

А.К. Білий¹, С.І. Коваленко¹, А.М. Кацев², С.В. Холодняк¹, О.С. Федотова²

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ТА ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ХІНАЗОЛІНУ ТА ЙОГО КОНДЕНСОВАНИХ АНАЛОГІВ

¹Запорізький державний медичний університет,

²Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

Ключові слова: (3*H*-хіназолін-4-іліден)гідразиди гетерилкарбонових кислот, 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназоліни, інгібування біоломінесценції, протипухлинна активність.

Ключевые слова: (3*H*-хиназолин-4-илиден)гидразиды гетерилкарбоновых кислот, 2-гетерил-[1,2,4]триазоло[1,5-*c*]хинозолины, ингибирование биolumинесценции, противоопухолевая активность.

Key words: (3*H*-quinazolin-4-yliden)hydrazides heterylcarbonic acids, 2-heteryl-[1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolines, bioluminescence inhibition, antitumoral activity.

Наведено результати досліджень невідомих (3*H*-хіназолін-4-іліден)гідразидів гетерилкарбонових кислот і 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінів на цитотоксичність на моделі інгібування біоломінесценції бактерій *P. leiognathi* Sh1 та протипухлинну активність на моделі пригнічення росту клітинних ліній раку людини. Встановлено, що найбільшу цитотоксичну та протипухлинну активність серед досліджених сполук до клітинних ліній CCRF-CEM лейкемії, MCF7 та MDA-MB-468 раку молочної залози проявляють речовини 2.1 та 2.2. Вказано на перспективність подальшої модифікації 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінів і можливий шлях посилення протипухлинної активності.

Приведены результаты исследований неизвестных (3*H*-хиназолин-4-илиден)гидразидов гетерилкарбоновых кислот и 2-гетерил-[1,2,4]триазоло[1,5-*c*]хинозолинов на цитотоксичность на моделях ингибирования биolumинесценции бактерий *P. leiognathi* Sh1 и противоопухолевую активность на модели угнетения роста клеточных линий рака человека. Установлено, что наибольшую цитотоксическую и противоопухолевую активность среди изученных соединений к клеточным линиям CCRF-CEM лейкемии, MCF7 и MDA-MB-468 рака молочной железы проявляют соединения 2.1 и 2.2. Указано на перспективность последующей модификации 2-гетерил-[1,2,4]триазоло[1,5-*c*]хинозолинов и возможный путь усиления противоопухолевой активности.

The results of investigation aimed to search the novel cytotoxic and anticancer agents among the insufficiently known (3*H*-quinazolin-4-yliden)hydrazides of heterylcarboxylic acids and 2-heteryl-[1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolines were shown in this article. The cytotoxicity was evaluated on the *P. leiognathi* Sh1 bioluminescence inhibition model, the antumoral activity - on *in vitro* cancer cell line growth inhibition model. It was found that compounds 2.1 and 2.2 exhibit the highest cytotoxic and antumoral activity against CCRF-CEM leukemia, MCF7 and MDA-MB-468 breast cancer cell lines. It was noted promising further modification of 2-heteryl-[1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolines and probable increasing of their biological activity.

У сучасних умовах створення інноваційних лікарських препаратів є вкрай високовартісним процесом. Витрати зумовлені постійно зростаючими вимогами до ефективності та безпечності нових фармакологічних агентів, що, в свою чергу, призводить до збільшення кількості необхідних досліджень. Одним із напрямків зниження вартості досліджень, спрямованих на створення нових біоактивних агентів, є виважений підхід до кожного етапу розробки з використанням найновіших досягнень медичної хімії. Особливо помітних успіхів досягнуто у галузі методів *in vitro*, метою яких є встановлення наявності біологічної дії у синтезованих сполук. Сукупність названих підходів, що мають умовну назву «біологічний скринінг», дозволяють здійснювати первинні фармакологічні дослідження для об'ємних комбінаторних бібліотек [1,2].

