



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **44775** (13) **U**
(51) МПК (2009)
C07D 277/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) 4-[5-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-3-ФЕНІЛ-4,5-ДИГІДРОПІРАЗОЛІЛ-1]-5-(4-НІТРОБЕНЗИЛІДЕН)-5Н-ТІАЗОЛ-2-ОН, ЩО ВИЯВЛЯЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ

1

2

(21) u200905209

(22) 25.05.2009

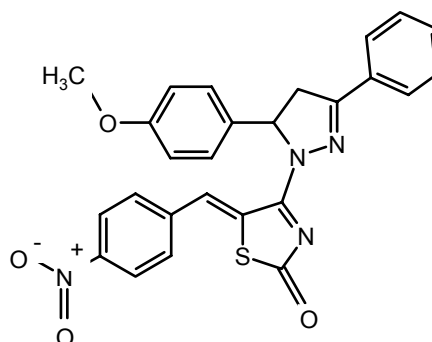
(24) 12.10.2009

(46) 12.10.2009, Бюл.№ 19, 2009 р.

(72) ГАВРИЛЮК ДМИТРО ЯРОСЛАВОВИЧ, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС СЕМЕНОВИЧ, ЛЕСИК РОМАН БОГДАНОВИЧ

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) 4-[5-(4-Метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-он формули:



що виявляє протипухлинну активність.

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

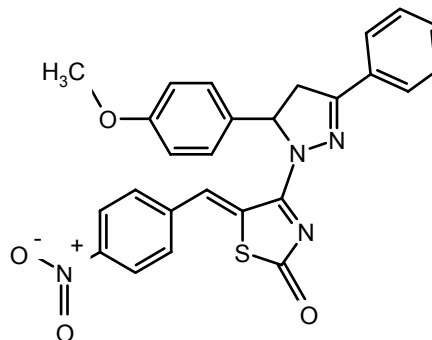
Серед гетерилзаміщених похідних 4-тіазолідону є ряд протипухлинних агентів, серед яких особливу увагу викликає зареєстрований протипухлинний засіб МКТ 077 [Masayuki Kawakami, Keizo Koya, Tochinao Ukai et al. - Structure - activity of novel rhodacyanine dyes as antitumor agents, Journal of Medicinal Chemistry, 2002, 37, 197-206.], який є похідним 2-тіоксо-4-тіазолідону з бензтіазольним фрагментом в молекулах. Тому пошук нових синтетичних протипухлинних засобів із групи похідних 4-тіазолідонів є актуальним для сучасної фармацевтичної і медичної хімії.

Відомі лікарські засоби з протипухлинною активністю, наприклад, етопозид [Компендиум 2005 - лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - Киев: Морион, 2005. - С.366]. Етопозид - напівсинтетичний препарат з групи подофілотоксину. Препарат порушує синтез ДНК шляхом інгібування топоізомерази II - фермента, який бере участь в складанні синтезованих фрагментів ДНК. Цей лікарський засіб має необхідні

лікувальні властивості, проте при тривалому застосуванні характеризується значними побічними ефектами: лейкопенія, периферична нейропатія, діарея, блювота, тощо. Етопозид має протипокази при захворюваннях печінки та нирок.

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

Поставлене завдання вирішується тим, що синтезований 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-он формули:



що виявляє протипухлинну активність.

(13) **U**(11) **44775**(19) **UA**

Синтезована сполука є жовтим кристалічним порошком, розчинним у ДМСО і ДМФА, малорозчинним в оцтовій кислоті, нерозчинним в спирті, ацетоні, воді та ефірі.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема ЯМР-спектроскопія (^1H та ^{13}C) та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Заявлену сполуку одержують взаємодією 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5Н-тіазол-2-ону та 4-нітробензальдегіду в умовах реакції Кньюенагеля. Реакцію проводять в середовищі оцтової кислоти в присутності безводного ацетату натрію як каталізатора.

