

УДК 547.576 + 547.789

РАДИКАЛ-ПОГЛИНАЛЬНА ТА ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ 6*H*-ХРОМЕНО[4',3':4,5]ТІОПІРАНО[2,3-*d*][1,3]ТІАЗОЛ-2-ОНІВ

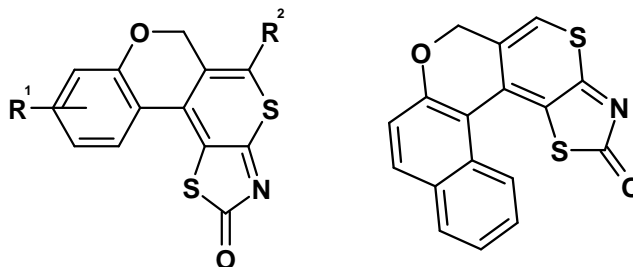
А. Бригас, В. Матійчук

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна
e-mail: andrew.bryhas@gmail.com

Досліджено радикал-поглинальну та протипухлинну активність уперше синтезованих нами 6*H*-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-онів та отримано перспективні результати.

Ключові слова: радикал-поглинальна активність, протипухлинна активність, доміно-реакції, 6*H*-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол, дифенілпікрілгідрозил.

Сполуки, що містять у складі один або більше ароматичних циклів, давно цікавлять фахівців з медичної хімії як інгібітори вільних радикалів. Конструюють щораз нові молекули, що можуть бути поглиначами радикалів, а протягом останнього десятиліття науковців все більше цікавлять речовини, які можна використати як інгібітори вільних радикалів *in vivo* і так застосувати їх як інгібітори росту ракових пухлин. Одними із таких речовин можуть бути 6*H*-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-они **1a-f**, **2a-b**:



1, 2

1f

R¹ = H (1a, 2a), 8-Me (1b), 9-Me (1c), 10-Cl (1d, 2b), 10-Br (1e);
R² = H (1a-e), 5-(4-BrC₆H₄) (2a, b)

Речовини **1, 2** ми синтезували в рамках дослідження реакції доміно Кневена-геля-гетеро-Дільса-Альдера [1-3].

6*H*-Хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-они **1, 2** дослідили стосовно радикал-поглинальної активності. Для цього використовували стабільний радикал N,N-дифенілпікрілгідрозил (ДФПГ). Досліджувані сполуки змішували з розчином радикала в диметилсульфоксиді та витримували 2 год. Отримані результати наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Радикал-поглинальна активність сполук 1, 2

Номер сполуки	Ступінь поглинання радикалів, %
1a	30,1
1b	19,3
1c	33,6
1d	31,9
1e	23,4
1f	22,9
2a	30,2
2b	26,4

На підставі порівняння даних, отриманих у ході нашого експерименту, з відповідними даними для еталонної речовини аскорбінової кислоти (РПА = 21,5%), можна зробити висновок, що синтезовані нами речовини виявляють обнадійливі результати щодо радикал-поглинальної активності.

Досліджено також протипухлинну активність сполук **1**, **2** на різних типах ракових клітин. Для цього відібрали дві найліпші, згідно з даними попереднього експерименту, речовини. Дослідження проводили для сполук 1c та 1d відповідно до стандартного протоколу Національного інституту раку США (NCI, USA) [4–6]. Результати цих досліджень наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Протипухлинна активність досліджуваних сполук

Тип ракових клітин	Швидкість росту відносно початкової швидкості, %	
	1c	1d
Недрібноклітинний рак легень		
ЕКVX	53,07	56,07
НОР-92	82,45	88,59
Рак товстої кишки		
НСТ-116	81,62	96,19
Рак ЦНС		
SNB-75	64,08	95,95
Меланома		
SK-MEL-5	81,82	90,88
Рак нирки		
UO-31	80,07	82,55

Як бачимо з табл. 2, отримані нами сполуки виявляють активність у сповільненні мітозу різних типів ракових клітин. Зокрема, зафіксовано ефективність сповільнення мітозу клітин раку легень, де одержано результат 53 % порівняно з первинною швидкістю мітозу.

Отже, раніше невідомі 6*H*-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-они **1**, **2**, для яких ми розробили спосіб синтезу [1], є перспективними для пошуку протипухлинних препаратів.

Вивчення радикал-поглинальної активності сполук 1 та 2. Розчин сполуки **1** або **2** в ДМСО (0,3 мл, 250 μмоль/л) додавали до розчину ДФПГ у ДМСО (2,7 мл, 150 μмоль/л). Суміш інтенсивно перемішували і залишали на 2 год. Після цього розчин вносили в кювету спектрофотометра «SPECORD M40» (1–10 мм, довжина

хвилі – 517 нм) і визначали його оптичну густину. Радикал-поглинальну активність сполук обчислювали за формулою

$$РПА = \frac{A_{DPPH} - A_s}{A_{DPPH}} \cdot 100 \%,$$

де A_{DPPH} – оптична густина розчину вільного радикалуДФПГ (135 μ моль/л), A_s – оптична густина розчинуДФПГ з тестованою речовиною.

Дослідження протипухлинної активності. Лінії людських пухлинних клітин панелі скринінгу раку вирощують у середовищі RPMI 1640, що містить 5 % ембріональної телячої сироватки і 2 ммоль/л L-глутаміну. Для типового скринінгового експерименту клітини вносять у 96 мікротитрувальних чашок в 100 μ л середовища до густини від 5 000 до 40 000 клітин на чашку залежно від часу подвоєння лінії клітин. Після внесення клітин чашки інкубують при 37 °С, 5 % CO₂, 95 % повітря і 100 % відносної вологості протягом 24 год перед додаванням експериментальних препаратів.

