

УДК 547.745

АНТИПРОЛІФЕРАТИВНА ДІЯ НОВИХ ПОХІДНИХ 1-(4-R-БЕНЗИЛ)-3-R₁-4-(R₂-ФЕНИЛАМІНО)- 1H-ПІРОЛ-2,5-ДІОНУ

Г.Г.Дубініна, С.М.Головач, В.О.Козловський*, А.О.Толмачов, Ю.М.Воловенко

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка,
02090, м. Київ, вул. В.Сосюри, 6. E-mail: G.Dubinina@univ.kiev.ua

* Фармацевтична фірма "ФарКоС"

Ключові слова: 1H-пірол-2, 5-діон; антипроліферативна дія; протиракова активність

Синтезовано та тестовано на антипроліферативну активність 44 нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R₁-4-(R₂-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону 1 (малеїміду). За результатами попереднього пре-скринінгу вісім найбільш активних сполук було відібрано і тестовано на 60 ракових лініях людини *in vitro* при п'яти різних концентраціях діючої речовини. Сполуки 1.18 та 1.14 були досліджені на лабораторних моделях клітинного пошкодження більш детально і виявили виражену антипроліферативну активність, максимальну на культурі раку кишківника, а також на клітинах, резистентних до дії інтерферону.

ANTIPROLIFERATIVE ACTION OF THE NEW DERIVATIVES OF 1-(4-R-BENZYL)-3-R₁-4-(R₂-PHENYLAMINO)-1H-PYRROL-2,5-DIONE

G.G.Dubinina, S.M.Golovach, V.O.Kozlovsky, A.O.Tolmachov, Yu.M.Volovenko

44 new derivatives of 1-(4-R-benzyl)-3-R₁-4-(R₂-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione 1 (maleimide) have been synthesized and tested on the antiproliferative activity. As a result of the pre-screening eight most promising compounds have been selected and tested against 60 cancer cell lines *in vitro* at five different concentrations of the active compound. Compounds 1.18 and 1.14 were investigated on the cell damage models in detail and exhibited a high antiproliferative activity on the intestinal cancer culture, as well as on the interferon resistant cells.

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1-(4-R-БЕНЗИЛ)-3-R₁-4-(R₂-ФЕНИЛАМИНО)-1H-ПИРРОЛ-2,5-ДИОНА

Г.Г.Дубинина, С.М.Головач, В.О.Козловский, А.А.Толмачёв, Ю.М.Воловенко

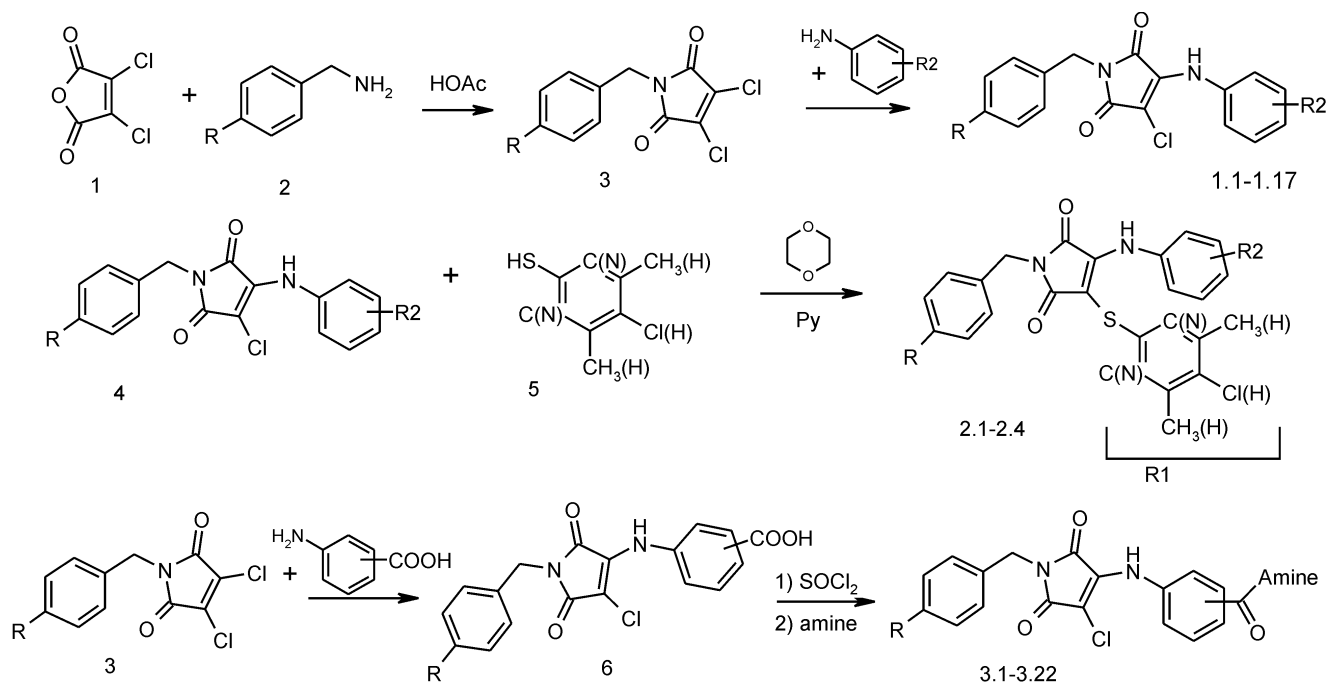
Синтезировано и тестиrowано на антипролиферативную активность 44 новых производных 1-(4-R-бензил)-3-R₁-4-(R₂-фениламино)-1H-пиррол-2,5-диона 1 (малеимида). По результатам предварительного пре-скрининга восемь наиболее активных соединений были отобраны и тестированы на 60 раковых линиях человека *in vitro* при пяти разных концентрациях действующего соединения. Соединения 1.18 и 1.14 были исследованы на лабораторных моделях клеточного повреждения более детально и проявили выраженную антипролиферативную активность, максимальную на культуре рака кишечника, а также на клетках, резистентных к действию интерферона.

Загальновідомо, що онкологічні захворювання займають друге місце в структурі смертності людей після захворювань серцево-судинної системи [1]. Малігнізація клітин (тобто утворення злоякісних) є наслідком складних біохімічних процесів, які, в свою чергу, обумовлені порушеннями функціонування геному під дією різноманітних хімічних, фізичних, біологічних та спадкових мутагенних факторів [2]. Онкогенез (або інакше проліферація клітин) — це значною мірою неконтрольований поділ клітин, пов'язаний з формуванням пухлинного клону.

Спонтанне стримування пухлинного росту повинна забезпечувати імунна система кожного людсь-

кого організму. Вона розпізнає пухлинні клітини та знищує їх за допомогою або гуморальних чинників, одними з яких є цитокіни, або імуннокомпетентних клітин. Однак ракові пухлини здатні виробляти речовини, які пригнічують активність імунної системи і, тим самим, зменшують здатність організму контролювати проліферацію ракових клітин. Тому для лікування онкологічних хворих застосовують засоби, що уповільнюють проліферацію ракових клітин. Їх називають цитостатиками.

Одними із антинеопластичних препаратів, які найчастіше використовують у клінічній практиці, є доксорубіцин (адриаміцин) — антибіотик з групи



Схема

антрациклінів [3] та схожі з ним речовини блео- міцин, дактиноміцин, даунорубіцин, ідарубіцин, мітоміцин та ін. [4].

На думку багатьох дослідників, доксорубіцин та схожі з ним сполуки блокують активність фер- менту топоізомерази, який відповідає за реплі- кацію (утворення) ДНК пухлинних клітин. На жаль, такі сполуки токсичні і для здорових клітин організму (особливо таких, що швидко діляться, наприклад: клітин крові, імунної системи, епі- телію тощо). Зокрема, кумулятивні дози вище 20 мг/кг маси тіла пацієнта завжди супроводжу- ються розвитком тромбоцитопенії, нейтропенії, анемії, кардіопатії та інших небажаних побічних ефектів [5].

