SINTEZE DE NOI DERIVAȚI BENZOCHINOLINICI CU ACTIVITATE ANTICANCEROASĂ

SYNTHESES OF NEW BENZOQUINOLINE DERIVATIVES WITH ANTICANCER ACTIVITY

CZU: 547.7:547.831:577.1 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.92**

Gheorghiță ZBANCIOC,
ORCID: 0000-0001-9871-4156
e-mail: gheorghita.zbancioc@uaic.ro
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași, România
Costel MOLDOVEANU,
ORCID: 0000-0002-9972-5372
e-mail: costel.moldoveanu@uaic.ro
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași, România
Ionel MANGALAGIU,
ORCID: 0000-0002-4632-5076
e-mail: ionelm@uaic.ro
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași, România

Summary. *This work synthesized various novel benzo[c]quinoline compounds, detailed their structural features, and examined their anticancer activity in vitro. First, the nitrogen atom in benzo[c]quinoline is quaternized, and the in situ-formed ylide is then subjected to a [3+2] dipolar cycloaddition reaction. A detailed investigation was conducted to determine how successful traditional thermal heating (TH) synthesis was in comparison to microwave (MW) and ultrasonic (US) irradiation. FTIR, HRMS, and NMR were the three spectral techniques that were used to prove the structure of all the obtained compounds. In an invitro single-dose anticancer experiment, all benzo[c]quinoline derivatives (quaternary salts and cycloadducts) that have previously been obtained were tested. The findings showed that the anticancer activity of the cycloadducts* ***5a-c*** *and* ***6a-c*** *is stronger than quaternary salts* ***3a-c****. Compound* ***5a*** *is the most active, exhibiting anticancer action on the majority of the cell lines examined, but compound* ***6c*** *is the second most active, demonstrating notable mortality for the SR Leukemia cell line (17%). Correlations between the structure-activity relationship (SAR) are also included in the study.*

Keywords: *anticancer, benzo[c]quinoline, cycloaddition, microwave, ultrasound*
Cuvinte cheie*: anticancer, benzo[c]chinolină, cicloadiție, microunde, ultrasunete*.

INTRODUCERE

Benzo[c]chinolina are aplicații potențiale în optoelectronică, agricultură și alte domenii [1]. Studii recente au arătat că încorporarea scheletului benzochinolinei în proiectarea unor compuși poate fi avantajoasă, conducând la noi derivați cu proprietăți biologice, cum ar fi activitatea antimicrobiană [2] și anticancerigenă [3]. Acest lucru este

valabil chiar dacă heterociclul nativ este cunoscut ca fiind un poluant de mediu [4] și a fost detectat în gudronul de cărbune [5], distilatul de petrol [6] și particulele din aerul urban cu efecte genetice [6].

Cancerul este o boală mortală, iar unele tipuri sunt marcate de o dezvoltare rapidă și de o distrugere corporală generalizată. Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a estimat peste 19 milioane de noi cazuri de cancer și aproape 10 milioane de decese cauzate de cancer în 2020, ceea ce face din cancer a doua cauză de deces la nivel mondial [7]. Tratamentul pentru diverse tipuri de cancer poate fi o provocare și implică chirurgie, radiații, chimioterapie, terapie hormonală, imunoterapie, transplant de celule stem, precum și o combinație a unora dintre aceste metode [8].

Unul dintre tratamentele împotriva cancerului care poate prelungi speranța de viață este chimioterapia. În 2015, aproximativ 160 de medicamente anticancerigene au fost aprobate pentru utilizare clinică [9], dar cu toate acestea, medicamentele actuale de pe piață au o rată de eficacitate scăzută și numeroase dezavantaje, așadar nevoia de noi medicamente anticanceroase în terapie este critică.

În ultimii ani s-a înregistrat o creștere a utilizării reacțiilor asistate de microunde și ultrasunete în chimia organică sintetică [10-11], oferind o alternativă rapidă și practică într-o gamă largă de sinteze [12-13].