Останнім часом при розробці нових лікарських препаратів широко використовується «прескринінг біологічної активності». Під цим терміном, як правило, розуміють сукупність відносно простих за реалізацією підходів, що дозволяють виявити наявність певного виду (або типу) біологічної дії. Одним із типів біологічної дії, на виявленні якої ґрунтуються ряд прескринінгових методів, є гостра

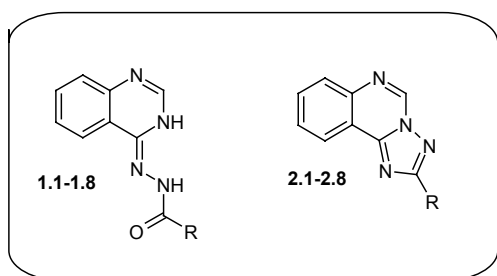
та хронічна цитотоксичність [7–9]. Для визначення цитотоксичності застосовується декілька підходів [3–6], зокрема визначення рівня інгібування біоломінесценції бактерій *Photobacterium leiognathi* Sh1. Наведений метод характеризується високою відтворюваністю, простотою та порівняно невеликою вартістю. Цитотоксичність не можна характеризувати як фармакологічну активність, але наведений тип біологічної дії є основою ефектів протипухлинних, протимікробних та імуносупресивних препаратів. Отже, проведення первинних досліджень на цитотоксичну дію можуть виявити перспективні сполуки для подальших досліджень на наявність протипухлинної активності з використанням відповідних моделей.

МЕТА РОБОТИ

Дослідження цитотоксичності на моделях інгібування біоломінесценції бактерій *P. leiognathi* Sh1 та первинної протипухлинної активності на моделі пригнічення росту клітинних ліній раку людини невідомих похідних хіназоліну та його конденсованих аналогів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження є ряд (3*H*-хіназолін-4-іліден)гідразидів



- 1.1, 2.1 R=furan-2-yl; 1.2, 2.2 R=furan-3-yl;
 1.3, 2.3 R=1-benzofuran-2-yl; 1.4, 2.4 R=thiophen-2-yl;
 1.5, 2.5 R=thiophen-3-yl; 1.6, 2.6 R=1-benzothiophen-2-yl;
 1.7, 2.7 R=pyrrol-2-yl; 1.8, 2.8 R=indol-2-yl

Рис. 1. Принципова будова (3H-хіназолін-4-іліден)гідразидів гетерилкарбонових кислот і 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназолінів.

гетерилкарбонових кислот і 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназолінів (рис. 1), синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри – професор, д. фарм. н. І.А. Мазур).

Цитотоксичність синтезованих сполук оцінювали на бактеріях *Photobacterium leiognathi* Sh1 з колекції Кримського медичного університету ім. С.І. Георгієвського. Визначення гострої (інгібування біоломінесценції) та хронічної (інгібування біоломінесценції та росту бактерій) бактеріцидної та бактеріостатичної дії проводили шляхом тестування досліджуваних сполук у концентраціях 0,025, 0,1 та 0,25 мг/мл в диметилсульфоксиді (ДМСО) [10–11]. Реєстрували зміну інтенсивності біоломінесценції з використанням самописця LKB (Bromma), порівнювали з контролем, що замість тестованого розчину містив такий же об'єм 3% розчину натрію хлориду. У якості референс-сполуки використовували тетрациклін, що проявляє бактеріцидну та бактеріостатичну дію проти *P. leiognathi* Sh1.

Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали методом високоефективного біологічного скринінгу згідно до міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) [10–13]. Первинний протипухлинний *in vitro* скринінг [12–16] полягав у тестуванні сполук на 60 лініях людських ракових клітин (лінії раку легень, молочної залози, яєчників,

лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланоми, раку простати та ЦНС) у концентрації 10,00 μМ. Експеримент проводили шляхом оцінки кількості клітин методом флуоресцентного забарвлення (барвник – сульфородамін Б) та представили як результат відсотка росту клітин кожної лінії раку у порівнянні з контролем.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті дослідження інгібування біоломінесценції відносно до luminescent bacteria *Photobacterium leiognathi* strain Sh1 встановлено, що (3H-хіназолін-4-іліден)гідразиди гетерилкарбонових кислот (1.2, 1.4, 1.5, 1.7) та 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназоліни (2.1-2.8) у більшості випадках у зазначених концентраціях проявляють інгібуючі властивості на моделі гострої і хронічної біоцидної дії (табл. 1). Так, N'-(3H-хіназолін-4-іліден)гідразид 3-фуранкарбонової кислоти (1.2) проявляє високу цитотоксичність на моделі як гострої, так і хронічної біоцидної дії в інтервалі всіх досліджуваних концентрацій (інгібування біоломінесценції та росту бактерій на 85,3–100%).

