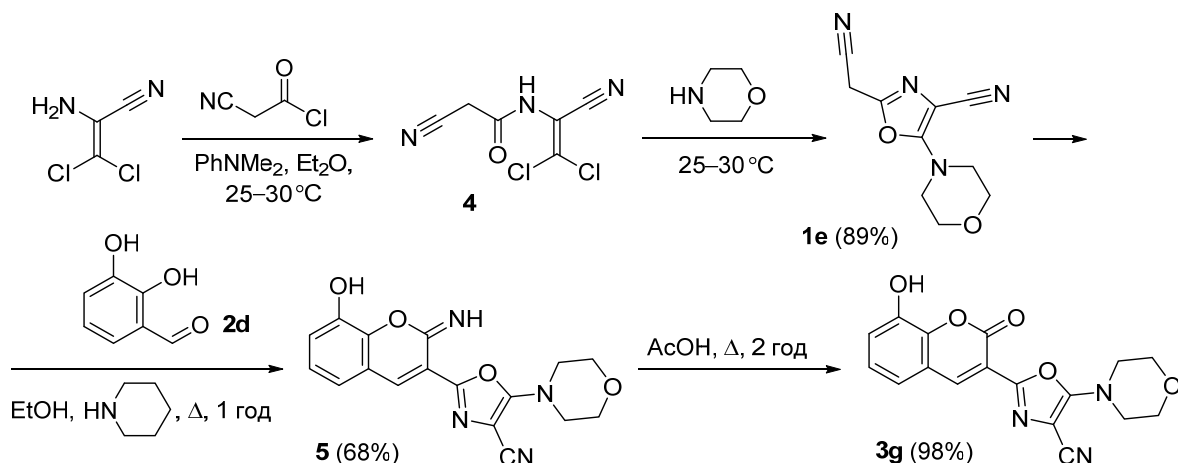


Рис. 4. Схема утворення імінокумарину 6 та його гідроліз у відповідний кумарин

Як показує приклад на рис. 4, досі ми розглядали таку послідовність сполучення чотирьох реагентів, які утворюють 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумарин: ADAN + ацилювальний агент + амін + саліциловий альдегід. Для дослідження можливості зміни цього порядку нами було здійснено ацилювання аміногрупи ADAN хлороангідридом кумарин-3-карбонової кислоти, після чого на амід **6** подіяли попередньо згенерованим із гідрохлориду етиловим етером гліцину, і за реакцією, характерною для

ацильованих похідних ADAN, сформувався оксазолний цикл речовини **3h** (рис. 5). Перевагою саме такої послідовності є легкість варіювання залишків амінів у положенні 5 оксазолу, а також можливість застосовувати аміни з гідролітично нестабільними групами; проте цей варіант не дозволяє отримати сполуки, наприклад із гідроксильною групою в кумариновому фрагменті, тобто групою, що не дає змоги отримати хлороангідрид.

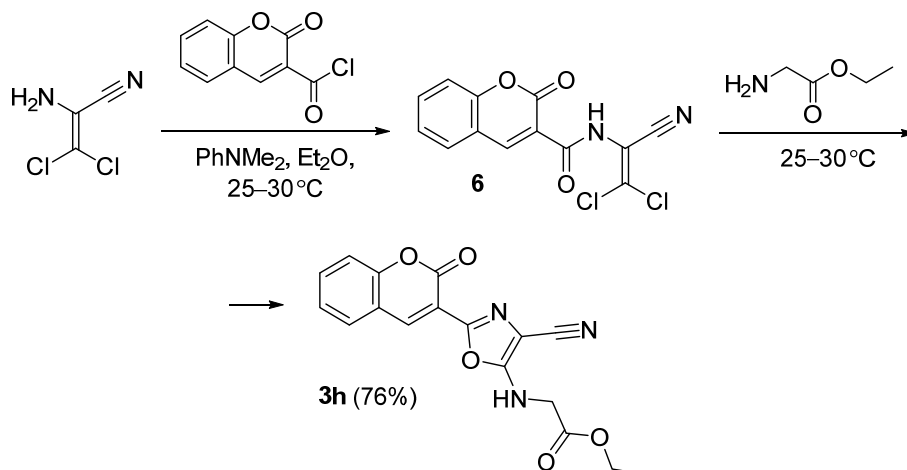


Рис. 5. ADAN, ацильований залишком кумарин-3-карбонової кислоти, і його циклізація в похідну оксазолу 3h

Як свідчить аналіз впливу окремих представників оксазолікумаринів **3** на ріст ракових клітин, помітною протиракровою активністю ці сполуки не володіють. Навіть речовина **3f** із залишком цитизину демонструвала за середнім показником відсутність інгібування росту клітин, і для усіх досліджених сполук найкращі показники уповільнення росту ракових клітин не перевищували 20 %. Це зайвий раз підтверджує загалом низьку токсичність більшості гетероциклічних похідних кумарину, отже, можливості практичного застосування оксазолікумаринів **3** варто шукати в напрямках, що не пов'язані із цитотоксичністю.

