



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **54068** (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) **5-(4-ДІЕТИЛАМІНОФЕНІЛМЕТИЛІДЕН)-4-(2-МЕТИЛ-4-ГІДРОКСИ-5-ІЗОПРОПІЛФЕНІЛАМІНО)-5Н-ТІАЗОЛ-2-ОН, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) u201005030

(22) 26.04.2010

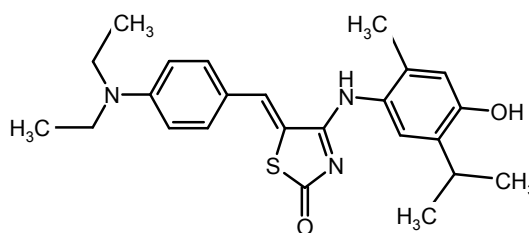
(24) 25.10.2010

(46) 25.10.2010, Бюл.№ 20, 2010 р.

(72) СУБТЕЛЬНА ІВАННА ЮРІЇВНА, ЛЕСИК РО-
МАН БОГДАНОВИЧ, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС
СЕМЕНОВИЧ

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) 5-(4-Діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-
4-гідроксі-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-он
формули

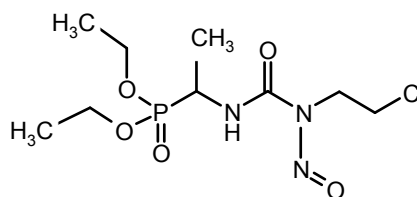


що має протипухлинну активність.

Корисна модель стосується синтезу органічних сполук і фармації, зокрема, одержання біологічно активного 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідроксі-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону, що має протипухлинну активність і може бути використаний в клінічній медицині як протипухлинний лікарський засіб.

Серед похідних тіазолідону ідентифіковано ряд сполук, що володіють протипухлинною активністю. Так, похідні 2-ариламіно-2-тіазолін-4-онів селективно інгібують ріст ракових клітин лейкемії [Синтез та вивчення протипухлинної активності похідних 2-ариламіно-2-тіазолін-4-онів / Р.Б. Лесик. Б.С. Зіменковський, С.М. Ярмолюк [та ін.] // Фармацевтичний журнал. - 2003. - №1. - С.51-56]. Враховуючи вищесказане пошук нових синтетичних протипухлинних засобів у зазначеній групі гетероциклів є актуальним для сучасної фармацевтичної науки.

Відомі лікарські засоби з протипухлинною активністю, наприклад, фотемустин (±)-діетил-1-[3-(2-хлоретил)-3-нітросоуреїдо]етилфосфонат [Справки и инструкции. Компендиум OnLine <http://coinpendinm.com.ua/inlb/-7234>]:

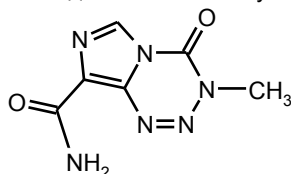


Фотемустин - це цитостатичний антимітотичний засіб, похідне нітрососечовини, має алкілюючу та карбамілюючу дію. Хімічна структура фотемустину містить біоізомер аланіну (аміно-L-етилфосфорна кислота), що сприяє проникненню препарату в клітини та проходженню через гематоенцефалічний бар'єр. Зазначений лікарський засіб є активним щодо клітин, які швидко ростуть. Фотемустин володіє необхідними лікувальними властивостями, проте характеризується значними побічними ефектами, серед яких: вплив на кроветворну (лейкопенія, тромбоцитопенія) і на травну (нудота, блювота, діарея, біль в ділянці живота) системи, дія на печінку (помірно виражене транзиторне та зворотнє підвищення рівня трансаміназ, лужної фосфатази та білірубину). Крім того, для

(13) **U**(11) **54068**(19) **UA**

зазначеного лікарського засобу характерні транзиторне підвищення рівня сечовини в сировотці крові, свербіння шкіри, транзиторні та зворотні неврологічні порушення (парестезія, адгезія, порушення свідомості).