Având în vedere factorii menționați mai sus, cercetările noastre se concentrează pe crearea de noi substanțe anticancerigene folosind diverse schelete azaheterociclice care pot fi utilizate în chimioterapia pentru tratarea cancerului [14]. În acest context, am încercat să evaluăm activitatea biologică a derivaților de benzo[c]chinolină pentru a obține noi molecule hibride conjugate cu potențială activitate anticancerigenă. În plus, am decis să cercetăm sinteza derivaților de benzo[c]chinolină folosind iradierea tradițională termică (TH) sau neconvențională cu microunde (MW) și ultrasunete (US).

MATERIALE ȘI METODE

Cu excepția bromoacetonei, care a fost obținută prin reacția acetonei cu brom în prezența acidului acetic drept catalizator, toate substanțele chimice și solvenții au fost achiziționați din surse comerciale și utilizați fără purificare suplimentară. Punctele de topire au fost determinate cu ajutorul unui instrument electrotermic MEL-TEMP (Barnstead International, Dubuque, Iowa, SUA) în tuburi capilare deschise și sunt necorectate. Plăcile comerciale de silicagel 60 F254 (Merck Darmstadt, Germania) au fost utilizate pentru cromatografia analitică în strat subțire, iar lumina UV a fost utilizată pentru vizualizarea rezultatelor. Spectrele RMN au fost înregistrate cu ajutorul unui spectrometru Avance III 500 MHz de la Bruker Viena, Austria, care funcționează la 500 MHz pentru 1H și 125 MHz pentru 13C. Multiplicitățile deplasărilor chimice au fost identificate folosind următoarele abrevieri: s = singlet, d = dublet, dd = dublet de dublet, t = triplet, td = triplet de dublet și m = multiplet. Deplasările chimice au fost înregistrate folosind delta (δ), părți pe milion (ppm) și constantele de cuplaj (J) în unități Hz. Un spectrofotometru Agilent Cary 630 FTIR (Agilent Technologies, Mulgrave, Australia) a fost utilizat pen-

tru a înregistra spectrele IR pe pulbere în modul ATR cu cristale de diamant. Folosind un reactor cu ultrasunete Bandelin (Sonopuls GM 3200, Berlin, Germania) cu o putere nominală de 200 W și o frecvență de 20 kHz, s-au efectuat reacții asistate de ultrasunete. Am folosit un reactor monomod, Monowave 300 (Anton Paar), pentru iradierea cu microunde. Un senzor IR încorporat reglează temperatura reactorului, care poate ajunge până la 300 °C. Pe un spectrometru de masă HESI-Orbitrap Exploris 120 (Thermo Fisher, Walthan, MA, SUA), experimentele HR-MS au fost realizate în modul de ionizare pozitivă. Pe un analizor elementar FlashSmart CHNS/O (Thermo Fisher, Walthan, MA, SUA), s-a efectuat analiza elementară.

Procedură generală pentru sinteza sărurilor de benzo[c]chinoliniu

La o soluție de benzo[c]chinolină (0,896 g, 5 mmol) în 20 mL de acetonă, s-a efectuat adăugarea picăturii de derivați halogenați **2a-c** (0,46 mL, 5,5 mmol de **2a** sau 0,56 mL, 5,5 mmol de **2b** sau 0,74 mL, 5,5 mmol de **2c**) cu reactivitate sporită. Amestecul rezultat a fost încălzit la reflux timp de 16 ore, urmat de 20 de ore de agitare la temperatura camerei. După ce au fost filtrate, sărurile cuaternare **3a-c** (Schema 1) care au precipitat au fost spălate de trei ori cu 5 mL de acetonă înainte de a fi uscate în vid. Nu a mai fost necesară o purificare ulterioară.

