

УДК 547.791.3

СИНТЕЗ І АНТИПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ 3-АРИЛ-5-{{(1- АРИЛ-1H-ТЕТРАЗОЛ-5-ІЛ)ТІО}МЕТИЛ}-1,2,4-ОКСАДІАЗОЛІВ

М. Тупичак, Н. Походило*

*Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна
e-mail: nazariy.pokhodylo@lnu.edu.ua*

Синтезовано чимало нових 3-арил-5-{{(1-арил-1H-тетразол-5-іл)тіо}метил}-1,2,4-оксадіазолів та досліджено їх антипроліферативну активність на 60 лініях ракових клітин. Вибрані сполуки проявили невисоку активність, що свідчить про необхідність їх значної хімічної модифікації задля відкриття активних агентів.

Ключові слова: тетразоли, 1,2,4-оксадіазоли, антипроліферативна активність, рак.

DOI: <https://doi.org/10.30970/vch.6301.245>

1. Вступ

Похідні 5-меркапто-1H-тетразолу давно привертають увагу дослідників як перспективні угруповання для введення в лікоподібні молекули в рамках концепції фрагмент-орієнтованого дизайну лікарських засобів. Одним із перших ліків, що містили цей фрагмент, був бета-лактамний антибіотик Цефамандол (Cefamandole), який вже понад 40 років використовують для лікування різних інфекцій, спричинених чутливими штамми бактерій, зокрема, інфекції нижніх дихальних шляхів, інфекції сечовивідних шляхів, інфекції шкіри, інфекції кісток та суглобів [1, 2]. Згодом було одержано ще багато антибіотиків, що містять 5-меркапто-1H-тетразоловий фрагмент – cefotiam, cefotetan, cefoperazone та ін. [3]. З іншого боку, цефалоспорини, які містять бічний ланцюг N-метилтіотетразолу, пов'язують з побічними ефектами, що спричиняють згортання крові [4]. Нещодавно серію нових похідних 5-(1,2,3-триазолілметилсульфаніл)тетразолу синтезували реакцією CuAAC, вони виявили помірну або хорошу антимікробну активність порівняно зі стандартними препаратами [5]. Реакцією хлорацетамідотіазолу з 5-меркаптотетразолами отримували 2-(1H-тетразол-5-ілсульфаніл)-N-тіазол-2-ілацетаміди, що були досліджені на протизапальну дію [6]. Похідні 5-(1-арил-1H-тетразол-5-ілсульфанілметил)-N-ксилопіранозил-1,3,4-окса(тіа)діазол-2-амінів проявили інгібування РТР1В та пригнічення мікроорганізмів [7]. Більш того, запатентовано 2-[(1-(нафталін-1-іл)-1H-тетразол-5-іл)тіо]-N-(2-нітрофеніл)ацетамід, який є потужним нуклеозидним інгібітором з наномольною активністю зворотної транскриптази для лікування ВІЛ [8].

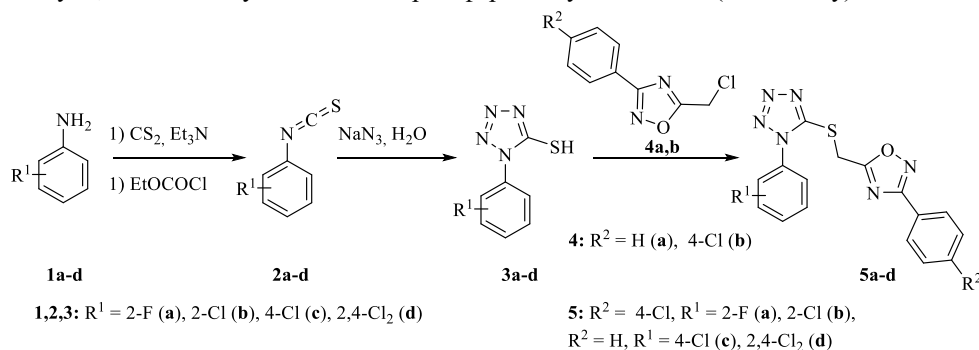
Зручним шляхом синтезу таких сполук є одержання 5-меркапто-1H-тетразолу з різноманітних ізотіоціанатів реакцією 1,3-дипольного циклоприєднання з азидом натрію, триметилсиліл азидом чи їх синтетичним еквівалентом та подальшим

алкілюванням тіолової групи. Цей підхід ми використовували для синтезу лігандів міді(І) з цінними властивостями [9–13].

