

NOWE POCHODNE N-(2-ARYLOMETYLOTIO-4-CHLORO-5-METYLOBENZENOSULFONYLO)-1-(5-ARYLO-3-FENYLO-2,5-DIHYDRO-1H-PIRAZOL-1-YLO)AMIDYNY I ICH AKTYWNOŚĆ CYTOTOKSYCZNA



Aneta Pogorzelska¹, Jarosław Sławiński¹, Anna Kawiak², Grzegorz Stasiłojć³

¹Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed

³Katedra Biotechnologii Medycznej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed

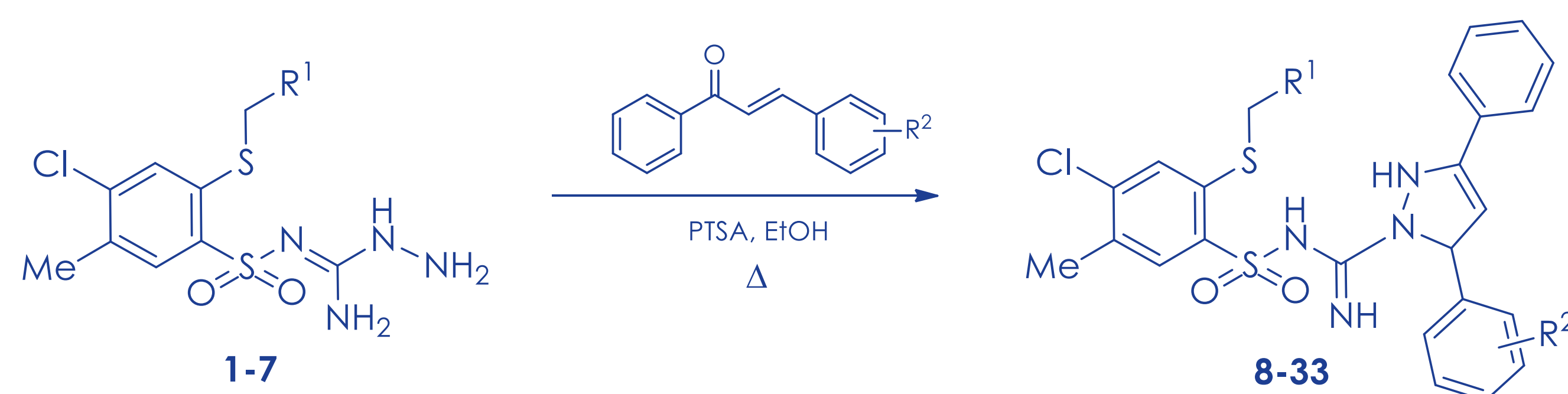
www.gumed.edu.pl

Wprowadzenie

Kontynuując poszukiwania benzenosulfonamidów wykazujących aktywność cytotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych [1-2] zaprojektowano serię pochodnych N-(2-arylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(2,5-dihydro-1H-pirazol-1-ylo)amidyny **8-33**. Związki przebadano pod kątem aktywności cytotoksycznej wobec ludzkich komórek nowotworowych MCF-7, HeLa i HCT-116. Najwyższą aktywność cytotoksyczną wykazała N-[2-(2-chlorofenyl)metylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo]-1-[3-fenyl-5-(2-hydroksyfenyl)-2,5-dihydro-1H-pirazol-1-ylo]amidyna **24**, dla której uzyskano wartości IC₅₀ wynoszące 9, 12 i 17 μM odpowiednio względem komórek HCT-116, MCF-7 i HeLa.

Synteza

Zaprojektowane związki **8-33** otrzymano w wyniku reakcji odpowiednich 1-amino-2-(benzenosulfonylo)guanidyn **1-7** z pochodnymi chalconu. Reakcje prowadzono we wrzącym etanolu z dodatkiem katalitycznych ilości kwasu 4-toluenosulfonowego (PTSA). Struktury zsyntetyzowanych związków **8-33** potwierdzono metodami spektroskopowymi IR i ¹H NMR oraz analizą elementarną.



