

S. A. Demchenko¹, Yu. A. Fedchenkova², T. A. Bukhtiarova¹,
L. S. Bobkova¹, V. V. Sukhoveev^{2,3}, A. M. Demchenko^{1,2}

Synthesis and anticancer activity of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)- 5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides against PC-3 prostate cancer cells

¹Institute of Pharmacology and Toxicology of National Academy of Medical Sciences, Ukraine

²Nizhyn Mykola Gogol State University

³V. P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry
of the National Academy of Sciences of Ukraine

Key words: anticancer activity, 5-fluorouracil, derivatives of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid, PC-3 prostate cancer cells

Prostate gland cancer is one of the most widespread malignant diseases in men. More than 600 000 new cases of this disease are registered annually [1]. Medics associate this with improvement in methodology of screening, aimed at detecting prostate cancer on early stages, which are mandatory at certain age [2]. Important factors of disease risk are age (nearly 80 % of cases – are in men, older than 60), stress, which weaken immune system, excessively high-calorie foods, hereditary causes. Lack of testosterone and vitamin D plays an important role too [3]. There are references in literature about significant ethnic variability in cases of prostate cancer in the world. Interesting, that tendency in values persists in men of different skin colors on all continents [4].

Methods of treatment depend on factors, such as stage of disease, tumor growth intensity, presence of metastases and possible complications, etc. However, plans of prostate cancer treatment in the world practice change, as consequence of new medicines addition on the pharmaceutical market, such as arbitaron acetate, docetaxel, enzalumid [4].

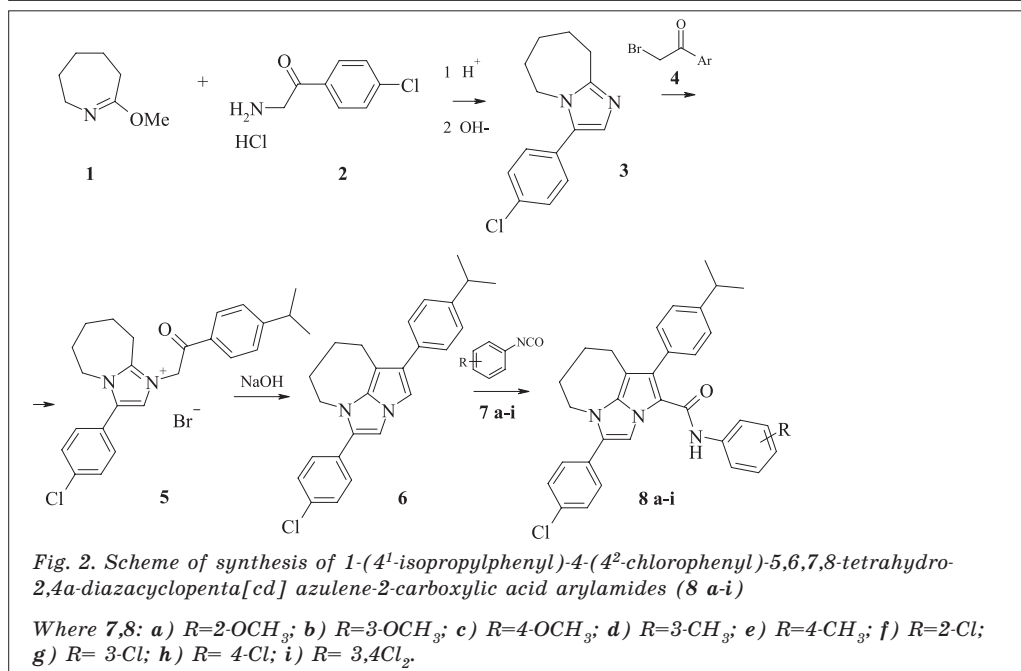
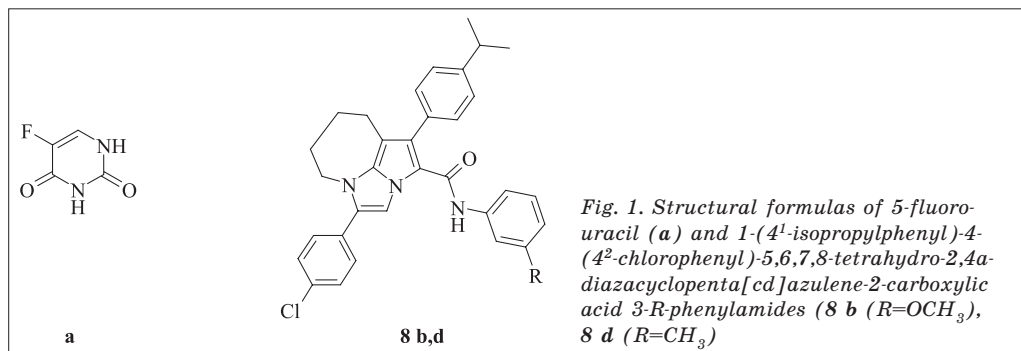
In last 10 years in Ukraine there is observed upward trend in number of prostate cancer cases among male population. Disease progresses slowly and symptoms appear on 3–4 stages. Lethal cases are 41 on 100 thousands of people [5]. This is why creation of new locally produced antitumor agents is an urgent task of pharmacy.