Зважаючи на доступність методів синтезу зазначених речовин та їхні цінні властивості, у цьому дослідженні поставлено завдання одержати нові сполуки цього ряду й оцінити їх антипроліферативні властивості.

2. Результати досліджень та їх обговорення

Вихідні 5-меркапто-1*H*-тетразоли ми одержали з комерційно доступних ароматичних амінів **1**. Спершу методом Калуза аміни **1** перетворювали у відповідні ізотіоціанати **2**. Наступною реакцією ізотіоціанатів **2** з азидом натрію у воді синтезовано цільові 5-меркапто-1*H*-тетразоли **3** з практично кількісним виходом. Водночас 5-(хлорметил)-3-арил-1,2,4-оксадіазоли **4** ми одержали раніше [14], їхні характеристики відповідають літературним даним [15]. Реакцією 5-меркапто-1*H*-тетразолів **3** з 5-(хлорметил)-3-арил-1,2,4-оксадіазолами **4** синтезовано цільові сполуки, які досліджували на антипроліферативну активність (див. схему).



Синтез 3-арил-5-[[1-(1-арил-1*H*-тетразол-5-іл)тіо]метил]-1,2,4-оксадіазолів **5** Synthesis of 3-aryl-5-[[1-(1-aryl-1*H*-tetrazol-5-yl)thio]methyl]-1,2,4-oxadiazoles **5**

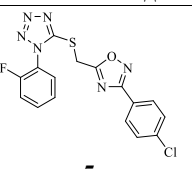
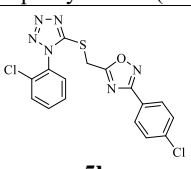
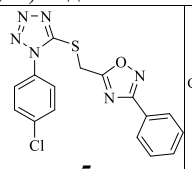
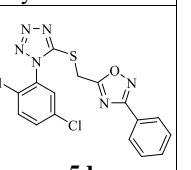
Синтезовані сполуки **5a-d** було подано та оцінено в концентрації 10⁻⁵ М на панелі з приблизно шістдесяти ліній ракових клітин. Лінії пухлинних клітин людини отримано з дев'яти різних типів раку: лейкемії, недрібноклітинних легенів, товстої кишки, ЦНС, меланоми, раку яєчників, нирок, простати та молочної залози. Первинні протиракові аналізи проводили згідно з протоколом NCI США (<http://dtp.nci.nih.gov>), який був описаний в іншому дослідженні [16]. Результати для кожної сполуки подано як відсоток росту клітин (GP, %). Діапазон росту (%) показує найнижчий і найвищий ріст, який виявлено серед різних ліній ракових клітин людини (див. таблицю).

Як бачимо з наведених у таблиці даних, вибрані представники цього молекулярного каркасу загалом не виявили високої активності. Найвищу активність демонструвала сполука **5d**. Зокрема, ця сполука інгібувала ріст 44 % (GP = 66.01 %) клітин лінії UO-31 раку нирок. Варто відмітити, що сполуки **5b** і **5c** також проявляли активність щодо клітин UO-31, пригнічуючи їх ріст на майже 30 % (GP = 73.35 та 72.53 %), відповідно. Крім того, сполука **5d** була найактивнішою відносно клітин раку молочної залози T-47D (GP = 75.69 %) і клітин ліній лейкемії (CCRF-CEM, K-562,

MOLT-4, RPMI-8226, SR). Загалом клітини лейкемії були найчутливішими до дії сполук **5**, натомість панелі раку яєчників та простати були резистентні.