Модифікація молекули шляхом отримання N'-(3H-хіназолін-4-іліден)гідразид 2-тіофенкарбонової кислоти (1.4) призводить до зменшення інгібування біоломінесценції на моделі гострої біоцидної дії, але посилення інгібування біоломінесценції та росту бактерій на моделі хронічної біоцидної дії. Цікаво, що подібний прояв цитотоксичності

Таблиця 1

Результати інтенсивності біоломінесценції, %

Речовина	Контроль	Гостра біоцидна дія, мг/мл			Хронічна біоцидна дія, мг/мл		
		0.025	0.1	0.25	0.025	0.1	0.25
ДМСО	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
1.2	100.00	12.70	3.2	3.2	14.7	0.0	0.0
1.4	100.00	66.50	92.5	23.1	0.0	0.0	0.0
1.5	100.00	58.30	8.3	4.2	0.0	0.0	0.0
1.7	100.00	90.80	52.9	40.3	27.9	10.5	0.0
2.1	100.00	69.90	69.9	40.4	0.0	0.0	0.0
2.2	100.00	43.80	14.6	4.2	111.6	0.0	0.0
2.3	100.00	102.30	76.7	76.7	35.7	35.7	50.0
2.4	100.00	22.90	7.1	3.5	0.0	0.0	0.0
2.5	100.00	94.80	60.3	21.6	0.0	0.0	0.0
2.7	100.00	6.30	0.0	0.0	14.0	0.0	0.0
2.8	100.00	36.90	18.5	6.9	2.7	13.6	0.0
Тетрациклін	100.00	80.70	9.1	0	0	0	0



Протиухлінна активність синтезованих сполук у концентрації 10.00 мМ на 60 лініях ракових клітин*

