

## СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

УДК 615.277.3:547.327

С. А. ДЕМЧЕНКО, канд. фарм. наук, А. Є. ДУДНИК,  
Т. А. БУХТІАРОВА, д-р мед. наук, чл.-кор. НАМН України,  
Л. С. БОБКОВА, д-р фарм. наук, А. М. ДЕМЧЕНКО, д-р фарм. наук, проф.  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

### СИНТЕЗ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 1-(2-ІЗОПРОПІЛ-5-МЕТИЛФЕНОКСИМЕТИЛ)-3R-4-АРИЛ-5,6,7,8- ТЕТРАГІДРО-2,2a,8a-ТРИАЗАЦИКЛОПЕНТА[cd]АЗУЛЕНУ

**Ключові слова:** 2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азулені, конденсація, гідразид  
(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)оцтової кислоти, протипухлинна активність

S. A. DEMCHENKO, A. E. DUDNIK, T. A. BUKHTIAROVA, L. S. BOBKOVA,  
A. M. DEMCHENKO

SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of  
Ukraine», Kyiv

### SYNTHESIS AND ANTICANCER PROPERTIES OF 1-(2-ISOPROPYL-5- METHYLPHENOXYMETHYL)-3R-4-ARYL-5,6,7,8-TETRAHYDRO-2,2a,8a- TRIAZACYCLOPENTA[cd]AZULENE DERIVATIVES

**Key words:** 2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes, condensation, (2-isopropyl-5-methylphenoxy)  
acetic acid hydrazide, anticancer activity

На сьогодні для лікування пухлинної хвороби та досягнення паліативного ефекту, що призводить до зменшення пухлини і, відповідно, до клінічної ремісії, застосовують понад 50 протипухлинних препаратів, активних за різних форм злоякісних утворень. Відомі протипухлинні препарати з різними механізмами дії застосовують у схемах лікування. При цьому виражений клінічний ефект становить від 20% до 80%, в окремих випадках ремісія спостерігається протягом до 2 років, понад 10% хворих мають ремісію понад 3 років. Широке застосування набули циклофосфан, метотрексат, вінкристин, адриабластин [1]. Метотрексат у зв'язку з антифонлеатним ефектом пригнічує клітинний мітоз, гальмує ріст злоякісних новоутворень та є більше активним відносно клітин, що швидко ростуть. Адриаміцин на сьогодні є єдиним цитостатиком, що виявляє деяку активність відносно печінково-клітинної карциноми (лікувальний ефект становить 3–70%, найчастіше – 36,5%). Застосуванню цитостатичних препаратів перешкоджає механізм лікарської мультирезистентності.

Зазначені лікарські засоби мають необхідні лікувальні властивості, але виявляють значні побічні ефекти з боку системи кровотворення (лейкопенія, анемія, тромбоцитопенія), ЦНС (почуття втоми, головокружіння, головний біль, афазія, сонливість, судоми), репродуктивної системи (порушення остогенезу та сперматогенезу, олігоспермія, порушення менструального циклу, зниження лібідо, імпотенція), сечовидільної системи (гематурія, цистит, виражені порушення функції нирок), алергійні та дерматологічні реакції тощо.

Протипухлинну дію виявляють також деякі похідні триазолу. Так, відомий лікарський засіб Летрозол (Фемара) 4,4'-(1H-1,2,4-триазол-1-іл-метил)добензонітрил [2] використовують як протипухлинний гормональний засіб та антагоніст гормонів за злоякісних новоутворень молочної залози.

Актуальною проблемою є розширення арсеналу протипухлинних препаратів широкого спектру дії. Тому цей напрям є перспективним.

**Метою** цієї роботи було здійснення синтезу речовин із потенційно протипухлинними властивостями в ряду 2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азуленів та вивчення протипухлинної активності синтезованих сполук.

© Колектив авторів, 2018

## Матеріали та методи дослідження

Об'єктами нашого дослідження обрано похідні 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазациклопента[cd]азулену (**8**, *a-d*), що синтезовані нами кип'ятінням 3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепіну (**5**) із відповідними  $\alpha$ -галогенкетонами (**6**, *a-d*) в середовищі етилацетату та подальшої циклізації в лужному середовищі (рисунок).

