

М. А. Марьясов^{1,*}, В. В. Давыдова¹, О. Е. Насакин¹, В. А. Тафеев²

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ЦИКЛИЗАЦИИ 1-(2-ОКСОЦИКЛОГЕКСИЛ)ЭТАН-1,1,2,2-ТЕТРАКАРБОНИТРИЛА С α,β -НЕПРЕДЕЛЬНЫМИ АЛЬДЕГИДАМИ

¹ ФГБОУ ВО "Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова", Россия, 428015, Чебоксары, Московский пр-кт, 15.

² ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова", Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1.

* e-mail: marsikprovisor@mail.ru

Исследована антипролиферативная активность ранее полученных 3-R-6-имино-2,7-диоксибицикло[3.2.1]октан-4,4,5-трикарбонитрилов на 59 клеточных линиях, полученных из опухолей легких, толстой кишки, мозга, яичников, почек, предстательной железы, молочной железы, а также лейкемия и меланомы человека. Наиболее выраженный эффект наблюдается в отношении клеточных линий рака крови — лейкемии. Сила действия соединений и специфичность к определенным типам клеток напрямую связана с характером заместителя в положении 3 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октанового ядра. Соединения с кратной связью и алкильным радикалом оказывают более выраженное цитотоксическое действие. Соединение, содержащее остаток кумарина, проявляет высокую активность, превышающую таковую препаратов сравнения (дакарбазин, цисплатин), в отношении клеточных линий рака почек.

Ключевые слова: 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октан; α,β -непредельные альдегиды; оротовый альдегид; 1-(2-оксоциклогексил)этан-1,1,2,2-тетракарбонитрил; антипролиферативная активность.

Диоксибициклы играют важную роль в жизнедеятельности организмов. Находясь в составе сложных многофункционализированных структур либо будучи относительно незамещенными, они могут непосредственно взаимодействовать с различными биомолекулами [1]. Наиболее распространенными в природе диоксибициклами октанового ряда являются 6,8-диоксибицикло[3.2.1]октаны, содержащиеся, например, в структуре рубробрамида [2, 3] и дидемнисеринолипида В [4], также в нейротоксичных соединениях семейств пиннатоксинов [5] и птериоксинов [6]. Их аналоги 2,8- и 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октаны представлены менее широко, но их можно найти в структуре

саргосовой кислоты [7, 8], пектенотоксинов [9], синдуринов [10] и антимикробных коломитидов [11, 12].

Большое значение диоксибициклы октанового ряда имеют при разработке препаратов для лечения онкологических заболеваний. Одно из новых соединений с высокой активностью в отношении клеток В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза содержит звено 6,8-диоксибицикло[3.2.1]октана [13]. Цитреовиридин-подобные соединения, содержащие фрагмент 2,8-диоксибицикло[3.2.1]октана, цитреовиридинол, эпидитреовиридинол и другие могут применяться в составе химиотерапии рака груди [14, 15]. Аналогичное ядро содержат ауровертрины — антибиотики-ингибиторы окислительного фосфорилирования в мито-