Після 24 год дві чашки кожної лінії клітин фіксують *in situ* за допомогою трихлороцтової кислоти (ТХК), щоб відобразити кількість популяції кожної клітинної лінії в момент додавання препарату (T_z). Експериментальні препарати розчиняють у ДМСО в 400-кратній концентрації порівняно з бажаною кінцевою максимальною концентрацією і зберігають замороженими перед використанням. У момент додавання препарату аліквоту замороженого концентрату розморожують і розводять до двократної концентрації порівняно з бажаною кінцевою середовищем, що містить 50 μ г/мл гентаміцину. Додатково проводять чотири десятикратні розведення, щоб забезпечити п'ять концентрацій плюс контрольну пробу. Аліквоти 100 μ л цих розчинів різних розведень додають до відповідних мікротитрувальних чашок, що вже містять 100 μ л середовища, отримуючи необхідну кінцеву концентрацію.

Після додавання препарату чашки інкубують ще 48 год при 37 °С, 5 % CO₂, 95 % повітря і 100 % відносної вологості. Для липких клітин пробу знищують додаванням холодної ТХК. Клітини фіксують *in situ* обережним додаванням 50 μ л холодної 50 % ТХК (кінцева концентрація – 10 % ТХК) та інкубують 60 хв при 4 °С. Залишки, що спливли, відкидають, а чашки промивають п'ять разів водою і сушать повітрям. До кожного зразка додають 0,4 % розчин сульфородаміну Б в 1 % оцтової кислоті, чашки витримують 10 хв за кімнатної температури. Після зафарбовування незв'язаний барвник видалають промиванням 1 % оцтовою кислотою п'ять разів, чашки висушують. Зв'язаний барвник потім розчиняють 10 мМ тризма-основою, а абсорбат зчитують автоматизованим детектором за довжини хвилі 515 нм. Вимірювання виконують сім разів [початковий час (T_z), контрольний ріст (C) і тестовий ріст в присутності препарату за п'яти різних концентрацій (T_i)], відсоток росту розраховують для кожної з концентрацій. Відсоток інгібування росту розраховують так:

$$[(T_i - T_z)/(C - T_z)] \times 100 \text{ для концентрацій, для яких } T_i \geq T_z$$

$$[(T_i - T_z)/T_z] \times 100 \text{ для концентрацій, для яких } T_i < T_z.$$

Дослідження протипухлинної активності проводили в Національному інституті раку США.

1. Bryhas A.O., Horak Yu.I., Ostapiuk Yu.V. et al. A new three-step domino Knoevenagel–hetero-Diels–Alder oxidation reaction // Tetrahedron Lett. 2011. Vol. 52. P. 2324–2326.

2. Бригас А.О., Горак Ю.І., Матійчук В.С. та ін. Нова доміно-реакція в ацетиле-новому ряді // Домбровські хім. читання 2010: Тези доп. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2010. С. 50.
3. Бригас А.О., Матійчук В.С. Нова тристадійна реакція доміно-Кневенагеля-гетеро-Дільса-Альдера // Львів. хім. читання 2011: Тези доп. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2011. С. У74.
4. Monks A., Scudiero D. Skehan P. et al. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines // J. Nat. Cancer Inst. 1991. Vol. 83. P. 757–766.
5. Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen // Drug Dev. Res. 1995. Vol. 34. P. 91–109.
6. Monks A. Scudiero D.A., Johnson G.S. et al. The NCI anti-cancer drug screen: a smart screen to identify effectors of novel targets // Anticancer Drug Des. 1997. Vol. 12. P. 533–541.

THE RADICAL-CONSUMING AND ANTITUMOR ACTIVITY OF 6H-CHROMENO[4',3':4,5]THIOPYRANO[2,3-d][1,3]THIAZOL-2-ONES

A. Bryhas, V. Matiychuk

*Ivan Franko National University of Lviv,
Kyryla & Mefodiya Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine,
e-mail: andrew.bryhas@gmail.com*

The radical-consuming and antitumor activity of 6H-chromeno[4',3':4,5]thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazol-2-ones was investigated. Promising results were obtained.

Key words: radical-consuming activity, antitumor activity, domino-reactions, 6H-chromeno[4',3':4,5]thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazol, diphenylpicrylhydrazyl.

РАДИКАЛ-ПОГЛОЩАЮЩАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ 6H-ХРОМЕНО[4',3':4,5]ТИОПИРАНО[2,3-d][1,3]ТИАЗОЛ-2-ОНОВ

A. Bryhas, V. Matiychuk

*Львовський національний університет імені Івана Франка,
ул. Кирила и Мефодия, 6, 79005 Львов, Україна,
e-mail: andrew.bryhas@gmail.com*

Исследовано радикал-поглощающую и противоопухолевую активность впервые синтезированных нами 6H-хромено[4',3':4,5]тиопирано[2,3-d][1,3]тиазол-2-онов и получено перспективные результаты.

Ключевые слова: радикал-поглощающая активность, противоопухолевая активность, домино-реакции, 6H-хромено[4',3':4,5]тиопирано[2,3-d][1,3]тиазол, дифенилпикрилгидразил.

Стаття надійшла до редколегії 19.10.2011
Прийнята до друку 21.12.2011