Сполуки	Середній приріст, %	Діапазон приросту, %	Ріст в % клітинних ліній раку**
2.1	94.13	-17.63 - 119.47	-17.63 (CCRF-CEM/L), 95.55 (K-562/L), 94.85 (MOLT-4/L), 86.51 (RPMI-8226/L), 88.98 (SR/L), 94.99 (A549/ATCC/nscLC), 74.83 (EKVX/nscLC), 91.94 (HOP-62/nscLC), 94.18 (NCI-H23/nscLC), 95.87 (NCI-H322M/nscLC), 81.37 (KM12/CoIC), 98.36 (SF-539/CNSC), 85.34 (SNB-75/CNSC), 96.16 (U251/CNSC), 99.78 (LOX IMVI/M), 95.04 (MDA-MB-435/M), 86.72 (SK-MEL-2/M), 98.40 (SK-MEL-5/M), 93.99 (UACC-257/M), 98.68 (IGROV1/OV), 88.77 (OVCAR-4/OV), 88.06 (CAKI-1/RC), 94.71 (SN12C/RC), 89.03 (TK-10/RC), 83.26 (UO-31/RC), 27.26 (MCF7/BC), 89.17 (MDA-MB-231/ATCC/BC), 60.84 (T-47D/BC), -10.43 (MDA-MB-468/BC)
2.2	88.71	9.65 - 129.80	24.74 (CCRF-CEM/L), 96.70 (K-562/L), 99.51 (MOLT-4/L), 67.86 (SR/L), 91.17 (A549/ATCC/nscLC), 43.06 (EKVX/nscLC), 86.16 (HOP-62/nscLC), 71.96 (HOP-92/nscLC), 96.86 (NCI-H226/nscLC), 94.16 (NCI-H23/nscLC), 85.85 (NCI-H460/nscLC), 78.79 (HCC-2998/CoIC), 97.95 (HCT-116/CoIC), 73.74 (HCT-15/CoIC), 72.66 (KM12/CoIC), 98.86 (SW-620/CoIC), 99.94 (SF-539/CNSC), 99.68 (SNB-19/CNSC), 75.30 (SNB-75/CNSC), 93.83 (U251/CNSC), 91.49 (SK-MEL-5/M), 91.57 (UACC-62/M), 71.71 (IGROV1/OV), 61.45 (OVCAR-4/OV), 97.74 (OVCAR-5/OV), 98.64 (OVCAR-8/OV), 95.14 (ACHN/RC), 80.88 (CAKI-1/RC), 94.48 (RXF 393/RC), 96.34 (SN12C/RC), 91.59 (TK-10/RC), 71.40 (UO-31/RC), 95.77 (PC-3/PC), 9.65 (MCF7/BC), 66.96 (MDA-MB-231/ATCC/BC), 93.82 (HS 578T/BC), 91.61 (BT-549/BC), 48.02 (T-47D/BC), -11.11 (MDA-MB-468/BC)
2.3	90.12	59.31 - 126.37	95.47 (HL-60(TB)/L), 96.91 (K-562/L), 95.17 (MOLT-4/L), 85.10 (SR/L), 74.98 (A549/ATCC/nscLC), 80.91 (EKVX/nscLC), 83.44 (HOP-62/nscLC), 89.08 (HOP-92/nscLC), 95.12 (NCI-H226/nscLC), 88.20 (NCI-H23/nscLC), 76.65 (NCI-H322M/nscLC), 60.03 (NCI-H460/nscLC), 67.92 (COLO 205/CoIC), 76.09 (HCT-116/CoIC), 84.91 (KM12/CoIC), 90.99 (SW-620/CoIC), 85.50 (SF-268/CNSC), 92.61 (SF-539/CNSC), 59.31 (SNB-75/CNSC), 82.10 (U251/CNSC), 79.76 (LOX IMVI/M), 76.91 (MALME-3M/M), 89.65 (SK-MEL-5/M), 97.52 (UACC-257/M), 93.37 (UACC-62/M), 60.51 (IGROV1/OV), 88.65 (OVCAR-3/OV), 96.45 (OVCAR-4/OV), 92.88 (OVCAR-8/OV), 91.45 (NCI/ADR-RES/OV), 81.33 (SK-OV-3/OV), 62.04 (ACHN/RC), 78.64 (CAKI-1/RC), 91.18 (SN12C/RC), 61.28 (UO-31/RC), 86.98 (PC-3/PC), 87.86 (DU-145/PC), 72.69 (MCF7/BC), 93.68 (HS 578T/BC), 73.80 (T-47D/BC)
2.4	94.59	59.59 - 136.55	96.28 (CCRF-CEM/L), 78.45 (HL-60(TB)/L), 88.87 (MOLT-4/L), 98.84 (RPMI-8226/L), 89.42 (SR/L), 93.28 (A549/ATCC/nscLC), 73.02 (EKVX/nscLC), 99.43 (HOP-62/nscLC), 78.51 (HOP-92/nscLC), 91.76 (NCI-H226/nscLC), 90.08 (NCI-H23/nscLC), 88.13 (NCI-H322M/nscLC), 93.96 (NCI-H522/nscLC), 98.30 (HCT-15/CoIC), 90.52 (KM12/CoIC), 99.86 (SW-620/CoIC), 95.43 (SF-268/CNSC), 97.20 (SF-295/CNSC), 98.32 (SF-539/CNSC), 96.76 (SNB-19/CNSC), 73.56 (SNB-75/CNSC), 93.13 (U251/CNSC), 86.57 (LOX IMVI/M), 97.65 (MALME-3M/M), 90.02 (SK-MEL-5/M), 83.84 (UACC-62/M), 66.18 (IGROV1/OV), 94.73 (OVCAR-3/OV), 93.66 (OVCAR-4/OV), 92.78 (OVCAR-8/OV), 96.36 (NCI/ADR-RES/OV), 87.32 (A498/RC), 94.31 (ACHN/RC), 81.93 (CAKI-1/RC), 93.70 (SN12C/RC), 59.59 (UO-31/RC), 81.75 (PC-3/PC), 68.94 (MCF7/BC), 96.97 (BT-549/BC), 92.39 (T-47D/BC), 85.57 (MDA-MB-468)
