

Синтез и биологическая активность спиропроизводных 1,2,3-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазинов

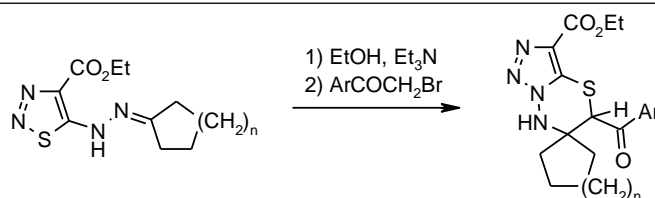
Татьяна А. Калинина¹, Ольга А. Быстрых¹, Варвара А. Поздина¹,
Татьяна В. Глухарева¹, Мария В. Улитко^{1,2}, Юрий Ю. Моржерин^{1*}

¹ Уральский федеральный университет,
ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия; e-mail: yu.yu.morzherin@urfu.ru

² ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий,
ул. Карла Маркса, 22 а, Екатеринбург 620026, Россия; e-mail: imct@celltechnologies

Получено 30.04.2015

Принято 29.05.2015



Перегруппировкой Димрота 1,2,3-тиадиазолилгидразонов циклопентанона и циклогексанона в присутствии триэтиламина были получены 3-циклопентилиден(циклогексилиден)амино-3*H*-1,2,3-триазол-4-тиолаты, которые *in situ* при взаимодействии с α -бромацетофенонами привели к спирочлененным 6,7-дигидро-5*H*-[1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазинам. Исследовано влияние полученных соединений на жизнеспособность и пролиферативную активность четырех линий клеточных культур. Выявлена избирательная пролиферирующая активность.

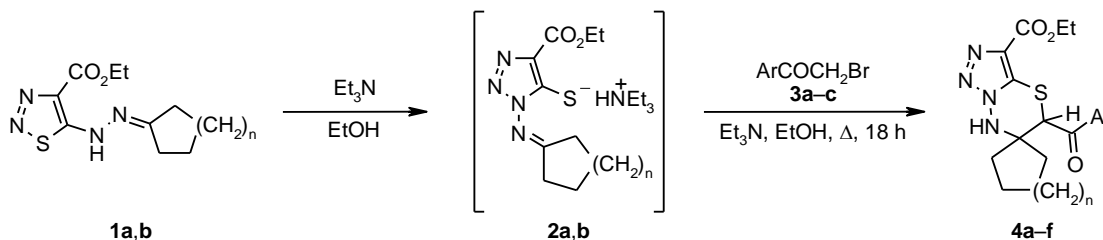
Ключевые слова: спироциклические соединения, 1,3,4-тиадиазины, 1,2,3-триазолы, дермальные фибробласты, МТТ-тест, перевиваемые клеточные линии, перегруппировка Димрота, пролиферация, цитотоксичность.

У некоторых производных 1,3,4-тиадиазинов выявлены различные виды биологической активности: цитотоксическая,^{1,2} противомикробная,¹ болеутоляющая,² противовоспалительная.^{2,3} Трансформация производных 5-гидраино-1,2,3-тиадиазолов является удобным способом синтеза [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазинов,⁴⁻⁷ биологическая активность которых до сих пор не изучена. В то же время известно, что структурно родственные им [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазины⁸ проявляют *in vitro* цитотоксическую активность в отношении различных линий опухолевых клеток.⁹⁻¹¹ В данной работе мы предлагаем метод получения спирочлененных производных 6,7-дигидро-5*H*-[1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазина, а также приводим результаты исследования их влияния на рост клеточных культур.

Исходные 1,2,3-тиадиазолилгидразоны циклических кетонов (циклопентанона и циклогексанона) **1a, b** были получены по описанной ранее методике¹² синтеза 1,2,3-тиадиазолилгидразонов ацетофенонов и бензальдегидов. В присутствии триэтиламина 1,2,3-тиадиазолилгидразоны претерпевают перегруппировку Димрота^{5,7,13} с образованием 3-циклопентилиден(циклогексилиден)амино-3*H*-1,2,3-триазол-4-тиолатов **2a, b**, которые, в свою очередь, при взаимодействии с α -бромацетофенонами **3a–c** дают [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазины **4a–f** (схема 1).

