



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **15951** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
C07D 277/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) **5-ФЕНІЛ-6,6А-ДИГІДРО-2Н-ПІРАЗОЛО[1,5-С]БЕНЗО[Е]-1,3-ОКСАЗИНО-2-СПІРО-5'-(2'-ХЛОРФЕНІЛМЕТИЛІДЕН)-4'-ТІАЗОЛІДИН-2'-ОН, ЩО ВИЯВЛЯЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) u200601341

(22) 10.02.2006

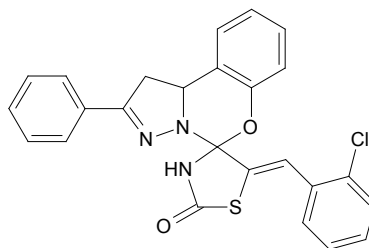
(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Гаврилук Дмитро Ярославович, Лесик Роман Богданович

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) 5-Феніл-6,6α-дигідро-2Н-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-он формули

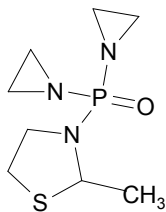


що виявляє протипухлинну активність.

Корисна модель стосується синтезу органічних сполук і фармації, зокрема одержання біологічно активних сполук, що виявляють протипухлинну активність, і може бути використана в клінічній медицині як онкологічний лікарський засіб.

Відомі лікарські засоби з протипухлинною активністю, наприклад, метотрексат [Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т.2. - Изд. 13-е, новое. - Харьков: Торсинг, 1998. - С. 457]. Метотрексат по структурі близький до фолієвої кислоти і є її антиметаболітом-антагоністом. В зв'язку з антифолієвим ефектом препарат пригнічує клітинний мітоз, гальмує ріст злоякісних новоутворень. Цей лікарський засіб має необхідні лікувальні властивості, проте при тривалому застосуванні характерний значними побічними ефектами: анемією, тромбоцитопенією, діареєю, блювотою, тощо. Метотрексат має протипокази при вагітності, захворюваннях печінки, нирок та кісткового мозку.

Відома також сполука формули:



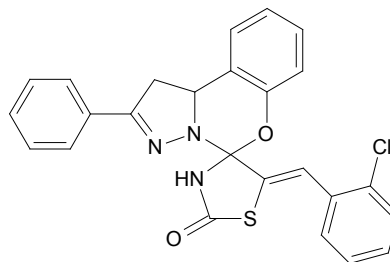
яка є похідною тіазолідину і застосовується

для лікування хворих еритремією в розгорнутій стадії захворювання [Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т. 2. - Изд. 13-е, новое. - Харьков: Торсинг, 1998. - С. 448]. Описана сполука є лікарським засобом - іміфос.

Однак і цей лікарський засіб має ряд недоліків, зокрема, при його застосуванні можуть розвиватись лейкопенія і тромбоцитопенія. Іміфос протипоказаний для хворих з різким виснаженням, анемією, лейкопенією та тромбоцитопенією.

В основу корисної моделі поставлене завдання створення більш ефективного протипухлинного засобу з меншими побічними явищами.

Поставлене завдання вирішується тим, що синтезований 5-феніл-6,6α-дигідро-2Н-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-он формули:



що проявляє протипухлинну активність.

Синтезована сполука є жовтим кристалічним порошком, розчинним у ДМСО і ДМФА, малороз-

(19) **UA** (11) **15951** (13) **U**

чинним в оцтовій кислоті, нерозчинним в спирті, ацетоні, воді та ефірі.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема ПМР-спектроскопія та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Заявлену сполуку одержують взаємодією 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-4'-тіазолідин-2'-ону та 2-хлорбензальдегіду в умовах реакції Кньюенагеля. Реакцію проводять в середовищі оцтової кислоти в присутності безводного ацетату натрію як каталізатора.

Для визначення протипухлинної активності 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону попередньо проведено прескринінг протипухлинної активності на 3 лініях ракових клітин людини, діючи на них лише однією дозою препарату та проводячи дослід за методом флуорисцентного зафарбовування [A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shomaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, M. Gray-Goodrich, H. Campbell, J. Mayo, M. Boyd It J. Nat. Cancer. Inst. -1991. -83. -P.757-766].

За результатами проведеного протиракового прескринінгу 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону на 3 лініях ракових клітин встановлено, що відсоток росту клітин відносно контролю (100%) на лінії MCF7 (рак молочної залози) становить 11%, на NCI-H460 (рак легень) - 1%, а на SF-268 (рак центральної нервової системи (ЦНС)) - 13%.

На основі позитивних результатів прескринінгу проведено ґрунтовний протипухлинний in vitro скринінг [F. Leteurtre, G. Kohlhagen, K.D. Paull, Y. Pommier // J. Nat. Cancer. Inst. -1994. -86. -P. 1239-1244], який полягав у тестуванні сполуки, що заявляється, на 53 лініях людських ракових клітин у мінімум 5 концентраціях при 10-кратному розведенні.