Усі розчинники й реагенти (від Aldrich та Acros) використовували без додаткової очистки. Контроль за ходом реакції та чистотою синтезованих сполук здійснювали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol, F\_254, 1x10 см, елюенти – суміші хлороформ–метанол і етилацетат–гексан (9:1 та 1:1 v/v відповідно) із застосуванням УФ-детектора з довжиною хвилі опромінення 254 та 356 нм. Спектри  $^1\text{H-NMR}$  знімали на спектрометрі Varian Gemini 400 MHz (внутрішній стандарт – TMS, розчинник – ДМСO-d6).

Протиопухлинну активність досліджено у Національному інституті раку США (National Cancer Institute of Health, USA) у рамках Development Therapeutic Program.

Фармакологічний скринінг полягав у вивченні протиопухлинної активності сполук *in vitro* на лініях ракових клітин. Результат проведених досліджень виражали у відсотках росту клітин раку порівняно з контролем.

## Результати дослідження та обговорення

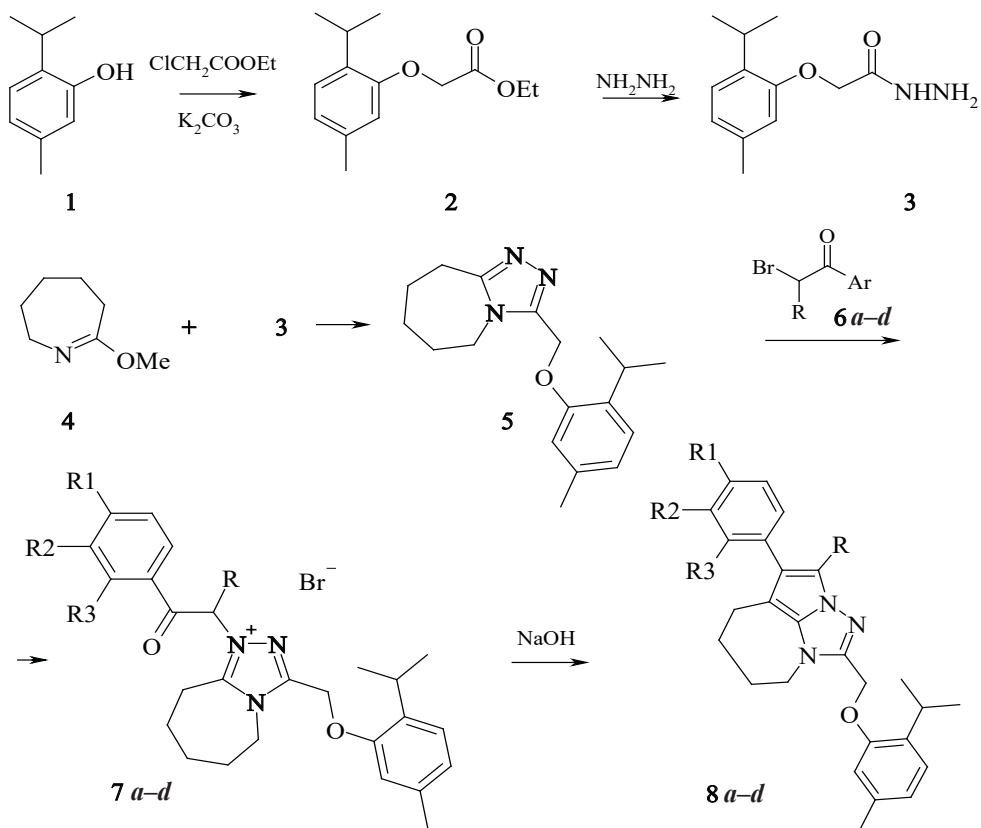


Рис. Схема синтезу похідних 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазациклопента[cd]азулену (**8 a-d**):

**7, 8 a** –  $\text{R} = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ; **b** –  $\text{R} = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ; **c** –  $\text{R} = \text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{F}$ ; **d** –  $\text{R} = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = -\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$

Гідразид (2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)оцтової кислоти (**3**) було одержано за методом [3] взаємодією тимоли з хлороцтовим естером із подальшою обробкою гідразин-гідратом у спиртовому розчині. 2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепін (**4**) одержано алкілюванням капролактаму диметилсульфатом за методом [4].