Следует отметить, что в литературе описано несколько примеров синтеза спиропроизводных конденсированных 1,3,4-тиадиазинов, таких как 6,7-дигидро-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазины¹⁴⁻¹⁶ и

Схема 1



1a, 2a, 4a–c $n = 1$; **1b, 2b, 4d–f** $n = 2$;
3a, 4a, d Ar = 4-MeC₆H₄; **3b, 4b, e** Ar = 4-MeOC₆H₄; **3c, 4c, f** Ar = 4-EtOC₆H₄

Таблица 1. Влияние синтезированных соединений **4a–f** на жизнеспособность и пролиферативную активность клеточных культур

Соединение	IC ₅₀ , мкМ				Пролиферативная активность, %			
	К-22	НЕК-293	RD	ФЧ	К-22	НЕК-293	RD	ФЧ
4a	0.60 ± 0,04	–	–	0.050 ± 0,004	–	53.6 ± 1,8	491 ± 30	–
4b	0.80 ± 0,02	–	–	0.70 ± 0,02	–	34.2 ± 1.7	463 ± 33	–
4c	>10 ⁴	–	>10 ⁴	–	–	–	–	316 ± 25
4d	>10 ⁴	90.0 ± 7.4	–	>10 ⁴	–	–	403 ± 31	–
4e	0.030 ± 0.001	–	>10 ⁴	–	–	–	–	308 ± 28
4f	>10 ⁴	–	>10 ⁴	–	–	–	–	223 ± 19

3,4-дигидро-2*H*-имидазо[2,1-*b*][1,3,4]тиадиазины,^{15,16} однако данных об их биологической активности не обнаружено.

Нами было изучено влияние полученных [1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазинов **4a–f** на жизнеспособность и пролиферативную активность трансформированных фибробластов К-22, эмбриональных клеток почки человека НЕК-293, опухолевых клеток рабдомиосаркомы RD и нормальных фибробластов человека (ФЧ). В зависимости от типа клеток, исследуемые вещества проявляли цитотоксическую активность или стимулировали пролиферацию клеток (табл. 1).

В отношении трансформированных фибробластов К-22 все соединения проявляют слабую цитотоксическую активность. Соединения **4a, b, e** показали наибольшую цитотоксичность, сравнимую с цитостатическим эффектом доксорубина (IC₅₀ доксорубина для клеточной линии MCF-7 составляет 0.1 мкМ).¹⁷ Эти производные 1,3,4-тиадиазинов могут стать основой для синтеза фармакологических препаратов, снижающих скорость пролиферации опухолевых клеток. На остальные типы клеток [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазины оказывают избирательное воздействие. Соединения **4a, b** стимулируют рост эмбриональных клеток почки человека НЕК-293 и опухолевых клеток рабдомиосаркомы RD, однако подавляют рост нормальных фибробластов человека. Соединение **4d** проявляет цитотоксический эффект по отношению ко всем типам клеток, кроме опухолевой культуры RD. Соединения **4c, e, f** обладают стимулирующей активностью по отношению к нормальным фибробластам, но при этом оказывают цитотоксическое воздействие на опухолевые и трансформированные линии клеток.

Выявленный благоприятный пролиферативный ответ культуры фибробластов человека на воздействие исследованных соединений позволяет рассматривать их в качестве основы для направленного синтеза соединений, повышающих скорость восстановительных процессов. Стимулирующие пролиферацию дермальных фибробластов соединения могут найти применение в медицинской практике в качестве фармакологических препаратов для ускорения репаративной регенерации тканей и заживления ран, так как способность фибробластов участвовать в восстановительных процессах регенерации определяется уровнем их пролиферативной активности. Возможно также использование данных соединений для оптимизации условий культивирования различных клеточных линий и восстановления функций клеточных культур после криокон-

сервирования. Используемый для этих целей препарат актовегин повышает показатель пролиферации фибробластов человека только на 30%.¹⁸ Другой широко применяемый для ускорения регенерации поврежденных клеток и тканей препарат солкосерил не стимулирует пролиферативную активность клеток в культуре.¹⁹

Таким образом, исследованные спиетропроизводные [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазина проявляют избирательную биологическую активность. В зависимости от типа клеточной культуры, эти соединения оказывают цитотоксическое действие или стимулируют пролиферативную активность клеток. Особый интерес вызывают соединения, которые стимулируют рост нормальных клеток, оказывая при этом ингибирующее действие на опухолевые и трансформированные линии. Для определения закономерностей биологического действия спиетропроизводных [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазина необходимо дальнейшее исследование их протективного и супрессорного действия на пролиферацию и дифференцирование нормальных и опухолевых клеток.