Дані протипухлинного скринінгу 3-арил-5-(((1-арил-1*H*-тетразол-5-іл)тіо)метил)-1,2,4-оксадіазолів **5** в концентрації 10^{-5} М

Anticancer screening data of 3-aryl-5-[(1-aryl-1*H*-tetrazol-5-yl)thio]methyl]-1,2,4-oxadiazoles **5** at concentration of 10^{-5} M

	Відсоток росту клітин (GP, %) за дії на них сполук			
	 5a	 5b	 5c	 5d
Лейкемія				
CCRF-CEM	97.43	89.77	93.76	83.47
K-562	93.74	93.49	91.14	83.71
MOLT-4	92.77	97.18	94.89	89.25
RPMI-8226	102.18	95.12	95.88	85.77
SR	88.21	98.58	102.95	87.22
Недрібноклітинний рак легенів				
NCI-H322M	96.82	85.24	98.85	99.12
NCI-H522	85.01	84.55	76.79	76.89
Рак товстої кишки				
HCT-116	100.38	87.29	92.06	89.78
Меланома				
SK-MEL-2	94.64	95.21	85.03	86.51
UACC-62	101.21	109.87	92.34	88.59
Рак нирок				
A498	78.17	91.78	101.04	98.77
SAKI-1	93.83	87.09	90.79	83.44
UO-31	82.68	73.35	72.53	66.01
Рак молочної залози				
T-47D	78.00	92.93	98.52	75.69

3. Висновки

Зручними синтетичними перетвореннями одержано представники нового молекулярного каркасу, які досліджено на протипухлинну активність. З'ясовано, що сполуки володіють невисокою активністю, проте мають деяку селективну дію щодо клітин UO-31 раку нирок. Одержані результати свідчать про необхідність значної модифікації молекулярного каркасу для відкриття більш активних сполук.

4. Матеріали та методика експерименту

Спектри ЯМР записували на приладах Varian Mercury з робочою частотою 400 МГц для ^1H , розчинник $\text{DMSO-}d_6$. Хімічні зміщення (δ , м.ч.) наведено стосовно сигналу ТМС. Мас-спектри записані за допомогою Agilent 1100 серії LC/MSD з режимом іонізації API-ES/APCI. Для всіх сполук отримано задовільні значення елементного аналізу (С, Н, N). Константи сполук **3** відповідають літературним даним: **3a** – [17]; **3b** – [18]; **3c** – [19] та **3d** – [20].

Синтез 3-арил-5-[[1-(1-арил-1H-тетразол-5-іл)гіо]метил]-1,2,4-оксадіазолів 5

5-Меркапто-1H-тетразол **3** (10 ммоль) додавали до розчину КОН (0,56 мг, 10 ммоль) у 10 мл етанолу за нагрівання. Після утворення розчину до реакційної суміші додавали 5-(хлорметил)-3-арил-1,2,4-оксадіазол та нагрівали до утворення осаду. Охолоджували до кімнатної температури. Тверду речовину відфільтровували, промивали етанолом і сушили.

3-(4-Хлорфеніл)-5-[[1-(2-фторфеніл)-1H-тетразол-5-іл]гіо]метил]-1,2,4-оксадіазол 5a. Вихід 93 %. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$), δ , м.ч.: 4,98 (с, 2H, CH_2), 7,44–7,58 (м, 4H, H_{Ar}), 7,65–7,76 (м, 2H, H_{Ar}), 7,98 (д, $J = 8,4$ Гц, 2H, ; $\text{H}_{\text{Ar-2,6}}$). Мас-спектр (CI), m/z : 389 $[\text{M}+\text{H}^+]$. Знайдено, %: С, 49.51; Н, 2.52; N, 21.58. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{ClFN}_6\text{OS}$. Обчислено, С, 49.43; Н, 2.59; N, 21.62.

3-(4-Хлорфеніл)-5-[[1-(2-хлорфеніл)-1H-тетразол-5-іл]гіо]метил]-1,2,4-оксадіазол 5b. Вихід 95 %. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$), δ , м.ч.: 4,98 (с, 2H, CH_2), 7,53 (д, $J = 8,4$ Гц, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-2,6}}$), 7,60–7,78 (м, 4H, H_{Ar}), 7,99 (д, $J = 8,4$ Гц, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-2,6}}$). Мас-спектр (CI), m/z : 405, 407 $[\text{M}+\text{H}^+]$. Знайдено, %: С, 47.53; Н, 2.44; N, 20.71. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{OS}$. Обчислено, С, 47.42; Н, 2.49; N, 20.74.