*Синтез 3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4-триазоло[4,3-а]азепіну (5).* Суміш 7,00 г (0,055 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепіну (**4**) та 11,12 г (0,05 моль) гідразиду (2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)оцтової кислоти (**3**) у 200 мл етанолу кип'ятили впродовж 1 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури. Осад, що утворився, відфільтрували та висушили. Без додаткового очищення одержаний осад розчиняли у 100 мл крижаної оцтової кислоти та кип'ятили впродовж 1 год. Після охолодження реакційну суміш виливали в 500 мл води з льодом. Осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували з пропанолу-2. Вихід – 10,17 г (68%).  $T_{\text{пл}} = 152\text{--}153\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Знайдено, %: N – 14,2,  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$ . Розраховано, %: N – 14,0. ЯМР- $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. ч.,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 1,09 (д, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 1,60–1,68 (м, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1,80 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2,28 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,92 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 3,14 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 4,06 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 5,20 (с, 2H,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ); 6,76 та 7,01 та 7,08 (д+с+д, 3H,  $\text{C}_6\text{H}_3$ ).

*Загальна методика синтезу бромідів 1-[2-арил-2-оксоетил]-3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепінію (7, a–d).* До розчину 1,497 г (0,005 моль) 3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну (**5**) у 60 мл етилацетату за перемішування додавали розчин (0,005 моль) відповідного заміщеного фенацилброміду (**6, a–d**) у 30 мл етилацетату та кип'ятили реакційну суміш 1 год. Осад, що утворився, після охолодження відфільтрували, кристалізували з етанолу.

*Синтез 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3-метил-4-(4'-хлорфеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азулен (8, b).* До розчину 1,497 г (0,005 моль) 3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну (**5**) у 60 мл етилацетату за перемішування додавали 1,238 г (0,005 моль)  $\alpha$ -бром-4-хлорпропіофенону. Реакційну суміш кип'ятили зі зворотним холодильником 1 год, випарювали до сухого залишку, приливали 40 мл 5%-го розчину NaOH і кип'ятили реакційну суміш 3 год. Після охолодження осад, що утворився, відфільтрували, промили водою та висушили. Кристалізували з бензену. Вихід – 0,851 г (38%).  $T_{\text{пл}} = 190\text{--}191\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Знайдено, %: N – 9,19, Cl – 7,80.  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}$ . Розраховано, %: N – 9,38, Cl – 7,92.

*Загальна методика синтезу 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-4-(4'-хлорфеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азуленів (8, a–d).* До (0,003 моля) відповідної солі (**7, a–d**) приливали 40 мл 5%-го розчину NaOH і кип'ятили реакційну суміш 3 год. Після охолодження осад, що утворився, відфільтрували, промили водою та висушили. Кристалізували з бензену.

Температури плавлення та спектральні дані отриманих речовин наведено в табл. 1 та 2.

Синтезовані нові сполуки (**5–8, a–d**, табл. 1) – незабарвлені (**5; 7, a–d**), сіруваті (**8, a, c, d**) або світлокремові (**8, b**) кристалічні речовини, розчинні у спиртах, ДМФА. Склад і структуру всіх синтезованих сполук доведено даними елементного аналізу (табл. 1) та методом ЯМР- $^1\text{H}$  спектроскопії (табл. 2).

Структурні та фізико-хімічні особливості речовин похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепінію (7, *a-d*) та 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азуленів (8, *a-d*)

Сполука	R, R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub>	T <sub>пл</sub> , °C	Вихід, %	Емпірична формула	Знайдено, %		Розраховано, %	
					N	Cl	N	Cl
7 <i>a</i>	H, Cl, H, H,	227–229	77	C <sub>26</sub> H <sub>31</sub> BrClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	7,72	–	7,88	–
7 <i>c</i>	H, OCH <sub>3</sub> , H, F	178–179	69	C <sub>27</sub> H <sub>33</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	7,82	–	7,69	–
7 <i>d</i>	H, -OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-, H	193–194	65	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	7,38	–	7,55	–
8 <i>a</i>	H, Cl, H, H,	193–194	59	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O	9,82	8,29	9,68	8,18
8 <i>b</i>	CH <sub>3</sub> , Cl, H, H	190–191	38	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O	9,19	7,80	9,38	7,92
8 <i>c</i>	H, OCH <sub>3</sub> , H, F	148–149	53	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	9,17	–	9,38	–
8 <i>d</i>	H, -OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-, H	191–193	51	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	9,31	–	9,18	–