2.5	99.01	26.18 - 125.72	26.18 (CCRF-CEM/L), 89.19 (RPMI-8226/L), 95.03 (A549/ATCC/nscLC), 72.57 (EKVX/nscLC), 96.33 (HOP-62/nscLC), 96.76 (NCI-H23/nscLC), 95.42 (NCI-H522/nscLC), 95.50 (SF-539/CNSC), 90.56 (SNB-75/CNSC), 95.68 (LOX IMVI/M), 95.91 (SK-MEL-5/M), 93.68 (UACC-62/M), 90.09 (IGROV1/OV), 98.38 (OVCAR-4/OV), 95.35 (OVCAR-8/OV), 97.36 (SK-OV-3/OV), 94.70 (ACHN/RC), 88.12 (CAKI-1/RC), 68.08 (UO-31/RC), 88.97 (PC-3/PC), 75.60 (MCF7/BC), 85.72 (MDA-MB-231/ATCC/BC), 94.17 (T-47D/BC), 84.49 (MDA-MB-468)
2.6	94.59	50.08 - 140.25	94.65 (CCRF-CEM/L), 95.90 (HL-60(TB)/L), 70.80 (K-562/L), 70.77 (MOLT-4/L), 71.75 (SR/L), 95.11 (A549/ATCC/nscLC), 77.31 (EKVX/nscLC), 83.55 (HOP-62/nscLC), 85.33 (NCI-H226/nscLC), 93.56 (NCI-H23/nscLC), 85.35 (NCI-H322M/nscLC), 86.32 (NCI-H522/nscLC), 99.13 (COLO 205/CoIC), 89.07 (HCT-116/CoIC), 99.63 (KM12/CoIC), 96.85 (SF-295/CNSC), 64.75 (SNB-75/CNSC), 99.92 (U251/CNSC), 78.77 (MALME-3M/M), 95.59 (MDA-MB-435/M), 87.10 (SK-MEL-5/M), 85.30 (UACC-62/M), 59.99 (IGROV1/OV), 94.00 (OVCAR-4/OV), 98.77 (OVCAR-8/OV), 98.06 (NCI/ADR-RES/OV), 99.53 (A498/RC), 99.63 (ACHN/RC), 80.46 (CAKI-1/RC), 87.33 (SN12C/RC), 50.08 (UO-31/RC), 85.93 (PC-3/PC), 68.73 (MCF7/BC), 88.32 (BT-549/BC), 89.99 (T-47D/BC), 89.06 (MDA-MB-468)
2.7	106.35	70.04 - 169.09	98.55 (CCRF-CEM/L), 82.85 (EKVX/nscLC), 92.44 (HOP-62/nscLC), 90.51 (HOP-92/nscLC), 89.61 (NCI-H226/nscLC), 92.78 (NCI-H23/nscLC), 94.66 (NCI-H322M/nscLC), 99.22 (KM12/CoIC), 76.04 (SNB-75/CNSC), 93.59 (MALME-3M/M), 92.28 (SK-MEL-5/M), 91.64 (UACC-62/M), 70.04 (IGROV1/OV), 97.79 (OVCAR-4/OV), 98.20 (ACHN/RC), 90.31 (CAKI-1/RC), 98.53 (SN12C/RC), 70.26 (UO-31/RC), 91.91 (PC-3/PC), 85.87 (MCF7/BC), 97.27 (MDA-MB-468/BC)
2.8	85.80	20.42 - 114.33	20.42 (CCRF-CEM/L), 74.85 (RPMI-8226/L), 80.58 (A549/ATCC/nscLC), 65.58 (EKVX/nscLC), 87.59 (HOP-62/nscLC), 96.90 (HOP-92/nscLC), 98.26 (NCI-H226/nscLC), 84.31 (NCI-H23/nscLC), 95.51 (NCI-H460/nscLC), 66.61 (NCI-H522/nscLC), 99.73 (COLO 205/CoIC), 97.15 (HCC-2998/CoIC), 96.63 (HCT-116/CoIC), 62.76 (HCT-15/CoIC), 64.49 (KM12/CoIC), 72.43 (SW-620/CoIC), 88.87 (SF-539/CNSC), 99.48 (SNB-19/CNSC), 82.23 (SNB-75/CNSC), 85.13 (U251/CNSC), 72.61 (LOX IMVI/M), 97.16 (MALME-3M/M), 78.54 (M14/M), 31.00 (MDA-MB-435/M), 90.84 (SK-MEL-2/M), 83.46 (SK-MEL-28/M), 79.16 (SK-MEL-5/M), 92.20 (UACC-257/M), 77.81 (UACC-62/M), 75.06 (IGROV1/OV), 96.83 (OVCAR-4/OV), 85.87 (OVCAR-8/OV), 71.82 (NCI/ADR-RES/OV), 98.09 (SK-OV-3/OV), 91.59 (ACHN/RC), 83.52 (CAKI-1/RC), 92.82 (SN12C/RC), 90.88 (TK-10/RC), 71.28 (UO-31/RC), 78.36 (PC-3/PC), 70.63 (MCF7/BC), 65.11 (MDA-MB-231/ATCC/BC), 92.84 (BT-549/BC), 82.39 (T-47D/BC), 98.78 (MDA-MB-468/BC)

