

Sinteza i biološko djelovanje supstituiranih derivata benzotiazola

KUI – 13/2008
Prispjelo 27. travnja 2007.
Prihvaćeno 6. lipnja 2007.

I. Čaleta i G. Karminski-Zamola

Zavod za organsku kemiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije,
Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 20, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U posljednjih nekoliko desetljeća postoji velik interes za razvoj malih heterocikličkih molekula kao potencijalnih terapeutika. U tu skupinu spada i velik broj derivata benzotiazola, koji pokazuju zanimljiva kemijska i biološka svojstva, te se u posljednjih nekoliko desetljeća znatno povećalo zanimanje za pripremu različitih derivata benzotiazola i njihovo biološko ispitivanje. U ovom članku opisane su neke od metoda dobivanja benzotiazolnih derivata te je dan pregled nekih od derivata benzotiazola s biološkim djelovanjem.

Ključne riječi: *Derivati benzotiazola, metode priprave, antitumorsko i antivirusno djelovanje, antifungalno i antibakterijsko djelovanje*

Uvod

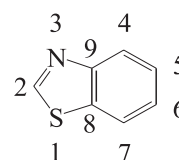
Dvadeseto stoljeće obilježeno je s jedne strane drastičnim smanjenjem smrtnosti uzrokovanih infektivnim bolestima, a s druge strane porastom kontrole tumorskih bolesti. Usprkos tome, mikroorganizmi i virusi te tumorske bolesti još uvijek predstavljaju ogromnu opasnost za ljudsko zdravlje. To najbolje potkrijepljuje i činjenica da su virusne i tumorske bolesti drugi po redu uzročnici smrti u današnjim razvijenim društvima. Da bi se te bolesti što uspješnije mogle kontrolirati, potreban je konstantan razvoj novih i efikasnijih lijekova. Stoga se ulažu golemi naponi za pronalaženje novih supstancija koje pokazuju antitumorsko i/ili antivirusno djelovanje.

Dvije potencijalne mete za antivirusne i antitumorske supstancije su DNA uzvojnica i skupine proteina (kao npr. topozomeraze,^{1,2} tirozin-kinaze,³⁻⁵ itd.). Zbog toga dva važna pristupa u pronalaženju novih biološki aktivnih supstancija idu prema sintezi novih interkalatora i spojeva koji se vežu u utor DNA s jedne strane te s druge strane prema pronalaženju spojeva koje inhibiraju specifične proteine.

Premda benzotiazolna jezgra nije izolirana u velikom broju prirodnih spojeva,⁶⁻⁸ mehanizam djelovanja biološki aktivnih spojeva s uključenom benzotiazolskom jezgrom nije u mnogim slučajevima do kraja razjašnjen. Poznato je da oni inhibiraju različite enzime, te su sastavni dio lijekova kojima je namjena inhibiranje odgovarajućih enzima uključenih u patološke procese. Sintetski derivati benzotiazola pokazuju širok spektar biološkog djelovanja, te je ispitivana njihova biološka aktivnost radi pronalaženja potencijalnih lijekova.

Struktura i svojstva benzotiazola

Molekula benzotiazola sastoji se od tiazolnog prstena kondenziranog na benzensku jezgru (slika 1).

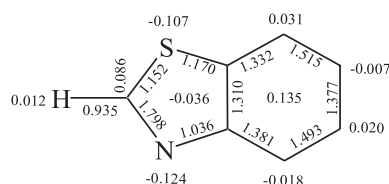


Slika 1 – Strukturna formula benzotiazola i pravilo numeriranja benzotiazolnog prstena

Fig. 1 – Benzothiazole structural formula and numbering rule for benzothiazole ring

Benzotiazol je neutralna molekula s delokaliziranim elektronima, pri čemu se najveće vrijednosti negativnog naboja nalaze na atomima dušika i sumpora. Znatan pozitivni naboj na atomu C-2 je u skladu s eksperimentalno potvrđenom osjetljivošću tog ugljikovog atoma za reakcije s elektrofiliima. Vrijednosti Wibergovih veza dokazuju da veza C-2-N ima svojstvo dvostruke veze, dok ostale veze u tiazolnom dijelu molekule pokazuju svojstvo jednostruke veze. Ukupan naboj u heterocikličkom dijelu molekule je negativan, dok je benzenski prsten pozitivan (slika 2).⁹

Reakcije supstitucije mogu se provesti kako na benzenskom tako i na tiazolnom dijelu molekule.



Slika 2 – Molekulski dijagram benzotiazola (prikazani su iznosi naboja atoma, Wibergovih veza te ukupnog naboja u benzenskom prstenu i tiazolnom dijelu molekule)⁹

Fig. 2 – Molecular diagram of benzothiazole (atom charge, Wiberg bond indices, total charge in the benzene ring and in the thiazole moiety)

Priprava acikličkih i cikličkih derivata benzotiazola

Mnogi industrijski i biološki zanimljivi spojevi sadrže benzotiazolnu jezgru u svojoj strukturi. Zato postoji velik interes za pronalaženje novih načina pripreme benzotiazola, kao i usavršavanje postojećih metoda radi dobivanja produkata u što boljem iskorištenju i sa što manje reakcijskih stupnjeva.

Derivati benzotiazola mogu se pripremiti na dva osnovna načina:

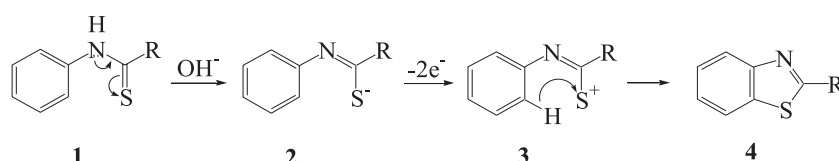
- zatvaranjem tiazolnog prstena iz nekog derivata benzena
- reakcijama na već postojećoj benzotiazolnoj jezgri

Priprava acikličkih derivata benzotiazola

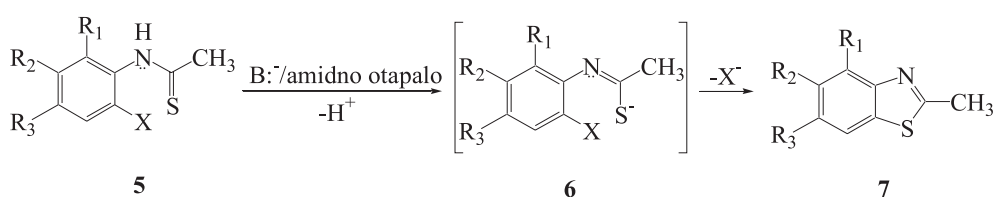
Jedna od najstarijih metoda pripreme benzotiazola je ciklizacija tioanilida. Jacobsonova¹⁰ sinteza i danas je u širokoj primjeni.¹¹

Tioamidi koji nastaju iz primarnih aromatskih amina daju benzotiazole uz intramolekulsku eliminaciju dvaju atoma vodika. U većini slučajeva do reakcije dolazi u prisutnosti oksidansa, a prema Jacobsonovom postupku oksidacija se provodi u lužnatom mediju s kalijevim heksacijanoferatom(III).

Za reakciju oksidacije tioanilida u benzotiazole *J. Metzger* i *H. Plank*¹² predložili su mehanizam prikazan na shemi 1.