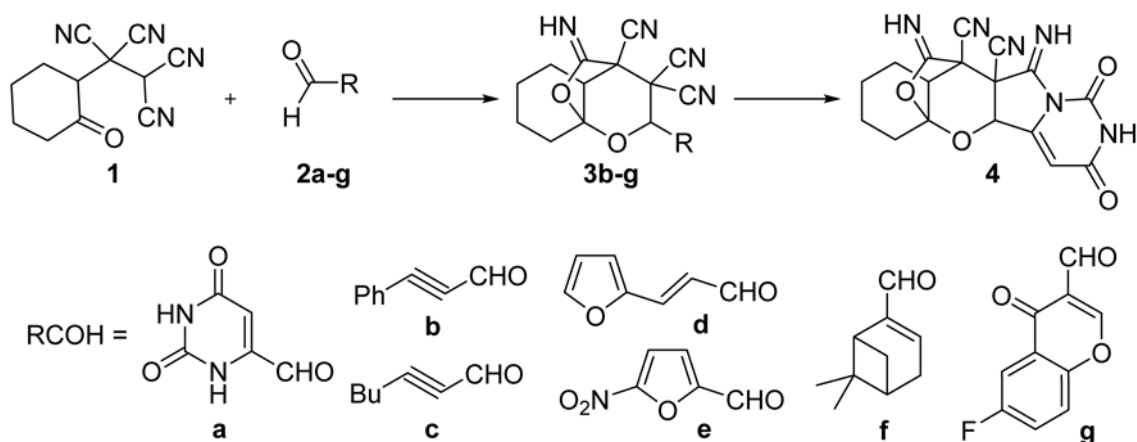
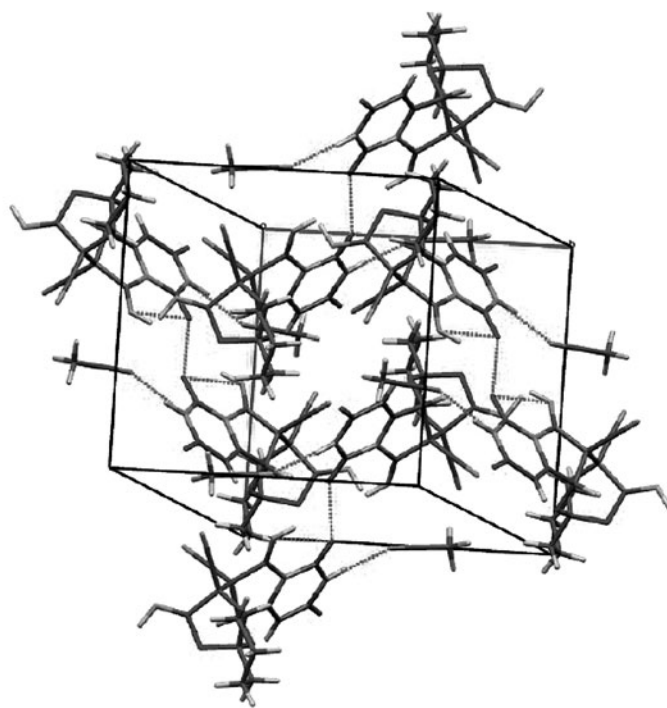
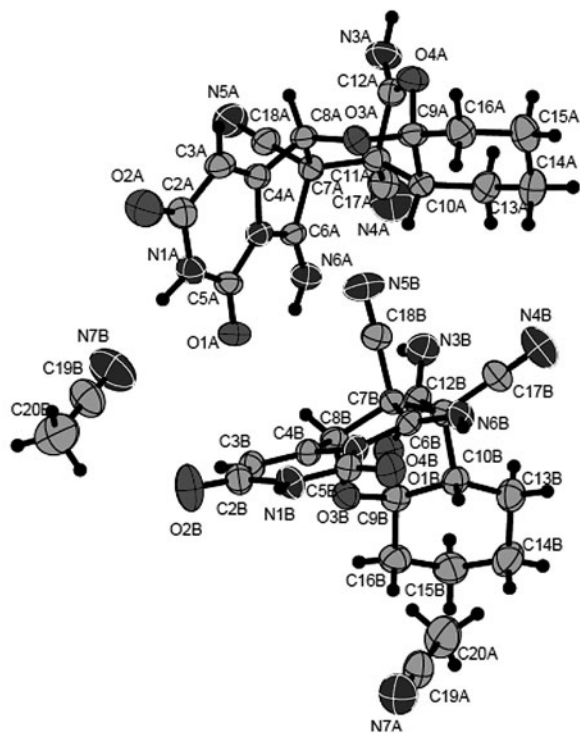


Схема. Синтез 2,5,6-тризамещенных 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октан-2,2,3-трикарбонитрилов.