Відомо, що аналогічними побічними ефектами супроводжується застосування й інших цитоста- тичних антинеопластичних препаратів [6].

Природньо, що вже давно розпочатий пошук безпечніших антинеопластичних препаратів.

Наприклад, відомі препарати на основі інтер- ферону та специфічного білка, названого “ТНФ (туморнекротичний фактор)” [7].

Але ці речовини впливають через специфічні рецептори, чутливість яких у багатьох ракових

клітинах суттєво погіршена. Тому практичне ви- користання інтерферонів і ТНФ досить обмежене рідкісними випадками, коли пухлини зберігають чутливість до них [2]. Відомі також інгібітори протеїнкіназ, зокрема: біс-індолілмалеїміди (Staurosporine, GF109203x; Ro318220), азаїндолілмале- їміди, ариліндолмалеїмід (SB216763), аніліноарил- малеїмід (SB415286; I5), які виявляють цитоста- тичну активність [8-10]. На жаль, ці речовини здатні негативно впливати на роботу серцево-су- динної та центральної нервової систем людини. Тому задача розробки нетоксичних антинеоплас- тичних препаратів, здатних пригнічувати пролі- ферацію ракових клітин, залишається актуальною.

Результати та їх обговорення

Як повідомлялось раніше [11-13], продукти нук- леофільного заміщення атома хлору у 3,4-дихло- ро-1Н-пірол-2,5-діоні (малеїміді) на N-нуклеофі- ли (первинні, вторинні, аліфатичні та ароматичні аміни) виявляють антипроліферативну дію на ра- кові клітини. З метою підвищення активності шляхом оптимізації структури на основі 3,4-ди- заміщеного 1Н-пірол-2,5-діону і дослідження за- кономірностей хімічна структура — антипроліфе- ративна активність було синтезовано та тестовано 44 нових похідних малеїміду, які можуть бути представлені загальною формулою (1) (рис. 1). Нумерацію та значення замісників сполук загаль- ної формули (1) наведено у табл. 1.

Як було показано раніше, саме сполуки із бензильним замісником у положенні 1 1Н-пірол- 2,5-діону виявляли найбільшу активність проти ракових клітин [11, 12], тому, зберігаючи бензиль- ний фрагмент у структурі, ми дослідили вплив замісників різного роду в інших положеннях (схе-

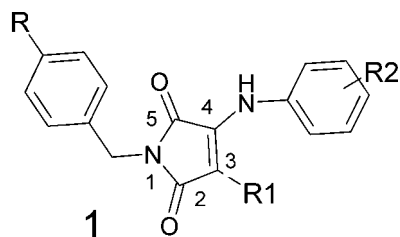


Рис. 1. Загальна формула похідних малеїміду, що виявляють антипроліферативну активність (значення замісників наведені у табл. 1).

Таблиця 1

Дані пре-скринінгу сполук 1.1-1.17; 2.1-2.4; 3.1-3.22 на антипроліферативну активність

Структура	Замісники (рис.1)	Дані елементного аналізу			Дані ЯМР ^1H спектра, σ , м.д., J (Гц)	T пл., C°	Мітогична активність порівняно з контролем, %			Висновок
		знайдено, %	брутто-формула	розраховано, %			рак молочної залози	недрібно-клітинний рак легень	нейробластома	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.1	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =2-OH	N 8,63 Cl 10,82	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₃	N 8,52 Cl 10,78	4,65 с (2H, CH ₂), 6,81 м (1H, Ar*(5')-H J=9), 6,92 м (1H, Ar'(6')-H J=9), 7,13 м (2H, Ar'(3',4')-H), 7,31 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 9,24 с (1H,OH), 9,69 с _{вш} (1H,NH)	181	0	5	13	Активна
1.2	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-Cl	N 8,15 Cl 20,43	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	N 8,08 Cl 20,42	4,68 с (2H, CH ₂), 7,33 м (9H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',4',5',6')-H), 9,97 с (1H, NH)	126	12	0	2	Активна
1.3	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-Cl-4-CH ₃	N 7,86 Cl 19,72	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	N 7,75 Cl,19,63	2,31с (3H, CH ₃), 4,66 с (2H, CH ₂), 7,10 к (H, Ar'(6')-H J=9), 7,31 м (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',5')-H), 9,88 с (1H, NH)	169	25	1	20	Активна
1.4	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =2-CH ₃ -3-Cl	N 7,63 Cl 19,68	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	N 7,75 Cl,19,63	2,28 с (3H, CH ₃), 4,66 м (2H, CH ₂), 7,33 м (8H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(4',5',6')-H), 9,72 с (1H, NH)	158	39	2	6	Активна
1.5	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =2-OH-5-Cl	N 7,54 Cl 18,82	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₃	N 7,43 Cl 18,80	4,64 с (2H, CH ₂), 6,91 д (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,20 м (2H, Ar(2,6)-H), 7,30 м (5H, Ar(3,4,5)-H + Ar'(3',6')-H), 9,36 с (1H, NH), 10,03 с (1H, OH)	145	5	0	0	Активна
1.6	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =2-OH-5-CH ₃	N 7,80 Cl 19,58	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₃	N 7,71 Cl 19,52	2,24 с (2H, CH ₃), 4,69 с (2H, CH ₂), 6,95 д (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,24 м (2H, Ar(2,6)-H), 7,32 м (5H, Ar(3,4,5)-H + Ar'(3',6')-H), 9,37 с (1H, NH), 10,05 с (1H, OH)	178	62	29	48	Активна
1.7	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =2-CH ₃ -4-Cl	N 7,83 Cl 19,68	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	N 7,75 Cl 19,63	2,24 с (2H, CH ₃), 4,65 с (2H, CH ₂), 7,25 (д, 1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,32 с (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(3',6')-H), 9,56 с (1H, NH)	134	107	110	106	Не активна
1.8	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-COOEt	N 7,36 Cl 9,23	C ₂₀ H ₁₇ ClN ₂ O ₄	N 7,28 Cl 9,21	1,36 т (3H, CH ₃ , J=6), 4,31 д (2H, OCH ₂ , J=6), 4,69 с (2H, CH ₂), 7,29 д (2H, Ar'(2',6')-H, J=9), 7,33 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 7,94 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 10,14 с (1H, NH)	142	108	114	105	Не активна
1.9	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-COCH ₃	N 8,03 Cl 10,03	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₂ O ₃	N 7,90 Cl 9,99	2,06 с (3H, CH ₃), 4,66 с (2H, CH ₂), 7,16 д (2H, Ar'(2',6')-H, J=9), 7,31 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 7,56 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 9,81 с (1H, NH)	216	114	99	121	Не активна
1.10	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-OH-4-CH ₃	N 8,26 Cl 10,38	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₂ O ₃	N 8,17 Cl 10,34	2,09 с (3H, CH ₃), 4,72 с (2H, CH ₂), 6,56 д (1H, Ar' (5')-H, J=9), 6,64 с (1H, Ar' (2')-H), 7,00 д (1H, Ar' (6')-H, J=9), 7,35 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 9,84 с (1H, NH), 9,52 с (1H, OH)	185-186	1	0	2	Активна
1.11	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CH ₃	N 7,86 Cl 19,67	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	N 7,75 Cl 19,63	2,30 с (3H, CH ₃), 4,65 с (2H, CH ₂), 6,99 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,24 т (1H, Ar(2')-H, J=9), 7,34 д (2H, Ar(2,6)-H, J=9), 7,40 д (2H, Ar(3,5)-H, J=9), 9,34 с (1H, NH)	119-120	22	3	31	Активна
1.12	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-Cl	N 7,41 Cl 27,96	C ₁₇ H ₁₁ Cl ₃ N ₂ O ₂	N 7,34 Cl 27,87	4,65 с (2H, CH ₂), 7,24 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,35 м (5H, Ar(2,3,5,6)-H + Ar' (2')-H), 9,96 с (1H, NH)	131-132	8	0	5	Активна
1.13	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-OCH ₃	N 7,38 Cl 18,96	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₃	N 7,34 Cl 18,80	3,76 с (3H, OCH ₃), 4,65 с (2H, CH ₂), 6,77 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,26 т (1H, Ar(2')-H, J=9), 7,35 д (2H, Ar(2,6)-H, J=9), 7,40 д (2H, Ar(3,5)-H, J=9), 9,85 с (1H, NH)	127-128	32	4	8	Активна