Agent from group of antagonists, 5-fluorouracil, is used as a standard for comparison of antitumor activity of new perspective compounds. It inhibits the process of cancer cells division by blocking DNA synthesis.

Increase in effectiveness of chemotherapy treatment for tumor disease is related to creation of new, effective antitumor medical agents. Particularly, based on azulenes derivatives [6–11].

The aim of this study – to synthesize novel derivatives of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides and to evaluate their activity against PC-3 prostate cancer cells as compared with known antitumor compound 5-fluorouracil (Fig. 1).

Materials and methods. Test compounds – 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides (**8 a-i**) were synthesized in department of medical chemistry, SI «Institute of Pharmacology and Toxicology NAMS of Ukraine» (Fig. 2).



2-Methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine **1** was obtained by alkylating caprolactam with dimethyl sulfate using the method [12]. Chlorohydrate α -amino-4-chloroacetophenone **2** was obtained [13] by condensation of α -bromo-4-chloroacetophenone with hexamethylenetetramine. 3-(4-Chlorophenyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo[1,2-a]azepine **3** was obtained by methods [14, 15].

¹H-NMR spectra were recorded on the Bruker VXR-500 (Germany), the working frequency of 500.13 MHz, in DMSO-d₆ + CCl₄ (1:3) using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Chemical shifts are reported in ppm units with use of the δ scale. Purity control of novel compounds was conducted by thin-layer chromatography in the system chloroform – methanol 9:1. The melting points were measured on a small-sized heating table

with the observation device RNMK 05 (VEB Analytik, Dresden). Lipophilicity (LogP) of compounds **6** and **8 a-i** was calculated using the program ACD LogP.

Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene 6. To solution of 4.93 g (0.02 M) 3-(4-chlorophenyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo[1,2-a]azepine **3** in 150 ml ethylacetate 4.82 g (0.02 M) α -bromo-4-isopropylacetophenone **4** was added. The reaction mixture was refluxed for 1 hour. After cooling the solid **5** was filtered, washed with ethylacetate, then dried on air. To suspension of 1-[2-(4¹-isopropylphenyl)-2-oxoethyl]-3-(4²-chlorophenyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo[1,2-a]azepin-1-ium bromide **5** in 40 ml water 5 % NaOH in 20 ml was added. The reaction mixture was refluxed for 3 hours. After

cooling the solid **6** was filtered, washed with water, then dried on air and recrystallized from benzene. Yield 3.35 g (43 %). Anal. Calc. for $C_{25}H_{25}ClN_2$. %: N 7.20. Found, %: N 7.32. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.33 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.53 (m, 2H, CH_2), 3.06 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.95 (m, 2H, CH_2), 6.85 (s, 1H, 2-CH), 7.40 and 7.52 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8$ Hz), 7.49 (s, 1H, 3-CH), 7.57 and 7.63 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.7$ Hz). Log P = 7.88 ± 0.88 .