## Спектральні дані синтезованих сполук

Сполука	Хімічні зсуви, δ, м. д. (DMCO-d)
7 <i>a</i>	1.13 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.74 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.90 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.20 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 3.31 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.48 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.50 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.44 (с, 2H, N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CO), 6.83 та 7.00 та 7.14 (д+с+д, 3H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> ), 7.74 та 8.11 (д-д, 4H, C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )
7 <i>c</i>	1.14 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.74 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.90 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.19 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 3.32 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.89 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.51 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.49 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.13 (с, 2H, N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CO), 6.81 - 8.00 (м, 6H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )
7 <i>d</i>	1.13 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.74 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.90 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.20 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 3.30 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.33 - 4.39 (м, 4H, -OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-), 4.48 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.49 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.35 (с, 2H, N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CO), 6.82–7.65 (м, 6H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )
8 <i>a</i>	1.11 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.96–2.04 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.77 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.19 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 4.05 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.23 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.78 та 7.01 та 7.10 (д+с+д, 3H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> ), 7.32 (с, 1H, 3-H), 7.39 та 7.49 (д-д, 4H, C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )
8 <i>b</i>	1.12 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.91–2.00 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.37 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.61 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.19 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 4.03 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.24 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.78 та 7.03 та 7.10 (д+с+д, 3H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> ), 7.32 та 7.43 (д-д, 4H, C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )
8 <i>c</i>	1.12 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.92 - 2.03 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.29 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.60 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.20 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 3.79 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 4.04 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.24 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.76–7.38 (м, 7H, 3-H+C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )
8 <i>d</i>	1.11 (д, 6H, CH(CH <sub>2</sub> )), 1.93–2.02 (м, 4H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.28 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.73 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.19 (м, 1H, CH(CH <sub>2</sub> )), 4.03 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.24 (м, 4H, -OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-), 5.22 (с, 2H, OCH <sub>2</sub> C), 6.76–7.12 (м, 6H, C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> ), 7.18 (с, 1H, 3-H)

Протипухлинну активність похідних 1-(2-ізопропіл-5-метилфеніксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулену (8, *a-d*) вивчали у Національному інституті раку США (National Cancer Institute of Health, USA) в рамках Development Therapeutic Program.

Перший етап фармакологічного скринінгу полягав у дослідженні протипухлинної активності сполук *in vitro* на лініях ракових клітин (лейкемії, меланоми, раку легень, товстого кишечника, ЦНС, яєчників, нирок, простати, молочної залози) за дії

речовини в концентрації  $10^{-5}$  моль/л за стандартною процедурою [5] оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук методом флуоресцентного зафарбування (барвник – сульфородамін Б). Результат досліджень виражали у відсотках росту клітин раку порівняно з контролем – 5-флуорурацилом. Наведені у табл. 3 значення показують на скільки досліджувані сполуки є більш ефективними у пригніченні росту ракових клітин порівняно з контролем.

Т а б л и ц я 3

**Протипухлинна активність сполук 8, *a-d in vitro* на лініях клітин раку за дії речовин у концентрації  $10^{-5}$  моль/л**

Лінії ракових клітин		8 a	8 b	8 c	8 d
Лейкемія	CCRF-CEM	79,71	52,66	15,63	7,92
	HL-60(TB)	102,0	10,92	49,19	54,77
	K-562	92,53	31,52	36,93	14,22
	MOLT-4	83,89	18,16	22,39	18,37
	RPMI-8226	97,66	39,96	55,3	52,8
	SR	95,45	30,7	77,18	63,13
Дрібноклітинний рак легенів	A549/ATCC	107,2	60,24	85,53	80,91
	HOP-62	103,9	80,76	101,4	101,9
	HOP-92	95,26	65,33	64,61	55,5
	NCI-H226	97,79	67,75	64,21	65,61
	NCI-H23	106,8	49,5	63,35	77,88
	NCI-H460	103,2	60,96	–	89,27
Рак товстого кишечника	NCI-H522	102,1	61,06	72,57	66,45
	COLO 205	113,9	67,27	103,5	61,01
	HCC2998	109,8	75,81	110,9	92,17
	HCT-116	99,41	33,42	46,46	38,87
	HCT-15	105,7	54,98	89,85	88,29
	HT-29	105,2	70,58	99,56	27,81
	KM12	95,11	65,14	85,18	71,64
Рак головного мозку	SW-620	103	85,38	–	80,27
	SF-268	100,8	67,47	84,13	92,81
	SF-539	113,8	86,33	96,34	101,6
	SNB-75	92,8	75,52	88,91	78,58
Меланома	U251	106,8	73,43	63,65	69,33
	LOX IMVI	100,4	66,63	74,71	56,22
	M14	107,5	58,77	68,94	68,4
	MDA-MB-435	96,94	72,71	85,02	71,79
	SK-MEL-28	106,1	78,67	85,46	71,09
	SK-MEL-5	99,96	19,72	48,19	14,6
	UACC-257	112,1	74,37	85,64	83,26
	UACC-62	102,2	66,95	90,09	75,87
	OVCAR-3	109,9	63,9	65,98	71,5
	OVCAR-4	99,53	65,56	79,03	51,44
	Рак яєчників	OVCAR-5	101,8	68,01	84,41
OVCAR-8		105,1	78,43	84,0	58,78
NCI/ADR-RES		109,1	59,18	105,2	98,49
SK-OV-3		102,8	73,29	95,18	102,2