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.14	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CF ₃	N 6,81 Cl 17,04	C ₁₈ H ₁₁ Cl ₂ F ₃ N ₂ O ₂	N 6,75 Cl 17,08	4,66 с (2H, CH ₂), 7,36 д (2H, Ar(2,6)-H, J=9), 7,40 д (2H, Ar(3,5)-H, J=9), 7,51 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,59 т (1H, Ar(2')-H, J=6), 10,08 с (1H, NH)	134-135	8	0	2	Активна
1.15	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-OH	N 7,77 Cl 19,62	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₃	N 7,71 Cl 19,52	4,64 с (2H, CH ₂), 6,61м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,14 т (1H, Ar' (2')-H, J=9), 7,34 д (2H, Ar(2,6)-H, J=9), 7,40 д (2H, Ar(3,5)-H, J=9), 9,54 с (1H, OH), 9,74 с (1H, NH)	139-140	1	0	1	Активна
1.16	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-OH-4-CH ₃	N 7,40 Cl 18,94	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₃	N 7,34 Cl 18,80	2,01 с (3H, CH ₃), 4,63 с (2H, CH ₂), 6,56 д (1H, Ar' (5')-H, J=9), 6,63 с (1H, Ar' (2')-H), 7,00 д (1H, Ar' (6')-H, J=9), 7,33 д (2H, Ar(2,6)-H, J=9), 7,40 д (2H, Ar(3,5)-H, J=9), 9,46 с (1H, OH), 9,72 с (1H, NH)	224-225	0	0	1	Активна
1.17	R=Cl; R ₁ =Cl; R ₂ =3-F	N 7,72 Cl 19,56	C ₁₇ H ₁₁ Cl ₂ FN ₂ O ₂	N 7,67 Cl 19,42	4,65 с (2H, CH ₂), 7,00 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 7,40 м (5H, Ar(2,3,5,6)-H + Ar' (2')-H), 9,97 с (1H, NH)	136-137	12	1	5	Активна
2.1	R=H; R ₁ =SPh; R ₂ =3-OH	N 7,08 S 8,01	C ₂₃ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	N 6,96 S 7,97	4,66 с (2H, CH ₂), 6,91м (4H, Ar'(4')-H + Ar''(2'',4'',6'')-H), 7,11 м (4H, Ar'(5',6')-H + Ar''(3'',5'')-H), 7,31 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar' (2')-H), 9,64 с (1H, OH), 10,16 с (1H, NH)	152	2	0	3	Активна
2.2	R=H; R ₁ =S-(4'-Cl)Ph; R ₂ =3-OH	N 6,53 Cl 8,15 S 7,36	C ₂₃ H ₁₇ ClN ₂ O ₃ S	N 6,41 Cl 8,11 S 7,34	2,04 с (3H, CH ₃), 4,66 с (2H, CH ₂), 6,42 м (3H, Ar'(4',5',6')-H), 6,94 д (2H, Ar''(2'',6'')-H, J=9), 7,13 м (1H, Ar' (2')-H), 7,17 д (2H, Ar''(3'',5'')-H, J=9), 7,30 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 9,66 с (1H, OH), 10,06 с (1H, NH)	171	1	0	0	Активна
2.3	R=H; R ₁ =4,6- диметилпіри- мідин-2-ілтію; R ₂ =3-OH	N 12,99 S 7,45	C ₂₃ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	N 12,95 S 7,41	2,27 с (6H, CH ₃), 4,72 с (2H, CH ₂), 6,89 с (1H, Ar''(4'')-H), 7,08 м (3H, Ar'(2',5',6')-H), 7,18 д (1H, Ar'(4')-H, J=9), 7,31 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 9,64 с (1H, OH), 10,27 с (1H, NH)	205	78	68	87	Не активна
2.4	R=H; R ₁ =4,6- диметилпіри- мідин-2-ілтію; R ₂ =3-Cl	N 12,50 Cl 7,89 S 7,13	C ₂₃ H ₁₉ ClN ₄ O ₂ S	N 12,42 Cl 7,86 S 7,11	2,27 с (6H, CH ₃), 4,74 с (2H, CH ₂), 6,91 с (1H, Ar''(4'')-H), 7,10 м (3H, Ar'(2',5',6')-H), 7,20 д (1H, Ar'(4')-H, J=9), 7,34 м (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 10,29 с (1H, NH)	147-148	51	95	118	Не активна
3.1	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH- (3-OCH ₃)Ph	N 9,17 Cl 7,72	C ₂₅ H ₂₀ ClN ₃ O ₄	N 9,10 Cl 7,68	3,72 с (3H, OCH ₃), 3,79 с (3H, OCH ₃), 4,67 с (2H, CH ₂), 6,74 к (1H, Ar'(6')-H, J=9), 7,03 д (1H, Ar' ₁ (3')-H, J=9), 7,31 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar' ₁ (4')-H), 7,51 т (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,58 д (1H, Ar' ₁ (6')-H, J=1), 7,72 д (2H, Ar'(2',4')-H, J=9), 9,28 с (1H, NH), 10,02 с (1H, NH)	170-171	46	40	90	Не активна
3.2	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH- (2,5-ди- метокси)Ph	N 8,62 Cl 7,26	C ₂₆ H ₂₂ ClN ₃ O ₅	N 8,54 Cl 7,21	4,67 с (2H, CH ₂), 7,31 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(6')-H), 7,54 т (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,63 д (1H, Ar' ₁ (6')-H, J=6), 7,74 м (3H, Ar'(2',4')-H + Ar' ₁ (5')-H), 8,31с (1H, Ar' ₁ (2')-H), 10,03 с (1H, NH), 10,51 с (1H, NH)	174-175	43	28	78	Активна
3.3	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH- (3,4- дихлоро)Ph	N 8,45 Cl 21,31	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	N 8,39 Cl 21,24	4,67 с (2H, CH ₂), 7,30 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(6')-H), 7,48 т (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,59 д (1H, Ar' ₁ (6')-H, J=6), 10,50 с (1H, NH), 7,69 м (3H, Ar'(2',4')-H + Ar' ₁ (5')-H), 8,8 д (1H, Ar' ₁ (4')-H, J=9), 10,01 с (1H, NH)	203-204	41	10	74	Активна