Молекулярная структура соединения **4**, упаковка молекул в кристалле с водородными связями. Две независимые молекулы сольватированы с 2 молекулами растворителя ацетонитрила (РСА).

хондриях [16, 17], которые могут применяться при лечении рака кишечника [18, 19] и груди [20].

Ранее нами было показано, что соединения с 2,7-диоксацикло[3.2.1]октановым звеном также могут ингибировать пролиферацию клеток [21]. В данной работе мы представили результаты исследования антипролиферативной активности аналогичных соединений, полученных реакцией 1-(2-оксоциклогексил)этан-1,1,2,2-тетракарбонитрила **1** с α,β -непредельными альдегидами **2** (схема) [22].

При проведении реакции с оротовым альдегидом (**2a**) был получен 11,13-диимино-1,3-диоксо-1,2,3,4b,7,8,9,9a-октагидро-5a,10-(эпоксиметано)хромено[2',3':3,4]пирроло[1,2-с]пиримидин-10,10a(6H,11H)-дикарбонитрил (**4**), структура которого была подтверждена данными спектроскопии и рентгеноструктурного анализа (рисунок).

Экспериментальная химическая часть.

Соединения **3b-d,f** получены описанным ранее способом [22]. Соединения **3e**, **3g**, **4** получали аналогично.

10-Имино-2-(5-нитрофуран-2-ил)тетрагидро-8a,4-(эпоксиметано)хромен-3,3,4(2H,4aH)-трикарбонитрил (3e). Выход 0,609 г (83 %). $T_{пл}$ 168 – 169 °С. ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} : 3305 (N-H), 2255 (C≡N), 1715 (C=N). ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 9,78 (1H, с, NH), 7,77 (1H, д, J 3,8 Гц, Fu), 7,25 (1H, д, J 3,8 Гц, Fu), 6,15 (1H, с, CH), 1,86 (2H, м, CH₂), 1,74 (2H, т, CH₂), 1,54 (3H, м, CH, CH₂), 1,28 (2H, м, CH₂). ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 180,5, 152,8, 147,2, 116,5, 113,0, 110,3, 109,2, 107,9, 69,3, 45,9, 43,4, 29,5, 25,04, 21,7,

20,1, Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$): 367 (100). Найдено, %: C 55,72; H 3,68; N 19,11. C₁₇H₁₃N₅O₅. Вычислено, %: C 55,59; H 3,57; N 19,07.

10-Имино-2-(6-фтор-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-гексагидро-8a,4-(эпоксиметано)хромен-3,3,4(2H,4aH)-трикарбонитрил (3g). Выход 0,786 г (94 %). $T_{пл}$ 178 – 180 °С. ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} : 3278 (N-H), 2235 (C≡N), 1713 (C=N). ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 9,38 (1H, с, NH), 7,28 – 7,31 (2H, м, 2CH), 7,18 (1H, с, CH), 7,01 – 7,03 (1H, м, CH), 4,15 (H, с, CH), 1,76 – 1,82 (4H, м, 2CH₂), 1,52 – 1,56 (3H, м, CH, CH₂), 1,25 – 1,27 (2H, м, CH₂). ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 181,0, 165,8, 162,4, 152,4, 151,6, 125,5, 123,0, 121,9, 121,3, 118,1, 111,3, 109,6, 107,2, 58,7, 49,5, 35,6, 33,1, 25,9, 23,7, 16,7, 15,4. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$): 418 (100). Найдено, %: C 63,42; H 3,86; N 13,11. C₂₂H₁₅FN₄O₄. Вычислено, %: C 63,16; H 3,61; N 13,39.