Procedură generală pentru sinteza derivaților azatetraciclici

40 mL de 1,2-butilenoxid au fost utilizați pentru a suspenda o combinație de sare de benzo[c]chinoliniu **3a-c** (0,791 g, 2,5 mmol de **3a** sau 0,826 g, 2,5 mmol de **3b** sau 0,896 g, 2,5 mmol de **3c**) și propiolat de metil (0,31 mL, 3,5 mmol) sau dimetil acetilendicarboxilat (0,43 mL, 3,5 mmol). Timp de 48 de ore, refluxul și agitarea au fost menținute. După finalizarea reacției (TLC), soluția rezultată a fost răcită la temperatura camerei și evaporată sub presiune redusă pentru a obține produsul brut. Prin purificarea produsului brut prin cromatografie pe coloană pe gel de siliciu (eluat cu 99,5/0,5 CH_2Cl_2/CH_3OH), s-au obținut cicloaducții **5a-c** și **6a-c** necesari (Schema 1).

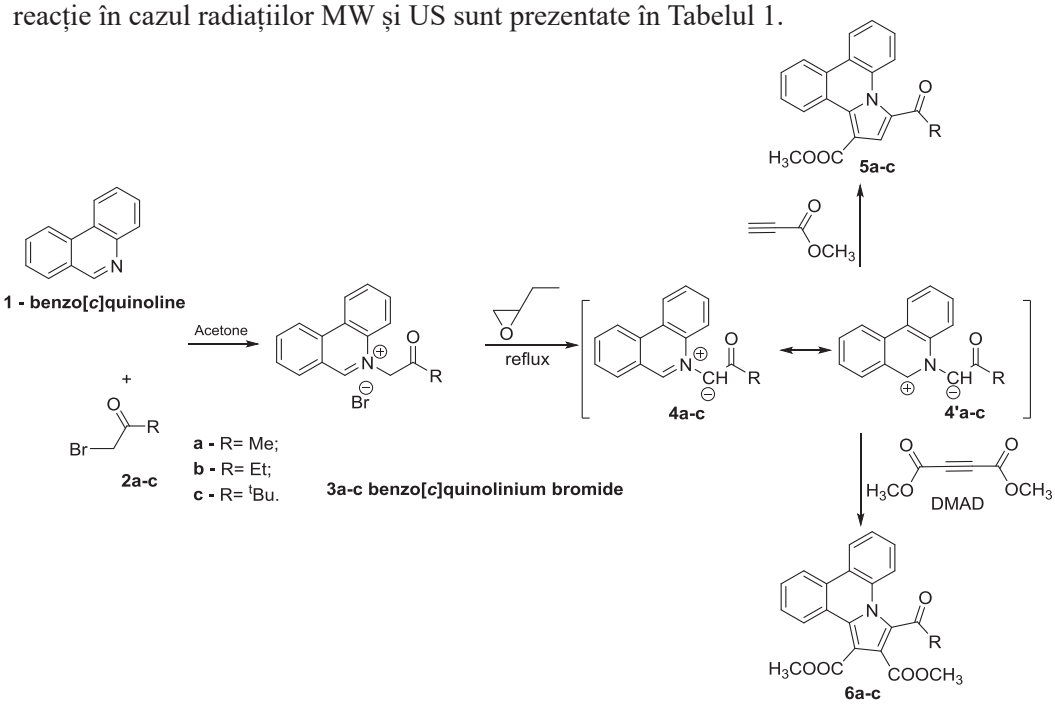
REZULTATE ȘI DISCUȚII

Abordarea generală adoptată pentru sinteza noilor derivați policiclici de benzo[c]chinolină este descrisă în Schema 1 și urmează strategia generală utilizată anterior în sinteza derivaților de benzo[f]chinolină [13]. În prima etapă, benzo[c]chinolina **1** este N-alchilată cu bromocetone **2a-c** pentru a produce bromurile de benzo[c]chinolinium **3a-c**. În a doua etapă, benzo[c]chinoliniu ilidele **4a-c** (sintetizate *in situ* din sărurile corespunzătoare **3a-c** cu 1,2-butilenoxid care acționează ca un catalizator) sunt apoi supuși unei cicloadiții dipolare Huisgen [3+2] cu dipolarofilii alchinici (propiolat de metil sau dimetil acetilendicarboxilat - DMAD), rezultând cicloaducții **5a-c** și **6a-c** ca produși finali.