5-[[1-(4-Хлорфеніл)-1H-тетразол-5-іл]гіо]метил]-3-феніл-1,2,4-оксадіазол 5c. Вихід 97 %. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$), δ , м.ч.: 4,98 (с, 2H, CH_2), 7,48–7,56 (м, 3H, H_{Ar}), 7,66 (д, $J = 8,8$ Гц, 2H, H_{Ar}), 7,70 (д, $J = 8,8$ Гц, 2H, H_{Ar}), 7,98 (д, $J = 8,0$ Гц, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-2,6}}$). Мас-спектр (CI), m/z : 371 $[\text{M}+\text{H}^+]$. Знайдено, %: С, 51.73; Н, 2.93; N, 22.75. $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ClN}_6\text{OS}$. Обчислено, С, 51.83; Н, 2.99; N, 22.66.

5-[[1-(2,5-Дихлорфеніл)-1H-тетразол-5-іл]гіо]метил]-3-феніл-1,2,4-оксадіазол 5c. Вихід 97 %. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$), δ , м.ч.: 4,99 (с, 2H, CH_2), 7,48–7,56 (м, 3H, H_{Ar}), 7,64–7,68 (м, 2H, H_{Ar}), 7,76 (д,д, $J = 2,0$ та 8,8 Гц, 1H, $\text{H}_{\text{Ar-3}}$), 7,80 (д, $J = 8,8$ Гц, 1H, $\text{H}_{\text{Ar-4}}$), 7,91 (д, $J = 2,0$ Гц, 1H, $\text{H}_{\text{Ar-6}}$), 7,99 (д, $J = 8,0$ Гц, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-2,6}}$). Мас-спектр (CI), m/z : 405, 407 $[\text{M}+\text{H}^+]$. Знайдено, %: С, 47.51; Н, 2.40; N, 20.77. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{OS}$. Обчислено, С, 47.42; Н, 2.49; N, 20.74.

1. Agents Chemother. 1974. Vol. 6, No. 2. P. 177–182.
DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.6.2.177>
2. Kaiser G. V., Marvin G., Webber J. A. Cefamandole: A Review of Chemistry and Microbiology // J. Infect. Dis. 1978. Vol. 137. P. 10–16.
<http://www.jstor.org/stable/30108949>
3. Kucers The Use of Antibiotics Sixth Edition: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs / M Lindsay Grayson, Suzanne M Crowe, James S McCarthy, John Mills, Johan W Mouton, S Ragnar Norrby, David L Paterson, Michael A Pfaller. CRC Press, 2010. 3223 p.