Таким чином, 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумарини є синтетично доступною групою речовин, і за рахунок видозмін замісників у бензеновому кільці кумарину й біля аміногрупи оксазолу можна легко досягти великого різноманіття таких похідних. Дві альтернативні послідовності сполучення реагентів є однаково успішними для синтезу 3-(5-аміно-4-ціанооксазол-2-іл)кумаринів, зокрема й сполук з активними функціональними групами (гідроксильна, етерна). Низька протиракрова активність окремих представників синтезованих похідних цілком узгоджується із притаманною більшості 3-гетарилкумаринів низькою токсичністю.

Внесок авторів: Олег Шабликін – концептуалізація, синтез і очищення речовин, редагування; Ольга Шаблікіна – аналіз джерел і спектральних даних, написання та оформлення рукопису.

Подяки, джерела фінансування. Автори висловлюють щирі подяки компанії "Єнамін" за фінансову підтримку роботи, а також Національному інституту раку США (NCI, Бетезда, Меріленд, США) за проведені в рамках міжнародної програми DTP Національного інституту здоров'я США *in vitro* дослідження протиракрової активності.

Цей матеріал не є вираженням погляду Департаменту охорони здоров'я та соціальних служб США, Національного інституту здоров'я або Національного інституту раку.

Список використаних джерел

- Хиля, В. П., Москвіна, В. С., Шаблікіна, О. В., Іщенко, В. В. (2021). Хімія флавоноїдів. Кумарини та ізокумарини. ВПЦ "Київ. ун-т".
 Belokon', Y. V., Kovalenko, S. N., Silin, A. V., & Nikitchenko, V. M. (1997). Ensembles of rings with a coumarin unit 1. Synthesis of 3-(2-R-thiazol-4-yl)- and 3-(4-R-thiazol-2-yl) coumarins. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 33(10), 1167–1176.
 Čačić, M., Pavić, V., Molnar, M., Šarkanji, B., & Has-Schon, E. (2014). Design and synthesis of some new 1,3,4-thiadiazines with coumarin moieties and their antioxidative and antifungal activity. *Molecules*, 19(1), 1163–1177.
 Cellier-Rastit, M., James, A. L., Oregna, S., Perry, J. D., Robinson, S. N., Turnbull, G., & Stanforth, S. P. (2019). Fluorogenic L-alanylaminopeptidase substrates derived from 6-amino-2-hetarylquinolines and 7-amino-3-

hetarylcoumarins and their potential applications in diagnostic microbiology. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(10), 1227–1231.

Chaudhry, F., Choudhry, S., Huma, R., Ashraf, M., Al-Rashida, M., Munir, R., Sohail, R., Jahan, B., Munawar, M. A., & Khan, M. A. (2017). Hetarylcoumarins: synthesis and biological evaluation as potent α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 73, 1–9.

Chen, P., Yin, X., Chen, W. H., Song, L., Du, P., Huang, Y., Li, N., & Xiong, J. (2021). Perovskite solar cells with PCE over 19% fabricated under air environment by using a dye molecule additive. *Sustainable Energy & Fuels*, 5(8), 2266–2272.

Duong, H. D., Shin, Y., & Rhee, J. I. (2020). Development of novel optical pH sensors based on coumarin 6 and nile blue A encapsulated in resin particles and specific support materials. *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110323.

Frasinyuk, M., Chhabria, D., Kartsev, V., Dilip, H., Sirakanyan, S. N., Kirubakaran, S., Petrou, A., Geronikaki, A., & Spinelli, D. (2022). Benzothiazole and chromone derivatives as potential ATR kinase inhibitors and anticancer agents. *Molecules*, 27(14), 4637.