Sărurile de benzo[c]chinolinium și derivații azatetraciclici au fost produși în randamente cuprinse între 46 și 72%, după cum se arată în Tabelul 1. Principalele dezavantaje ale sintezei realizate în condiții standard sunt timpul îndelungat de reacție (36 de ore în

cazul sărurilor de benzo[c]chinolinium și 48 de ore în cazul cicloaduților) și consumul semnificativ de energie.

Ca o alternativă mai eficientă din punct de vedere energetic, am sintetizat derivați azatetraciclici folosind radiații MW și US. În comparație cu condițiile optime de reacție utilizate în condițiile TH, cele mai bune rezultate obținute cu condițiile optimizate de reacție în cazul radiațiilor MW și US sunt prezentate în Tabelul 1.



Schema 1. Calea de reacție pentru obținerea derivaților de benzo[c]chinolina **3a-c**, **5a-c** și **6a-c**.

Tabelul 1. Sinteza derivaților de benzo[c]chinoliniu sub iradiere MW și US și TH convențională

Compus	Microunde (MW)		Ultrasunete (US)		Conventional (TH)	
	Timp de reacție,	Randament, %	Timp de reacție,	Randament, %	Timp de reacție,	Randament, %
3a	10 min	91	20 min	87	36 ore	67
3b	10 min	93	20 min	88	36 ore	70
3c	10 min	94	20 min	90	36 ore	72
5a	10 min	78	20 min	73	48 ore	57
5b	10 min	80	20 min	75	48 ore	59
5c	10 min	82	20 min	79	48 ore	61
6a	15 min	73	30 min	68	48 ore	51
6b	15 min	75	30 min	68	48 ore	49
6c	15 min	76	30 min	71	48 ore	46

După cum se observă în Tabelul 1, utilizarea iradierii MW și US a indus pentru toate reacțiile o accelerare remarcabilă, timpii de reacție scăzând de la ore la minute (sub iradiere MW și US), Această accelerare a acestor reacții sub încălzire neconvențională poate fi atribuită faptului că atât iradierea MW, cât și cea US permit atingerea unor temperaturi mult mai ridicate decât ar fi fezabil cu încălzirea termică (temperaturi mai mari decât punctul de fierbere al solventului). Este, de asemenea, important de menționat că randamentele au fost mai mari (cu 15-30%), iar cantitățile de solvent utilizate în primul caz au fost de cel puțin trei ori mai mici sub iradiere MW și US decât sub TH convențională. Ca urmare, este posibil să se considere că aceste reacții sunt ecologic prietenoase atunci când sunt realizate sub iradiere MW și US.

Activitatea anticanceroasă

National Cancer Institute (NCI), SUA, a utilizat programul său de screening pentru medicamente împotriva cancerului pentru a evalua eficacitatea anticancerigenă a produșilor obținuți. Deoarece oferă o evaluare completă a activității compușilor împotriva mai multor tipuri de celule canceroase, acest program, cunoscut și sub denumirea de screening NCI 60 cell line, este un instrument util pentru descoperirea și dezvoltarea de medicamente. Testul anticancerigen *in vitro* constă în screeningul a 60 de linii celulare tumorale umane distincte care reprezintă o varietate de malignități, inclusiv leucemie, melanom și tumori de plămân, colon, creier, ovar, sân, prostată și rinichi.

Toți compușii aleși sunt testați împotriva a 60 de linii celulare în etapa inițială a procesului de screening utilizând o doză unică de 10 μM. Cu ajutorul acestei tehnici, pot fi detectate mortalitatea (valori mai mici de 0) și inhibarea creșterii (valori cuprinse între 0 și 100). De exemplu, un număr de 30 ar însemna că 70% din creștere ar fi inhibată, în timp ce o valoare de -30 ar însemna că 30% din organism ar fi ucis.

Nouă compuși sintetizați au fost testați într-un test anticancerigen primar în doză unică (la o concentrație de 10^{-5} M), constând în trei săruri de benzo[c]chinoliniu (**3a-c**) și șase cicloaducți pirrolobenzo[c]chinolinici (**5a-c** și **6a-c**). Rezultatele obținute pentru toți compușii testați se regăsesc în Tabelul 2.