4. Park G. H., Kim S., Kim M. S. et al. The Association Between Cephalosporin and Hypoprothrombinemia: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2019. Vol. 16, No. 20. P. 3937.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph16203937>
5. Thotla K., Noole V.G., Kedika B. et al. Synthesis of 5-[(1-Aryl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]sulfanyl-1-phenyl-1H-tetrazoles // *Russ. J. Org. Chem.* 2020. Vol. 56. P.1077–1081. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1070428020060172>
6. Chaban T. I., Foliush V. T., Ogurtsov V. V. et al. Synthesis, Anti-Inflammatory Properties and Molecular Docking of 2-(5-Aryltetrazol-2-yl)-and 2-(1H-Tetrazol-5-ylsulfanyl)-N-Thiazol-2-ylacetamides // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2021. Vol. 47. P. 889–895. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1068162021040051>
7. He Y. W., Cao L. H., Zhang J. B. et al. Synthesis and bioactivity of 5-(1-aryl-1H-tetrazol-5-ylsulfanylmethyl)-N-xylopyranosyl-1,3,4-oxa(thia)diazol-2-amines // *Carbohydr. Res.* 2011. Vol. 346, No. 5. P.551–559.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.01.010>
8. Rosocha Gr., Rosocha, Y., Batey Gr. et al. New process to make nonnucleosidal reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) for the treatment of HIV. WO 2015015240.
9. Slyvka Yu. I. Pokhodylo N. T., Mys'kiv M. G. Copper(I) π -complexes with allyl substituted 1-aryl-1H-tetrazole-5-thiols: synthesis and their structural features // *Vopr. Khimii Khimicheskoi Tekhnologii*. 2019. No. 2. P. 30–38.
DOI: <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2019-123-2-30-38>
10. Slyvka Y. Goreschnik E., Veryasov G. et al. The novel copper(I) π, σ -complexes with 1-(aryl)-5-(allylthio)-1H-tetrazoles: Synthesis, structure characterization, DFT-calculation and third-order nonlinear optics // *J. Coord. Chem.* 2019. Vol. 72, No. 5–7. P. 1049–1063. DOI: <https://doi.org/10.1080/00958972.2019.1580699>
11. Slyvka Yu. I., Fedorchuk A. A., Pokhodylo N. T. et al. A novel copper(I) sulfamate p-complex based on the 5-(allylthio)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-tetrazole ligand: Alternating-current electrochemical crystallization, DFT calculations, structural and NLO properties studies // *Polyhedron*. 2018. Vol. 147. P. 86–93.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.03.015>
12. Slyvka Y., Goreschnik E., Pokhodylo N. et al. Two Related Copper(I) π -Complexes Based on 2-Allyl-5-(2-pyridyl)-2H-tetrazole Ligand: Synthesis and Structure of [Cu(2-apyt)NO₃] and [Cu(2-apyt)(H₂O)](BF₄) Compounds // *Acta Chim. Slov.* 2016. Vol. 63, No 2. P. 399–405. DOI: <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2016.2486>
13. Slyvka Y., Pavlyuk O., Pokhodylo N. et al. First Silver(I) π -Complexes with tetrazole allyl derivatives. Synthesis and Crystal Structure of [Ag₂(C₁₀H₁₀N₄S)₂(H₂O)₂](BF₄)₂ and [Ag(C₁₀H₉ClN₄S)(NO₃)] π -Compounds (C₁₀H₁₀N₄S and C₁₀H₉ClN₄S – 5-(Allylthio)-1-phenyl- and 5-(Allylthio)-1-(4-chlorophenyl)-1H-tetrazole) // *Acta Chim. Slov.* 2011. Vol. 58, No. 1. P. 134–138.
14. Pokhodylo N. T., Savka R. D., Shyyka O. Y. et al. One pot CuAAC synthesis of (1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl-1,3,4/1,2,4-oxadiazoles starting from available chloromethyl-1,3,4/1,2,4-oxadiazoles // *J. Heterocycl. Chem.* 2020. Vol. 57, No. 7. P. 2969–2976.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.4008>
15. Durust Y., Karakus H., Kaiser M., et al., Synthesis and anti-protozoal activity of novel dihydropyrrolo[3,4-d][1,2,3]triazoles // *Eur. J. Med. Chem.* 2012. Vol. 48. P. 296–304.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.12.028>

16. Boyd M. R., Paull K. D. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug Dev. Res.* 1995. Vol. 34. P. 91–109.
17. Askerov R. K., Maharramov A. M., Khalilov A. N. et al. Crystal structure and Hirshfeld surface analysis of 1-(2-fluorophenyl)-1H-tetrazole-5 (4H)-thione // *Acta Crystallogr. E: Crystallogr. Commun.* 2020. Vol. 76, No. 7. P. 1007–1011.
DOI: <https://doi.org/10.1107/S2056989020007033>
18. Mel'nikova Y. V., Myznikov L. V., Dogadina A. V. et al. Reactions of dimethyl 2-chloroethylphosphonate with 1-substituted 5-oxo-1 H-1, 2, 3, 4-tetrazoles // *Russ. J. Gen. Chem.* 2014. Vol. 84, No. 11. P. 2160–2166.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1134/S107036321411019X>
19. Mohammadi M. K., Khoshnavazi R., Geravand S. et al. Synthesis, crystal structure and Hirshfeld surface analysis of a new 0D nanostructured [{Ar-Cl} tetra-azo-S} 2Hg] coordination supramolecular compound derived from phenyl isothiocyanate ligand // *J. Coord. Chem.* 2019. Vol. 72, No. 10. P. 1671–1682.
DOI: <https://doi.org/10.1080/00958972.2019.1613531>
20. Shaw-Reid C. A., Miller M. D., Hazuda D. J. et al. Preparation of tetrazolyl derivatives as HIV reverse transcriptase inhibitors. WO 2005115147 A2 20051208.

**SYNTHESIS AND ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY
OF 3-ARYL-5-[(1-ARYL-1H-TETRAZOL-5-YL)THIO]METHYL}-1,2,4-
OXADIAZOLES**

M. Tupyachak, N. Pokhodylo*

*Ivan Franko National University of Lviv,
Kyryla i Mefodiya Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine
e-mail: nazariy.pokhodylo@lnu.edu.ua*

Derivatives of 5-mercapto-1H-tetrazole have long attracted the attention of researchers as promising groups for introduction into drug-like molecules within the concept of fragment-oriented drug design. One of the first drugs to contain this fragment was the beta-lactam antibiotic Cefamandole, which has been used for over 40 years to treat various infections caused by susceptible strains of bacteria, including lower respiratory tract infections, urinary tract infections, skin infections, bones and joints. Subsequently, a number of antibiotics containing the 5-mercapto-1H-tetrazole fragment were obtained. Recently, a series of new derivatives of 5-(1,2,3-triazolylmethylsulfanyl)tetrazole was synthesized by the CuAAC reaction, their antimicrobial activity showed moderate or good results compared to standard drugs. Moreover, 2-[(1-(naphthalen-1-yl)-1H-tetrazol-5-yl)thio]-N-(2-nitrophenyl)acetamide is discovered for HIV treatment as a potent non-nucleoside nanomolar inhibitor of reverse transcriptase activity.

A convenient route for the synthesis of such compounds is the preparation of 5-mercapto-1H-tetrazole from various isothiocyanates by the reaction of 1,3-dipolar cycloaddition with sodium azide, trimethylsilyl azide or their synthetic equivalent, and subsequent alkylation of the thiol group.

Given the availability of methods for the synthesis of these compounds and their valuable properties, the study aims to obtain a number of compounds and evaluate their antiproliferative properties.

The starting 5-mercapto-*1H*-tetrazoles were obtained from commercially available anilines. First, the anilines were converted to the corresponding isothiocyanates by the Kaluza method. The next reaction of isothiocyanates **2** with sodium azide in water synthesized the target 5-mercapto-*1H*-tetrazoles **3** with approximately quantitative yield. At the same time, 5-(chloromethyl)-3-aryl-1,2,4-oxadiazoles were obtained by us earlier. The reaction of 5-mercapto-*1H*-tetrazoles **3** with 5-(chloromethyl)-3-aryl-1,2,4-oxadiazoles **4** synthesized the target compounds, which were tested for antiproliferative activity.

The synthesized compounds **5a-d** were submitted and evaluated at a concentration of 10^{-5} M on a panel of approximately 60 cancer cell lines. Human tumor cell lines have been derived from nine different types of cancer: leukemia, non-small cell lung, colon, CNS, melanoma, ovarian, kidney, prostate, and breast cancer. Primary anti-cancer assays were performed according to the US NCI protocol (<http://dtp.nci.nih.gov>). The results for each compound are presented as the percentage of cell growth (GP, %).

Unfortunately, the selected representatives of this molecular scaffold did not show high activity. Compound **5d** showed the highest activity. In particular, this compound inhibited the growth of 44 % (GP = 66.01 %) of UO-31 kidney cancer cells. It should be noted that compounds **5b** and **5c** were also active against UO-31 cells, inhibiting their growth by almost 30 % (GP = 73.35 and 72.53 %), respectively. In addition, compound **5d** was most active against T-47D breast cancer cells (GP = 75.69 %) and a number of leukemia cell lines (CCRF-CEM, K-562, MOLT-4, RPMI-8226, SR). In general, leukemia cells were the most sensitive to compounds **5**, while ovarian and prostate cancer panels were resistant.

By convenient synthetic transformations we obtained representatives of the new molecular framework, which were investigated for antitumor activity. The compounds were found to have low activity, but have some selective effect on UO-31 kidney cancer cells. The obtained results indicate the need for significant modification of the molecular scaffold to discover more active compounds.

Keywords: tetrazoles, 1,2,4-oxadiazoles, antiproliferative activity, cancer.

Стаття надійшла до редколегії 26.10.2021

Прийнята до друку 10.06.2022