Khilya, O. V., Frasinuk, M. S., Turov, A. V., & Khilya, V. P. (2001). Chemistry of 3-hetarylcoumarins. 1. 3-(2-Benzazoly)coumarins. *Chemistry of Heterocyclic compounds*, 37(8), 1029–1037.

Kobayashi, A., Muramatsu, E., Yoshida, M., & Kato, M. (2021). Two Excited State Collaboration of Heteroleptic Ir (III)-Coumarin Complexes for H₂ Evolution Dye-Sensitized Photocatalysts. *Energies*, 14(9), 2425.

Kuziv, I. B., & Dubey, I. Y. (2020). Direct labeling of nucleosides with 3-thiazolylcoumarin fluorescent dyes. *Biopolymers & Cell*, 36(1), 35.

Matsumura, K., Saraie, T., & Hashimoto, N. (1976). Studies of Nitriles. VII. Synthesis and Properties of 2-Amino-3,3-dichloroacrylonitrile (ADAN). *Chem. Pharm. Bull.*, 24(5), 912–923.

Merzhlyevskiy, D. O., Shablykin, O. V., Shablykina, O. V., Kozyskiy, A. V., Rusanov, E. B., Moskvina, V. S., & Brovarets, V. S. (2021). Functionalized 5-Amino-4-cyanoxazoles, their Hetero- and Macrocyclic Derivatives: Preparation and Synthetic Applications. *European Journal of Organic Chemistry*, 2021(47), 6511–6523.

Takechi, H., Oda, Y., Nishizono, N., Oda, K., & Machida, M. (2000). Screening search for organic fluorophores: syntheses and fluorescence properties of 3-azolyl-7-diethylaminocoumarin derivatives. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48(11), 1702–1710.

Zhao, G., Sun, X., Bienaymé, H., & Zhu, J. (2001). Activation of a terminal carboxylic acid by an internal oxazole: A novel synthesis of macrocyclic peptide. *Journal of the American Chemical Society*, 123(27), 6700–6701.

References

- Belokon', Y. V., Kovalenko, S. N., Silin, A. V., & Nikitchenko, V. M. (1997). Ensembles of rings with a coumarin unit 1. Synthesis of 3-(2-R-thiazol-4-yl)- and 3-(4-R-thiazol-2-yl) coumarins. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 33(10), 1167–1176.
 Čačić, M., Pavić, V., Molnar, M., Šarkanji, B., & Has-Schon, E. (2014). Design and synthesis of some new 1,3,4-thiadiazines with coumarin moieties and their antioxidative and antifungal activity. *Molecules*, 19(1), 1163–1177.
 Cellier-Rastit, M., James, A. L., Oregna, S., Perry, J. D., Robinson, S. N., Turnbull, G., & Stanforth, S. P. (2019). Fluorogenic L-alanylaminopeptidase substrates derived from 6-amino-2-hetarylquinolines and 7-amino-3-hetarylcoumarins and their potential applications in diagnostic microbiology. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(10), 1227–1231.
 Chaudhry, F., Choudhry, S., Huma, R., Ashraf, M., Al-Rashida, M., Munir, R., Sohail, R., Jahan, B., Munawar, M. A., & Khan, M. A. (2017). Hetarylcoumarins: synthesis and biological evaluation as potent α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 73, 1–9.

Chen, P., Yin, X., Chen, W. H., Song, L., Du, P., Huang, Y., Li, N., & Xiong, J. (2021). Perovskite solar cells with PCE over 19% fabricated under air environment by using a dye molecule additive. *Sustainable Energy & Fuels*, 5(8), 2266–2272.

Duong, H. D., Shin, Y., & Rhee, J. I. (2020). Development of novel optical pH sensors based on coumarin 6 and nile blue A encapsulated in resin particles and specific support materials. *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110323.

Frasinyuk, M., Chhabria, D., Kartsev, V., Dilip, H., Sirakanyan, S. N., Kirubakaran, S., Petrou, A., Geronikaki, A., & Spinelli, D. (2022). Benzothiazole and chromone derivatives as potential ATR kinase inhibitors and anticancer agents. *Molecules*, 27(14), 4637.

Khilya, O. V., Frasinuk, M. S., Turov, A. V., & Khilya, V. P. (2001). Chemistry of 3-hetarylcoumarins. 1. 3-(2-Benzazoly)coumarins. *Chemistry of Heterocyclic compounds*, 37(8), 1029–1037.

Khilya, V. P., Moskvina, V. S., Shablykina, O. V., Ishchenko, V. V. (2021). Flavonoid chemistry. Coumarins and isocoumarins. PPC "Kyiv University" [in Ukrainian].