Tabelul 2. Rezultatele testelor cu doză unică (10^{-5} M) ale sărurilor de benzo[c] chinolinium **3a-c** și ale cicloaducților pirrolobenzo[c]chinolinici **5a-c** și **6a-c** împotriva unor linii celulare de cancer uman NCI (selectiv), exprimate ca procent de inhibare a creșterii (PGI%).

Cell Type	Compound/Growth Inhibition Percent (PGI%) [a]								
	3a	**3b**	**3c**	**5a**	**5b**	**5c**	**6a**	**6b**	**6c**
Leukemia									
MOLT–4	0	1	0	27	43	33	27	19	55
RPMI–8226	0	1	4	13	15	30	13	12	53
SR	14	6	4	36	37	31	37	28	**100**(17)[b]

Non–small Cell Lung Cancer									
EKVX	0	3	1	31	0	0	1	0	4
HOP–62	0	0	0	43	0	0	0	0	0
HOP–92	12	23	13	**72**	40	37	27	21	45
NCI–H226	3	0	0	39	10	0	19	5	15
Colon Cancer									
HCT–116	0	0	0	50	17	12	12	7	41
HCT–15	0	0	0	29	28	35	15	11	54
CNS Cancer									
SF–539	6	3	0	**72**	0	4	5	0	17
SNB–19	2	6	5	58	0	0	0	0	4
SNB–75	0	0	0	**100**(12)[b]	0	16	0	0	17
Melanoma									
LOX IMVI	0	3	0	36	15	9	9	7	19
M14	0	0	0	28	8	4	5	2	26
SK–MEL–5	0	0	0	**79**	11	12	12	4	54
UACC–62	7	5	2	33	38	34	37	37	50
Ovarian Cancer									
IGROV1	0	0	0	59	7	14	4	9	4
OVCAR–4	1	0	0	56	13	15	18	5	43
OVCAR–8	0	0	2	50	3	2	0	0	10
NCI/ADR–RES	0	0	0	56	12	11	8	0	17
Renal Cancer									
786–0	0	0	1	**64**	0	8	0	0	14
ACHN	0	0	0	**64**	5	11	5	1	19
RXF 393	10	7	14	**89**	10	9	8	3	18
UO–31	22	20	15	**63**	18	16	11	13	25
Prostate Cancer									
PC–3	7	7	8	44	49	41	31	28	**65**
Breast Cancer									
MDA–MB–231/ATCC	0	0	0	**67**	22	21	16	13	27
HS 578T	0	0	0	**71**	8	1	4	0	31
BT–549	0	0	0	**62**	0	0	0	0	38

[a] Valorile sunt raportate ca test cu o doză, inhibarea procentuală a creșterii (PGI), este creșterea în raport cu martorul fără medicament și în raport cu numărul de celule la momentul zero; b efect citotoxic; procentul de letalitate este reprezentat între paranteze; compușii cei mai activi sunt evidențiați în bold și roșu.

Pe baza rezultatelor prezentate în Tabelul 2 se poate observa că, în seria de derivați ai benzo[c]chinolinei, cel mai activ compus este **5a**, cu activitate anticancerigenă pe majoritatea liniilor celulare studiate, care prezintă letalitate semnificativă pentru cancerul SNC pe linia celulară SNB-75 (12%) și valori PGI mai mari de 60% pentru 10 linii celulare.

Al doilea cel mai activ compus este **6c**, care prezintă letalitate semnificativă pentru linia celulară de leucemie SR (17%) și valori PGI mai mari de 50% pentru 8 linii celulare.

CONCLUZII

În concluzie, am descris sinteza a nouă noi derivați de benzo[c]chinolină și eficacitatea lor anticancerigenă. Cicloaducții pirrolobenzo[c]chinolinici au fost obținuți printr-o sinteză în două etape care a implicat o reacție de cuaternizare și o cicloadiție dipolară [3+2].