Экспериментальная часть

ИК спектры записаны на спектрофотометре Bruker Alpha (НПВО, ZnSe). Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance II (400.13 и 100.61 МГц соответственно) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт ТМС, в лаборатории комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов ЦКП УрФУ. Масс-спектры зарегистрированы на газовом хромато-масс-спектрометре GCMS QP-2010 Plus (ионизация ЭУ, 70 эВ). Элементный анализ выполнен на CHNS-анализаторе PE 2400 Series II. Температуры плавления определены на приборе Stuart SMP3. Контроль за ходом реакций и чистотой синтезированных соединений проведен методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254 в системе этилацетат–гексан, 1:1 (проявление в УФ свете).

Для исследования биологической активности были использованы перевиваемые линии трансформированных фибробластов крысы К-22, рабдомиосаркомы человека RD, эмбриональные клетки почки человека НЕК-293, полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург), а также первичная культура дермальных фибробластов человека, выделенных из биоптата кожи в Институте медицинских клеточных технологий (Екатеринбург).

1,2,3-Тиадиазол-4-илгидразоны циклических кетонов **1a, b** получены аналогично 1,2,3-тиадиазол-4-илгидразонам ациклических кетонов.¹²

Этиловый эфир 5-(2-циклопентилиденгидразино)-1,2,3-тиадиазол-4-карбоновой кислоты (1a). Выход 68%, порошок светло-желтого цвета, т. пл. 82–83 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.42 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.84–1.77 (2H, м) и 1.94–1.87 (2H, м, 2 CH_2); 2.42–2.53 (4H, м, 2 CH_2); 4.41 (2H, к, $J = 7.1$, CH_2); 9.93 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2 (CH_3); 24.3 (CH_2); 24.4 (CH_2); 28.1 (CH_2); 32.9 (CH_2); 60.9 (CH_2); 130.1; 161.5; 167.5; 170.5. Найдено, %: С 46.95; Н 5.64; N 22.15. $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$. Вычислено, %: С 47.23; Н 5.55; N 22.03.

Этиловый эфир 5-(2-циклогексилиденгидразино)-1,2,3-тиадиазол-4-карбоновой кислоты (1b). Выход 62%, порошок желтого цвета, т. пл. 98–99 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.41 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.74–1.63 (6H, м, 3 CH_2); 2.31–2.36 (2H, м) и 2.39–2.43 (2H, м, 2 CH_2); 4.40 (2H, к, $J = 7.1$, CH_2); 10.34 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2 (CH_3); 24.7 (CH_2); 25.4 (CH_2); 26.5 (CH_2); 27.4 (CH_2); 34.5 (CH_2); 60.9 (CH_2); 130.1; 161.8; 164.0; 168.1. Найдено, %: С 49.02; Н 6.12; N 20.73. $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$. Вычислено, %: С 49.24; Н 6.01; N 20.88.

Получение [1,2,3]триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклопентан-3-карбоновой кислоты (1a–f) (общая методика). К суспензии 1.00 ммоль 1,2,3-тиадиазолилгидразона **1a,b** в абсолютном спирте (15 мл) добавляют 0.25 мл триэтиламина (1.80 ммоль). Смесь нагревают в колбе с обратным холодильником в течение 1 ч до полного растворения. Затем добавляют 1.00 ммоль соответствующего α -бромацетифенона **3a–c**, реакцию проводят при интенсивном перемешивании и кипячении в течение 18 ч. Растворитель отгоняют при пониженном давлении. Остаток перекристаллизовывают из этанола.

Этиловый эфир 5-(4-метилбензоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклопентан]-3-карбоновой кислоты (4a). Выход 312 мг (81%), порошок светло-сиреневого цвета, т. пл. 195–196 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1203, 1604, 1667, 1722 (C=O), 2991, 3262. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.34 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.38–1.49 (1H, м), 1.64–1.80 (6H, м) и 1.90–1.93 (1H, м, 4 CH_2); 2.45 (3H, с, CH_3); 4.26–4.32 (2H, м, CH_2); 5.17 (1H, с, CH); 7.20 (1H, с, NH); 7.35 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar); 7.99 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.6 (CH_3); 21.7 (CH_3); 23.9 (CH_2); 25.1 (CH_2); 36.2 (CH_2); 36.9 (CH_2); 41.0 (CH); 61.1 (C_{spiro}); 65.2 (CH_2); 127.3; 129.1 (CH Ar); 129.5 (CH Ar); 130.1; 133.7; 145.7; 160.6 (C=O); 196.9 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 386 [$\text{M}]^+$ (2), 314 (13), 119 (100), 91 (39), 82 (29), 65 (11). Найдено, %: С 59.11; Н 5.68; N 14.23. $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: С 59.05; Н 5.80; N 14.51.