Відома також сполука формули:



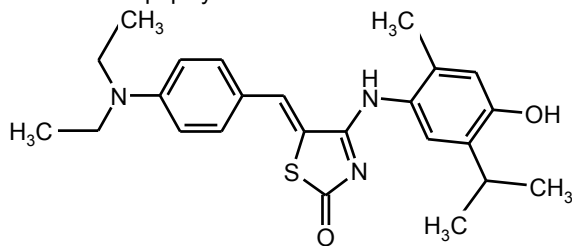
Цей лікарський засіб відомий під назвою темозоломід (3,4-дигідро-3-метил-4-оксоімідазо[5,1-α]-тетразин-8-карбоксамід). Темозоломід – імідазотетразинний алкілюючий засіб з протипухлинною активністю [Справки и инструкции. Компендиум OnLine.

<http://www.compendium.com.ua/info/166818>. При потрапленні в системну циркуляцію (при фізіологічних значеннях pH) темозоломід зазнає швидкого хімічного перетворення з утворенням активної сполуки – монометилтриазепімідазолкарбоксаміду (МТІК). Вважають, що цитотоксичність МТІК, в основному, зумовлена алкілюванням гуаніну в положенні Об та додатковим алкілюванням в положенні N7. Цитотоксичне пошкодження, яке розвивається потім, швидше за все, запускає механізм аберантного відновлення метального залишку.

Однак і цей лікарський засіб має ряд недоліків. Так, при його застосуванні можуть розвиватись тромбоцитопенія, нейтропенія, нудота, блювота, втомлюваність, закрепи, головний біль, анорексія, діарея, висипи, лихоманка та сонливість.

В основу корисної моделі поставлене завдання створення ефективного протипухлинного засобу з меншими побічними явищами та прийнятним токсикологічним профілем.

Поставлене завдання вирішується тим, що синтезований 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-он формули



володіє протипухлинною активністю.

Синтезована сполука є оранжевим кристалічним порошком, розчинним в ДМФА, при нагріванні – в оцтовій кислоті, малорозчинним в спиртах і нерозчинним в етері та воді.

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

Заявлений 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-

тіазол-2-он одержують з високими виходами при використанні відомих синтетичних підходів у декілька стадій, що включають реакцію 4-тіоксо-2-тіазолідинону і гідрохлориду 4-аміно-2-ізопропіл-5-метилфенолу, та взаємодію синтезованого 4-(2-метил-4-пдрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону за СН-кислотним центром з діетиламінобензальдегідом в умовах реакції Кньюенагеля.

Фармакологічний ефект 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону вивчався за стандартною процедурою оцінки протипухлинної активності новосинтезованих сполук [Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay / M.C. Alley. D.A. Scudiero. P.A. Monks [et al.] // Cancer Research. - 1988. - Vol.48. - P. 589-601; Boyd M.R., Paull K.D. // Drug Development Research. - 1995 - Vol.34. - P.91-109; Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. // Seminars in Oncology - 1992. - Vol.19 - №6. - P.622-638; A. Monks. D. Scudiero. P. Skehan. [et al.] // J. Nat. Cancer, lust. - 1991. - 83. - P.757-766] в Національному інституті раку (National Cancer Institute of National Institute of Health. USA) в рамках Development Therapeutic Program згідно з договором між вказаною установою та Львівським національним медичним університетом імені Данила Галицького. На першому етапі проведено скринінг протипухлинної активності на 60 лініях ракових клітин, що охоплюють практично весь спектр онкологічних захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, товстого кишкового, нирок, простати і ЦНС, а також лінії лейкемії та меланому), при дії речовини в концентрації 10^{-5} моль/л і визначенні відсотку росту клітин (GI) у порівнянні з контролем. Дослідження проведено методом флуоресцентного зафарбовування (барвник – сульфородамін Б, еталони – 5-фторурацил та адриаміцин).