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (2-methoxyphenyl)-amide **8 a**.* The mixture 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.745 g (0.005 M) of 2-methoxyphenylisocyanate **7 a** was refluxed in 100 ml of dried benzene during 2 hours. After cooling the solid **8 a** was filtered, washed with benzene, then dried on air and recrystallized from ethanol. Yield 1.86 g (69 %). M.p.= 205–206 °C. Anal. Calc. for $C_{33}H_{32}ClN_3O_2$. %: Cl 6.60; N 7.81. Found, %: Cl 6.77; N 7.98. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.31 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.86 (m, 2H, CH_2), 2.02 (m, 2H, CH_2), 2.41 (m, 2H, CH_2), 3.03 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (m, 2H, CH_2), 7.69 (s, 1H, NH), 6.80–8.36 (m, 4H, $o-C_6H_4$), 7.36 and 7.45 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.4$ Hz), 7.59 and 7.66 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.4$ Hz), 8.01 (s, 1H, 3-CH). Log P = 7.98 ± 1.17 .

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methoxyphenyl)-amide **8 b*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.745 g (0.005 M) of 3-methoxyphenylisocyanate **7 b**. Yield 1.93 g (77 %). M.p.= 220–222 °C. Anal. Calc. for $C_{33}H_{32}ClN_3O_2$. %: Cl 6.60; N 7.81. Found, %: Cl 6.74; N 7.95. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.31 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.88 (m, 2H, CH_2), 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.53 (m, 2H, CH_2), 3.04 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (m, 2H, CH_2),

6.39–7.04 (m, 4H, C_6H_4), 6.83 (s, 1H, NH), 7.41 and 7.49 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8$ Hz), 7.58 and 7.65 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.7$ Hz), 7.94 (s, 1H, 3-CH). Log P = 8.25 ± 1.17 .

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (4-methoxyphenyl)-amide **8 c*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.745 g (0.005 M) of 4-methoxyphenylisocyanate **7 c**. Yield 2.15 g (80 %). M.p.= 182–183 °C. Anal. Calc. for $C_{33}H_{32}ClN_3O_2$. %: Cl 6.60; N 7.81. Found, %: Cl 6.51; N 7.95. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.30 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.88 (m, 2H, CH_2), 2.03 (m, 2H, CH_2), 2.51 (m, 2H, CH_2), 3.03 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (m, 2H, CH_2), 6.76 and 6.97 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=9.0$ Hz), 6.95 (s, 1H, NH), 7.40 and 7.47 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.1$ Hz), 7.58 and 7.65 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.4$ Hz), 7.93 (s, 1H, 3-CH). Log P = 8.04 ± 1.17 .

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methylphenyl)-amide **8 d*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.67 g (0.005 M) of 3-methylphenylisocyanate **7 d**. Yield 1.93 g (74 %). M.p.= 204–205 °C. Anal. Calc. for $C_{33}H_{32}ClN_3O$. %: Cl 6.80; N 8.04. Found, %: Cl 6.69; N 8.21. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.32 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.04 (m, 2H, CH_2), 2.16 (s, 3H, CH_3), 2.51 (m, 2H, CH_2), 3.05 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.95 (m, 2H, CH_2), 6.56 (s, 1H, NH), 6.71–7.07 (m, 4H, C_6H_4), 7.42 and 7.50 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8$ Hz), 7.59 and 7.66 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.7$ Hz), 7.95 (s, 1H, 3-CH). Log P = 8.55 ± 1.16 .

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (4-methylphenyl)-amide **8 e*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.67 g (0.005 M) of

4-methylphenylisocyanate **7 e**. Yield 1.98 g (76 %). M.p.= 207–208 °C. Anal. Calc. for C₃₃H₃₂ClN₃O. %: Cl 6.80; N 8.04. Found, %: Cl 6.93; N 8.04. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.31 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1.88 (m, 2H, CH₂), 2.03 (m, 2H, CH₂), 2.18 (s, 3H, CH₃), 2.49 (m, 2H, CH₂), 3.03 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.93 (m, 2H, CH₂), 6.95 (s, 1H, NH), 6.90 and 6.97 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.4 Hz), 7.40 and 7.47 (d-d, 4H, C₆H₄, J=7.7 Hz), 7.58 and 7.65 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.7 Hz), 7.93 (s, 1H, 3-CH). Log P = 8.55 ± 1.16.