Протиракова активність 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону вивчалась на клітинних лініях лейкемії (Leukemia) (HL-60(TB), K-562, MOLT-4, RPMI-8226, SR), недрібноклітинного раку легень (Non-Small Cell Lung Cancer) (A549/ATCC, EKVX, HOP-62, HOP-92, NCI-H23, NCI-H322M, NCI-H460, NCI-H522), епітеліального раку (Colon Cancer) (COLO 205, HCC-2998, HCT-116, HCT-15, KM12, SW-620), раку ЦНС (CNS

Cancer) (SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75, U251), меланоми (Melanoma) (LOX IMVI, M14, SK-MEL-2, SK-MEL-28, SK-MEL-5, UACC-257, UACC-62), раку яєчників (Ovarian Cancer) (IGROV1, OVCAR-3, OVCAR-5, OVCAR-8, SK-OV-3), раку нирок (Renal Cancer) (786-0, A498, ACHN, CAKI-1, SN12C, TK-10, UO-31), раку простати (Prostate Cancer) (PC-3, DU-145), раку молочної залози (Breast Cancer) (MCF7, NCI/ADR-RES, MDA-MB-231/ATCC, HS 578T, MDA-MB-435, BT-549, T-47D).

В умовах експерименту 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-он проявив високу протиракову активність при дослідженнях на 53 клітинних лініях, результати якого наведено в таблиці.

Як видно з даних, наведених у таблиці, речовина, що заявляється, у концентрації менше 10<sup>-4</sup> моль/л пригнічує ріст пухлинних клітин на 50% на 52 з 53 досліджуваних ліній та створює повне інгібування росту пухлинних клітин у концентрації менше 10<sup>-4</sup> моль/л на 46 з 53 досліджуваних ліній.

Таким чином, сполука, що заявляється, проявляє високу протипухлинну активність і є перспективним протираковим засобом.

Для розуміння даної корисної моделі нижче наведено приклад одержання 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону. Сполуку синтезують наступним чином.

Синтез 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону. Суміш 0,003моль 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-4'-тіазолідин-2'-ону, 0,0033моль 2-хлорбензальдегіду, 0,003моль ацетату натрію в 10мл оцтової кислоти нагрівають протягом 2год в колбі зі зворотнім холодильником. Осад, який утворився після повного охолодження реакційної суміші, відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та ефіром і перекристалізують з суміші ДМФА-EtOH (1:2). Одержують жовтий порошок з T<sub>топл</sub> 238-239°C, вихід - 57%.

Знайдено, %: N 8,97; S 7,12. C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

Вираховано, %: N 9,14; S 6,97.

ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 3,28дд, 3,99дд (2H, CH<sub>2</sub>CH, J<sub>AM</sub>=18,0Гц, J<sub>AX</sub>=3,6Гц, J<sub>MX</sub>=10,8Гц), 6,05дд (1H, CH), 6,73т, 6,86д, 6,94д, 7,09т (4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,45-7,55м, 7,60д, 7,81д, 7,95д (9H, 2-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 9,44с (1H, CH), 9,80с (1H, NH).

Таблиця

Протиракова активність 5-феніл-6,6 $\alpha$ -дигідро-2H-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-5'-(2'-хлорфенілметиліден)-4'-тіазолідин-2'-ону

Лінія клітин раку		Протиракова активність in vitro	
		Ig GI <sub>50</sub>	IgTGI
1	2	3	4
Лейкемія (Leucemia)	HL-60(TB)	-5,17	>-4,30
	K-562	-5,83	-5,03
	MOLT-4	>-4,30	>-4,30

Продовження таблиці

1	2	3	4
Недрібно-клітинний рак легень (Non-Small Cell Lung Cancer)	RPMI-8226	-5,39	>-4,30
	SR	-6,04	-5,37
	A549/ATCC	-5,21	-4,77
	EKVX	-5,27	-4,89
	HOP-62	-4,79	-4,47
	HOP-92	-4,94	-4,55
	NCI-H23	-5,80	-4,97
	NCI-H322M J	-5,42	-4,87
	NCI-H460	-5,63	-4,81
Епітеліальний рак (Colon cancer)	NCI-H522	-5,17	-4,74
	COLO 205	-4,91	>-4,30
	HCC-2998	-5,87	-5,23
	HCT-116	-5,25	>-4,30
	HCT-15	-5,61	-4,82
	KM12	-5,55	-4,89
Рак ЦНС (CK8 Cancer)	SW-620	-5,51	-4,82
	SF-268	-5,18	-4,73
	SF-295	-5,19	-4,70
	SF-539	-6,11	-5,58
	SNB-19	-4,75	-4,35
	SNB-75	-5,13	-4,68
Меланома (Melanoma)	U251	-5,59	-5,04
	LOX IMVI	-5,93	-5,54
	M-14	-5,12	-4,63
	SK-MEL-2	-5,09	-4,72
	SK-MEL-28	-5,30	-4,85
	SK-MEL-5	-5,13	-4,83
	UACC-257	-5,09	-4,78
Рак яєчників (Ovarian Cancer)	UACC-62	-5,74	-5,06
	IGROV1	-5,11	-5,64
	OVCAR-3	-5,61	-4,91
	OVCAR-5	-4,96	-4,68
	OVCAR-8	-5,16	-4,75
Рак нирок (Renal Cancer)	SK-OV-3	-5,02	-4,58
	786-0	-5,14	-4,74
	A498	-4,90	-4,68
	ACHN	-5,31	-4,97
	CAKI-1	-5,11	-4,65
	SN12C	-5,48	-4,98
	TK-10	-5,10	-4,63
Рак простати (Prostate Cancer)	UO-31	-5,13	-4,81
	PC-3	-5,14	-4,72
	DU-145	-5,27	-4,82
Рак молочної залози (Breast Cancer)	MCF7	-5,72	>-4,30
	NCVADR-RES	-5,57	-4,80
	MDA-MB-231/ATCC	-5,62	-4,99
	HS 578T	-5,07	-4,54
	MDA-MB-435	-5,64	-4,92
	BT-549	-5,98	-5,37
	T-47D	-4,93	>-4,30