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
3.4	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2,3-дихлоро)Ph	N 8,44 Cl 21,27	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	N 8,39 Cl 21,24	4,67 с (2H, CH ₂), 7,30 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(6')-H), 7,48 т (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,59 д (1H, Ar'(6')-H, J=6), 7,69 м (3H, Ar'(2',4')-H + Ar'(5')-H), 8,28 д (1H, Ar'(4')-H, J=9), 10,01 с (1H, NH), 10,50 с (1H, NH)	282-283	53	29	113	Активна
3.5	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(3,5-дихлоро)Ph	N 8,40 Cl 21,26	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	N 8,39 Cl 21,24	4,67 с (2H, CH ₂), 7,33 м (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(5',6')-H), 7,58 с (2H, Ar'(2',6')-H), 7,70 с (1H, Ar'(4')-H), 7,82 д (4H, Ar'(2',4')-H, J=9), 9,98 с (1H, NH), 10,09 с (1H, NH)	184-185	59	15	89	Активна
3.6	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(3-COOCH ₃)Ph	N 8,64 C 17,26	C ₂₆ H ₂₀ ClN ₃ O ₅	N 8,58 Cl 7,24	4,33 с (3H, COOCH ₃), 4,66 с (2H, CH ₂), 7,31 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(5')-H), 7,47 д (1H, Ar'(6')-H, J=6), 7,51 д (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,68 д (1H, Ar'(6')-H, J=9), 7,83 м (2H, Ar'(2',4')-H), 8,07 д (1H, Ar'(4')-H, J=6), 8,41 с (1H, Ar'(2')-H), 9,96 с (1H, NH), 10,40 с (1H, NH)	> 200	45	5 ₁	109	Не активна
3.7	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2-OCH ₃ -5-Cl)Ph	N 8,56 Cl 14,31	C ₂₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₃ O ₄	N 8,47 Cl 14,29	3,79 с (3H, OCH ₃), 4,67 с (2H, CH ₂), 7,31 т (5H, Ar(2,3,4,5,6)-H), 7,45 д (1H, Ar'(6')-H, J=9), 7,55 т (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,70 д (1H, Ar'(4')-H, J=9), 7,80 м (3H, Ar'(2')-H + Ar'(3', 4')-H), 8,05 с (1H, Ar'(6')-H), 10,01 с (1H, NH), 10,15 с (1H, NH)	131-132	63	82	89	Не активна
3.8	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(3-OCH ₃)Ph	N 9,12 Cl 7,70	C ₂₅ H ₂₀ ClN ₃ O ₄	N 9,10 Cl 7,68	3,78 с (3H, OCH ₃), 4,70 с (2H, CH ₂), 6,71 д (1H, Ar'(4')-H, J=9), 7,33 м (9H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + Ar'(5',6')-H), 7,49 с (1H, Ar'(2')-H), 7,96 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 10,12 с (1H, NH), 10,20 с (1H, NH)	215-216	4	0	19	Активна
3.9	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(3-Cl)Ph	N 9,07 Cl 15,21	C ₂₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	N 9,01 Cl 15,21	4,69 с (2H, CH ₂), 7,19 д (1H, Ar'(6')-H, J=6), 7,34 м (8H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + Ar'(5')-H), 7,74 д (1H, Ar'(4')-H, J=6), 7,99 м (3H, Ar'(3',5')-H + Ar'(2')), 10,13 с (1H, NH), 10,38 с (1H, NH)	198-199	1	1	18	Активна
3.10	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(2-Cl)Ph	N 9,03 Cl 15,25	C ₂₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	N 9,01 Cl 15,21	4,67 с (2H, CH ₂), 7,32 м (9H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + Ar'(3',6')-H), 7,57 т (2H, Ar'(4',5')-H, J=9), 7,97 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 10,02 с (1H, NH), 10,09 с (1H, NH)	213-214	0	1	28	Активна
3.11	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(3,4-дихлоро)Ph	N 8,47 Cl 21,26	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	N 8,39 Cl 21,24	4,70 с (2H, CH ₂), 7,34 м (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H), 7,65 д (1H, Ar'(6')-H, J=9), 7,77 д (1H, Ar'(5')-H, J=9), 7,96 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 8,18 с (1H, Ar'(2')-H), 10,13 с (1H, NH), 10,47 с (1H, NH)	228-229	0	0	2	Активна
3.12	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(3,5-дихлоро)Ph	N 8,44 Cl 21,22	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	N 8,39 Cl 21,24	4,68 с (2H, CH ₂), 7,33 м (8H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + Ar'(6')-H), 7,91 м (4H, Ar'(3',5')-H + Ar'(2',6')-H), 10,13 с (1H, NH), 10,48 с (1H, NH)	237-238	0	0	7	Активна
3.13	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(2-OCH ₃ -5-Cl)Ph	N 8,51 Cl 14,31	C ₂₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₃ O ₄	N 8,47 Cl 14,29	3,88 с (3H, CH ₃), 4,70 с (2H, CH ₂), 7,15 д (1H, Ar'(3'), J=6), 7,32 м (8H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + Ar'(4')-H), 7,94 д (1H, Ar'(6')-H, J=3), 7,96 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=9), 9,51 с (1H, NH), 10,12 с (1H, NH)	227-228	74	14	86	Активна

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
3,14	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(4-SO ₂ NH ₂)Ph	N 11,05 Cl 6,99 S 6,32	C ₂₄ H ₁₉ ClN ₄ O ₅ S	N 10,97 Cl 6,94 S 6,28	4,67 с (2H, CH ₂), 7,32 м (9H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H + NH ₂ SO ₂), 7,81 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=6), 7,96 д (2H, Ar'(2',6')-H, J=6), 7,99 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=6), 10,10 с (1H, NH), 10,50 с (1H, NH)	> 270	0	0	0	Активна
3,15	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =4-CONH-(2-OH)Ph	N 9,47 Cl 7,94	C ₂₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	N 9,38 Cl 7,92	4,69 с (2H, CH ₂), 6,85 т (1H, AR ₁ '(5 ₁ ')-H, J=9), 6,95 д (1H, AR ₁ '(6 ₁ ')-H, J=9), 7,06 т (1H, AR ₁ '(4 ₁ ')-H, J=9), 7,32 м (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(2',6')-H), 7,64 д (1H, AR ₁ '(3 ₁ ')-H, J=9), 7,98 д (2H, Ar'(3',5')-H, J=6), 9,55 с (1H, NH), 9,73 с (1H, OH), 10,12 с (1H, NH)	232-233	0	0	12	Активна
3,16	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2-CF ₃)Ph	N 8,42 Cl 7,12 F 11,32	C ₂₅ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₃	N 8,41 Cl 7,09 F 11,40	4,67 с (2H, CH ₂), 7,32 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + AR ₁ '(5 ₁ ')-H), 7,55 м (3H, Ar'(5',6')-H + AR ₁ '(6 ₁ ')-H), 7,71 м (4H, Ar(2',4') + AR ₁ '(2',4 ₁ ')-H), 10,05 с (1H, NH), 10,15 с (1H, NH)	221-222	46	14	79	Активна
3,17	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(4-(4'-хлоробензил окси)-Ph)	N 7,39 Cl 12,42	C ₃₁ H ₂₃ Cl ₂ N ₃ O ₄	N 7,34 Cl 12,39	4,67 с (2H, CH ₂), 5,01 с (2H, CH ₂), 7,03 д (2H, AR ₁ ''(2 ₁ '', 6 ₁ '')-H, J=9), 7,46 м (11H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar(2',4',5',5D,6')-H + AR ₁ '(2 ₁ ', 6 ₁ ')-H), 7,67 д (2H, AR ₁ ''(3 ₁ '', 5 ₁ '')-H, J=9), 7,76 д (2H, AR ₁ '(3 ₁ ', 5 ₁ ')-H, J=9), 10,04 с (1H, NH), 10,16 с (1H, NH)	249-250	79	84	95	Не активна
3,18	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2-COPh-4-Cl)Ph	N 7,33 Cl 12,44	C ₃₁ H ₂₁ Cl ₂ N ₃ O ₄	N 7,37 Cl 12,43	4,66 с (2H, CH ₂), 7,31 м (13H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(5',6')-H + AR ₁ '(3 ₁ ')-H + AR ₁ ''(2 ₁ '', 3 ₁ '')-H), 9,98 с (1H, NH), 7,72 д (4H, Ar(2',4')-H + AR ₁ '(5 ₁ ', 6 ₁ ')-H), 10,65 с (1H, NH)	231-232	86	84	107	Не активна
3,19	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(4-CO ₂ (CH ₂) ₄ CH ₃)Ph	N 7,79 Cl 6,51	C ₃₀ H ₂₈ ClN ₃ O ₅	N 7,70 Cl 6,49	0,99 т (3H, CH ₃ , J=6) 1,47 м (2H, CH ₂), 1,73 м (2H, CH ₂), 4,32 т (2H, COOCH ₂ , J=6), 4,70 с (2H, CH ₂), 7,34 м (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar ₁ '(2 ₁ ', 6 ₁ ')-H), 7,53 т (1H, Ar ₁ '(5 ₁ ')-H, J=6), 7,70 д (1H, Ar ₁ '(6 ₁ ')-H, J=6), 8,00 д (2H, Ar ₁ '(3 ₁ ', 5 ₁ ')-H, J=9), 8,10 д (1H, Ar ₁ '(4 ₁ ')-H, J=6), 8,46 с (1H, Ar ₁ '(2 ₁ ')-H), 10,13 с (1H, NH), 10,45 с (1H, NH)	141-142	65	69	117	Не активна
3,20	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2,4,5-трихлоро)Ph	N 7,91 Cl 26,55	C ₂₄ H ₁₅ Cl ₄ N ₃ O ₃	N 7,85 Cl 26,50	4,66 с (2H, CH ₂) 7,31 м (6H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(4')-H), 7,44 д (1H, Ar'(6')-H, J=6), 7,54 т (1H, Ar'(5')-H, J=6), 7,78 м (2H, Ar'(2')-H + AR ₁ '(3 ₁ ')-H), 7,97 д (1H, AR ₁ '(6 ₁ ')-H, J=3), 10,05 с (1H, NH), 10,19 с (1H, NH)	168-169	105	96	128	Не активна
3,21	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2-CH ₃ -5-Cl)Ph	N 8,77 Cl 14,77	C ₂₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₃ O ₃	N 8,75 Cl 14,76	2,23 с (3H, CH ₃), 4,67 с (2H, CH ₂), 7,32 м (8H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(6')-H + AR ₁ '(3', 4')-H), 7,50 м (2H, Ar(2',4')-H), 7,78 т (2H, Ar'(5') + AR ₁ '(6 ₁ ')-H), 9,94 с (1H, NH), 10,05 с (1H, NH)	181-182	69	38	92	Не активна
3,22	R=H; R ₁ =Cl; R ₂ =3-CONH-(2-OH-5-Cl)Ph	N 8,74 Cl 14,72	C ₂₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₄	N 8,71 Cl 14,70	4,67 с (2H, CH ₂), 6,94 д (1H, AR ₁ '(4 ₁ ')-H, J=9), 7,05 д (1H, AR ₁ '(3 ₁ ')-H, J=9), 7,32 т (7H, Ar(2,3,4,5,6)-H + Ar'(5',6')-H), 7,74 т (2H, Ar(2',4')-H), 7,90 с (1H, AR ₁ '(6 ₁ ')-H), 9,36 с (1H, OH), 10,01 с (1H, NH), 10,27 с (1H, NH)	131-132	2	1	6	Активна