Лінії ракових клітин		8 a	8 b	8 c	8 d
Рак нирок	ACHN	105,3	66,17	80,25	87,01
	CAKI-1	99,64	63,46	87,84	91,9
	RXF 393	110,1	77,57	81,45	7,7
	SN12C	98,74	68,71	83,79	76,93
	TK-10	105	77,86	100,9	64,37
	UO-31	–	47,48	72,83	67,29
Рак простати	PC-3	92,63	30,25	28,18	50,98
	DU-145	116,6	94,67	98,21	96,27
Рак молочної залози	MCF7	96,01	37,5	72,39	30,0
	MDA-MB-231/ATCC	103,6	79,07	83,41	79,88
	HS 578T	95,15	83,36	87,98	–
	T47D	98,5	40,58	67,64	61,75
	MDA-MB-468	103,3	52,15	73,97	-8,8

Показано, що всі сполуки в концентрації  $10^{-5}$  моль/л виявили здатність пригнічувати ріст клітин раку, що охоплюють практично весь спектр онкологічних захворювань людини (табл. 3).

На другому етапі досліджень, або поглибленому *in vitro* скринінгу, сполуки **8, b, d** тестували у п'яти концентраціях за 10-кратного розведення (100  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M та 0,01  $\mu$ M) на зазначених лініях ракових клітин (табл. 4). У результаті експерименту розраховано три дозозалежні параметри, а саме:  $GI_{50}$  – концентрація сполуки, яка спричинює пригнічення росту 50% клітин лінії; TGI – концентрація, що створює повне пригнічення росту клітин;  $LC_{50}$  – концентрація, яка спричинює загибель 50% пухлинних клітин.  $GI_{50}$  інтерпретовано як ефективний рівень інгібування, TGI – як цитостатичний ефект, а  $LC_{50}$  – летальна концентрація, що характеризує цитотоксичну дію. Якщо логарифмічні значення досліджуваних параметрів ( $\lg GI_{50}$ ,  $\lg TGI$  та  $\lg LC_{50}$ ) є меншими, ніж -4,00, то сполуку вважають активною [6–8].

Таблиця 4

**Результати поглибленого дослідження протипухлинної активності сполук 8, b, d *in vitro* на лініях клітин раку за дії речовин у градієнті концентрацій  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  моль/л**

Лінії ракових клітин		8 b			8 d		
		$\lg GI_{50}$	$\lg TGI$	$\lg LC_{50}$	$\lg GI_{50}$	$\lg TGI$	$\lg LC_{50}$
Лейкемія	CCRF-CEM	-5,47	-4,76	> -4,00	-6,05	> -4,00	> -4,00
	HL-60(TB)	-5,65	-5,30	> -4,00			
	K-562	-5,47	4,68	> -4,00	-5,52	> -4,00	> -4,00
	MOLT-4	-5,63	-5,17	> -4,00	-5,51	> -4,00	> -4,00
	RPMI-8226	-5,67	-5,26	> -4,00	-5,35	> -4,00	> -4,00
	SR	-5,57	-5,09	> -4,00	-5,47	-4,84	> -4,00
Дрібноклітинний рак легенів	A549/ATCC	-5,35	-4,75	-4,25	-5,15	> -4,00	> -4,00
	HOP-62	-4,96	-4,63	-4,30	-4,69	> -4,00	> -4,00
	HOP-92	-5,71	-5,22	-4,58	-5,55	-4,94	> -4,00
	NCI-H226	-5,29	-4,69	-4,21	-5,68	-5,10	-4,26
	NCI-H23	-5,46	-4,83	-4,22	-5,43	> -4,00	> -4,00
	NCI-H460	-5,35	-4,77	-4,28	-5,38	-4,72	> -4,00
NCI-H522	-5,55	-4,95	-4,39	-5,56	-4,86	> -4,00	