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (2-chlorophenyl)-amide **8 f*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.77 g (0.005 M) of 2-chlorophenylisocyanate **7 f**. Yield 2.14 g (79 %). M.p.= 202–203 °C. Anal. Calc. for C₃₂H₂₉Cl₂N₃O. %: Cl 13.1; N 7.75. Found, %: Cl 13.3; N 7.89. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.32 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1.89 (m, 2H, CH₂), 2.04 (m, 2H, CH₂), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.51 (m, 2H, CH₂), 3.02 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.94 (m, 2H, CH₂), 7.15 (s, 1H, NH), 6.93–7.27 (m, 4H, C₆H₄), 7.41 and 7.45 (d-d, 4H, C₆H₄, J=7.7 Hz), 7.57 and 7.65 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.7 Hz), 7.90 (s, 1H, 3-CH). Log P = 8.59 ± 1.17.

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-chlorophenyl)-amide **8 g*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.77 g (0.005 M) of 3-chlorophenylisocyanate **7 g**. Yield 2.20 g (81 %). M.p.= 210–211 °C. Anal. Calc. for C₃₂H₂₉Cl₂N₃O. %: Cl 13.1; N 7.75. Found, %: Cl 13.2; N 7.83. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.30 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1.88 (m, 2H, CH₂), 2.02 (m, 2H, CH₂), 2.19 (s, 3H, CH₃), 2.48 (m, 2H, CH₂), 3.03 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.93 (m, 2H, CH₂), 7.16 (s, 1H, NH), 6.91–7.45 (m, 4H, C₆H₄), 7.39 and 7.46 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.1 Hz), 7.58 and 7.65 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.7 Hz), 7.93 (s, 1H, 3-CH). Log P = 9.12 ± 1.17.

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (2-chlorophenyl)-amide **8 h*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.77 g (0.005 M) of 4-chlorophenylisocyanate **7 h**. Yield 2.25 g (83 %). M.p.= 214–215 °C. Anal. Calc. for C₃₂H₂₉Cl₂N₃O. %: Cl 13.1; N 7.75. Found, %: Cl 12.9; N 7.64. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.30 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1.88 (m, 2H, CH₂), 2.03 (m, 2H, CH₂), 2.49 (m, 2H, CH₂), 3.02 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.94 (m, 2H, CH₂), 7.04 and 7.22 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.7 Hz), 7.14 (s, 1H, NH), 7.40 and 7.47 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.1 Hz), 7.58 and 7.65 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.8 Hz), 7.92 (s, 1H, 3-CH). Log P = 9.08 ± 1.17

*Synthesis of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3,4-dichlorophenyl)-amide **8 i*** was obtained as amide **8 a** from 1.94 g (0.005 M) of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene **6** and 0.94 g (0.005 M) of 3,4-dichlorophenylisocyanate **7 i**. Yield 2.45 g (85 %). M.p.= 240–241 °C. Anal. Calc. for C₃₂H₂₈Cl₃N₃O. %: Cl 18.5; N 7.28. Found, %: Cl 18.3; N 7.35. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.31 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1.89 (m, 2H, CH₂), 2.04 (m, 2H, CH₂), 2.49 (m, 2H, CH₂), 3.02 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.95 (m, 2H, CH₂), 7.23 (s, 1H, NH), 6.90–7.43 (m, 3H, C₆H₃), 7.40 and 7.47 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.1 Hz), 7.59 and 7.66 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.6 Hz), 7.92 (s, 1H, 3-CH). Log P = 9.98 ± 1.18.

Antitumor activity *in vitro* against PC-3 prostate cancer cells was studied in National Cancer Institute of Health USA, according to Development Therapeutic Program by standard procedure [16]. For pharmacological screening compounds **8 b,d** were picked, which contain electron-donor substituents in meta position of heterocyclic system, according to the results of molecular modeling [17].

Identification of antitumor activity was conducted with highly sensitive fluorimetry method by fluorescence intensity

(colorant – sulphorodamin B) after 48 hours of cells interaction with tested compound *in vitro*, which based on determination of tumor cell growth percentage (PG) under influence of tested compound. The result was expressed in percentage of cancer cell growth to control – 5-fluorouracil.