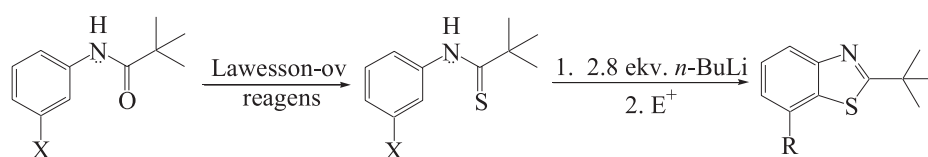


Shema 1
Scheme 1



$R_1 = \text{H, Cl}$
 $R_2 = \text{H, Cl, NO}_2$
 $R_3 = \text{H, Cl, CH}_3, \text{NO}_2$
 $X = \text{Cl, Br}$

Shema 2
Scheme 2



8: X = F
9: X = Cl

10: X = F
11: X = Cl

12-21

R = Me, MeS, NH₂, CONH*t*-Bu, COOH, PhCO, CHO, C₆H₁₀OH, OH, CH₂OH

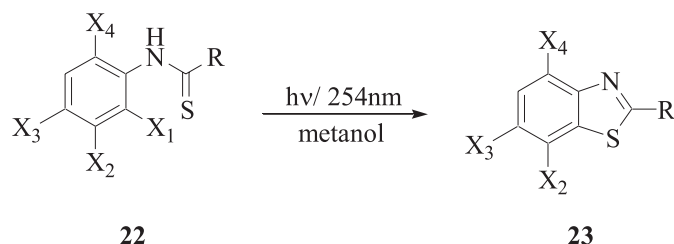
Shema 3
Scheme 3

Za tu reakciju uočena je važnost prirode supstituenta, kao i položaj supstituenta na aromatskom dijelu tioanilida u odnosu na atom dušika.^{12–15} Uočeno je da ciklizaciju olakšavaju supstituenti u aromatskom prstenu koji doprinose povećanju elektronske gustoće u *ortho*-položaju prema atomu dušika. Ciklizaciju otežavaju ili potpuno onemogućavaju skupine koje odvlače elektrone. Tako npr. oksidacijom *N*-fenilacetamida nastaje 2-metilbenzotiazol u 50 %-tnom iskorištenju.

Za pripravu 2-supstituiranih benzotiazola koji u benzenom prstenu imaju elektron-odvlačeću skupinu potrebno je kao početni derivat upotrebljavati tioanilid koji u *ortho*-položaju ima halogen. Takav početni spoj moguće je dobiti iz *o*-halogen-supstituiranog anilina, koji se najprije prevodi u amid, a zatim s P₂S₅ daje odgovarajući tioamid. Dobiveni *o*-halogentiobenzanilid **5** se dalje ciklizira u benzotiazol **7** metodom Spitulnika¹⁶ za dobivanje 2-metilbenzotiazola (shema 2).

Da bi se ova reakcija provodila s dobrim iskorištenjem, nije nužna aktivacija s jakim elektron-odvlačećom skupinom (NO₂) u *para*-položaju s obzirom na izlazeću skupinu (X). Najvjerojatnije presudnu ulogu u ovoj reakciji ima nukleofilni anionski sumpor u amidnom otapalu te ireverzibilnost i geometrija zatvaranja prstena.

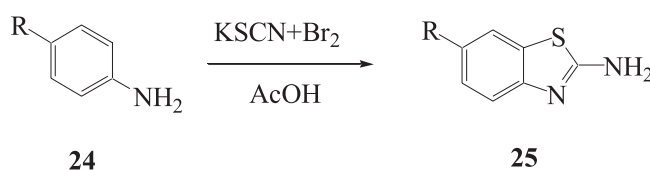
Stanetty i *Krumpak*¹⁷ razvili su metodu pripreme niza 2,7-disupstituiranih benzotiazola **12–21** prema sljedećoj reakcijskoj shemi (shema 3).



R = CH₃, CH₂C₆H₅, C₆H₅, indol-1-il, 1,3-dicikloheksan-2-il,
5,5-dimetil-1,3-dioksocikloheksan-2-il

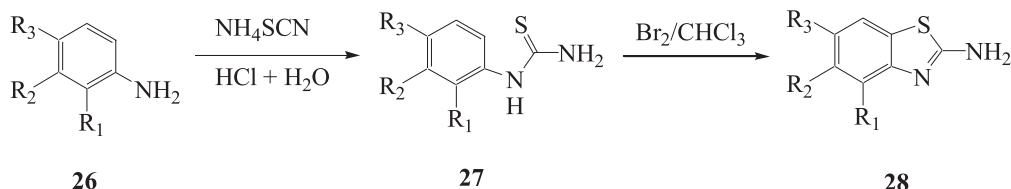
X₁ = Cl, Br
X₂ = Cl, CH₃
X₃ = H, Br
X₄ = H, CH₃

S h e m a 4
S c h e m e 4



R = OCF₃, F, Br, CO₂Et, NO₂, Ph, Me, Et
CF₃, *n*-alkil, CH₂CF₃, COCF₃, SCF₃, OCHF₂,
OCH₂CF₃, OCH₂C₂F₅, OCF₂CHF₂, OC₂F₅, C₂F₅

S h e m a 5
S c h e m e 5



R₁ = R₃ = H, R₂ = OCF₃
R₁ = OCF₃, R₂ = R₃ = H
R₁ = R₂ = H, R₃ = SO₂CH₃, OCH₃, I

S h e m a 6
S c h e m e 6

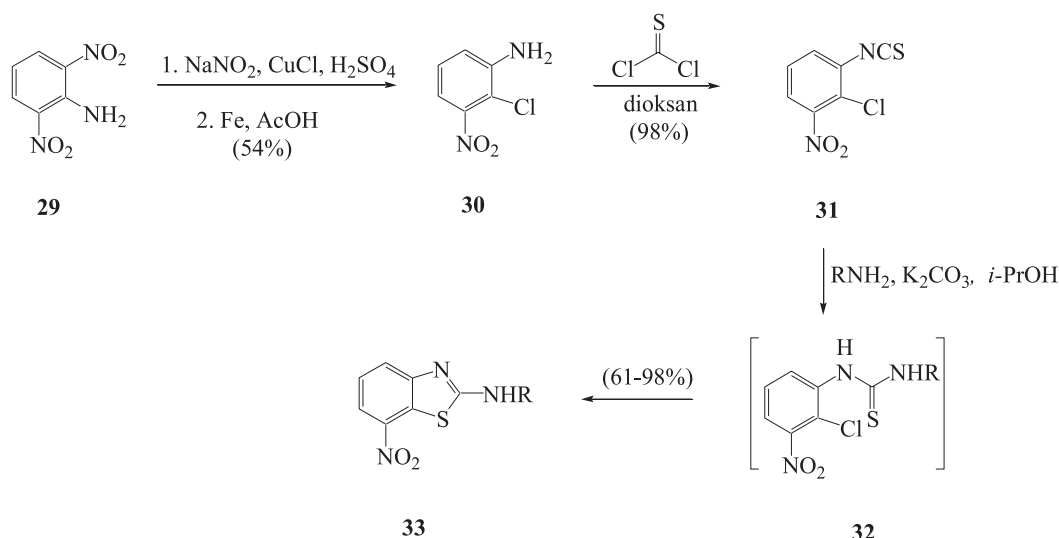
Također, može se provesti i fotokemijska ciklizacija o-halogen-supstituiranih benzotiazola radi dobivanja benzotiazolne jezgre. Indijski autori¹⁸ pripravili su niz 2-supstituiranih benzotiazola **23** fotokemijskim zatvaranjem prstena odgovarajućih tioamida u metanolu (shema 4).

Postoje dva klasična načina pripreme supstituiranih 2-aminobenzotiazola. Jedan od njih je jednostupnjeva reakcija¹⁹ odgovarajućeg anilina **24** s KSCN-om i bromom u octenoj kiselini. Pri tome nastaju odgovarajući supstituirani 2-aminobenzotiazoli **25** u dobrim iskorištenjima²⁰ (shema 5).

Druga klasična metoda²¹ pripreme supstituiranih 2-aminobenzotiazola je ciklizacija feniltiourea **28** s bromom u kloroformu²⁰ (shema 6).

Navedenim ili malo modificiranim metodama mogu se pripremiti *N*-alkilni i *N*-arilni derivati 2-aminobenzotiazola.

Iz komercijalno dostupnog 2,6-dinitroanilina **29** Huang i Connolly razvili su učinkovitu metodu pripreme *N*-alkilnih i *N*-arilnih derivata 2-amino-7-nitrobenzotiazola u iskorištenjima od $\gamma = 61\text{--}98\%$ ²² (shema 7). Kada su u reakciji upotrijebljeni aromatski amini s elektron-odvlačim skupinama, zadnji stupanj reakcije vremenski je dulje trajao i dobiveni su produkti s manjim iskorištenjem. Aromatski amini s elektron-donorskim supstituentima davali su produkte u izvrsnim iskorištenjima. To je jednostavna i opća metoda koja se može primijeniti za dobivanje čitavog niza 2-(*N*-alkil(aril)-amino)-7-nitrobenzotiazola **33**.