Лінії ракових клітин		8 b			8 d		
		lgGI <sub>50</sub>	lgTGI	lgLC <sub>50</sub>	lgGI <sub>50</sub>	lgTGI	lgLC <sub>50</sub>
Рак товстого кишечника	COLO 205	-5,32	-4,80	-4,38	-5,58	-5,25	-4,77
	HCC2998	-5,23	-4,73	-4,34	-5,45	-4,80	-4,17
	HCT-116	-5,42	-4,87	4,34	-5,44	-4,85	> -4,00
	HCT-15	-5,29	-4,69	-4,20	-5,37	> -4,00	> -4,00
	HT-29	-5,33	-4,76	-4,28	-5,53	-4,96	> -4,00
	KM12	-5,39	-4,74	-4,11	-5,47	-4,92	> -4,00
	SW-620	-5,19	-4,65	-4,21	-5,38	> -4,00	> -4,00
Рак головного мозку	SF-268	-5,14	-4,61	-4,15	-5,18	> -4,00	> -4,00
	SF-539	-5,09	-4,68	-4,32	-5,40	-4,80	-4,18
	SNB-75	-4,97	-4,62	-4,26	-5,52	> -4,00	> -4,00
	U251	-5,38	-4,80	-4,38	-5,47	-4,91	-4,02
Меланома	LOX IMVI	-5,33	-4,77	-4,36	-5,47	-4,84	-4,28
	M14	-5,25	-4,67	-4,19	-5,31	> -4,00	> -4,00
	MDA-MB-435	-5,36	-4,77	-4,35	-5,49	-4,59	> -4,00
	SK-MEL-28	-4,99	-4,64	-4,29	-5,40	-4,69	> -4,00
	SK-MEL-5	-5,66	-5,23	-4,29	-5,86	-5,57	-5,28
	UACC-257	-5,38	-4,83	-4,37	-5,24	-4,32	> -4,00
	UACC-62	-5,46	-4,82	-4,38	-5,41	-4,83	-4,25
	OVCAR-3	-5,26	-4,74	-4,33	-5,54	-5,10	-4,34
	OVCAR-4	-5,46	-4,83	-4,35	-5,46	-4,74	> -4,00
	OVCAR-5	-5,07	-4,64	-4,25	-5,25	> -4,00	> -4,00
	OVCAR-8	-5,32	-4,69	-4,13	-5,21	> -4,00	> -4,00
	NCI/ADR-RES	-5,32	-4,63	> -4,00	-4,77	> -4,00	> -4,00
	SK-OV-3	-4,98	-4,65	-4,31	-4,48	> -4,00	> -4,00
	Рак нирок	ACHN	-5,20	-4,73	-4,36	-5,35	-4,45
CAKI-1		-5,34	-4,73	-4,27	-5,18	> -4,00	> -4,00
RXF 393		-5,30	-4,75	-4,35	-5,81	-5,50	-5,19
SN12C		-5,34	-4,76	-4,34	-5,22	> -4,00	> -4,00
TK-10		-5,29	-4,75	-4,35	-5,34	-4,63	> -4,00
UO-31		-5,53	4,84	-4,40	-5,44	-4,76	-4,03
Рак простати	PC-3	-5,56	-4,94	-4,44	-5,50	> -4,00	> -4,00
	DU-145	-5,03	-4,65	-4,28	-5,07	> -4,00	> -4,00
Рак молочної залози	MCF7	-5,47	-4,83	-4,30	-5,48	> -4,00	> -4,00
	M D A - M B - 2 3 1 / ATCC	-5,27	-4,75	-4,35	-5,03	-4,35	> -4,00
	HS 578T	-5,26	-4,59	-4,01	-4,94	> -4,00	> -4,00
	T47D	-5,47	-4,86	-4,29	-5,41	> -4,00	> -4,00
	MDA-MB-468	-5,55	-4,93	-4,41	-5,79	-5,32	-4,31