Для визначення протипухлинної активності 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону попередньо проведено прескринінг протипухлинної активності на 60 лініях ракових клітин людини, діючи на них лише однією дозою препарату (10^{-5} моль/л) [Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A. et al. - Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay, Cancer Research, 1988, 48, 589-601].

За результатами проведеного прескринінгу 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону встановлено, що середнє значення відсотку росту клітин відносно контролю становить 55,47% та зазначена сполука характеризується певною специфічністю дії до окремих ліній раку молочної залози (MDA-MB-468: -54,59%), раку яєчників (IGROV1: -30,79%), лейкемії (RPMI-8226: -0,15%) та раку нирок (RXF 393: -20,80%; UO-31: -27,54%).

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 та 56 (при повторному тестуванні) лініях людських ракових клітин у мінімум 5 концентраціях при 10-кратному розведенні.

Протиракова активність 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону вивчалась на клітинних лініях лейкемії (Leukemia) (CCRF-CEM, 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-H226, NCI-H322M, NCI-H460, NCI-H522), епітеліального раку (Colon Cancer) (COLO 205, HCC-2998, HCT-116, HCT-15, HT-29, KM12, SW-620), раку ЦНС (CNS Cancer) (SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75, U251), меланоми (Melanoma) (LOX IMVI, M14, MALME-3M, SK-MEL-2, SK-MEL-28, SK-MEL-5, UACC-257, UACC-62), раку яєчників (Ovarian Cancer) (IGROV1, OVCAR-3, OVCAR-4, 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, MDA-MB-468, BT-549, T-47D).

В умовах експерименту 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-он проявив високу протиракову активність при дослідженнях на 53 та 56 клітинних лініях, результати яких наведено в таблиці.

Таблиця

Протиракова активність
4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону

Лінія клітин раку		Протиракова активність <i>in vitro</i>			
		Ig GI ₅₀	Ig TGI	*Ig GI ₅₀	*Ig TGI
1	2	3	4	5	6
Лейкемія (Leucemia)	CCRF-CEM	-6,09	-5,56	-6,01	-5,54
	HL-60(TB)		> -4,30	-5,92	> -4,30
	K-562		> -4,30		
	MOLT-4	-5,80	> -4,30	-5,87	-4,40
	RPMI-8226	-6,34	-5,78	-6,05	-5,66
	SR		> -4,30		
Недрібно-клітинний рак легень (Non-Small Cell Lung Cancer)	A549/ATCC	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	EKVX	-4,47	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	HOP-62	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	HOP-92	-5,65	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	NCI-H23	-4,88	> -4,30	-4,64	> -4,30
	NCI-H226	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	NCI-H322M	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	NCI-H460	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	NCI-H522	> -4,30	> -4,30	-5,70	-5,06

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6
Епітеліальний рак (Colon cancer)	COLO 205	-5,95	-5,44	-5,71	> -4,30
	HCC-2998	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	HCT-116	-5,73	> -4,30	-5,66	> -4,30
	HCT-15	-5,86	> -4,30	-5,84	-5,00
	HT-29			-5,74	> -4,30
	KM12	> -4,30	> -4,30	-5,49	> -4,30
	SW-620	-5,72	> -4,30	-5,83	> -4,30
Рак ЦНС (CNS Cancer)	SF-268	> -4,30	> -4,30	-5,44	> -4,30
	SF-295	-4,72	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	SF-539	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	SNB-19	-5,34	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	SNB-75	-4,75	> -4,30	-5,85	> -4,30
	U251	-5,74	> -4,30	-5,81	-5,11
	LOXIMVI	-6,08	-5,78	-6,05	-5,77
Меланома (Melanoma)	M-14	-4,48	> -4,30	-4,37	> -4,30
	MALME-3M	> -4,30	> -4,30	-4,87	> -4,30
	SK-MEL-2	-5,10	> -4,30	-4,75	> -4,30
	SK-MEL-28	-5,61	> -4,30	-4,98	> -4,30
	SK-MEL-5	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	UACC-257	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	UACC-62	-5,01	> -4,30	-4,43	> -4,30
Рак яєчників (Ovarian Cancer)	IGROV1	-5,57	> -4,30		
	OVCAR-3			-5,86	-5,26
	OVCAR-4	> -4,30	> -4,30	-4,63	> -4,30
	OVCAR-5	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	OVCAR-8	-4,71	> -4,30	-5,61	-4,66
	SK-OV-3	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
Рак нирок (Renal Cancer)	786-0	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	A498	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	ACHN	> -4,30	> -4,30	-4,56	> -4,30
	CAKI-1	-5,18	> -4,30	-4,78	> -4,30
	SN12C	-5,45	> -4,30	-4,76	> -4,30
	TK-10	-4,71	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	UO-31	-4,97	> -4,30	-5,82	> -4,30
Рак простати (Prostate Cancer)	PC-3	-5,76	> -4,30	-5,69	> -4,30
	DU-145	-5,60	> -4,30	-5,54	> -4,30
Рак молочної залози (Breast Cancer)	MCF7	-5,88	> -4,30	-5,85	> -4,30
	NCI/ADR-RES	> -4,30	> -4,30	> -4,30	> -4,30
	MDA-MB-231/ATCC	-5,55	> -4,30	-4,78	> -4,30
	HS 578T			-5,37	> -4,30
	MDA-MB-435	-5,47	> -4,30	-5,33	> -4,30
	BT-549	> -4,30	> -4,30	-5,02	> -4,30
	MDA-MB-468	-6,04	-5,53	-6,06	-5,74
	T-47D	-5,79	> -4,30	-6,13	-5,47

* - результати повторного тестування

Як видно з даних, наведених у таблиці, речовина, що заявляється, у концентрації менше 10^{-4} моль/л пригнічує ріст пухлинних клітин на 50% на 31 з 53 та 37 з 56 (повторне тестування) досліджуваних ліній та створює повне інгібування росту пухлинних клітин у концентрації менше 10^{-4} моль/л на 5 з 53 та 11 з 56 (при повторному тестуванні) досліджуваних ліній. За результатами *in vitro* скринінгу сполука, що заявляється, була відібрана для вивчення токсичності *in vivo* і виявилась нетоксичною.

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

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону. Сполуку синтезують наступним чином.

Синтез 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5-(4-нітробензиліден)-5Н-тіазол-2-ону. Суміш 0,003 моль 4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразоліл-1]-5Н-

тіазол-2-ону, 0,0033моль 4-нітробензальдегіду, 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-ЕтОН (1:2). Одержують жовтий порошок з $T_{\text{топл.}}$ 239-240°C, вихід - 68%.

Знайдено, %: N 11,56; S 6,62. $C_{26}H_{20}N_4O_4S$.

Вирахувано, %: N 11,29; S 6,839.

ЯМР 1H , δ , м.ч.: 3,34дд (1H, CH_2CH , $J=18,4$, 3,5Гц), 3,74с (3H, CH_3), 4,03дд (1H, CH_2CH , $J=18,4$, 11,0Гц), 5,94дд (1H, CH_2CH , $J=11,0$, 3,5Гц), 6,89д, 7,23д (4H, C_6H_4 , $J=8,7$ Гц), 7,54-7,58м, 7,93д ($J=8,8$ Гц), 7,95д, 8,34д ($J=8,8$ Гц) (9H, C_6H_4 , C_6H_5), 9,10с (1H, CH). ЯМР ^{13}C , δ , м.ч.: 175,9 (C=O), 166,4 (C=N, тіаз.), 164,7 (C=N, піраз.), 159,5 (C-O), 147,9, 142,1, 134,9, 133,6, 132,9, 132,7, 131,7, 130,4, 129,8, 128,6, 127,9, 124,7, 114,9, 66,6 ($CHCH_2$), 55,8 (O- CH_3), 41,9 ($CHCH_2$).