R = CH₃, *n*-butil, piridin-2-il, fenil, 2,6-dimetilfenil, ciklopentil, cikloheksil, 3,4,5-trimetoksifenil, 4-klorofenil, 4-kloro-2-fluorofenil

S h e m a 7
S c h e m e 7

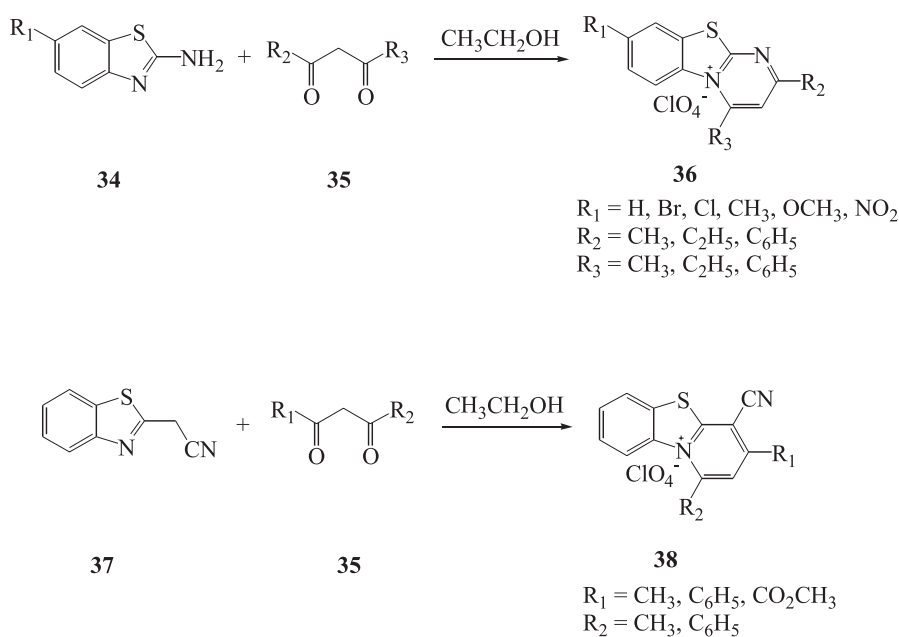
Priprava cikličkih derivata benzotiazola

Poznato je da 2-amino- i 2-cijanometilbenzotiazoli reagiraju s različitim reagensima dajući pri tome cikličke produkte. Tako su krajem 60-ih godina 20-og stoljeća ruski znanstvenici *Chuiguk* i *Volovento* sa svojim suradnicima pripravili niz tiazolo[3,2-*a*]pirimidinijevih i pirimido[2,1-*b*]benzotiazolijevih perklorata u iskorištenjima od $\gamma = 17\text{--}97\%$.^{23–25} Zagrijavanjem derivata 2-aminobenzotiazola **34** ili 2-cijanometilbenzotiazola **37** s β -diketonima **35** ili β -klorvinil-ketonima dolazi do ciklizacije, pri čemu nastaju tiazolo-pirimidinijevi **36** ili pirimidobenzotiazolijevi **38** perklorati (shema 8).

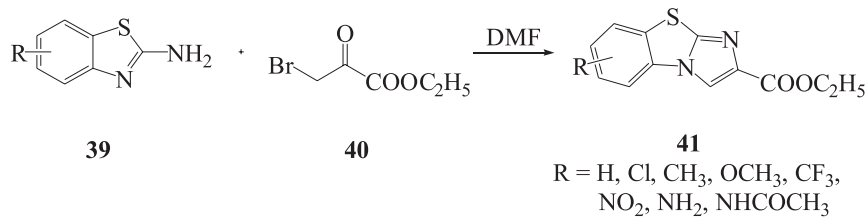
Sljedeću skupinu cikličkih benzotiazola pripravila je skupina talijanskih kemičara, koji su reakcijom derivata 2-aminobenzotiazola i etil-bromopiruvata u DMF-u sintetizirali niz 2-etoksikarbonilimidazo[2,1-*b*]benzotiazola **41** (shema 9).²⁶

Skupinu 2*H*-pirimido[2,1-*b*]benzotiazol-2-ona **44** u iskorištenjima od $\gamma = 68\text{--}86\%$ pripremio je Dietrich Doep sa suradnicima. (shema 10).²⁷

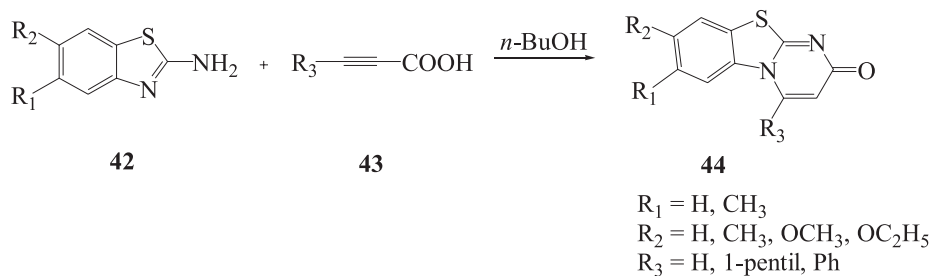
Seriju 4*H*-pirimido[2,1-*b*]benzotiazola²⁸ **48** pripremio je *Shaabani* sa suradnicima u iskorištenjima od $\gamma = 50\text{--}80\%$ (shema 11).



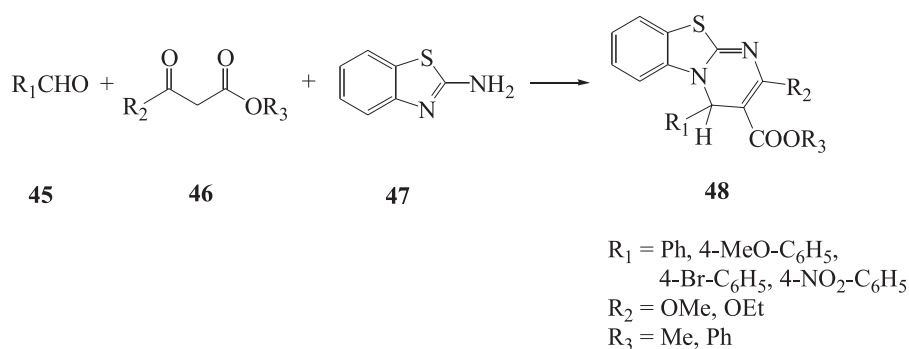
S h e m a 8
S c h e m e 8



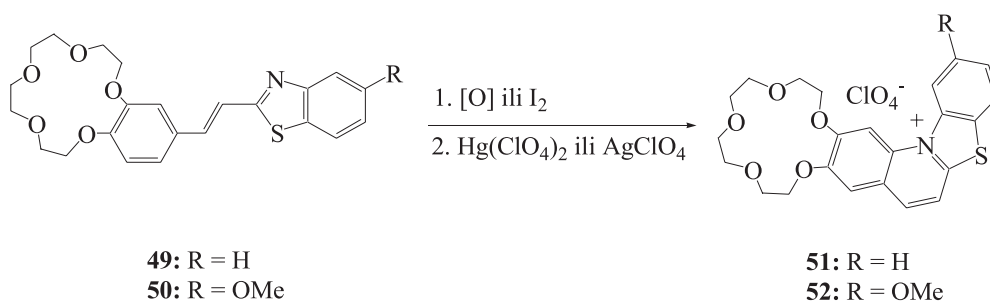
S h e m a 9
S c h e m e 9



S h e m a 10
S c h e m e 10



S h e m a 11
S c h e m e 11



S h e m a 12
S c h e m e 12

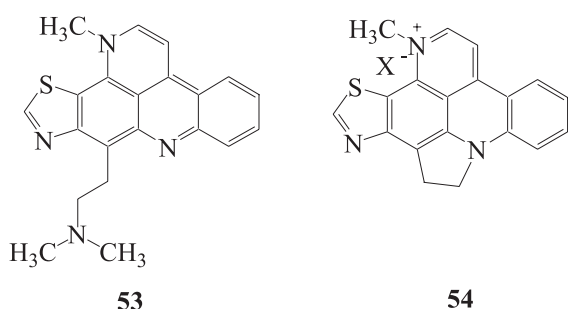
Skupina ruskih kemičara objavila je 2003. da su razvili foto-kemijsku metodu pripreme kojom produženim osvjetljavanjem 2-stirilbenzotiazola **49** i **50** uz prisutstvo $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$

ili AgClO_4 dolazi do elektrocikličke reakcije. Na kraju oksidacijskim procesom nastaje odgovarajući cikloprodukt **51** i **52** (shema 12).^{29, 30}

Biolško djelovanje benzotiazola

Antitumorsko i antivirusno djelovanje benzotiazola

Posljednjih godina posebna se pažnja posvećuje supstituiranim benzotiazolima koji pokazuju antitumorsko djelovanje s obzirom da u svijetu raste broj tumorskih oboljenja. Jedan od prvih spojeva te vrste je dercitin **53**, koji u svojoj strukturi sadrži benzotiazolnu jezgru. To je prirodni alkaloid izoliran iz morske spužve *Dercitus sp.*^{31, 32} Spoj **53** je osim inhibicije rasta stanica leukemije P388 pokazao i aktivnost protiv virusa *Herpes simplex* tipa 1. Iz spužve *Dercitus sp.* istodobno je izoliran i ciklodercitin **54**. Struktura dercitina **53** i ciklodercitina **54** prikazane su na slici 3.