Згідно з результатами скринінгу, тестовані сполуки виявили значний рівень протиракової активності, зокрема щодо дрібноклітинного раку легенів. Так, сполука **8 b** відносно клітин HOP-92 має значення lgGI<sub>50</sub> -5,71, lgTGI - -5,22, a lgLC<sub>50</sub> = -4,58. Для сполуки **8 d** ці значення становлять -5,55, -4,94 та > -4,00 відповідно. Відносно

клітин NCI-H226 значення  $\lg GI_{50}$ ,  $\lg TGI$  та  $\lg LC_{50}$  для сполук **8 b** та **8 d** становлять -5,29, -5,68, -4,69 та -5,10, -4,21, > -4,00 відповідно. Відносно клітин меланому SK-MEL-5 дані сполук **8 b** та **8 d** становлять:  $\lg GI_{50} = -5,66$  та  $-5,86$ ,  $\lg TGI = -5,23$  та  $-5,57$ ,  $\lg LC_{50} = -4,29$  та  $-5,28$  відповідно. Ріст клітин MDA-MB-468 раку молочної залози сполуки **8 b** та **8 d** подавляли таким чином:  $\lg GI_{50} = -5,55$  та  $-5,79$ ,  $\lg TGI = -4,93$  та  $-5,32$ ,  $\lg LC_{50} = -4,41$  та  $-4,31$  відповідно.

## Висновки

1. Синтезовано ряд нових похідних 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азулену алкілюванням 3-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепіну відповідними  $\alpha$ -галогенкетонами в середовищі етилацетату та подальшою циклізацією проміжних четвертинних солей у лужному середовищі. Будову та чистоту всіх отриманих речовин підтверджено даними ЯМР- $^1H$  спектроскопії.

2. Вивчено протипухлинну дію 1-(2-ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азуленів у досліджах *in vivo* на лініях ракових клітин як у концентраціях  $10^{-5}$  моль/л, так і в градієнті концентрацій  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  моль/л. Показано, що введення до базової сполуки **8** метильного радикала в положення 3 гетероциклічної системи (сполуки **8 a** та **b**) призводить до підвищення протипухлинної активності.

## Список використаної літератури

1. Baum M., Cuzick J., Forbes J. et al. (The ATAC Trialists Group): Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early stage breast cancer. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) trial efficacy and safety update analyses // *Cancer*. – 2003. – V. 98. – P. 1802–1810.
2. «World Cancer Report». International Agency for Research on Cancer. 2008. Retrieved 2011-02-26. (cancer statistics often exclude non-melanoma skin cancers such as basal cell carcinoma, which are common but rarely fatal).
3. Kulabaş Necla, Tatar Esra, Bingöl Özakınar Özlem et al. // *Europ. J. Med. Chem.* – 2016. – V. 121. – P. 58–70.
4. Гранік В. Г., Жидкова А. М., Курятов Н. С. и др. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом // *ХГС*. – 1973. – № 11. – С. 1532–1535.
5. Beverly A. Teicher, Paul A. Andrews. Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical // *Medical*. – 2004. – V. 1. – 450 p.
6. Alley M. C., Scudiero D. A., Monks P. A. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture Tetrazolium assay // *Cancer Res.* – 1988. – V. 48. – P. 589–601.
7. Carter P H., Scherle P. A., Muckelbauer J. A. et al. Photochemically enhanced binding of small molecules to the tumor necrosis factor receptor-1 inhibits the binding of TNF- $\alpha$  // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – V. 98. – P. 11879–11886.
8. Grever M. R., Schepartz S. A., Chabner B. A. The National Cancer Institute: cancer drug discovery and development program // *Seminars in Oncol.* – 1992. – V. 19, N 6. – P. 622–638.

Надійшла до редакції 19 лютого 2018 року.



С. А. Демченко, А. Е. Дудник, Т. А. Бухтиарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко  
ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев

## СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ 1-(2-ИЗОПРОПИЛ-5-МЕТИЛФЕНОКСИМЕТИЛ)-3R-4-АРИЛ-5,6,7,8- ТЕТРАГИДРО-2,2а,8а-ТРИАЗАЦИКЛОПЕНТА[сd]АЗУЛЕНА

**Ключевые слова:** 2,2а,8а-триазациклопента[сd]азулены, конденсация, гидразид  
(2-изопропил-5-метилфеноксиметил)уксусной кислоты, противоопухолевая  
активность

### А Н Н О Т А Ц И Я

В последние годы пристальное внимание к себе привлекает проблема лечения злокачественных опухолей, что обусловлено заметным ростом количества больных, особенно трудоспособного возраста. Поэтому актуальным является расширение арсенала противоопухолевых препаратов широкого спектра действия.