Results and discussion. The results obtained showed, that compounds 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methoxyphenyl)-amide **8 b** and 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methylphenyl)-amide **8 d** demonstrate the ability to suppress PC-3 prostate cancer cells growth in concentration of 10⁻⁵ M.

These compounds were more effective in suppressing of cancer cells growth compared to control – 5-fluorouracil, exactly: 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methoxyphenyl)-amide **8 b** was by 3,93 % and 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid (3-methylphenyl)-amide **8 d** – by 52,32 % more effective than 5-fluorouracil.

Therefore, it can be concluded, that 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides inhibit growth of PC-3 prostate cancer cells more effective compared with standard – 5-fluorouracil under experimental condition *in vitro*. The data obtained allow to consider these biologically active compounds as basis for creation of new, effective antitumor agents for prostate cancer treatment.

Conclusion

1. New derivatives of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides were synthesized by the reaction of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene with the corresponding isocyanate at 69–85 % yield.
2. 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[cd]azulene-2-carboxylic acid arylamides show antitumor activity against PC-3 prostate cancer cells *in vitro*. The compound **8 d** in concentration of 10⁻⁵ M exceeds an antitumor activity of 5-fluorouracil against PC-3 prostate cancer cells by 52.32 %.

1. Каприн А. Д., Подшивалов А. В. Современные аспекты диагностики рака простаты. *Андрология и генитальная хирургия*. Т. 3, № 1. С. 39–47
2. Брызгунова О. Е., Власов В. В., Лактионов П. П. Современные методы диагностики рака предстательной железы. *Биомедицинская химия*. 2007. Т. 53, Вып. 2. С. 128–139.
3. Переверзев А. С. Рак предстательной железы: где мы сейчас находимся? *Новости медицины и фармации*. 2009. № 3–4 (269–270). URL: http://www.mif-ua.com/archive/article_print/7807 (Дата: 2009.03.31).
4. New drugs in prostate cancer. Sangjun Yoo, Se Young Choi, Dalsan You, Choung-Soo Kim. *Prostate Int*. 2016. V. 4. P. 37–42.
5. Скринінг раку передміхурової залози. Е. О. Стаховський, З. П. Федоренко, Ю. В. Вітрук та ін. *Онкоурологія*. 2016. № 1 (21). С. 50–53.
6. Патент на корисну модель № 117545 Україна, МПК (2017.01) C07D 487/00, A61P 35/00. 1-Феніл-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазациклопента-[cd]азулені, що мають протипухлинну активність. Демченко С. А., Колесніков О. В., Демченко А. М., Бобкова Л. С. № у 2017 01123; Заявл. 07.02.2017; Опубл. 26.06.2017, Бюл. № 12.
7. Патент на корисну модель № 118189 Україна, МПК (2017.01) C07D 417/00. 1-(2-Ізопропіл-5-метилфеноксиметил)-3R-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазациклопента[cd]азулені, що мають протипухлинну активність. Демченко С. А., Дудник А. Є., Бухтіарова Т. А., Демченко А. М., Бобкова Л. С. № у 2017 02036; Заявл. 02.03.2017; Опубл. 25.07.2017, Бюл. № 14.
8. Патент на винахід № 120182 Україна, МПК (2006) C07D 487/04 (2006.01), C07D 255/04 (2006.01), C07D 249/16 (2006.01), A 61K 31/33 (2006.01), A 61K 31/423 (2006.01). Застосування 4-арил-1-феноксиметил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазациклопента[cd]азуленів як сполук, що проявляють протипухлинну активність. Демченко С. А., Волощюк Д. М., Демченко А. М., Бобкова Л. С. № а 2017 03602; Заявл. 13.04.2017; Опубл. 25.10.2019, Бюл. № 20/2019.
9. Патент на корисну модель № 121779 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, A 61P 35/00. 1-(2¹-Метоксифеніл)амінометил-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триаза-циклопента[cd]