Nr zw.	1, 8	1, 9	1, 10	1, 11	1, 12	1, 13
R ¹	Ph					
R ²	H	2-OH	4-OH	4-OMe	4-Cl	4-NO ₂

Nr zw.	2, 14	2, 15	3, 16	3, 17	4, 18	4, 19	4, 20	4, 21	4, 22	4, 23
R ¹	2-MeC ₆ H ₄		3-MeC ₆ H ₄		4-MeC ₆ H ₄					
R ²	2-OH	4-OH	2-OH	4-OH	H	2-OH	4-OH	4-OMe	4-Cl	4-NO ₂

Nr zw.	5, 24	5, 25	6, 26	6, 27	7, 28	7, 29	7, 30	7, 31	7, 30	7, 33
R ¹	2-ClC ₆ H ₄		3-ClC ₆ H ₄		4-ClC ₆ H ₄					
R ²	2-OH	4-OH	2-OH	4-OH	H	2-OH	4-OH	4-OMe	4-Cl	4-NO ₂

Aktywność cytotoksyczna

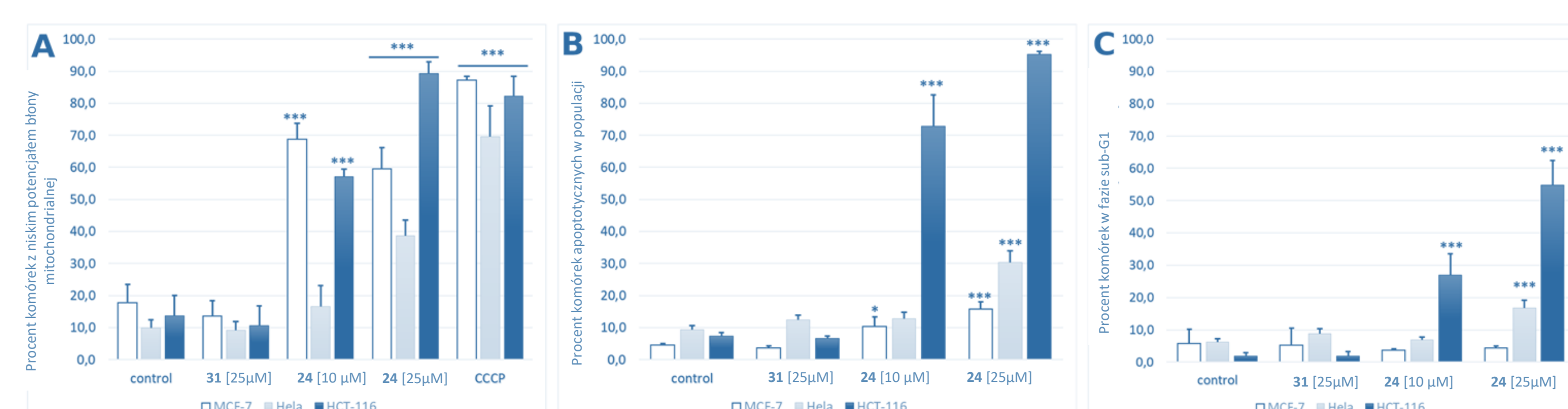
Aktywność cytotoksyczną pochodnych **8-34** wobec ludzkich komórek nowotworowych raka okrężnicy HCT-116, raka piersi MCF-7 oraz raka szyjki macicy HeLa określono za pomocą testu MTT po 72 h inkubacji. Stwierdzono, że zdolność hamowania komórek nowotworowych wykazują tylko pochodne zawierające jako podstawnik R² grupy hydroksylowe, dla których wartości IC₅₀ względem trzech testowanych linii komórkowych mieściły się w zakresie 8-41 μM. Co więcej, badane pochodne wykazały znacząco wyższą aktywność cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych w porównaniu z komórkami zdrowymi nienowotworowej, nieśmiertelnej linii komórkowej keratynocytów człowieka HaCaT. Średnie wartości indeksów selektywności wyniosły ok. 1,7; 2,4 i 3 odpowiednio dla komórek linii HeLa, MCF-7 i HCT-116.