Примітка: * – L – лейкемія; nscLC – недрібноклітинний рак легень; CoIC – епітеліальний рак прямої кишки; CNSC – рак ЦНС; M – меланома; OV – рак яєчників; RC – рак нирок; PC – рак простати; BC – рак молочної залози.



характерний і для *N'*-(3*H*-хіназолін-4-іліден)гідрозид 3-тіофенкарбонової кислоти (**1.5**), з тією різницею, що сполука **1.5** ефективніше інгібує біоломінесценцію (41,7–95,8%) на моделі гострої біоцидної дії (*табл. 1*). Сполука **1.7**, що є похідним пірол-2-карбонової кислоти, має найменшу цитотоксичність до бактерій *P. leiognathi* Sh1. Важливо, що сполука **1.7** повністю затримує ріст бактерій на моделі хронічної біоцидної дії тільки у концентрації 0,25 мг/кг.

Гетероциклізація гідрозидів (**1.1–1.8**) у відповідні 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназоліни (**2.1–2.8**) у більшості випадків призводить до зменшення цитотоксичності на моделі гострої біоцидної дії (*табл. 1*). Так, цей аспект характерний для сполук **2.2** і **2.5**, що значно менше інгібують біоломінесценцію порівняно зі сполуками **1.2** та **1.5**. Сполуки **2.4** та **2.7** з 2-тіофеновим та 2-пірольними залишками на моделі гострої біоцидної дії інгібують біоломінесценцію на 77,1–100% порівняно зі сполуками **1.4** та **1.7**. Цікаво, що сполуки **2.1**, **2.3**, **2.8** на зазначеній моделі також інгібують біоломінесценцію у градієнті концентрацій на 30,1–93,1%. 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназоліни (**2.1–2.8**) на моделі хронічної біоцидної дії у градієнті концентрацій є цитотоксичними сполуками. Важливо, що сполуки **2.4** та **2.5** повністю пригнічували біоломінесценцію та ріст бактерій, а сполука **2.3** пригнічувала біоломінесценцію та ріст бактерій на 50,0–64,3%, сполуки **2.2**, **2.7** та **2.8** проявляли подібний ефект зі зростанням концентрації до 0,1 та 0,25 мг/мл. Отже, дослідження з інгібування біоломінесценції відносно до бактерії *P. leiognathi* Sh1 показало, що цитотоксичність синтезованих сполук визначається як самим базовим гетероциклом, так і замісниками положення 2. Цей скринінг став обґрунтуванням для подальшого дослідження синтезованих сполук на протипухлинну активність.

У результаті віртуального прескринінгу 18 синтезованих сполук для I фази досліджень на протипухлинну активність відібрано 8 перспективних речовин, 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінів (**2.1–2.8**). Середні значення основних параметрів протипухлинної активності сполук для 60 ліній ракових клітин наведено у *таблиці 2*.