- азулен, що має протипухлинну активність. Демченко С. А., Бобкова Л. С., Бухтіарова Т. А., Демченко А. М. № 2017 07644; Заявл. 19.07.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.
10. Патент на винахід №115750 Україна, МПК (2006): C07D 487/06 (2006.01), A61K 31/343 (2006.01), A61P 35/00, C07C 13/52 (2006.01). 1-Феніл-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулені, що мають протипухлинну активність. Демченко С. А., Колесніков О. В., Демченко А. М., Бобкова Л. С. № 2017 01124; Заявл. 07.02.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.
 11. Патент на корисну модель № 135600 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, A61P 35/00, A61K 31/00.//3-R-феніламіди 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[с,d]азулен-2-карбонової кислоти, що мають протипухлинну активність щодо клітин РС-3 раку простати. Демченко С. А., Федченкова Ю. А., Суховєєв В. В., Демченко А. М. № 2019 00533; Заявл. 23.01.2019; Опубл. 10.07.2019, Бюл. № 13/2019.
 12. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом. В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Н. С. Курятов и др. ХГС. 1973. № 11. С. 1532–1535.
 13. *You Reitung*. Синтез хлоргидрата α-аминоацетофенона и его пара-замещенных производных. *Хуисюе шици*. *Chem. Reagents*. 1986. V. 8, № 5. – P. 302–325. Цит. по: РЖХимия. 1987. 13Ж182.
 14. Cyclization of lactimide ketones to imidazo[1,2-a]azacycloalkanes with hypoglycemic activity. G. P. Claxton, J. M. Grisar, J. Martin, N. L. Wiech. *J. Med. Chem.* 1974. V. 17, № 3. P. 364–7.
 15. *Kovtunen V. A., Nazarenko K. G., Demchenko A. M.* The Derivatives of the 2a,4a-Diazacyclopenta[с,d]azulene. *Tetrahedron*. 1996. V. 52, № 29. P. 9835–9840.
 16. *Teicher B. A., Andrews P. A.* Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical. *Medical*. 2004. V. 1. 450 p.
 17. Design, synthesis and biological evaluation of 5-amino-4-(1H-benzoimidazol-2-yl)-phenyl-1,2-dihydro-pyrrol-3-ones as inhibitors of protein kinase FGFR1. A. A. Gryschenko, S. S. Tarnavskiy, K. V. Levchenko et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2016. V. 24. P. 2053–2059.

S. A. Demchenko, Yu. A. Fedchenkova, T. A. Bukhtiarova, L. S. Bobkova, V. V. Sukhoveev, A. M. Demchenko

Synthesis and anticancer activity of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd]azulene-2-carboxylic acid arylamides against PC-3 prostate cancer cells

Pharmacotherapy of prostate cancer is an important part in combating oncologic diseases. This is very relevant, because prostate cancer is a cause of 10 % of deaths from all cancerous diseases in males.

The aim of the study – to synthesize novel derivatives of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd]azulene-2-carboxylic acid arylamides and to evaluate their antitumor activity against PC-3 prostate cancer cells.

By reaction of equimolar amounts of 2-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine with α-amino-4-chloroacetophenone chlorohydrate, 3-(4-chlorophenyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo[1,2-a]azepine was synthesized. By alkylation of α-bromo-4-isopropylacetophenone in ethylacetate and following treatment of the obtained intermediary quaternary salt with excess of 5 % NaOH solution, 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd] azulene was synthesized. By boiling it with equimolar amounts of corresponding arylisocyanates in dried benzol, an array of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd]azulene-2-carboxylic acid arylamides were synthesized. Structure and purity of all compounds obtained were confirmed by data of MR¹H spectroscopy. Lipophilicity (LogP) of compounds 6 and 8 a-i was calculated with the ACD LogP program.

Antitumor activity of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd]azulene-2-carboxylic acid (3-methylphenyl) and (3-methoxyphenyl)-amides was evaluated at *in vitro* test on prostate cancer PC-3 cell lines. It is indicated, that at concentration of 10⁻⁵ M these compounds exceed 5-fluorouracil as comparison drug in inhibiting PC-3 prostate cancer cells growth by 52.32 % and 3.93 % correspondingly. The data obtained substantiate feasibility of further studies of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd] azulene-2-carboxylic acid arylamides as new, potential antitumor medicines for prostate cancer treatment.