Этиловый эфир 5-(4-метоксибензоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклопентан]-3-карбоновой кислоты (4b). Выход 350 мг (87%), светло-сиреневый порошок, т. пл. 192–193 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1202, 1263, 1513, 1602, 1658, 1725 (C=O), 2984, 3250. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.35 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.40–1.46 (1H, м), 1.67–1.83 (6H, м) и 1.90–1.95 (1H, м, 4 CH_2); 3.90 (3H, с, OCH_3); 4.26–4.32 (2H, м, CH_2); 5.13 (1H, с, CH); 7.04 (2H, д, $J = 8.8$, H Ar); 7.14 (1H, с, NH); 8.08 (2H, д, $J = 8.8$, H Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2 (CH_3); 23.5 (CH_2); 24.7 (CH_2); 35.8 (CH_2); 36.3 (CH_2); 40.2 (CH); 55.8 (OCH_3); 60.6 (C_{spiro}); 64.8 (CH_2); 114.4 (CH Ar); 127.4; 128.5; 131.5 (CH Ar); 132.0; 160.1

(C=O); 164.2; 195.2 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 402 [$\text{M}]^+$ (5), 330 (18), 135 (100), 107 (9), 82 (15). Найдено, %: С 56.50; Н 5.29; N 13.76. $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 56.70; Н 5.51; N 13.92.

Этиловый эфир 5-(4-этоксibenзоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклопентан]-3-карбоновой кислоты (4c). Выход 342 мг (82%), светло-фиолетовый порошок, т. пл. 177–178 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1204, 1255, 1510, 1600, 1664, 1718, 2980, 3257. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.35 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.42 (3H, т, $J = 7.0$, CH_3); 1.41–1.45 (1H, м) и 1.65–1.94 (7H, м, 4 CH_2); 4.15 (2H, к, $J = 7.0$, CH_2); 4.26–4.32 (2H, м, CH_2); 5.13 (1H, с, CH); 7.01 (2H, д, $J = 9.0$, H Ar); 7.15 (1H, с, NH); 8.06 (2H, д, $J = 9.0$, H Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2 (CH_3); 14.4 (CH_3); 23.5 (CH_2); 24.7 (CH_2); 35.8 (CH_2); 36.3 (CH_2); 40.1 (CH); 60.6 (C_{spiro}); 63.8 (CH_2); 64.8 (CH_2); 114.7 (CH Ar); 127.4; 128.3; 131.5 (CH Ar); 132.0; 160.1 (C=O); 163.5; 195.2 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 416 [$\text{M}]^+$ (7), 344 (24), 231 (16), 149 (100), 121 (40), 82 (22). Найдено, %: С 57.72; Н 6.10; N 13.06. $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 57.68; Н 5.81; N 13.45.

Этиловый эфир 5-(4-метилбензоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклогексан]-3-карбоновой кислоты (4d). Выход 297 мг (74%), порошок розового цвета, т. пл. 181–183 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1201, 1227, 1515, 1604, 1661, 1699, 1723, 2986, 3256. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.21–1.29 (1H, м, CH); 1.35 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.43–1.75 (9H, м, CH, 4 CH_2); 2.45 (3H, с, CH_3); 4.29 (2H, к, $J = 7.1$, CH_2); 5.06 (1H, с, CH); 7.12 (1H, с, NH); 7.35 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 8.02 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.1 (CH_3); 20.2 (CH_2); 20.4 (CH_2); 21.2 (CH_3); 24.7 (CH_2); 31.6 (CH_2); 32.7 (CH_2); 40.9 (CH); 55.7 (CH_2); 60.6 (C_{spiro}); 127.1; 128.9 (CH Ar); 129.6 (CH Ar); 132.0; 133.7; 145.1; 160.1 (C=O); 196.9 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 400 [$\text{M}]^+$ (4), 328 (17), 119 (100), 96 (45), 91 (32). Найдено, %: С 59.77; Н 5.88; N 13.84. $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: С 59.98; Н 6.04; N 13.99.