Результати досліджень показали, що досліджувані сполуки **2.1–2.8** проявляють різносторонню спрямованість протипухлинної дії. Так, 2-(фуран-2-іл)-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолін (**2.1**) проявляє протипухлинну дію відносно до 29 клітинних ліній раку. Важливо, що сполука **2.1** проявляє значну вибіркочну активність до клітинних ліній EKVX недрібноклітинного раку легень (інгібування росту на 25,17%), MCF7 та T-47D раку молочної залози (інгібування росту на 72,74% та 39,16% відповідно). Крім того, сполука **2.1** відносно до клітинних ліній CCRF-CEM лейкемії та MDA-MB-468 раку молочної залози проявляє антипроліферативний ефект (*табл. 2*). Заміна 2-фуранільного (**2.1**) на 2-тіофенільний (**2.4**) фрагмент у положенні 2 [1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінового циклу приводить до розширення спектра протипухлинної дії та помірної активності відносно до 41 клітинної лінії раку. Подальша модифікація молекули шляхом введення в положення 2-пірольного фрагмента (**2.7**) призводить до

зменшення активності та звуження спектра (21 клітинна лінія раку) протипухлинної дії. Важливо, що сполуки **2.4** та **2.7** проявляють найбільшу цитотоксичну дію відносно до клітинних ліній EKVX, HOP-92 недрібноклітинного раку легень, SNB-75 раку ЦНС, IGROV1 раку яєчників, UO-31 раку нирок і MCF7 раку молочної залози.

Переміщення [1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінового фрагменту молекули у положення 3 фуранового циклу (сполука **2.2**) призводить до розширення спектра протипухлинної активності (39 клітинних ліній раку) і, що важливо, до посилення активності відносно до клітинних ліній EKVX, HOP-62, HOP-92 недрібноклітинного раку легень, HCC-2998 епітеліального раку прямої кишки та клітинних ліній MCF7, MDA-MB-231, HS 578T, BT-549, T-47D, MDA-MB-468 раку молочної залози (*табл. 2*). Заміна фуранового (**2.2**) на тіофеновий цикл (**2.5**) призводить як до звуження спектра, так і до зменшення протипухлинної активності.

Цікаво, що 2-(бензофуран-2-іл)- (сполука **2.3**), 2-(бензотіофен-2-іл)- (**2.6**) та 2-(індол-2-іл)- (**2.8**) -[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназоліни мають також широкий спектр протипухлинної активності, але у більшості випадків зазначена модифікація призводить до послаблення активності. Важливо, що сполуки з оксо- (**2.3**) та тіо- (**2.6**) функціями біля гетерильного замісника положення 2 достовірно інгібують ріст клітинних ліній MALME-3М меланоми, SNB-75 раку ЦНС, IGROV1 раку яєчників, UO-31 раку нирок і MCF7 раку молочної залози (*табл. 2*). Сполука **2.8** з азотовмісною функцією у гетерильного замісника має іншу направленість протипухлинної дії й ефективніше інгібує ріст клітинних ліній CCRF-CEM, RPMI-8226 лейкемії; EKVX, NCI-H522 недрібноклітинного раку легень; HCT-15, KM12, SW-620 епітеліального раку прямої кишки; LOX IMVI, M14, MDA-MB-435, UACC-62 меланоми; IGROV1, NCI/ADR-RES раку яєчників; UO-31 раку нирок; PC-3, MCF7, MDA-MB-231/ATCC, T-47D раку молочної залози.

Дослідження показали, що найбільшу протипухлинну активність серед синтезованих сполук до клітинних ліній CCRF-CEM лейкемії, MCF7 та MDA-MB-468 раку молочної залози проявляють речовини **2.1** та **2.2**. SAR-аналіз «будова-протипухлинна дія» підтверджує, що активність відповідних 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназолінів визначається як базовою молекулою, так і гетерильним замісником положення 2, зокрема фурановим циклом положення 2 зазначеної гетероциклічної системи. Ця залежність безперечно потребує подальшого вивчення, проте наявність «блдінг-блоків» дає можливість їх подальшої модифікації за положеннями 5, 7, 8, 9 та 10 і вказує на можливий маршрут посилення протипухлинної активності.

ВИСНОВКИ

Показано, що невідомі (3*H*-хіназолін-4-іліден)гідрозиди гетерилкарбонових кислот і 2-гетерил-[1,2,4]тріазоло[1,5-*c*]хіназоліни на моделях інгібування біоломінесценції бактерій *P. leiognathi* Sh1 проявляють високу цитотоксичність, що стало обґрунтуванням їх дослідження на протипухлинну активність.