Najwyższą wrażliwość względem związków cytotoksycznych wykazały komórki raka okrężnicy HCT-116 oraz raka piersi MCF-7. Średnie wartości dla tych komórek IC₅₀ wynosiły odpowiednio 11,4 μM oraz 15,8 μM. Nieco mniej wrażliwe okazały się komórki raka szyjki macicy HeLa (IC₅₀ w zakresie 15-41 μM, IC₅₀ \bar{x} = 22,5 μM).

	9	10	14	15	16	17	19
	IC ₅₀ [μM]						
MCF-7	18	15	13	13	20	17	14
HCT-116	11	9	9	10	17	12	11
HeLa	17	15	18	18	36	21	23
HaCaT	nt	nt	31	33	41	35	36

	20	24	25	26	27	29	30
	IC ₅₀ [μM]						
MCF-7	15	12	19	13	16	19	18
HCT-116	8,5	9	15	10	12	18	8
HeLa	15	17	18	19	20	41	37
HaCaT	nt	33	41	38	37	36	nt

Do oceny wpływu pochodnych na cykl komórkowy komórek linii HCT-116, MCF-7 i HeLa wytypowano N-[2-(2-Chlorofenyl)metylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo]-1-[3-fenyl-5-(2-hydroksyfenyl)-2,5-dihydro-1H-pirazol-1-ylo]amidynę **24**, charakteryzującą się najwyższą aktywnością cytotoksyczną. Badania wykonano także dla związku nieaktywnego N-[2-(4-chlorofenyl)metylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo]-1-[3-fenyl-5-(4-metoksyfenyl)-2,5-dihydro-1H-pirazol-1-ylo]amidyny **31**. Wyniki wskazują, że związek **24**, w odróżnieniu od jego nieaktywnego analogu **31**, wpływa na cykl komórkowy komórek linii HCT-116, powodując wzrost ilości komórek w fazie sub-G1 (wykres C). Zahamowanie cyklu obserwowano już przy stężeniu 10 μM. Nieco słabszy wpływ odnotowano dla komórek HeLa, dla których zahamowanie cyklu w fazie G1 wykazano przy stężeniu amidyny **24** wynoszącym 25 μM. W przypadku komórek MCF-7 nie stwierdzono istotnego zahamowania cyklu komórkowego, bez względu na stężenie związku. Badania z wykorzystaniem Aneksyny V wykazały, że pochodna **24** indukuje apoptozę z komórek nowotworowych, przy czym efekt ten jest najbardziej widoczny dla komórek HCT-116 (wykres B). Badania biologiczne wskazują również, że aktywność cytotoksyczna nowych pochodnych może być związana z obniżeniem potencjału błony mitochondrialnej szczególnie w przypadku komórek linii HCT-116 i MCF-7 (wykres A).



PIŚMIENICTWO:

[1] Pogorzelska A, Sławiński J., Kawiak A., Zołnowska B., Chojnacki J., Stasiłojć G., Ulenberg S., Szafranski K., Bączek T., Synthesis, molecular structure, and metabolic stability of new series of N'-(2-alkylthio-4-chloro-5-methylbenzenesulfonyl)-1-(5-phenyl-1H-pyrazol-1-yl)amidines as potential anti-cancer agents, *Eur. J. Med. Chem.* **155** (2018) 670–680

[2] Sławiński J., Brożewicz K., Fruziński A., Główna M.L., Synthesis and antitumor activity of novel N'-(2-benzylthiobenzenesulfonyl)-1H-pyrazole-1-amidine derivatives *Heterocycles* **83** (2011) 1093–1109

kontakt: aneta.pogorzelska@gumed.edu.pl

26

KONFERENCJA
NAUKOWA
WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO