



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38601 (13) U

(51) МПК (2006)
C07D 277/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ДІАРИЛАМІДИ 2,2'-ДИТІОКСО-4,4'-ДІОКСО-[5.5']-БІТІАЗОЛІДИНІЛІДЕНДІІЛ-3,3'-ДІАЛКАНКАРБОНОВИХ КИСЛОТ, ЩО ВИЯВЛЯЮТЬ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ

1

2

(21) u200809381

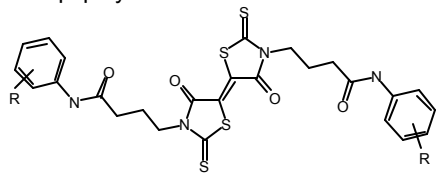
(22) 17.07.2008

(24) 12.01.2009

(46) 12.01.2009, Бюл.№ 1, 2009 р.

(72) ГОРИШНИЙ ВОЛОДИМИР ЯРОСЛАВОВИЧ, UA, ДЕМЧУК ІННА ЛЕОНІДІВНА, UA, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС СЕМЕНОВИЧ, UA, ЛЕСИК РОМАН БОГДАНОВИЧ, UA, КУДРЯВЕЦЬ ЮРІЙ ІОСИПОВИЧ, UA, НЕКТЕГАСЬ ІГОР ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA
(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, UA

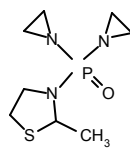
(57) Діариламід 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонічних кислот формули:

де R=OH, COOH,
що виявляють протипухлинну активність.

Корисна модель стосується синтезу органічних сполук і фармацевти, зокрема одержання біологічно активних діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонічних кислот, що виявляють протипухлинну активність і можуть бути використані в клінічній медицині як онкологічні лікарські засоби.

Відомі лікарські засоби з протипухлинною активністю, наприклад, метотрексат, адриабластин, цисплатин [1]. Метотрексат за структурою близький до фолеатної кислоти і є її антиметаболітом-антагоністом. В зв'язку з антифолеатним ефектом препарат пригнічує клітинний мітоз, гальмує ріст злоякісних новоутворень. Протипухлинна дія адриабластину обумовлена блокуванням матричної активності ДНК в системах ДНК-полімерази і ДНК-залежної РНК-полімерази, що приводить до порушення синтезу нуклеїнових кислот. Механізм протипухлинної дії цисплатину пов'язаний із здатністю до біфункціонального алкілювання ДНК, що пригнічує біосинтез нуклеїнових кислот. Вказані лікарські засоби мають необхідні лікувальні властивості, проте при тривалому застосуванні характерні значними побічними ефектами: анемією, лейкопенією, тромбоцитопенією, порушенням функції нирок, алергічними реакціями, діареєю, блювотою, тощо; мають протипокази при вагітності, захворюваннях печінки, нирок та кісткового мозку.

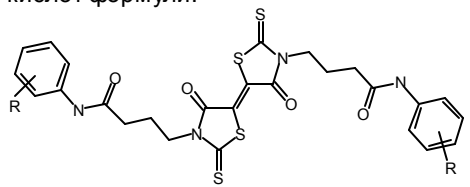
Відома також сполука формули:



яка є похідною тіазолідину і застосовується для лікування хворих еритремією в розгорнутій стадії захворювання [1]. Описаний лікарський засіб відомий під назвою 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 синтезовані діариламід 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонічних кислот формули:

де R=OH, COOH,
що виявляють протипухлинну активність.(13) U
(11) 38601
(19) UA

Синтезовані сполуки є оранжево-червоними кристалічними порошками, розчинними у ДМСО і ДМФА, малорозчинними в ацетатній кислоті та нерозчинними в спиртах, етері, ацетоні, воді.

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

Вихідною речовиною для одержання заявлених діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонових кислот є 4-оксо-2-тіоксотіазолідиніл-3-бутанова кислота, одержана на основі γ -амінобутиратної кислоти. При дії тіонілхлориду на 4-оксо-2-тіоксотіазолідиніл-3-бутанову кислоту в середовищі CCl_4 одержують дихлорангідрид 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-дигібутанової кислоти [2, 3]. При взаємодії вказаного дихлорангідриду з орто-, мета-амінофенолами та орто-амінобензоатною кислотою одержують заявлені сполуки.

Для визначення протипухлинної активності діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонових кислот проведено *in vitro* скринінг протипухлинної активності на 2-х лініях ракових клітин людини. Досліджувані речовини вносили до культури клітин в концентраціях 10^{-4} та 10^{-5} М та встановлювали цитотоксичність та/або антипроліферативну дію

через 48-72 год інкубації за допомогою зафарбовування клітин сульфородаміном В [4].

Протипухлинна активність діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонових кислот вивчалась на клітинних лініях недрібноклітинного раку легень людини (лінія А-549 та сублінія А-549-Р клітин, модифікованих інтерфероном) та раку молочної залози людини (лінія МСF-7). Лінії клітин, використані в даному досліді, отримано з клітинного банку ліній Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України.

В умовах експерименту заявлені діариламіди 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонових кислот в концентрації 10^{-4} М виявили, в основному, вищу, порівняно з еталонними препаратами протипухлинну активність (результати наведені в таблиці). Як препарати порівняння використовували адріабластин, метотрексат та цисплатин. В контрольному досліді (без внесення препарату), відсоток живих клітин вважали рівним 100%.

За одержаними результатами, клітини ліній МСF-7 і А-549 приблизно однаково чутливі до дії сполук, що заявляються. Клітини сублінії А-549-Р, модифіковані інтерфероном, більш або однаково чутливі, ніж вихідні (А-549) лінії, до дії заявлених і контрольних речовин.

Таблиця

Протипухлинна активність діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-3,3'-діалканкарбонових кислот

Сполука	Доза, М	LD ₅₀ , мг/кг	Відсоток живих клітин, %		
			Лінія А-549	Лінія А-549-Р	Лінія МСF-7
1	10^{-4}	940	12	16	-
	10^{-5}		90	86	-
2	10^{-4}	1260	48	29	54
	10^{-5}		97	93	76
3	10^{-4}	410	18	-	8
	10^{-5}		99	-	92
Адріабластин	5мкг/мл		24	23	67
Метотрексат	0,01мкг/л		48	39	-
	0,001мкг/л		61	42	-
Цисплатин	5мкг/мл		37	20	-
	0,5мкг/л		81	73	-

Як видно з даних, наведених у таблиці, речовини, що заявляються, у концентрації 10^{-4} моль/л пригнічують ріст пухлинних клітин лінії А-549 більше, ніж на 52%, сублінії клітин А-549-Р, модифікованих інтерфероном, більше, ніж на 71%, лінії МСF-7 - більше, ніж на 46%.

Гостру токсичність заявлених сполук вивчали за загальноприйнятою методикою [5] при однократному парентеральному введенні суспензії речовин білим мишам обох статей масою 18-22г. Речовини вводили в дозах 300, 500, 800, 1000, 1500мг/кг ваги тварини. За тваринами спостерігали протягом 14 днів. Як контроль використовували групу тварин, яким вводили дистильовану воду.

В результаті проведених токсикометричних досліджень встановлено, що значення LD₅₀ дозволяє віднести сполуки, що заявляються, до III та IV класу безпеки, тобто за ступенем токсичності і небезпеки вони відповідають вимогам до лікарських засобів.

Таким чином, заявлені сполуки виявляють високу протипухлинну активність при низькому токсикометричному профілі і є перспективними протипухлинними засобами.

Для розуміння даної корисної моделі нижче наведено приклади одержання діариламідів 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5.5']-бітіазолідинілідендііл-

3,3'-діалканкарбонових кислот. Сполуки синтезують наступним чином.

Приклад 1. Синтез 2-тіоксо-4-оксотіазолідин-3-ілбутанової кислоти.

50 ммоль 4-амінобутанової кислоти, 55 ммоль вуглецю дисульфід, 100 ммоль калію гідроксиду в 15 мл води перемішують на магнітній мішалці під зворотнім холодильником до утворення розчину, додають крапельно при перемішуванні розчин 55 ммоль монохлорацетатної кислоти, нейтралізованої 55 ммоль натрію гідрокарбонату в 25 мл води, і залишають при температурі близько 20°C на 2 доби. До утвореного розчину додають 20 мл 6N хлоридної кислоти і поміщають на водний ogrivnik, поступово нагріваючи його до кипіння і витримуючи в цьому режимі приблизно 1 год. Продукт реакції одержують у вигляді осаду після повного охолодження суміші і двічі перекристалізують (з розбавленої ацетатної кислоти і спирту).