Цель исследования – синтезировать вещества с потенциально противоопухолевыми свойствами в ряду 1-(2-изопропил-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазациклопента[сd]азулена и изучить влияние синтезированных соединений на рост (торможение или их уничтожение) широкого спектра злокачественных опухолей.

Объектами исследования были производные 1-(2-изопропил-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазациклопента[сd]азулена, которые синтезированы кипячением 3-(2-изопропил-5-метилфеноксиметил)-6,7,8,9-тетрагидро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина с соответствующими α-галогенкетонами в среде этилацетата и дальнейшей циклизацией в щелочной среде. Для установления структуры синтезированных соединений нами использована ЯМР-<sup>1</sup>H спектроскопия. Первичная оценка противоопухолевой активности проведена в Национальном институте рака США (National Cancer Institute of Health, USA) в рамках Development Therapeutic Program.

Исследована противоопухолевая активность синтезированных соединений в опытах *in vivo* на линиях раковых клеток как в концентрации 10<sup>-5</sup> моль/л, так и в градиенте концентраций 10<sup>-4</sup>–10<sup>-8</sup> моль/л. Показано, что введение в базовую структуру молекулы 4-арил-5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазациклопента[сd]азулена метильного радикала в положение 3 гетероциклической системы приводит к повышению противоопухолевой активности.

Установлено, что синтезированные соединения проявили высокую противоопухолевую активность практически ко всем видам исследованных линий раковых клеток – лейкемии, мелкоклеточного рака легких, рака толстого кишечника, рака головного мозга, меланомы, рака яичника, почек, простаты и рака молочной железы.

S. A. Demchenko, A. E. Dudnik, T. A. Bukhtiarova, L. S. Bobkova, A. M. Demchenko  
*SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv*

SYNTHESIS AND ANTICANCER PROPERTIES OF 1-(2-ISOPROPYL-5-METHYLPHENOXYMETHYL)-3R-4-ARYL-5,6,7,8-TETRAHYDRO-2,2a,8a-TRIAZACYCLOPENTA[*cd*]AZULENE DERIVATIVES

**Key words:** 2,2a,8a-triazacyclopenta[*cd*]azulenes, condensation, (2-isopropyl-5-methylphenoxy)acetic acid hydrazide, anticancer activity

A B S T R A C T

In recent years, attention to itself is attracted to the problem of treatment of cancer that is caused by increase in patients, especially of working age. Therefore, the enlargement of the arsenal of anticancer medicines of a wide spectrum of action is actual.

The purpose of the study was to synthesize substances with potentially antitumor properties in a series 1-(2-isopropyl-5-methylphenoxyethyl)-3R-4-aryl-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[*cd*]azulene derivatives and to study the effect of synthesized compounds on inhibition of growth (or their destruction) of a wide range of cancer.

The objects of the study were derivatives of 1-(2-isopropyl-5-methylphenoxyethyl)-3R-4-aryl-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[*cd*]azulene, which were synthesized by refluxing 3-(2-isopropyl-5-methylphenoxyethyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]azepine with appropriate  $\alpha$ -halogenketones in ethyl acetate and further cyclization in an alkaline medium. Использовали данные NMR  $^1\text{H}$  spectroscopy data were used. The primary evaluation of anticancer activity was carried out National Cancer Institute of Health, USA within the Development Therapeutic Program.

A series of new of 1-(2-isopropyl-5-methylphenoxyethyl)-3R-4-aryl-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[*cd*]azulene derivatives was synthesized, their structure and purity were confirmed by NMR  $^1\text{H}$  spectroscopy. The anticancer activity of the synthesized compounds was studied both at a concentration of  $10^{-5}$  mol/l and in a concentration gradient of  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  mol/l in experiments *in vivo* on cancer cell lines. It is shown that insertion of methyl group into position 3 of heterocyclic system of the basic structure of 4-aryl-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[*cd*]azulene leads to an increase in the anticancer effect.

It is found that the tested compounds showed high anticancer effect on all types of cancer cell lines investigated – leukemia, non-small cell lung cancer, colon cancer, CNS cancer, melanoma, ovarian cancer, renal cancer, prostate cancer and breast cancer.

*Електронна адреса для листування з авторами: detch7758@ukr.net*