Этиловый эфир 5-(4-метоксибензоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклогексан]-3-карбоновой кислоты (4e). Выход 305 мг (73%), бесцветный порошок, т. пл. 193–194 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1200, 1232, 1572, 1598, 1654, 1720, 2970, 3263. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.28–1.31 (1H, м, CH); 1.36 (3H, т, $J = 7.1$, CH_3); 1.45–1.77 (9H, м, CH, 4 CH_2); 3.91 (3H, с, OCH_3); 4.30 (2H, к, $J = 7.1$, CH_2); 5.05 (1H, с, CH); 7.03 (1H, с, NH); 7.06 (2H, д, $J = 8.9$, H Ar); 8.11 (2H, д, $J = 8.9$, H Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.1 (CH_3); 20.2 (CH_2); 20.4 (CH_2); 24.7 (CH_2); 31.6 (CH_2); 32.7 (CH_2); 40.7 (CH); 55.7 (OCH_3); 55.7 (C_{spiro}); 60.5 (CH_2); 114.3 (CH Ar); 127.3; 129.1; 131.3 (CH Ar); 132.0; 160.0 (C=O); 164.1; 195.7 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 416 [$\text{M}]^+$ (1), 344 (10), 135 (100), 96 (34), 77 (11). Найдено, %: С 57.56; Н 5.70; N 13.24. $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 57.68; Н 5.81; N 13.45.

Этиловый эфир 5-(4-этоксibenзоил)спиро[[1,2,3]-триазоло[5,1-*b*][1,3,4]тиадиазин-6,1'-циклогексан]-3-карбоновой кислоты (4f). Выход 310 мг (72%), бесцветный порошок, т. пл. 189–191 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1201, 1232, 1599, 1651, 1720, 2982, 3247. Спектр ЯМР ^1H ,

δ , м. д. (J , Гц): 1.23–1.80 (10H, м, 5CH₂); 1.36 (3H, т, $J = 7.1$, CH₃); 1.43 (3H, т, $J = 7.0$, CH₃); 4.16 (2H, к, $J = 7.1$, CH₂); 4.30 (2H, к, $J = 7.0$, CH₂); 5.05 (1H, с, CH); 7.03 (2H, д, $J = 8.9$, H Ar); 7.06 (1H, с, NH); 8.09 (2H, д, $J = 8.9$, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 14.1 (CH₃); 14.4 (CH₃); 20.2 (CH₂); 20.4 (CH₂); 24.7 (CH₂); 31.6 (CH₂); 32.6 (CH₂); 40.6 (CH); 55.7 (CH₂); 60.5 (C_{spiro}); 63.8 (CH₂); 114.6 (CH Ar); 127.3; 128.9; 131.3 (CH Ar); 132.0; 160.0 (C=O); 163.4; 195.6 (C=O). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 430 [M]⁺ (3), 358 (10), 149 (100), 121 (50), 96 (47). Найдено, %: C 58.45; H 6.21; N 13.12. C₂₁H₂₆N₄O₄S. Вычислено, %: C 58.59; H 6.09; N 13.01.

Биологическое исследование. Клетки рассеивают в 96-луночные планшеты в посевной дозе 2×10^5 кл/мл и культивируют в течение 24 ч в среде Игла DMEM с 1% глутамина в присутствии 10% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина (50 мг/л) при 37 °С в увлажненной атмосфере 5% CO₂, после чего меняют среду и в лунки добавляют предварительно растворенные в ДМСО исследуемые соединения в десятикратных разведениях от 10⁻⁷ до 10⁻² М. Оценку жизнеспособности клеток проводят с помощью стандартного МТТ-теста.^{20,21} Культуры клеток с веществами инкубируют при 37 °С. Через 24 ч среду удаляют, в лунки вносят 200 мкл ростовой среды без сыворотки, добавляют 20 мкл готового раствора МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия, исходная концентрация 5 мг/мл в фосфатном буфере), инкубируют 4 ч при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Выпавшие кристаллы формазана растворяют в 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО) в течение 20 мин при 37 °С. Оптическое поглощение окрашенных растворов ДМСО измеряют на планшетном сканере VICTOR X3 (Perkin Elmer, США) при длине волны 490 нм. Опыты проводят в 3-кратных повторностях, с отрицательным (среда), положительными (3% раствор фенола, доксорубин в концентрации 2 мкг/мл) контролями и контролем растворителя (1% раствор ДМСО). Оценку результатов МТТ-теста проводят сопоставлением оптической плотности в опытных и контрольных лунках. Для проведения статистического анализа используют программы Microsoft Excel и Statistika 2009. Рассчитывают параметры среднего арифметического значения и стандартной ошибки. За достоверные принимают различия средних значений по U -критерию Манна–Уитни^{22,23} при $p < 0.05$.