* Ar(2,3,4,5,6)-H - позначення ароматичних протонів бензильного фрагменту в положенні 1 1H-пірол-2,5-діону; Ar'(2',3',4',5',6')-H - позначення ароматичних протонів анілінового фрагменту в положенні 4 1H-пірол-2,5-діону; Ar₁'(2₁', 3₁', 4₁', 5₁', 6₁')-H - позначення ароматичних протонів R₂ бензамідного замісника; Ar''(2'', 3'', 4'', 5'', 6'')-H - позначення ароматичних протонів R₁ замісника в положенні 3 1H-пірол-2,5-діону.

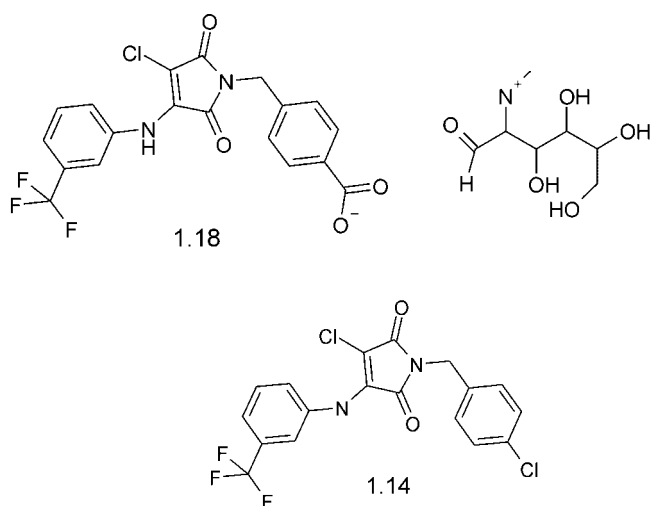


Рис. 2. Сполуки 1.14, 1.18, що були відібрані для подальшого поглибленого тестування на ракових клітинах та дослідження цитотоксичності.

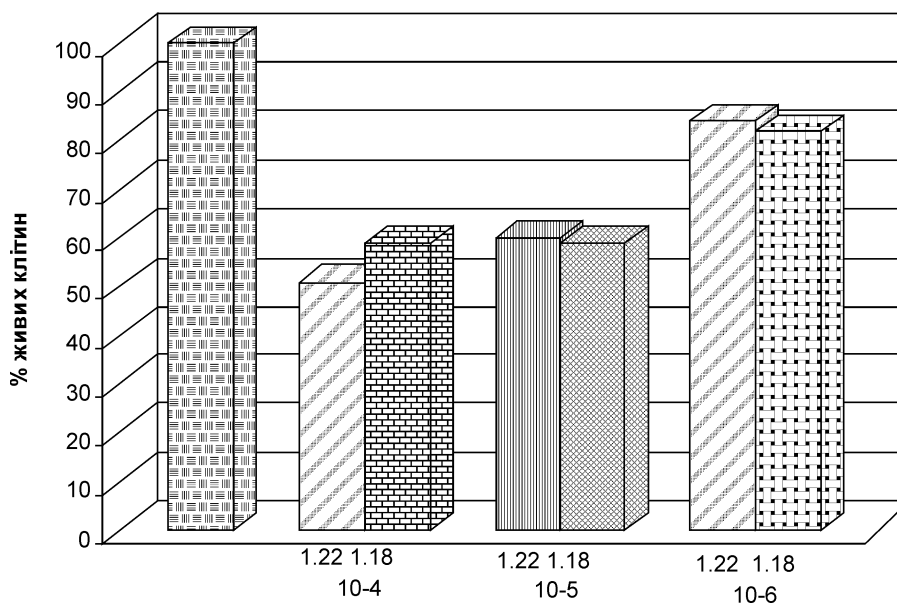
ма). Варіювання замісників (R ; R_1 ; R_2 , рис. 1, табл. 1) дало змогу визначити їх критичність для виявлення протиракової активності та дослідити певні закономірності.

Сполуки вважалися активними, якщо мітотична активність хоча б на одній із трьох культур ракових клітин людини *in vitro* (табл. 1) у присутності досліджуваної речовини складала менше 32% порівняно з контролем, тобто ріст клітин пригнічувався більше ніж на 68% при сталій концентрації досліджуваної речовини 100 мкмоль. Сполуки 1.1-1.6; 1.10-1.17; 2.1; 2.2; 3.2-3.5; 3.8-3.16; 3.22 успішно пройшли пре-скринінг і були відібрані для подальшого тестування на 60 лініях ракових клітин. Антипроліферативна дія найактивніших сполук 1.14, 1.17, 2.1, 3.2, 3.9, 3.12, 3.15, 3.16 на вибраних лініях ракових клітин наведена у табл. 2. Так, знайдено, що введення електроноакцепторних замісників у пара-положення бензильного