11,13-Диамино-1,3-диоксо-1,2,3,4b,7,8,9,9a-октагидро-5a,10-(эпоксиметано)хромено[2',3':3,4]пирроло[1,2-с]пиримидин-10,10a(6H,11H)дикарбонитрил (4). Выход 0,603 г (83 %). $T_{пл}$ 194 – 196 °С. ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} : 3273 (N-H) 2257 (C≡N), 1715 (C=O). ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 12,00 (1H, с, (CO)₂NH), 10,54 (1H, с, NNH), 9,62 (1H, с, ONH), 6,10 (1H, с, CH), 5,61 (1H, с, CH), 2,80 – 2,75 (1H, м, CH), 2,08 – 2,03 (2H, д, CH, J 14,3 Гц), 1,72 – 1,69 (2H, д, CH₂, J 10,6 Гц), 1,62 – 1,56 (2H, т, CH₂, J 13,6 Гц), 1,30 – 1,22 (2H, м, CH₂). ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 171,9, 161,9, 158,3, 150,3, 149,3, 113,1, 112,5, 102,5, 69,8, 49,6, 47,7, 43,9, 38,9, 30,24, 21,9, 25,55, 20,9, 20,7. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$): 363 (0,2), 68 (100). Найдено, %: C 59,51; H 4,62;

Результаты исследования антипролиферативной активности соединений при концентрации 10^{-5} М (по программе One-Dose Screen)

Соединение	Ингибирование роста клеточных линий, %								
	лейкоза (6 линий)	рака легких (9 линий)	рака толстой кишки (7 линий)	рака мозга (6 линий)	меланомы (9 линий)	рака яичников (7 линий)	рака почек (7 линий)	рака простаты (2 линии)	рака молочной железы (6 линий)
3b	21,13 ± 1,03	23,47 ± 1,49	12,04 ± 1,69	12,47 ± 1,01	19,18 ± 1,16	14,47 ± 1,51	–	19,01 ± 1,94	11,56 ± 1,64
3c*	31,82 ± 2,02	12,10 ± 1,53	–	–	12,17 ± 1,21	–	–	10,84 ± 1,81	–
3d	12,45 ± 1,00	14,91 ± 1,23	–	–	13,44 ± 1,37	–	–	–	15,41 ± 1,79
3e*	15,96 ± 1,29	29,42 ± 1,88	–	–	–	–	–	21,60 ± 1,49	14,85 ± 1,14
3f*	18,45 ± 1,82	11,46 ± 1,49	11,20 ± 1,48	16,34 ± 1,29	15,89 ± 1,79	12,69 ± 1,91	36,77 ± 1,09	13,20 ± 1,88	13,73 ± 1,22
3g	14,65 ± 1,15	–	–	–	10,71 ± 1,24	–	–	–	16,83 ± 1,79
4	18,42 ± 1,17	25,96 ± 1,01	–	–	12,31 ± 1,58	–	–	–	11,33 ± 1,54
Дакарбазин**	36,15 ± 1,95	20,78 ± 1,55	3,42 ± 1,41	6,92 ± 1,22	12,63 ± 1,65	14,46 ± 1,42	26,30 ± 1,81	5,65 ± 1,18	15,00 ± 3,33
Цисплатин***	–	32,1 ± 2,15	–	13,90 ± 1,31	14,2 ± 1,10	26,90 ± 1,87	18,10 ± 1,72	19,90 ± 2,05	10,90 ± 1,03

* Соединения с выраженной активностью в отношении отдельных клеточных линий.

** Дакарбазин, Dacine® 200 mg, порошок для раствора для парентер. примен., Lipomed AG.

*** Цисплатин, лиоф. порошок для инъекций 0,01, ООО Лэнс-Фарм

N 22,88. $C_{18}H_{16}N_6O_3$. Вычислено, %: С 59,34; Н 4,43; N 23,07.