Файл сопроводительной информации, содержащий спектры ЯМР ¹H и ¹³C синтезированных соединений, доступен на сайте <http://hgs.osi.lv>.

Результаты получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России № 4.560.2014-К и при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 13-03-00137).

Список литературы

- Sumangala, V.; Boja Poojary; Chidananda, N.; Arulmoli, T.; Shalini Shenoy *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 59.
- Puthiyapurayil, P.; Poojary, B.; Buridipad, S. K. *J. Heterocyclic Chem.* **2014**, *51*, E55.
- Hussein, M. A.; Shaker, R. M.; Ameen, M. A.; Mohammed, M. F. *Arch Pharm Res.* **2011**, *34*, 1239.
- Abdel-Wahab, B. F.; Althagafi, I. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2014**, *189*, 1433.
- Kalinina, T. A.; Prokhorova, P. E.; Glukhareva, T. V.; Morzherin, Yu. Yu. *Russ. Chem. Bull.* **2011**, *60*, 981. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2011**, 957.]
- Morzherin, Yu. Yu.; Glukhareva, T. V.; Slepukhina, I. N.; Mokrushin, V. S.; Tkachev, A. V.; Bakulev, V. A. *Mendeleev Commun.* **2000**, 19.
- L'Abbé, G.; Vanderstede, E. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 1811.
- Thirupaiah, B.; Rajeswar Rao, V. *Russ. J. Org. Chem.* **2014**, *50*, 137. [*Журн. орган. химии* **2014**, 106.]
- Kamel, M. M.; Megally Abdo, N. Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 75.
- Khan, I.; Zaib, S.; Ibrar, A.; Rama, N. H.; Simpson, J.; Iqbal, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *78*, 167.
- Khan, I.; Ibrar, A.; Zaib, S.; Ahmad, S.; Furtmann, N.; Hameed, S.; Simpson, J.; Bajorath, J.; Iqbal, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6163.
- Morzherin, Y. Y.; Tarasov, E. V.; Bakulev, V. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1994**, *30*, 489. [*Химия гетероцикл. соединений* **1994**, 554.]
- Morzherin, Yu. Yu.; Glukhareva, T. V.; Bakulev, V. A. *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2003**, *39*, 679. [*Химия гетероцикл. соединений* **2003**, 803.]
- Kolodina, A. A.; Lesin, A. V. *Russ. J. Org. Chem.* **2009**, *45*, 139. [*Журн. орган. химии* **2009**, *45*, 142.]
- Kolodina, A. A.; Gaponenko, N. I.; Lesin, A. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2007**, *43*, 1202. [*Химия гетероцикл. соединений* **2007**, 1415.]
- Gaponenko, N. I.; Kolodina, A. A.; Lesin, A. V.; Kurbatov, S. V.; Starikova, Z. A.; Nelyubina Yu. V. *Russ. Chem. Bull.* **2010**, *59*, 838. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2010**, 821.]
- Lou, P. J.; Lai, P. S.; Shieh, M. J.; Macrobert, A. J.; Berg, K.; Bown, S. G. *Int. J. Cancer* **2006**, *119*, 2692.
- Гулевский, А. К.; Трифонова, А. В.; Лаврик, А. А. *Цитология* **2013**, *55*, 619.
- Магакян, Ю. А.; Каралян, З. А.; Каралова, Е. М.; Аброян, Л. О.; Акопян, Л. А.; Гаснарян, М. Г.; Джагацианян, Н. Г.; Семерджян, З. Б.; Тер-Погосян, З. Р. *Цитология* **2010**, *52*, 126.
- Berridge, M.; Tan, A.; McCoy, K.; Wang, R. *Biochemica* **1996**, *4*, 14.
- Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.
- Mann, H. B.; Whitney, D. R. *Ann. Math. Stat.* **1947**, *18*, 50.
- Хафизьянова Р. Х., Бурыкин И. М., Алеева Г. Н. *Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии*; Медицина: Казань, 2006, с. 127.