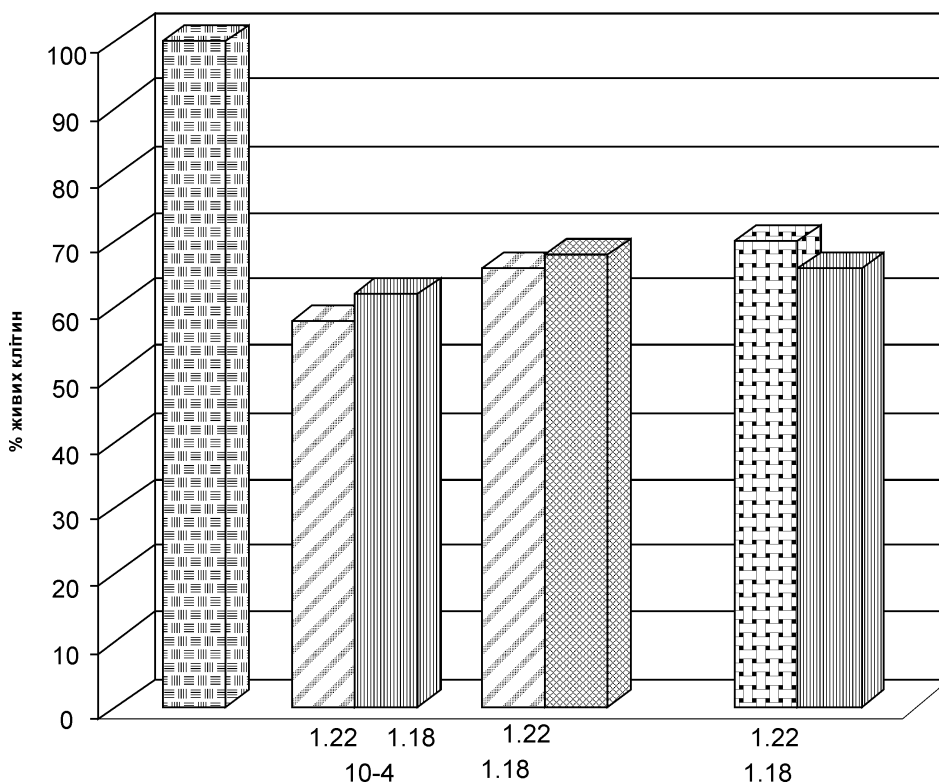
фрагменту ($R = Cl, COOR$) збільшувало антипроліферативну активність. Введення електроноакцепторних замісників у мета-положення анілінового фрагменту ($R_2 = Hlg, COOR$) також збільшувало активність, як і подовження ланцюга за рахунок додавання бензамідного радикалу (сполуки 3.1-3.22).

Наявність замісників ($Hlg, COOAlk$) в орто- та пара-положенні анілінового фрагменту сприяють зменшенню активності. Заміна атома хлору у положенні 3 maleimidного циклу на ароматичні тіоли не змінює суттєво активність (сполуки 2.1, 2.2), окрім випадку з 2-тіо-4,6-диметилпіримидином (сполуки 2.3, 2.4), введення якого нівелює антипроліферативну активність. Цікаво, що сполука 3.2 виявила селективність дії по відношенню до клітинної лінії A498 (рак нирок) із GI_{50} 0.01 мкмоль та $TGI = 0,32$ мкмоль, тоді як на всіх інших лініях не показала суттєвого пригнічення росту ракових клітин. Сполуки 1.14 та 1.17 не виявили селективності до певного типу раку і пригнічували поділ більшості ліній ракових клітин (антипроліферативна активність $GI_{50} < 1$ мкмоль). Обидві активні сполуки мають схожу структуру: у пара-положенні бензильного фрагменту — атом хлору, який підвищує антипроліферативну активність порівняно із незаміщеними сполуками, атом хлору у третьому положенні 1H-пірол-2,5-діону та атоми фтору у мета-положенні анілінового фрагменту, сполука 1.14 — у мета-положенні має трифторметильну групу, а сполука 1.17 — має атом фтору.

З метою підвищення розчинності активної сполуки 1.14 була синтезована її сіль 1.18 шляхом введення 1-(4-карбоксибензил)-фрагменту (рис. 2). Сполуки 1.14, 1.18 були використані для вивчення цитотоксичності та тестовані на моделях клітинного пошкодження (діаграми 1-3) з використанням клітинних ліній: A-549 — пухлинні клітини, отримані з недрібноклітинного раку легенів лю-



Діаграма 1. Антипроліферативна активність на культурі A-549.



Діаграма 2. Антипроліферативна активність на культурі А-549R.

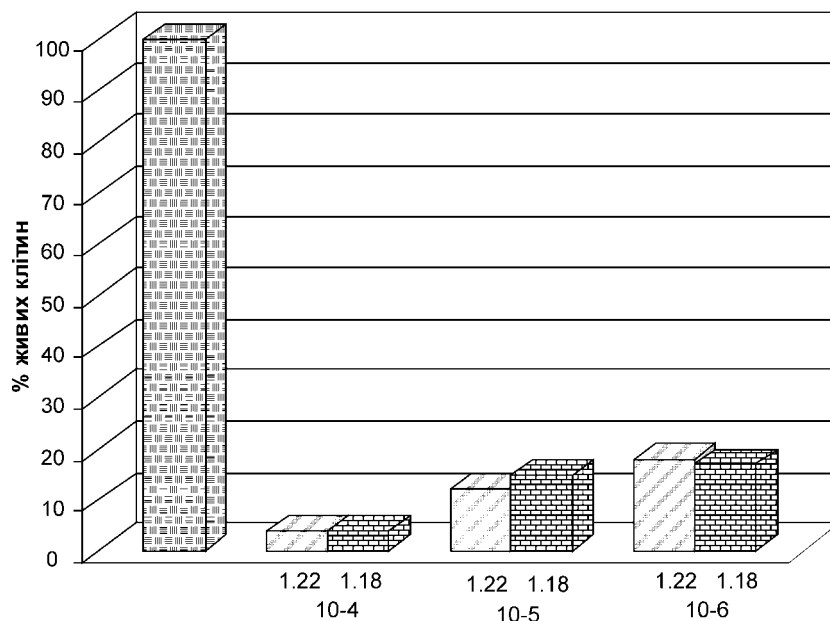
дини; А-549-R — клітини, резистентні до інтерферону в концентрації 10000 МО/мл; SW-620 — пухлинні клітини кишківника. Результати наведені на діаграмах.

Як свідчать результати досліджень, наведені в діаграмах, препарати 1.18 та 1.14 виявляють виражену антипроліферативну активність, причому вона максимальна на культурі раку кишківника, а також на клітинах, резистентних до дії інтерферону.

Для препаратів 1.18 та 1.14 була визначена гостра токсичність при пероральному застосуван-

ні, яка визначалась на білих щурах (140-160 г) за методом Літчфілда-Уіллоксона та виражалась значенням ЛД50 (летальна доза для 50% тварин), яка склала для сполуки 1.18 — 640 мг/кг (480-720) та для сполуки 1.14 — 500 мг/кг (320-540), що є незначною для препаратів цієї групи.

Таким чином, речовини на основі 1-(4-R-бензил)-3-R₁-4-(R₂-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону є потенційними сполуками для застосування в клінічній практиці. Такі сполуки можуть застосовуватися для лікування онкологічних захворю-



Діаграма 3. Антипроліферативна активність на культурі SW-620.

Таблиця 2

Антипроліферативна активність сполук 1.14, 1.17, 2.1, 3.2, 3.9, 3.12, 3.15, 3.16
проти вибраних ліній ракових клітин