Вихід 84%. Жовті кристали з $T_{\text{топл.}} = 117-119^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 6,40; S 29,20. $\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}_2$.

Вирахувано, %: N 6,20; S 29,00.

Приклад 2. Синтез дихлорангідриду 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5,5']бітіазолідиніліденділ-3,3'-дибутанової кислоти.

100 ммоль 2-тіоксо-4-оксотіазолідин-3-ілбутанової кислоти, 300 ммоль SOCl_2 кип'ять в 100 мл CCl_4 протягом 10 год. Реакційну суміш охолоджують, осад відфільтровують і перекристалізують з SOCl_2 .

Вихід 78%. Коричневий кристалічний порошок з $T_{\text{топл.}} = 180-181^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 6,12; S 27,40. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_4$.

Вирахувано, %: N 5,94; S 27,21.

Приклад 3. Синтез N,N'-ди-(2-гідроксифеніламід)-2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5,5']бітіазолідиніліденділ-3,3'-дибутанової кислоти (сполука 1).

Розчин 3 ммоль дихлорангідриду 2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5,5']бітіазолідиніліденділ-3,3'-дибутанової кислоти в 30 мл безводного толуену додають до окремо приготованого розчину суміші з 12 ммоль 2-гідроксифеніламіну і 12 ммоль триетиламіну в 10 мл безводного діоксану. Реакційну суміш витримують при температурі приблизно 100°C при періодичному перемішуванні протягом 10 хв. Після охолодження та розбавлення водою продукт реакції відфільтровують, промивають послідовно водою, розбавленою хлоридною кислотою, водою, 2% розчином натрію гідрокарбонату, водою та перекристалізують з суміші ДМФА-ацетатна кислота (1:2).

Вихід 82%. Жовті кристали з $T_{\text{топл.}} = 218-220^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 9,10; S 21,00. $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$.

Вирахувано, %: N 9,08; S 20,80.

ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 1,97т, 2,47т, 4,10т (12H, 6^*CH_2), 6,71т, 6,82д, 6,89т, 7,69д (8H, аром.), 9,16с (2H, NH), 9,70с (2H, OH).

Приклад 4. Синтез N,N'-ди-(3-гідроксифеніламід)-2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5,5']бітіазолідиніліденділ-3,3'-дибутанової кислоти (сполука 2).

Синтез проводять аналогічно до прикладу 3, використовуючи 3-гідроксифеніламін.

Вихід 99%. Червоно-коричневі кристали з $T_{\text{топл.}} = 257-260^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 9,05; S 20,55. $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$.

Вирахувано, %: N 9,08; S 20,80.

ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 1,97т, 2,36т, 4,08т (12H, 6^*CH_2), 6,39д, 6,89д, 6,99т, 7,14с (8H, аром.), 9,28с (2H, NH), 9,73с (2H, OH).

Приклад 5. Синтез N,N'-ди-(2-карбоксифеніламід)-2,2'-дитіоксо-4,4'-діоксо-[5,5']бітіазолідиніліденділ-3,3'-дибутанової кислоти (сполука 3).

Синтез проводять аналогічно до прикладу 3, використовуючи 2-карбоксифеніламін. При виділенні продукту реакції не використовують промивання 2% розчином натрію гідрокарбонату.

Вихід 84%. Червоно-коричневі кристали з $T_{\text{топл.}} = 226-230^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 8,40; S 19,30. $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$.

Вирахувано, %: N 8,33; S 19,10.

ЯМР ^1H , δ , м.ч.: ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 2,02т, 2,42т, 4,13 т (12H, 6^*CH_2), 6,37д, 6,80д, 6,91т, 7,10с (8H, аром.), 9,23с (2H, NH), 10,02шс (2H, COOH).

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т.1 - Изд. 13-е, новое. - Харьков: Торсинг, 1998. - 560с.

2. Ас. СССР №1525154. МПК C07D 277/36; опубл. 30.11.89, Бюл. №44.

3. Ас. СССР №1626628. МПК C07D277/36, A61K31/425, 1990 (непублик.).

4. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. //J Natl Cancer Inst. 1990. - Vol. 82(13). - P. 1107-1112.

5. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. - Методичні рекомендації. - Київ, 2001. - 527с.