Strategia chimică simplă și eficientă face posibilă sintetizarea derivaților de benzo[c] chinolină, care sunt altfel dificil de obținut. A fost efectuată o comparație a eficacității sintezei utilizând încălzirea termică convențională (TH), încălzirea cu microunde (MW) și încălzirea cu ultrasunete (US). Trebuie remarcat faptul că realizarea reacției sub iradiere MW sau US oferă mai multe beneficii suplimentare, inclusiv randamente îmbunătățite, o scădere a cantității de solvent utilizat în comparație cu TH, o reducere a timpului de reacție de la ore la minute și o reducere a cantității de energie consumată.

NCI a utilizat un experiment cu o singură doză (10^{-5} M) pentru a examina nouă compuși benzo[c]chinolinici pentru o potențială activitate anticanceroasă. Cicloaductul **5a** a fost cel mai activ compus, prezentând activitate anticanceroasă împotriva majorității liniilor celulare testate (cu un PGI excelent în zona de 50-100%) și o letalitate foarte bună împotriva cancerului SNC pe linia celulară SNB-75 (12%). De asemenea, o activitate anticancerigenă foarte bună este prezentată de compusul **6c**, care prezintă o letalitate semnificativă pentru linia celulară de leucemie SR (17%) și valori PGI de peste 50% pentru 8 linii celulare.

REFERINȚE

1. SINGH, R.; PANDA, G. An overview of synthetic approaches for heterocyclic steroids. În: *Tetrahedron*. 2013. 69, p.2853-2884.
2. ANTOCI, V. et al. Benzoquinoline Derivatives: A Straightforward and Efficient Route to Antibacterial and Anti-fungal Agents. În: *Pharmaceuticals*. 2021. 14, p.335.
3. PARK, G.Y. et al. Phenanthriplatin, a monofunctional DNA–binding platinum anticancer drug-candidate with unusual potency and cellular activity profile. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. 109, p.11987–11992.
4. SUTHERLAND, J.B. et al. Fungal biotransformation of benzo[f]quinoline,

benzo[h]quinoline, and phenanthridine. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2005. 67, p.405–411.
5. MA, C.Y. et al. Isolation and identification of benzoquinolines in natural and syn-theticcrude oils. *Fuel*. 1987. 66, p.612–617.
6. SIKKA, H.C. et al. Hepatic DNA adduct formation in rats treated with benzo[f] quinoline. *Cancer Lett*. 1988. 43, p.133–138.
7. *WHO. Cancer.* În: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer [Accessed: 25.09.2023].
8. ABRAHAM, J.; STAFFURTH, J. Hormonal therapy for cancer. *Medicine*. 2016. 44, p.30–33.
9. KINCH, M.S. An analysis of FDA–approved drugs for oncology. *Drug Discov. Today*. 2014. 19, p.1831–1835.
10. PERREUX, L.; LOUPY, A. *Microwaves in organic synthesis, 2nd ed.*; Book Editor LOUPY, A., Wiley-VCH: Weinheim, 2006; p.134–218, ISBN: 9783527314522.
11. MASON, T.J.; PETERS, D.: *Practical Sonochemistry. Power Ultrasound Uses and Applications, second ed.*, Ellis Horwood, Chichester, 2002; ISBN: 9781898563839.
12. XU, J. Microwave Irradiation and Selectivities in Organic Reactions. *Prog. Chem*. 2007. 19(5), P.700–712.
13. MOLDOVEANU, C. et al. Fluorescent Azasteroids through Ultrasound Assisted Cycloaddition Reactions. *Molecules*. 2021, 26, p.5098.
14. DIACONU, D. et al. Quinoline–imidazole/benzimidazole derivatives as dual–/multi–targeting hybrids inhibitors with anticancer and antimicrobial activity. *Sci. Rep*. 2022. 12, p.16988.

NOTĂ. Mulțumiri Centrului CERNESIM, din cadrul Institutului de Cercetări Interdisciplinare de la Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, pentru infrastructura folosită în înregistrarea experimentelor RMN. Mulțumiri Proiectului RECENT-AIR, de la Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, pentru accesul în Laboratorul de sinteză organică aplicată în științele vieții și pământului RA04 și la infrastructura folosită în sinteza compușilor.