Лінії ракових клітин	Знайдені величини*	Номери тестованих сполук							
		1.14	1.17	2.1	3.2	3.9	3.12	3.15	3.16
		Діючі концентрації речовин, μM							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A549/ATCC (Недрібноклітинний рак легенів)	GI ₅₀	0,58	1,92	3,81	>100	40,3	10,8	11,8	24,0
	TGI	15,7	14,1	15,9	>100	>100	32,4	24,1	60,5
	LC ₅₀	49,7	44,6	53,4	>100	>100	97,6	49,1	>100
SR (Лейкемія)	GI ₅₀	<0,01	0,16	4,74	2,23	1,40	1,51	0,22	3,09
	TGI	>100	>100	21,2	76,7	3,24	4,81	1,32	16,4
	LC ₅₀	>100	>100	71,2	>100	7,48	84,6	6,48	78,0
NCI-H226 (Недрібноклітинний рак легенів)	GI ₅₀	<0,01	ND	2,55	>100	15,4	11,5	1,31	15,4
	TGI	<0,01	0,57	22,0	>100	35,2	25,1	5,55	52,9
	LC ₅₀	28,5	6,35	>100	>100	80,4	54,7	24,6	>100
HCT-116 (Рак прямої кишки)	GI ₅₀	0,016	0,032	9,86	>100	5,76	0,74	ND	16,4
	TGI	1,81	1,47	21,5	>100	14,8	3,76	ND	30,3
	LC ₅₀	27,8	6,26	46,4	>100	38,5	24,7	ND	55,9
SW-620 (Рак прямої кишки)	GI ₅₀	0,015	0,48	14,2	>100	4,65	1,64	2,89	35,0
	TGI	18,1	13,7	33,4	>100	14,4	ND	8,18	>100
	LC ₅₀	69,7	57,0	78,8	>100	>100	>100	96,5	>100
SF-268 (Нейробластома)	GI ₅₀	0,06	0,32	10,5	>100	4,74	2,55	ND	1,88
	TGI	10,2	1,98	26,8	>100	14,9	7,46	ND	6,38
	LC ₅₀	40,8	25,8	68,4	>100	52,5	35,3	ND	31,0
U251 (Нейробластома)	GI ₅₀	0,041	0,55	13,0	>100	9,81	3,04	3,13	4,47
	TGI	13,3	10,3	35,4	>100	23,2	12,8	12,2	19,5
	LC ₅₀	37,0	34,2	96,2	>100	54,1	56,9	34,9	57,6
MALME-3M (Меланома)	GI ₅₀	<0,01	0,31	1,74	>100	ND	14,6	0,04	ND
	TGI	0,098	4,35	9,97	>100	ND	30,4	4,15	ND
	LC ₅₀	30,7	57,0	31,6	>100	ND	63,1	43,1	ND
UACC-62 (Меланома)	GI ₅₀	<0,01	<0,01	5,30	>100	9,78	4,13	1,88	10,3
	TGI	0,33	0,34	18,9	>100	22,7	16,7	5,31	44,2
	LC ₅₀	12,7	52,7	50,3	>100	51,8	54,5	19,1	>100
OVCAR-3 (Рак яєчників)	GI ₅₀	0,051	0,38	4,83	>100	2,77	1,99	1,37	3,79
	TGI	5,94	3,15	19,9	>100	6,61	5,37	3,47	19,2
	LC ₅₀	38,1	77,3	60,1	>100	30,8	21,8	8,80	50,5
OVCAR-8 (Рак яєчників)	GI ₅₀	1,07	0,86	11,9	59,0	12,1	2,62	2,06	30,1
	TGI	24,9	12,3	26,9	>100	29,9	6,32	4,62	52,0
	LC ₅₀	78,2	58,0	60,6	>100	73,7	35,4	11,0	89,8
786-0 (Рак нирок)	GI ₅₀	<0,01	0,23	20,7	>100	5,64	2,87	1,36	3,95
	TGI	11,2	1,16	39,4	>100	15,0	8,74	3,55	16,1
	LC ₅₀	33,8	12,6	74,7	>100	39,2	29,4	9,23	40,1
RXF 393 (Рак нирок)	GI ₅₀	<0,01	0,237	5,07	>100	7,55	ND	2,43	ND
	TGI	0,30	1,88	25,6	>100	20,3	ND	5,30	ND
	LC ₅₀	34,6	18,1	>100	>100	48,4	ND	14,3	ND
PC-3 (Рак простати)	GI ₅₀	0,16	0,40	2,15	34,9	5,19	3,29	ND	5,82
	TGI	12,5	2,78	14,3	>100	16,7	12,5	ND	28,1
	LC ₅₀	45,8	15,3	37,9	>100	40,9	38,2	ND	>100
DU-145 (Рак простати)	GI ₅₀	0,40	0,71	16,2	52,4	3,10	0,96	11,1	5,11
	TGI	4,07	2,67	33,3	>100	8,66	6,91	23,0	29,0
	LC ₅₀	30,0	7,60	68,6	>100	41,7	29,3	48,0	>100
MCF7 (Рак молочної залози)	GI ₅₀	<0,01	0,29	6,87	>100	2,67	1,29	ND	ND
	TGI	1,95	1,94	22,8	>100	9,23	4,86	ND	ND
	LC ₅₀	34,8	48,2	64,1	>100	>100	31,3	ND	ND
NCI/ADR-RES (Рак молочної залози)	GI ₅₀	<0,01	0,33	11,5	>100	5,88	11,3	3,57	20,9
	TGI	15,2	2,18	31,5	>100	20,0	26,7	15,3	45,0
	LC ₅₀	84,1	14,4	88,7	>100	54,8	62,8	47,3	97,0
HS 578T (Рак молочної залози)	GI ₅₀	0,11	2,26	11,5	>100	ND	1,99	12,3	8,27
	TGI	23,2	9,47	43,8	>100	ND	5,49	43,3	28,5
	LC ₅₀	>100	>100	>100	>100	ND	>100	>100	92,5
MDA-MB-435 (Рак молочної залози)	GI ₅₀	<0,01	0,13	11,1	>100	4,58	11,7	2,40	2,20
	TGI	1,73	0,46	27,5	>100	25,8	25,2	10,2	12,0
	LC ₅₀	39,2	16,9	67,2	>100	>100	54,1	35,6	62,8

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TK-10 (Рак нирок)	GI ₅₀ TGI LC ₅₀	0,31 17,7 49,5	2,26 9,87 73,2	<0,01 16,8 63,0	>100 >100 >100	10,6 38,6 >100	19,5 51,4 >100	1,38 5,69 24,0	4,25 21,8 71,4
A498 (Рак нирок)	GI ₅₀ TGI LC ₅₀	0,37 16,8 42,8	2,85 12,8 39,0	ND ND >100	<0,01 0,32 >100	ND ND >100	8,06 22,2 52,1	16,0 29,5 54,7	11,3 37,0 >100
CAKI-1 (Рак нирок)	GI ₅₀ TGI LC ₅₀	0,22 16,2 52,9	0,81 8,82 73,2	21,6 55,2 >100	>100 >100 >100	9,54 40,7 >100	0,80 2,98 10,7	2,05 5,46 21,4	17,2 45,2 >100

* GI₅₀ - концентрація досліджуваної речовини, при якій мітотична активність ракових клітин зменшується на 50% порівняно з контролем; TGI - концентрація досліджуваної речовини, при якій мітотична активність ракових клітин дорівнює 0%, тобто повністю пригнічена порівняно з контролем; LC₅₀ - концентрація досліджуваної речовини, при якій 50% ракових клітин гинуть.

вань, особливо шлунково-кишкового тракту та при резистентності до інтерферону.

Експериментальна частина

Контроль за проходженням реакції та чистою синтезованих сполук здійснювався хроматографічно на пластинах "Silufol UV-254", елюент: хлороформ — метанол (9:1). Структуру одержаних сполук доведено за допомогою ПМР-, ІЧ-спектрів, елементного аналізу та мас-спектрів. ІЧ-спектри записані на приладах UR-20, Specord 75-IR та Pye Unicam в області 4000-400 см⁻¹ в таблетках КВг. Спектри ПМР записані в ДМСО-D₆ на приладі "Varian" з робочою частотою 300 МГц і внутрішнім стандартом тетраметилсиланом. Величини хімічних зсувів визначались з точністю до 0,001 м. ч.

Загальна методика синтезу 1-(4-R-бензил)-3-хлоро-4-(R2-феніламіно)-2,5-дигідро-1H-2,5-піролдіонів 1.1-1.17

1 стадія. До розчину 0,1 М 3,4-дихлор-1H-пірол-2,5-діону (1) у 20 мл льодяної оцтової кислоти краплинами при перемішуванні і охолодженні додали 0,1 М відповідного бензиламіну (2) в 10 мл льодяної оцтової кислоти, далі перемішували при кімнатній температурі до випадіння осаду. Відфільтрували осад, промили водою, спиртом, після висушування перекристалізували із хлороформу. Вихід продуктів 3 складав 70-85%.