Key words: anticancer activity, 5-fluorouracil, derivatives of 1-(4¹-isopropylphenyl)-4-(4²-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,4a-diazacyclopenta[сd]azulene-2-carboxylic acid, PC-3 prostate cancer cells

С. А. Демченко, Ю. А. Федченкова, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова, В. В. Суховєєв, А. М. Демченко

Синтез і протипухлинна активність ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти відносно клітин РС-3 раку простати

Фармакотерапія раку простати є важливою складовою в боротьбі з онкологічними захворюваннями. Це дуже актуально, тому що рак простати є причиною 10 % смертей від усіх видів ракових захворювань у чоловіків.

Мета дослідження – синтезувати та вивчити протипухлинну активність ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти порівняно з 5-фторурацилом відносно клітин РС-3 раку простати.

Взаємодією еквімолярних кількостей 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепіну з хлоргідратом α-аміно-4-хлорацетофенону синтезовано 3-(4-хлорфеніл)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-імідазо[1,2-а]азепін. Алкілюванням останнього α-бром-4-ізопропілацетофеноном у середовищі етилацетату та подальшою обробкою одержаної проміжної четвертинної солі надлишком 5 % розчину NaOH синтезовано 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен. Кип'ятінням останнього з еквімолярними кількостями відповідних арилізоціанатів у сухому бензолі був синтезований ряд ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти. Будову та чистоту всіх отриманих речовин підтверджено даними ЯМР ¹Н спектроскопії. Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук була розрахована за допомогою програми ACD LogP.

Оцінено протипухлинну активність амідів (3-метилфеніл)- та (3-метоксифеніл)-1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти в дослідах *in vitro* на лініях клітин раку простати РС-3. Показано, що досліджувані речовини в концентрації 10⁻⁵ моль/л перевищують препарат порівняння – 5-фторурацил за гальмуванням росту клітин раку простати РС-3 на 52,32 % та 3,93 % відповідно. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти як нових потенційних протипухлинних засобів для лікування раку простати.

Ключові слова: протипухлинна активність, 5-фторурацил, похідні 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти, клітини РС-3 раку простати

С. А. Демченко, Ю. А. Федченкова, Т. А. Бухтиарова, Л. С. Бобкова, В. В. Суховеев, А. М. Демченко

Синтез и противоопухолевая активность ариламидов 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента [сd]азулен-2-карбонової кислоти по отношению к клеткам РС-3 рака простати

Фармакотерапія рака простати являється важливою складовою в боротьбі з онкологічними захворюваннями. Это являється очень актуальним, так как рак простати являється причиною 10 % смертей среди всех видов раковых заболеваний у мужчин.

Цель исследования – синтезувати та вивчити протипухлинну активність ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти в порівнянні з 5-фторурацилом по отношению к клеткам РС-3 рака простати.

Взаємодією еквімолярних кількостей 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепіна з хлоргідратом α-аміно-4-хлорацетофенону синтезовано 3-(4-хлорфеніл)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-імідазо[1,2-а]азепін. Алкілюванням останнього α-бром-4-ізопропіл-ацетофеноном в середовищі етилацетату та подальшою обробкою одержаної проміжної четвертинної солі надлишком 5 % розчину NaOH синтезовано 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен. Кип'ятінням останнього з еквімолярними кількостями арилізоціанатів у сухому бензолі був синтезований ряд ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти. Структура та чистота всіх отриманих сполук підтверджена даними ЯМР ¹Н спектроскопії. Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук була розрахована за допомогою програми ACD LogP.

Вивчено протипухлинну активність амідів (3-метилфеніл)- та (3-метоксифеніл)-1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти в дослідах *in vitro* на лініях клітин раку простати РС-3. Показано, що досліджувані сполуки в концентрації 10⁻⁵ моль/л перевищують препарат порівняння – 5-фторурацил за гальмуванням росту клітин раку простати РС-3 на 52,32 % та 3,93 % відповідно. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення ариламідів 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти як нових потенційних протипухлинних засобів для лікування раку простати.

Ключевые слова: протипухлинна активність, 5-фторурацил, похідні 1-(4¹-ізопропілфеніл)-4-(4²-хлорофеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти, клітини РС-3 раку простати

Надійшла: 5 вересня 2019 р.

Прийнята до друку: 16 жовтня 2019 р.

Контактна особа: Демченко С. А., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14., вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03157. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.