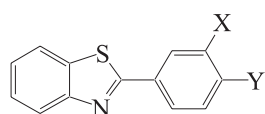
Slika 3 – Strukture dercitina **1** i ciklodercitina **2**

Fig. 3 – Structure of dercitine **1** and cyclodercitine **2**

Od početka devedesetih godina skupina istraživača sa sveučilišta u Nottinghamu bavi se sintezom i biološkim ispitivanjem 2-supstituiranih benzotiazola.³³ Spojevi iz te skupine koji su se pokazali najzanimljivijima prikazani su na slici 4.

Na spojevima **55–60** provedena su *in vivo* ispitivanja, a autori navode da spoj **57** snažno inhibira stanice raka dojke.

Nastavljena su daljnja istraživanja na tom tipu spojeva, pri čemu su mijenjani supstituenti na osnovnoj strukturi molekule.



55–60

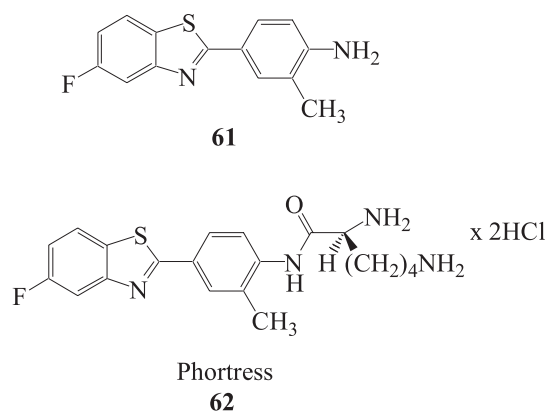
- 55:** X = H, Y = NH₂
56: X = NH₂, Y = H
57: X = CH₃, Y = NH₂
58: X = I, Y = NH₂
59: X = Br, Y = NH₂
60: X = Cl, Y = NH₂

Slika 4

Fig. 4

Na taj način došlo se do spoja **61** (slika 5), koji je pokazao izvanrednu antitumorsku aktivnost i selektivnost prilikom ispitivanja u NCI na nizu od 90 tumorskih stanica. Najbolju aktivnost pokazao je na stanicama raka dojke i jajnika. Da bi mu se povećala topljivost, spoj **61** preveden je u lizinski

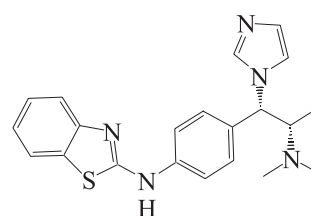
amid **62** (slika 5). Na taj način pripravljen je pro-lijek koji zadovoljava kriterije topljivosti u vodi i kemijske stabilnosti. Spoj **62** ulazi u stanicu preko receptora u citoplazmi. U stanici citokromski P450 enzim 1A1 hidrolizira spoj **62** u aktivnu supstanciju **61** koja stvara adukt s DNA i uzrokuje smrt stanice. Taj spoj je 2004. godine ušao u 1. fazu kliničkih ispitivanja pod zaštićenim imenom Phortress.



Slika 5

Fig. 5

Još jedan od derivata benzotiazola koji pokazuje izrazito dobru antitumorsku aktivnost (na stanice raka dojke, pluća i prostate) i selektivnost je i anilinski derivat **63** (slika 6). Razvijena je od strane istraživača iz Jansen Research Foundation (Belgija) i trenutno se nalazi u predkliničkim ispitivanjima. Taj spoj je snažan inhibitor metabolizma svih *trans*-retinolskih kiselina jer djeluje kao inhibitor CYP26A koji spada u skupinu citokrom P450 enzima. Neki tipovi tumorskih stanica (prostate, pluća i dojke te kod nekih akutnih leukemija) pojačano ekspimiraju enzim hidrolazu CYP26A.



63

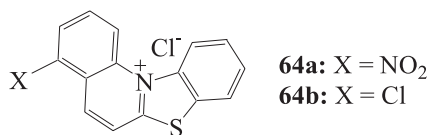
R116010

Slika 6

Fig. 6

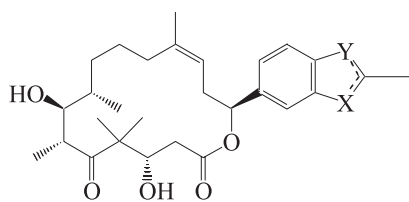
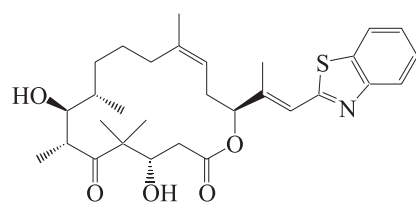
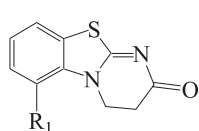
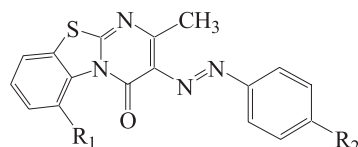
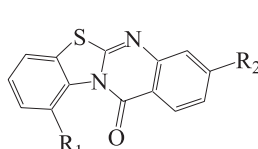
Supstancije koje inhibiraju taj enzim mogle bi predstavljati novu skupinu antitumorskih lijekova i omogućiti novi terapijski pristup liječenju retinoidnom terapijom.³⁴

Krajem 80-ih i početkom 90-ih godina 20-og stoljeća skupina znanstvenika sa sveučilišta u Puerto Ricu objavila je seriju benzazolo[3,2- α]kinolinijevih klorida koji su pokazali inhibitorску aktivnost na neke vrste leukemija i tumora.^{35,36} Iz te skupine spojeva od benzotiazolnih derivata najbolju aktivnost je pokazao 4-nitrobenzotiazolo[3,2- α]kinolinijev klorid **64a** i 4-klorbenzotiazolo[3,2- α]kinolinijev klorid **64b** (slika 7).

Slika 7
Fig. 7

Ispitivanjem mehanizma djelovanja te vrste spojeva utvrđeno je da djeluju na uzvojnici DNA kao interkalatori.^{35,37,38} Međutim, citotoksični potencijal te vrste spojeva nije odgovarao njihovom vezanju na DNA.³⁵ Dodatnim biološkim ispitivanjima utvrđeno je da ta skupina spojeva također inhibira topoizomerazu II. Iz dobivenih rezultata zaključeno je da primijećena citotoksična svojstva te vrste spojeva više ovisi o njihovoj sposobnosti inhibicije topoizomeraze II nego o njihovom afinitetu vezanja na uzvojnici DNA kao interkalatora.³⁶

Skupina istraživača iz Novartis Pharma AG objavila je 2000. godine biološka ispitivanja na seriji heterocikličkih derivata epitolona A i B (prirodni 16-člani makrolidi) uspoređujući njihovu antitumorsku aktivnost s antitumorskim lijekom paklitakselom i taksoterom.^{39,40} Među ispitivanim spojevima bili su i benzotiazolni derivati **65** i **66** (slika 8).

Slika 8
Fig. 8Slika 8
Fig. 8a: R₁ = Cl
b: R₁ = CH₃a: R₁ = H, R₂ = Br
b: R₁ = H, R₂ = Cl
c: R₁ = Cl, R₂ = Br
d: R₁ = R₂ = Cl
e: R₁ = CH₃, R₂ = Br
f: R₁ = CH₃, R₂ = ClSlika 9
Fig. 9a: R₁ = Cl, R₂ = H
b: R₁ = Cl, R₂ = NO₂
c: R₁ = CH₃, R₂ = H
d: R₁ = CH₃, R₂ = NO₂Tablica 1 – Biološka aktivnost spoja **18** u usporedbi s antitumorskim lijekovima paklitakselom i taksoteromTable 1 – Biological activity of compound **18** in comparison with antitumor drugs paclitaxel and taxotere

Supstancija	Polimerizacija tubulina (%)	Inhibicija rasta (IC ₅₀ [nM]) ^a			
		KB-31 ^b	KB-8511 ^c	1A9 ^d	1A9/PTX 10 ^e
65a	79	0,45 ± 0,06	0,23	-	-
65b	71	52,7 ± 8,9	-	-	-
66	-	0,21 ± 0,07	0,08 ± 0,04	0,19 ± 0,1	2,6 ± 2,5
Paklitaksel (Taxol®)	44	6,08 ± 1,19	1133 ± 74	-	-
Taksotere	-	-	-	1,1	32,0 ± 6,8

^a inhibicija rasta stanica tumora nakon 72 h izloženosti djelovanja supstancije

^b ljudska epidermalna linija tumorskih stanica

^c podvrsta KB-31 stanica koje su rezistentne na paklitaksel

^d tumorske stanice raka jajnika

^e podvrsta tumorskih stanica 1A9 rezistentnih na taksol

^a inhibition of tumor cells growth after 72 hours of exposure on compound activity

^b human epidermoid cancer cell line

^c taxol-resistant KB cell line

^d human ovarian cancer cell line

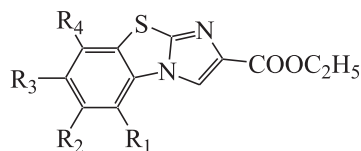
^e taxol-resistant 1A9 cell line

Ta skupina spojeva također se pokazala aktivnom na različite rezistentne tipove tumorskih stanica. Iz te skupine spojeva benzotiazolni derivat **66** pokazao je izuzetno dobre antitumorske rezultate *in vitro* (tablica 1.), te spada u skupinu epitolona koji su do sada pokazali najjače djelovanje na tumorske stanice.

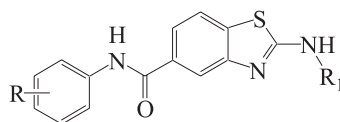
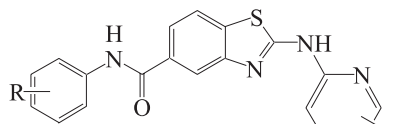
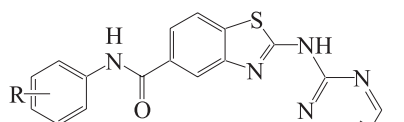
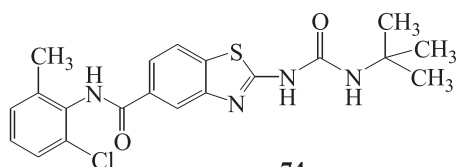
El-Sherbeny sa suradnicima objavila je 2000. seriju pirimido[2,1-b]benzotiazolnih i benzotiazolo[2,3-b]kinazolin-5-onskih derivata (slika 9).⁴¹ Pripravljene supstancije su pokazale aktivnost na različite tumorske stanice i na virus Herpes simplex-1. Spoj **68c** pokazao je najbolje djelovanje na virus Herpes simplex-1. Spojevi **69c** i **d** izrazito su aktivni na stanice leukemije HL-60, dok je spoj **69d** također pokazao i veoma dobru inhibiciju stanica raka pluća HOP-92. Iz te skupine spojeva najslabije antitumorsko djelovanje pokazao je spoj **67a**.

Talijanski znanstvenici objavili su 2001. sintezu i anti-tumorsko djelovanje supstituiranih 2-etoksikarbonilimidazo[2,1-b]benzotiazola koji su pokazali aktivnost na 60 različitih linija tumorskih stanica. Najbolju aktivnost pokazali su spojevi **70a-d** (slika 10).²⁶

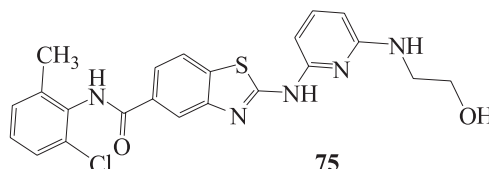
Znanstvenici iz američke farmaceutuske tvrtke Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical proveli su biološka ispitivanja na skupini 2-amino(hetero)arilbenzotiazol-6-anilida **71–73**⁴² (slika 11).

**70a-d**

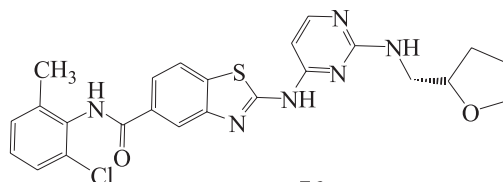
- 70a:** R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Cl, R₄ = H
70b: R₁ = H, R₂ = H, R₃ = CH₃, R₄ = H
70c: R₁ = H, R₂ = H, R₃ = OCH₃, R₄ = H
70d: R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Cl, R₄ = Cl

Slika 10
Fig. 10**71****72****73**Slika 11
Fig. 11**74**

Lck IC₅₀ = 4 nM
 prolif. T-stan. IC₅₀ = 1,1 mM

**75**

Lck IC₅₀ = 1 nM
 prolif. T-stan. IC₅₀ = 262 nM

**76**

Lck IC₅₀ = 0,5 nM
 prolif. T-stan. IC₅₀ = 475 nM

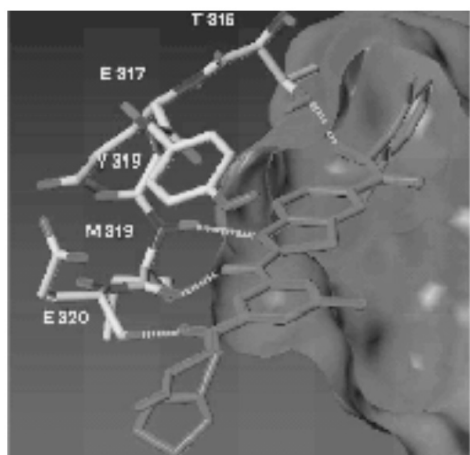
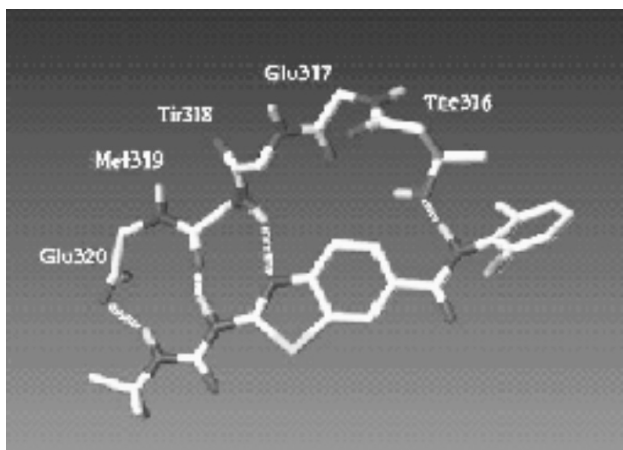
Slika 12
Fig. 12

Ti spojevi pokazali su snažnu inhibiciju proteina p56^{lck}, koji spada u skupinu nerekceptorskih tirozin-kinaza. p56^{lck} je uključen u staničnu signalizaciju koja se zbiva preko stanične membrane u asocijaciji s miristilatnom skupinom (tumorske bolesti). Pretpostavlja se da gubitak aktivnosti p56^{lck} proteina ima i značajnu ulogu u patologiji AIDS-a,⁴³ te bi inhibitori p56^{lck} mogli blokirati replikaciju HIV-1.⁴⁴ Osim toga mogli bi imati i potencijalnu važnost u tretiranju bolesti povezanih s T-stanicama kao što su autoimune i upalne bolesti te u prevenciji odbacivanja organa nakon transplantacije. Iz te skupine spojeva najaktivniji su bili spojevi **74–76** (slika

12), koji su pokazali snažnu inhibiciju enzima p56^{lck} vezanjem u ATP aktivno mjesto proteina (slika 13).

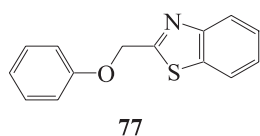
Godinu dana kasnije skupina turskih znanstvenika objavila je biološko djelovanje različitih benzazolnih derivata na topoizomerazu II eukariotske DNA. Iz te skupine spojeva benzotiazol **77** pokazao je najjače inhibitorsko djelovanje. (slika 14)⁴⁵

Sugano sa suradnicima objavio je 2005. godine sintezu i biološku aktivnost skupine amidnih derivata benzotiazola **78** (slika 15), koji su pokazali snažnu inhibiciju različitih tumorskih staničnih linija.⁴⁶



Slika 13 – Predložene konformacije spojeva **74**, **75** (tamno) i **76** (svijetlo) u ATP aktivno mjesto Lck proteina

Fig. 13 – Proposed conformations of compounds **74**, **75** (dark) and **76** (light) in the ATP binding site of Lck

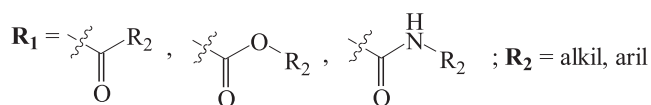
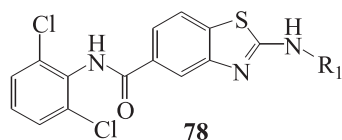


Spoj	IC ₅₀ /μmol dm ⁻³
77	11,4
etoposid	21,8

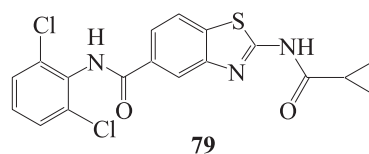
Slika 14
Fig. 14

Iz te skupine spojeva najaktivnijim se pokazao spoj **79**, koji je pokazao snažnu *in vivo* inhibiciju rasta tumorskih stanica (slika 16).⁴⁷

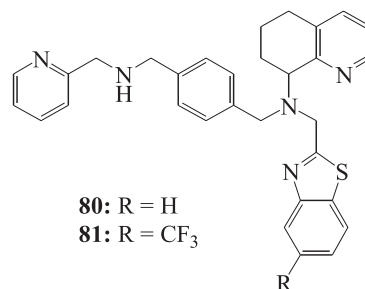
Godine 2005. skupina kemičara iz američke farmaceutske tvrtke AnorMED Inc. patentirala je seriju heterocikličkih spojeva⁴⁸ koji su pokazali značajnu aktivnost kao anti-HIV inhibitori. Među spojevima koji su pokazali dobru anti-HIV aktivnost su i benzotiazolni derivati **80** i **81** (slika 17). Ta skupina spojeva djeluje kao inhibitori kemokin-receptora čime onemogućuju ulazak virusa HIV-a u zdravu stanicu.



Slika 15
Fig. 15

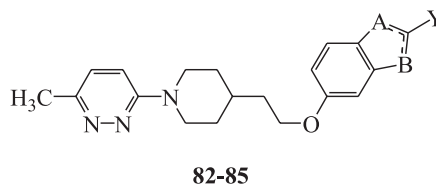


Slika 16
Fig. 16



Slika 17
Fig. 17

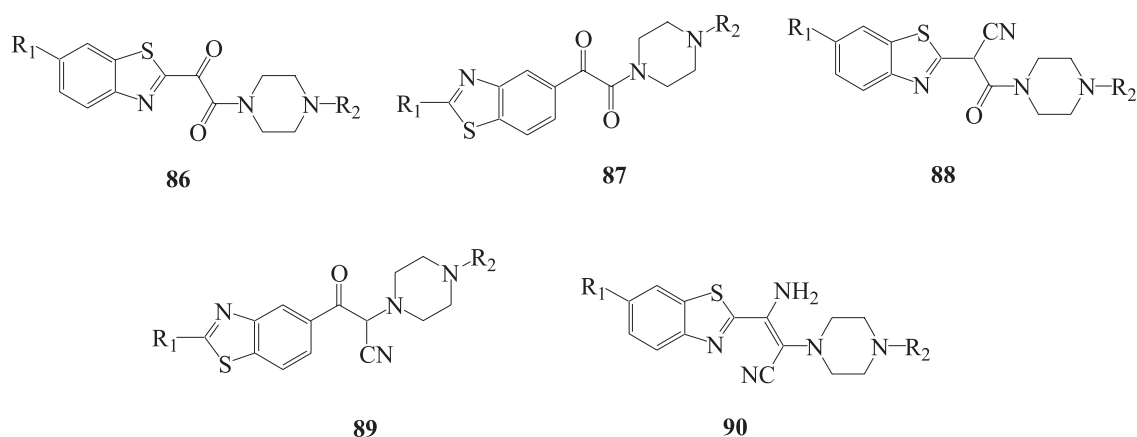
Sredinom 2005. godine skupina znanstvenika iz Australije objavila je skupinu etoksibenzotiazola koji su pokazali djelovanje na različite vrste rinovirusa koji su uzročnici infekcija respiratornog trakta.⁴⁹ Među spojevima koji su pokazali antivirusno djelovanje bili su i benzotiazoli **82–85** (slika 18).



- 82**: A = S, B = N, Y = OCH₂CH₃
83: A = N, B = S, Y = OCH₂CH₃
84: A = N, B = S, Y = OCH₂CH₂CH₃
85: A = N, B = S, Y = SCH₂CH₃

Slika 18
Fig. 18

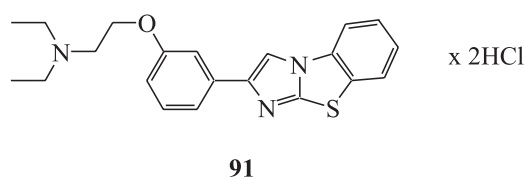
Krajem 2005. američka farmaceutska tvrtka Bristol-Myers Squibb Co. patentirala je seriju antivirusnih derivata benzotiazola **86–90** (slika 19), koji onemogućuju ulazak virusa HIV-a u stanicu, te bi se mogli upotrebljavati u liječenju



Slika 19
Fig. 19

AIDS-a i infekcija uzrokovanih HIV-om. Pretpostavlja se da se ti spojevi vežu na vanjsku ovojnica virusnog proteina gp120, pri čemu onemogućavaju prepoznavanje sa staničnim receptorom CD4⁺. Naime, T-limfociti CD4⁺ su glavne mete virusnih infekcija što na kraju dovodi do smanjenja staničnog imuniteta. Kada broj T-limfocita CD4⁺ padne ispod 200 stanica/μl značajno raste vjerojatnost nastajanja oportunističkih infekcija i tumora. Ti spojevi pokazali su se značajnima upravo zbog svoje aktivnosti na različite tipove laboratorijskog i kliničkog virusa HIV-1.⁵⁰

Godine 2006. skupina znanstvenika iz japanske farmaceutske tvrtke Yamnouchi Pharmaceutical Co. objavili su biološku aktivnost spoja **91** (slika 20), koji spada u skupinu imidazo[2,1-β]benzotiazola.⁵¹ Taj spoj je inhibitor endotelnih stanica koje sudjeluju u angiogenezi, procesu koji ima ključnu ulogu u rastu i metastaziranju čvrstih tumora.^{52,53}

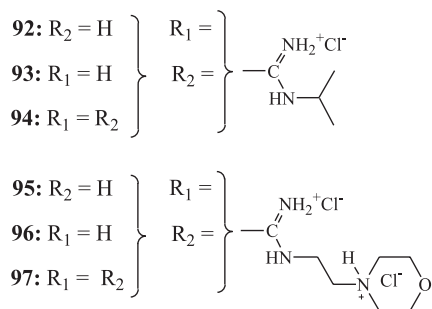
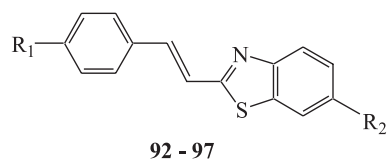


YM-201627

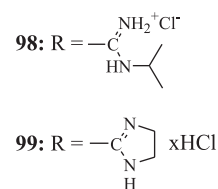
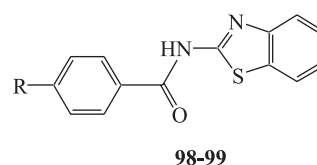
Slika 20
Fig. 20

Grupa istraživača iz Zagreba sintetizirala je čitav niz amidino supstituiranih benzotiazola i stiril-benzotiazola i ispitala njihovo antumorsko djelovanje na više vrsta stanica humanog karcinoma. Nađeno je da 2-stirilbenzotiazoli s amidinskim supstituentima **92–97** pokazuju dobru antumorsko djelovanje *in vitro*.⁵⁴

Ista skupina autora⁵⁵ sintetizirala je niz *N*-(benzotiazol-2-il) benzamida supstituiranih s amidino-supstituentima i određivala njihovo antumorsko djelovanje. Spojevi **98 i 99** pokazali su veoma dobro antumorsko djelovanje *in vitro* ali i toksičnost.