Рентгеноструктурные исследование монокристалла проводили на дифрактометре “StadiVari Pilatus 100K” фирмы “STOE”, MoK_{α} -излучение, плоский графитовый монохроматор, монокапиллярный коллиматор. Сбор данных, определение и уточнение параметров элементарной ячейки, обработка дифракционных данных проведены посредством пакета программ “STOE X-Area”. Интенсивности рефлексов на фреймах, полученных с двумерного детектора, масштабировались с помощью программы LANA, входящей в пакет X-Area, которая при обработке изображений минимизирует разности интенсивностей симметрически эквивалентных рефлексов (метод “multi-scan”). Графика осуществлена с помощью программы DIAMOND [23]. Структура решена прямым методом, реализованным в комплексе программ SHELXS-97 [24]. Идентификатор соединения **4** в Кембриджском центре кристаллографических данных — CCDC-2041681.

Экспериментальная биологическая часть

Механизм антрипролиферативного действия 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октановых производных, по-видимому, связан с нарушением окислительного фосфорилирования в митохондриях, как и в случае 2,8-диоксибицикло[3.2.1]октанов [16, 17], либо со связыванием остатков аминокислот цианогруппой [25].

Антипролиферативная активность соединений **3b-g**, **4** исследована в Национальном институте рака (США). Для исследований использована модель *in vitro*, позволяющая стандартизировать условия эксперимента для повторяющихся серий по методике “NCI-60 One-Dose Screen” [26]. Исследования проведены на 59 клеточных линиях [27], полученных из опухолей легких, толстой кишки, мозга, яичников, почек, предстательной железы, молочной железы, а также лейкоза и меланомы человека. В качестве препара-

тов сравнения использованы препараты алкилирующего действия: дакарбазин и цисплатин.

Статистическая обработка экспериментального материала проведена с использованием двухвыборочного *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок [28]. Эффект считали достоверным при $p < 0,05$ (таблица).

При анализе полученных результатов можно увидеть, что на специфичность и силу действия соединений оказывает влияние природа заместителя в положении 3 2,7-диоксибицикло[3.2.1]октанового ядра. Так, соединения с кратной связью и алкильным радикалом (**3c**, **3e**) оказывают более выраженное цитотоксическое действие. Также следует отметить соединение **3f**, содержащее остаток кумарина, которое проявляет высокую активность, превышающую таковую препаратов сравнения, в отношении клеточных линий рака почек.

В целом же, соединения проявляют умеренную активность в отношении отдельных клеточных линий – лейкомии, рака легких, меланомы, предстательной и молочной желез. Это говорит о целесообразности дальнейшей модификации и разработки более эффективных средств для лечения данных типов заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. Lenci, G. Menchi, F. I. Saldívar-Gonzalez, et al., *Org. Biomol. Chem.*, **17**(5), 1037 – 1052 (2019).
2. C. Wagner, H. Anke, O. Sterner, *J. Nat. Prod.*, **61**(4), 501 – 502 (1998).
3. S. Mizutani, K. Komori, T. Taniguchi, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**(33), 9553 – 9556 (2016).
4. J. Ren, R. Tong, *J. Org. Chem.*, **79**(15), 6987 – 6995 (2014).
5. C. E. Stivala, A. Zakarian, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**(12), 3774 – 3776 (2008).
6. F. Matsuura, R. Peters, M. Anada, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **128**(23), 7463 – 7465 (2006).
7. P. J. Sidebottom, R. M. Highcock, S. J. Lane, et al., *J. Antibiot.*, **45**(5), 648 – 658 (1992).
8. T. Kawamata, M. Nagatomo, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.*, **139**(5), 1814 – 1817 (2017).