Встановлено, що найбільшу протипухлинну активність



серед досліджених сполук до клітинних ліній CCRF-CEM лейкої, MCF7 та MDA-MB-468 раку молочної залози проявляють речовини **2.1** та **2.2**, що в положенні 2 [1,2,4] триазоло[1,5-с]хіназоліну містять фурановий цикл.

Обговорено напрямки подальшої модифікації 2-гетерил-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолінів за положеннями 5, 7, 8, 9 та 10 і можливі шляхи посилення протипухлинної активності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Combinatorial Chemistry and Molecular Diversity in Drug Discovery / Ed. by E.M. Gordon, J.F. Kerwin. – New York: Wiley-Liss, Inc., 1998.
2. Lebl M. Parallel personal comments on «classical» papers in combinatorial chemistry / Lebl M. // J. Comb. Chem. – 1999. – Vol. 1 (1). – P. 3–24.
3. A new method for the determination of the cytotoxicity of bile acids and aqueous phase of stool: the effect of calcium / Munster I.P.V., Tangerman A., Haan A.F.J.D. [et al.] // European Journal of Clinical Investigation. – 1993. – Vol. 23. – P. 773–777.
4. Riss T.L. Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays / Riss T.L., Moravec R.A. // Assay Drug Dev Technol. – 2004. – Vol. 2 (1). – P. 51–62.
5. A homogeneous assay to measure live and dead cells in the same sample by detecting different protease markers / Niles A.L., Moravec R.A., Eric Hesselberth P. [et al.] // Anal. Biochem. – 2007. – Vol. 366 (2). – P. 197–206.
6. Cell-viability. – Режим доступу: <http://www.promega.com/resources/product-guides-and-selectors/protocols-and-applications-guide/cell-viability/>
7. Okuno S.H. Mitomycin lung toxicity: acute and chronic phases / Okuno S.H., Frytak S. // Am. J. Clin. Oncol. – 1997. – Vol. 20. – P. 282–284.
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the «Gold Book») / Compiled by A.D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). – XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006) / created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins.
9. Synthesis and biological activity of novel N-cycloalkyl-(cycloalkylaryl)-2-[(3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetamides / Berest G.G., Voskoboynik O.Y., Kovalenko S.I. [et al.] // Eur J Med Chem. – 2011. – Vol. 46 (12). – P. 6066–6074.
10. Synthesis of New 2-Thio-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline Derivatives and Its Antimicrobial Activity / L.N. Antipenko, A.V. Karpenko, S.I. Kovalenko [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2009. – Vol. 57, №6. – P. 580–585.
11. Synthesis, cytotoxicity by bioluminescence inhibition, antibacterial and antifungal activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylthio)carboxylic acid amides / L.N. Antipenko, A.V. Karpenko, S.I. Kovalenko [et al.] // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2009, 342. – P. 651–662.
12. <<http://dtp.nci.nih.gov>>.
13. Boyd M.R. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen / M.R. Boyd, K.D. Paull // Drug Development Research. – 1995. – Vol. 34. – P. 91–109.
14. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay / M.C. Alley, D.A. Scudiero, P.A. Monks [et al.] // Cancer Research. – 1988. – Vol. 48. – P. 589–601.
15. Grever M.R. The national cancer institute: cancer drug discovery and development program / M.R. Grever, S.A. Schepartz, B.A. Chabner // Seminars in Oncology. – 1992. – Vol. 19, №6. – P. 622–638.
16. Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen / R.H. Shoemaker // Nature Reviews Cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 813–823.

Відомості про авторів:

Білий А.К., аспірант каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Коваленко С.І., д. фарм. н., професор каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Кацев А.М., к. біол. н., доцент, зав. каф. фармації КДМУ ім. С.І. Георгієвського.

Холодняк С.В., ст. лаборант каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.

Федотова О.С., студентка V курсу медичного факультету КДМУ ім. С.І. Георгієвського.

Адреса для листування:

Коваленко Сергій Іванович. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Тел.: (061) 224 69 25.

E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com

Поступила в редакцію 11.06.2012 г.