Slika 21
Fig. 21

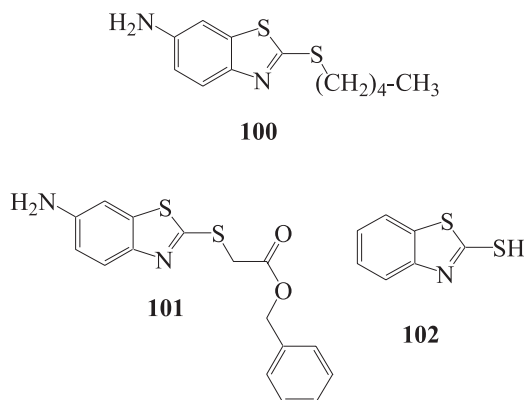


Slika 22
Fig. 22

Antifungalno i antiinfektivno djelovanje benzotiazola

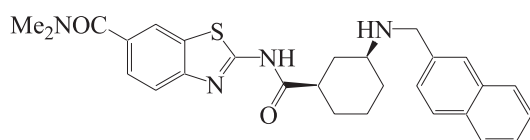
U posljednjih 25 godina drastično se povećao broj gljivičnih infekcija koje su često opasne po život. Razlog tomu je povećan broj pacijenata s AIDS-om te pacijenata podvrgnutih kemoterapiji i transplantaciji organa.

U svrhu pronalazjenja novih fungicidnih spojeva slovački autori^{56–58} ispituju antimikrobno djelovanje benzotiazola. Od niza sintetiziranih benzotiazola najbolje antifungalno djelovanje pokazali su spojevi **100** i **101**. Spoj **100** prvi puta je pripremljen 1979. godine⁵⁹ te pokazuje bolju fungicidnu aktivnost na određene mikroorganizme od komercijalnog fungicida 2-merkaptobenzotiazola **102**. Strukture spojeva **92–94** prikazane su na slici 23.



Slika 23
Fig. 23

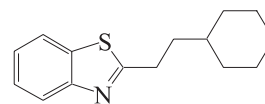
S obzirom da su najčešći uzročnici sistemske mikoze *Candida albicans* i *Aspergillus fumigatus*, povećan je interes za pronalazjenje spojeva sa širokim antifungalnim djelovanjem koji će uključivati gore navedene mikroorganizme. Jedan od pravaca je i dizajn inhibitora proteina *N*-mirstoiltransferaze koji je atraktivna antifungalna meta.⁶⁰ Krajem 2000. godine farmaceutska tvrtka Pfizer objavila je seriju novih spojeva s antifungalnim djelovanjem. Iz te skupine spojeva najbolju aktivnost pokazao je spoj **103** (slika 24), koji je pokazao inhibitorsku aktivnost prema proteinu *N*-mirstoil-transferazi.



103
Slika 24
Fig. 24

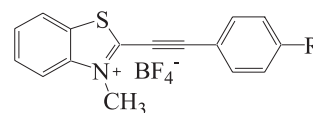
Skupina turskih autora⁶¹ bavi se ispitivanjem antibakterijskog djelovanja 2,5-disupstituiranih benzotiazola, benzoksazola i benzimidazola na pojedine Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije. Svi navedeni spojevi pokazuju veoma dobro antimikrobno djelovanje protiv enterobakterije *Pseudomonas aeruginosa*. Od benzotiazolnih spojeva iz te skupine najbolje djelovanje pokazao je spoj **104**,⁶² čija je struktura prikazana na slici 25.

Također, skupina slovačkih znanstvenika sintetizirala je seriju 2-feniletinilbenzotiazola i njihovih odgovarajućih soli i ispitala njihovu antibakterijsku i antifungalno djelovanje.⁶³ Iz te skupine spojeva najjače djelovanje pokazali su spojevi **105–108** (slika 26).



104

Slika 25
Fig. 25



105: R = H
106: R = OCH₃
107: R = CH(CH₃)₂
108: R = OC₆H₅

Slika 26
Fig. 26

Literatura References

1. P. B. Arimondo, C. Hélicne, *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents* **1** (2001) 219.
2. G. Capranico, M. Binaschi, *Biochim. Biophys. Acta* **1400** (1998) 185.
3. M. K. Paul, A. K. Mukhopadhyay, *Int. J. Med. Sci.* **1** (2004) 101.
4. R. J. Broadbridge, R. P. Sharma, *Curr. Drug Targets* **1** (2000) 365.
5. R. S. Herbst, *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* **59** (2004) 21.
6. A. C. Stierle, J. H. Cardelina II, F. L. Singleton, *Tetrahedron Lett.* **32** (1991) 4847.
7. H. Susuki, K. Shindo, A. Ueno, T. Miura, M. Takei, M. Sakakibara, H. Fukamachi, J. Tanaka, T. Higa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **9** (1999) 1361.
8. L. Chill, A. Rudi, Y. Benayahu, Y. Kashman, *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 7925.
9. P. Zahradník, *Chem. Papres* **44** (1990) 145.
10. P. Jacobson, *Ber.* **19** (1886) 1067.
11. I. Hutchinson, M. F. G. Stevens, A. D. Westwell, *Tetrahedron Lett.* **41** (2000) 425.
12. (a) J. Metzger, H. Plank, *Chim. Ind.* **75** (1956) 929.; (b) J. Metzger, H. Plank, *Chim. Ind.* **75** (1956) 1290.
13. V. Farcasan, J. Mester, *Stud. Univ. Babes-Bolyai, Ser. Chem.* **12** (1967) 69.
14. Y. Mizuna, K. Adachi, *Ann. Rept. Fac. Pharm. Kanazawa Univ.* **1** (1951) 8 [CA: **48** (1954) 9365.].
15. H. Saikachi, T. Hisano, *J. Pharm. Soc. Japan* **79** (1959) 557 [CA: **53** (1959) 17122f].
16. M. J. Spitulnik, *Synthesis* (1976) 730.
17. P. Stanetty, B. Krumpak, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 5130.
18. G. Jayanthi, S. Muthusamy, R. Paramasivam, V. T. Ramakrishnan, N. K. Ramasamy, P. Ramamurthy, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 5766.
19. a) H. P. Kaufmann, *Archiv. Pharm.* **266** (1928) 197.; b) H. P. Kaufmann, *Archiv. Pharm.* **273** (1935) 31.