9. K. Fujiwara, Y. Suzuki, N. Koseki, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**(3), 780 – 784 (2014).
10. G. Koren-Goldshlager, P. Klein, A. Rudi, et al., *J. Nat. Prod.*, **59**(3), 262 – 266 (1996).
11. J. Y. Dong, L. M. Wang, H. C. Song, et al., *Chem. Biodiversity*, **6**(8), 1216 – 1223 (2009).
12. Y. Rusman, B. W. Held, R. A. Blanchette, et al., *Phytochem.*, **148**, 1 – 10 (2018).
13. L.-G. Milroy, G. Zinzalla, F. Loiseau, et al., *Chem. Med. Chem.*, **3**(12), 1922 – 1935 (2008).
14. S. Lai, K. Matsunaga, Y. Shizuri, S. Yamamura, *Tetrahedron Let.*, **31**(38), 5503 – 5506 (1990).
15. H.-Y. Chang, T.-C. Huang, N.-N. Chen, et al., *Cell Death Dis.*, **5**(11), e1540 (2014).
16. R. E. Ebel, H. A. Lardy, *J. Biol. Chem.*, **250**(13), 4992 – 4995 (1975).
17. M. A. Cataldi de Flombaum, A. O. M. Stoppani, *Mol. Biochem. Parasitol.*, **3**(3), 143 – 155 (1981).
18. H. Zhu, F. Wang, X. Ju, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **503**(4), 3057 – 3063 (2018).
19. Y.-K. Shin, B. C. Yoo, H. J. Chang, et al., *Cancer Res.*, **65**(8), 3162 – 3170 (2005).
20. T.-C. Huang, H.-Y. Chang, C.-H. Hsu, et al., *J. Proteome Res.*, **7**(4), 1433 – 1444 (2008).
21. M. A. Mar'yasov, V. P. Sheverdov, V. V. Davydova, O. E. Nasakin, *Pharm. Chem. J.*, **50**(12), 798 – 799 (2017).
22. V. P. Sheverdov, V. V. Davydova, O. E. Nasakin, et al., *Russ. J. Gen. Chem.*, **89**(3), 385 – 390 (2019).
23. K. Brandenburg, DIAMOND, Release 2.1d; Crystal Impact GbR: Bonn, Germany, 2000.
24. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A*, **64**(1), 112 – 122 (2008).
25. F. F. Fleming, L. Yao, P. C. Ravikumar, et al., *J. Med. Chem.*, **53**(22), 7902 – 7917 (2010).
26. A. Monks, D. Scudiero, *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**(11), 757 – 766 (1991).
27. https://dtp.cancer.gov/discoverydevelopment/nci-60/cell_list.htm.
28. ОФС. 1.1.0014.15, *Гос. фармакопея Рос. Федерации*, XIV изд., Т. 1, 319 – 369 (2018). Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.ph>.

Поступила 26.12.19

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF THE PRODUCTS OF 1-(2-OXOCYCLOHEXYL)ETHANE-1,1,2,2-TETRACARBONITRILE CYCLIZATION WITH α,β -UNSATURATED ALDEHYDES

M. A. Mar'yasov^{1*}, V. V. Davydova¹, O. E. Nasakin¹, and V. A. Tafeenko²

¹ Ulyanov Chuvash State University, Russia, 428015, Cheboksary

² Lomonosov Moscow State University, Russia, 119991, Moscow

* e-mail: marsikprovisor@mail.ru

The antiproliferative activity of previously obtained 3-R-6-imino-2,7-dioxabicyclo[3.2.1]octane-4,4,5-tricarbonitriles was tested on 59 cell lines obtained from human lung, intestine, brain, ovary, kidney, prostate, and mammary gland tumors, leucosis, and melanoma. The most pronounced effect was observed in respect of blood cancer cell lines of leukemia. The strength of the action and specificity of compounds to certain types of cells were directly related to the nature of the substituent in position 3 of the 2,7-dioxabicyclo[3.2.1]octane nucleus. Compounds with multiple bonds and alkyl radical exhibited more pronounced cytotoxic activity. A compound with coumarin residue showed high activity, exceeding that of reference drugs (dicarbazine, cisplatin) with respect to kidney cancer cell lines.

Keywords: 2,7-dioxabicyclo[3.2.1]octane; α,β -unsaturated aldehydes; orotic aldehyde; 1-(2-oxocyclohexyl)ethane-1,1,2,2-tetracarbonitrile; antiproliferative activity.