Kobayashi, A., Muramatsu, E., Yoshida, M., & Kato, M. (2021). Two Excited State Collaboration of Heteroleptic Ir (III)-Coumarin Complexes for H₂ Evolution Dye-Sensitized Photocatalysts. *Energies*, 14(9), 2425.

Kuziv, I. B., & Dubey, I. Y. (2020). Direct labeling of nucleosides with 3-thiazolylcoumarin fluorescent dyes. *Biopolymers & Cell*, 36(1), 35.

Matsumura, K., Saraie, T., & Hashimoto, N. (1976). Studies of Nitriles. VII. Synthesis and Properties of 2-Amino-3,3-dichloroacrylonitrile (ADAN). *Chem. Pharm. Bull.*, 24(5), 912–923.

Merzhyevskiy, D. O., Shablykin, O. V., Shablykina, O. V., Kozytskiy, A. V., Rusanov, E. B., Moskvina, V. S., & Brovarets, V. S. (2021). Functionalized 5-Amino-4-cyanoxazoles, their Hetero- and Macrocyclic Derivatives: Preparation and Synthetic Applications. *European Journal of Organic Chemistry*, 2021(47), 6511–6523.

Takechi, H., Oda, Y., Nishizono, N., Oda, K., & Machida, M. (2000). Screening search for organic fluorophores: syntheses and fluorescence properties of 3-azoly-7-diethylaminocoumarin derivatives. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48(11), 1702–1710.

Zhao, G., Sun, X., Bienaymé, H., & Zhu, J. (2001). Activation of a terminal carboxylic acid by an internal oxazole: A novel synthesis of macrocyclodepsipeptide. *Journal of the American Chemical Society*, 123(27), 6700–6701.

Отримано редакцією журналу / Received: 18.06.23

Прорецензовано / Revised: 02.07.23

Схвалено до друку / Accepted: 23.07.23

Oleh SHABLYKIN, PhD (Chem.), Senior Researcher

ORCID ID: 0000-0001-6810-9860

e-mail: shablykin@gmail.com

V. P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Olga SHABLYKINA, PhD (Chem.), Assoc. Prof.

ORCID ID: 0000-0002-5362-0831

e-mail: shablykina@ukr.net

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

3-(5-AMINO-4-CYANOXAZOL-2-YL)COUMARINS DERIVATIVES: SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES

Background. The practical use of 3-hetarylcoumarin derivatives relates to their valuable spectral and biological characteristics, which are determined by the nature of the substituents in the basic structure. Earlier, on the base of 2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile (ADAN), the method for the synthesis of new oxazole derivatives was developed by us, and the possibility of 5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)acetate's obtaining by its following cyclization into the coumarin cycle was shown. In this study, the synthesis of new 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarins, as well as determination of their ability to inhibit the growth of cancer cells, were represented.

The objects of investigation are heterocyclization as a method for 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarins obtaining, as well as spectral and biological characteristics of the synthesized substances.

Methods. Organic synthesis of new derivatives of (5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)acetic acid and 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarin; characterization of the synthesized substances using ¹H, ¹³C NMR spectroscopy and chromatography-mass spectrometry; single-dose tests of anticancer activity of three derivatives on 60 cancer cell lines.

Results. Based on ADAN, a number of new derivatives of 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarin were synthesized in different ways: 1) formation of (5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)acetic acid derivatives and their subsequent cyclization with salicylic aldehydes into coumarins; 2) acylation of the ADAN amino group with coumarin-3-carboxylic acid chloroanhydride and subsequent formation of an oxazole substituent at the 3-position of coumarin under the action of amines. It has been established that the anticancer activity of 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarins is generally very low, and they are able to slightly slow down the growth of only certain lines.

Conclusions. It is shown that for the synthesis of 3-(5-amino-4-cyanoxazol-2-yl)coumarins derivatives (in particular, compounds with active functional groups – hydroxyl, ester) two alternative synthetic schemes can be successfully applied, and due to the convenience of the techniques, it is possible to easily achieve a large variety of such derivatives. The low anticancer activity of some synthesized derivatives is consistent with the low toxicity inherent in the majority of 3-hetarylcoumarins.

Keywords: 2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile, (2-imino)coumarin, 5-amino-4-cyanoxazole, heterocyclization, effect on cancer cell growth.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; in the decision to publish the results.