20. P. Jimonet, F. Audiau, M. Barreau, J.C. Blanchard, A. Boireau, Y. Bour, M.A. Coleno, A. Doble, G. Doerflinger, C.D. Hu, M.H. Donat, J.M. Duchesne, P. Ganil, C. Gueremy, E. Honore, B. Just, R. Kerphirique, S. Gontier, P. Hubert, P.M. Laduron, J. Le Blevec, R. Meunier, J.M. Miquet, C. Nemecek, M. Pasquet, *J. Med. Chem.* **42** (1999) 2828.
21. A. Hegerschoff, *Chem. Ber.* **36** (1903) 3121.
22. S. Huang, P. J. Connolly, *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 9373.
23. S. I. Shul'ga, V. A. Chuiguk, *Khim. Geterots. Soed.* **5** (1972) 632.
24. S. I. Shul'ga, V. A. Chuiguk, *Khim. Geterots. Soed.* **5** (1972) 637.
25. V. A. Chuiguk, Y. M. Volovenko, *Khim. Geterots. Soed.* **4** (1975) 530.
26. G. Trapani, M. Franco, A. Latrofa, A. Reho, G. Liso, *E. J. Pharm. Sci.* **14** (2001) 209.
27. H. Wahe, P.F. Asobo, R.A. Cherkasov, A.E. Nkengfack, G.N. Folefoc, Z.T. Fomum, D. Doepp, *ARKIVOC* **15** (2003) 107.
28. A. Shabani, A. Rahmati, S. Naderi, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **15** (2005) 5553.
29. O. A. Fedorova, Y. V. Fedorov, E. N. Andryukhina, S. P. Gromov, M. V. Alfimov, *Pure Appl. Chem.* **75** (2003) 1077.
30. E. N. Andryukhina, O. A. Fedorova, Y. V. Fedorov, M. A. Panfilov, H. Ihmels, M. V. Alfimov, S. P. Gromov, *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.* **54** (2005) 1328.
31. G. P. Gunawardana, S. Kohomoto, S. P. Gunasekera, O. J. McConnell, F. E. Koehn, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 4856.
32. G. P. Gunawardana, S. Kohomoto, N. S. Burnes, *Tetrahedron Lett.* **30** (1989) 4359.
33. D. F. Shi, T. D. Bradshaw, S. Wrigley, C. J. McCall, P. Lelieveld, J. Fichtner, M. F. G. Stevens, *J. Med. Chem.* **39** (1996) 3375.
34. M. C. E. McFadyen, W. T. Melvin, G. I. Murray, *Mol. Cancer Ther.* **3** (2004) 363.
35. P. E. Vivas-Mejia, J. L. Rodriguez-Caban, M. Diaz-Velazquez, M. G. Hernandez-Perez, O. Cox, F. A. Gonzalez, *Mol. Cell. Biochem.* **177** (1997) 69.
36. P. E. Vivas-Mejia, O. Cox, F. A. Gonzalez, *Mol. Cell. Biochem.* **178** (1998) 203.
37. F. A. Gonzales, M. Liende, A. Báez, J. R. Ortiz, *Differentiation* **86** (1987) 125.
38. A. Báez, F. A. Gonzales, D. Vásquez, M. J. Waring, *Biochem. Pharmacol.* **32** (1983) 2089.
39. G. Bold, S. Wojeik, G. Caravatti, R. Lindauer, C. Stierlin, J. Gertsch, M. Wartmann, K.-H. Altmann, *ChemMedChem* **1** (2006) 37.
40. K. C. Nicolaou, B. A. Pratt, S. Arseniyadis, M. Wartmann, A. O'Brate, P. Giannakakou, *ChemMedChem* **1** (2006) 41.
41. M. A. El-Sherbeny, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **50** (2000) 848.
42. J. Das, R. V. Moquin, J. Lin, C. Liu, A. M. Doweiko, H. F. DeFex, Q. F., S. Pang, S. Pitt, D. R. Shen, G. L. Schieven, J. C. Barrish, J. Wityak, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **13** (2003) 2587.
43. J.M. Trevillyan, X.G. Chiou, S.J. Ballaron, Q.M. Tang, A. Buko, M.P. Sheets, M.L. Smith, C.B. Putman, P. Wiedeman, N. Tu, D. Madar, H.T. Smith, E.J. Gubbins, U.P. Warrior, Y.W. Chen, K.W. Mollison, C.R. Faltynek, S.W. Djuric, *Arch. Biochem. & Biophys.* **364** (1999) 19.
44. S. K. Manna, B. B. Aggarwal, *J. Immunol.* **164** (2000) 5156.
45. A. Pinar, I. Yildiz, O. Temiz-Arpaci, N. L. Acan, E. Aki-Sener, I. Yalcin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **317** (2004) 670.
46. M. Yoshida, I. Hayakawa, N. Hayashi, T. Agatsuma, Y. Oda, F. Tanzawa, S. Iwasaki, K. Koyama, H. Furukawa, S. Kurakata, Y. Sugano, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **15** (2005) 3328.
47. P. Edwards, *Drug Discovery Today* **11** (2006) 671.
48. G. Bridger, R. Skerij, A. Kaller, C. Harwig, D. Bogucki, T. R. Wilson, J. Crawford, E. J. Mceachern, B. Atsma, S. Nan, Y. Zhou, D. Schols, C. Dennis, R. M. Di Fluri, *US Patent 6864265B2* (2005).
49. R. N. Brown, R. Cameron, D. K. Chalmers, S. Hamilton, A. Luttick, G. Y. Krippner, D. B. McConnell, R. Nearn, P. C. Stanislawski, S. P. Tucker, K. G. Watson, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **15** (2005) 2051.
50. T. Wang, J. F. Kadrow, N. A. Meanwell, *US Patent 2005/0272734A1* (2005).
51. N. Amino, Y. Ideyama, M. Yamano, S. Kuromitsu, K. Tajinda, K. Samizu, A. Matsuhisa, M. Kudoh, M. Shibasaki, *Cancer Lett.* **238** (2006) 119.
52. M. S. Pepper, N. Ferrara, L. Orci, R. Montesano, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **181** (1991) 902.
53. M. S. Pepper, N. Ferrara, L. Orci, R. Montesano, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **189** (1992) 824.
54. I. Čaleta, M. Grdiša, D. Mrvoš-Sermek, M. Cetina, V. Tralić-Kulenović, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *Il Farmaco* **59** (2004) 297.
55. K. Starčević, I. Čaleta, D. Cinčić, B. Kaitner, M. Kralj, K. Ester, G. Karminski-Zamola, *Heterocycles* **68** (2006) 2285.
56. H. Bujdaková, T. Kuchta, E. Sidórová, A. Gvozdjaková, *FEMS Microbiol. Lett.* **112** (1993) 329.
57. H. Bujdaková, M. Múčková, *Int. J. Antimicrob. Ag.* **4** (1994) 303.
58. H. Bujdaková, M. Múčková, M. Klobušický, E. Sidórová, *Mycopathologia* **130** (1995) 141.
59. E. Sidórová, Z. Olderová, F. Volná, G. Blöckinger, *Chem. Papers* **33** (1979) 830.
60. T. Ohtsuka, Y. Aoki, *Drugs of the Future* **28** (2003) 143.
61. İ. Ören, Ö. Temiz, İ. Yalçın, E. Şenar, N. Altanlar, *Eur. J. Pharm. Sci.* **7** (1998) 153.
62. İ. Yalçın, İ. Ören, E. Şenar, A. Akin, N. Uçartürk, *Eur. J. Pharm. Sci.* **27** (1992) 401.
63. P. Magdolen, P. Zahradnik, P. Foltinová, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **50** (2000) 1023.

SUMMARY**Synthesis and Biological Activity of Substituted Benzothiazole Derivatives***I. Čaleta and G. Karminski-Zamola*

Despite improvements in survival rates, cancer and viral diseases remain the second leading cause of death in the western world. Therefore, an area of major pharmaceutical interest over the last several decades has been the development of small molecules with antitumor and antiviral activity. Two potential targets for compounds with antitumor and antiviral activity are DNA and different types of proteins like tyrosine kinases or topoisomerase I/II. Therefore, the design of new intercalators, groove-binders and discovery of specific inhibitors of proteins are two important approaches in the search for new chemotherapeutic agents.

Over the past decade, development of small heterocyclic molecules as potential therapeutics has been an area of major interest. A large number of benzothiazole derivatives are of considerable biological and chemical interest. In the last several decades there has been a significant increase in the preparation of benzothiazole derivatives and their biological activity. Many 2-substituted benzothiazoles have been reported to display a large panel of biochemical properties, including antibacterial, antitumor, antiviral and antibiotic activities. Variation of substituents on the benzothiazole nuclei could potentially affect the interaction of the molecules with biological targets. Benzothiazole compounds received much attention from medicinal as well as synthetic organic chemists, not just due to their potential as biologically active compounds, but also as tools to study and visualize DNA. Because of their capacity to penetrate through cell membranes they were proposed for DNA visualization in fluorescent microscopy. These types of compounds are also interesting because of their applications in several areas as materials in electronics, as optical polymers and as anticorrosive protection.

*Department of Organic Chemistry
Faculty of Chemical Engineering and Technology
University of Zagreb, Marulićev trg 20
10 000 Zagreb, Croatia*

*Received April 27, 2007
Accepted June 6, 2007*