2 стадія. Суміш 0,05 М відповідного 3,4-дихлор-1H-пірол-2,5-діону, 0,105 М відповідного аміну кип'ятили протягом 1,5-2 год. у 50 мл етилового спирту, закінчення реакції визначали методом ТШХ за зникненням плями вихідного з R_f = 0,9 (CHCl₃:MeOH; 9:1). Суміш охолодили, осад відфільтрували, промили невеликою кількістю спирту та води, перекристалізували з етанолу. Вихід продуктів 1.1-1.17 та 6 складав 78-95%.

Загальна методика синтезу 1-(4-R-бензил)-3-(R2-феніламіно)-4-(гет)арилтіо-1H-пірол-2,5-діонів 2.1-2.4

До розчину 0,01 М відповідного 1-(4-R-бензил)-3-хлоро-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону 4 у 15 мл сухого діоксану додали 0,011 М відповідного меркапто(гет)арилу 5 та 0,011 М три-

етиламіну, кип'ятили протягом 3 год. Охолодили, випарували діоксан, до сухого залишку додали води і підкислили оцтовою кислотою до pH = 7. Відфільтрували осад, висушили, перекристалізували із суміші спирт : діоксан (1:1). Вихід продуктів 2.1-2.4 складав 60-87%.

Загальна методика синтезу м(п)-(1-(4-R-бензил)-4-хлоро-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-3-іламіно)-N-фенілбензамід 3.1-3.22

1) До 0,1 М відповідної кислоти 6 додали 100 мл хлористого тіонілу і кип'ятили протягом 3 год., випарували хлористий тіоніл у вакуумі, додали дві порції бензолу по 30 мл і по черзі випарували, сухий залишок хлорангідриду вивантажили на фільтр та швидко промили невеликою кількістю сухого ізопропанолу, висушили у вакуумі.

2) До 0,01 М відповідного хлорангідриду у 15 мл сухого діоксану додали 0,011 М відповідного аміну та 0,011 М триетиламіну і нагрівали на водяній бані протягом 0,5 год. Діоксан випарували у вакуумі, до сухого залишку додали 20 мл води і підкислили оцтовою кислотою до pH = 7. Відфільтрували осад, висушили, перекристалізували із суміші спирт : діоксан (1:1). Вихід продуктів 3.1-3.22 складав 78-95%.

3,4,5,6-Тетрагідрокси-N-метил-1-оксогексан-2-амонію 4-((3-хлоро-2,5-діоксо-4-(3-(трифторметил)феніламіно)-2H-пірол-1(5H)-іл)метил)бензоат (1.18)

0,05 М 4-[3-хлоро-2,5-діокси-4-(3-(трифторметил)аніліно)-2,5-дигідро-1H-1-піролометил]бензойної кислоти і 0,05 М 3,4,5,6-тетрагідрокси-2-(метиламіно)гексаналю розчинили при нагріванні і перемішуванні у суміші етанол : вода — 1:1. Отриманий розчин випарували до сухого залишку у вакуумі роторного випарювача. Продукт промили невеликою кількістю етанолу. Вихід 1-форміл-2,3,4,5-тетрагідроксифеніл(N-метил)амоній 4-[3-хлоро-2,5-діоксо-4-(3-(трифторметил)аніліно)-2,5-дигідро-1H-1-піролметил]бензоату (1.18) — 98%.

Біологічне тестування

Тестовано на протипухлинну активність 44 похідних 2,5-дигідро-1H-пірол-2,5-діону (малеїміду) 1.1-1.17; 2.1-2.4; 3.1-3.22. На першому етапі здійс-

нювався пре-скринінг сполук на трьох лініях ракових клітин (Breast (рак молочної залози), Non-Small Cell Lung (недрібноклітинний рак легень), CNS (нейробластома)) при одній стандартній концентрації речовини — 10^{-4} М.

Біологічне тестування відібраних після пре-скринінгу речовин проводилось на 60 лініях ракових клітин людини при 5-ти різних концентраціях речовини (10^{-8} - 10^{-4} М) для з'ясування найбільш ефективної концентрації.

Ефективність дії речовини на клітинну лінію розраховувалась відповідно до одного з наведених виразів:

$$1) \text{ При } (\{OD_{\text{test}}\} - \{OD_0\}) \geq 0$$

$$MA = 100 \times (\{OD_{\text{test}}\} - \{OD_0\}) / (\{OD_{\text{ctrl}}\} - \{OD_0\})$$

$$2) \text{ При } (\{OD_{\text{test}}\} - \{OD_0\}) < 0$$

$$MA = 100 \times (\{OD_{\text{test}}\} - \{OD_0\}) / \{OD_0\},$$

де: $\{OD_0\}$ — середнє значення вимірів оптичної густини одразу після додавання речовини;

$\{OD_{\text{test}}\}$ — середнє значення вимірів оптичної густини через 48 годин інкубації клітин, оброблених речовиною, що тестується;

$\{OD_{\text{ctrl}}\}$ — середнє значення вимірів оптичної густини через 48 годин інкубації клітин без додавання речовини (контроль);

МА — рівень мітотичної активності клітинної лінії після обробки речовиною порівняно з контролем.

Експерименти на лабораторних моделях клітинного пошкодження

Клітини A-549, A-549-R, SW-620 культивували на середовищі RPMI-1640 (SIGMA, США) з 2 мМ/л L-глутаміну та 40 мкг/мл гентаміцину (SIGMA, США) у зволоженій атмосфері з 5% CO_2 при 37°C. Зміну середовища проводили кожні 2-3 доби. Після того, як клітини утворювали на субстраті щільний моношар (4-5 доба росту), здійснювали їх пересів з використанням фосфатно-сольового буфера (ФСБ) (SIGMA, США), 0,03% розчину Na-EDTA (версен) ембріональної сироватки теляти (Біомарк, Україна).

Суспензію клітин висаджували на 24-лункові планшети в концентрації 3×10^4 /лунку.

Одночасно вносили досліджувані препарати в розведеннях від 10^{-4} до 10^{-6} та реєстрували результати через 24, 48 та 72 години. При обробці клітин препаратами на протязі кількох діб щоденно проводили заміну середовища на свіже, додаючи свіжу порцію препарату. Візуалізацію живих та мертвих клітин проводили за допомогою фарбування їх трипановим синім та підрахунку в гемоцитометрі.

Література

1. Лутай М. І., Дорогий А. П. // *Нова медицина*. — 2002. — №3. — С. 18-21.
2. Передерий В. Г., Бычкова Н. Г. *Популярная иммунология*. — К.: Наукова думка, 1990. — 206 с.
3. Skladanowski A., Kopora J. // *Biochem. Pharmacol.* — 1993. — Vol. 46. — P. 375-382.
4. Tanaka N. // *Gan To Kagaku Ryoho*. — 1983. — Vol. 10, №11. — P. 2245-2251.
5. Stott W.T., Gollapudi B.B., Rao K.S. // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* — 2001. — Vol. 168. — P. 1-42.
6. Машковский М.Д. *Лекарственные средства*. В 2-х т. 14-е изд., перераб., исправл. и доп. — М.: Новая волна, 2002.
7. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П. *Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства*. — К: Наукова думка, 1998. — 317 с.
8. Meijer L., Greengard P. // *TRENDS in Pharm. Sci.* — 2004. — Vol. 25, №9. — P. 472-480.
9. Hers I. // *FEBS Lett.* — 1999. — Vol. 460. — P. 433-436.
10. Smith D.G. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2001. — Vol. 11. — P. 635-639.
11. Тарнавський С.С., Дубініна Г.Г., Головач С.М., Ярмолюк С.М. // *Біополімери і клітина*. — 2003. — Т. 19, №3. — С. 287-291.
12. Дубініна Г.Г., Тарнавський С.С., Головач С.М., Ярмолюк С.М. // *Біополімери і клітина*. — 2003. — Т. 19, №6. — С. 548-552.
13. Дубініна Г.Г., Тарнавський С.С., Головач С.М., Ярмолюк С.М. // *Укр. хім. журн.* — 2002. — Т. 68, №8. — С. 47-51.

Надійшла до редакції 30.08.2006 р.