За результатами проведеного скринінгу встановлено, що на фоні сполуки, яка заявляється середнє значення відсотку росту клітин відносно контролю становило 75.33% при селективності дії на окремі лінії раку легень (HOP-92: GI=15,52%), молочної залози (HS 578T: GI=10,20%) та раку ЦІ 1C (SF-295: GI=5,64%).

За результатами I етапу дослідження проведено ґрунтовний протипухлинний in vitro скринінг 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-пдрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону в п'яти концентраціях при 10-кратному розведенні (100μM, 10μM, 1μM, 0,1μM, та 0,01μM) на 57-ти лініях ракових клітин, набір яких аналогічний до попереднього експерименту. Одержано 3 дозозалежні параметри: 1) GI₅₀ – концентрація сполуки, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії; 2) TGI – концентрація, що створює повне пригнічення росту клітин; 3) GI₅₀ – концентрація, яка викликає загибель 50% пухлинних клітин. GI₅₀ інтерпретують як ефективний рівень інгібування. TGI – як цитостатичний ефект, а GI₅₀ є легальною концентрацією, що характеризує цитотоксичну дію. Якщо

логарифмічні значення досліджуваних параметрів $\lg GI_{50}$, $\lg TGI$ та $\lg LC_{50}$) є меншими, ніж -4,00. сполуки розглядаються як активні.

В умовах наведеного вище експерименту сполука, що заявляється, виявила високу протипухлинну активність (результати наведені в таблиці).

Таблиця

Протипухлинна активність in vitro 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону

Лінії ракових клітин	Параметри і протипухлинної активності		
	$\lg GI_{50}$	$\lg TGI$	$\lg LC_{50}$
1	2	3	4
Лейкемія			
CCRF-CEM	-5.51	-4,00	>-4,00
HL-60	-4.74	-4,00	>-4.00
K-562	-5,70	-4,68	>-4.00
MOLT-4	-4.76	-4.00	>-4.00
RPMI-8226	-5,62	-4,00	>-4.00
SR	-5,42	-4,32	>-4.00
Недрібноклітинний рак легень			
A549/ATCC	-5,32	-4,75	-4,38
EKVX	-4.84	-4,00	>-4.00
HOP-62	-5.45	-4.79	-4.28
HOP-92	-4,89	-4,47	-4,05
NCI-H226	-5.68	-5.04	-4.34
NC1-H23	-4.36	-4.00	>-4.00
NCI-H332M	-4.27	-4,00	>-4.00
NCI-H460	-5.03	-4.11	>-4.00
NCI-H522	-5.21	-4.00	>-4,00
Рак товстого кишківника			
COLO 205	-4.85	>-4,00	>-4.00
HCC-2998	-4,49	>-4.00	>-4.00
HCT-116	-5,58	-4.84	-4.39
HCT-15	-5.60	-4.33	>-4.00
HT29	-5.42	-4.73	>-4.00
KM12	-4.87	>-4.00	>-4.00
SW-620	-4,95	>-4,00	>-4.00
Рак ЦНС			
SF-268	-4.73	-4,19	^4.00
SF-295	-5.02	-4.18	>-4.00
SF-539	-4.99	-4,58	-4,16
SNB-19	-4.55	>-4.00	>-4.00
SNB-75	-5.16	-4,58	-4.06
U251	-5,26	-4,58	-4,01
Меланома			
LOX IMVI	-5,02	-4,33	>-4.00
MALME-3M	-4,49	>-4,00	>-4.00
M14	-4,60	>-4,00	>-4.00
MDA-MB-435	-4.96	>-4.00	>-4.00
SK-MEL-2	-4.91	-4,jj	>-4.00
SK-MEL-28	-4,75	>-4.00	>-4.00
SK-MEL-5	-5,10	>-4.00	>-4.00
UACC-257	-5,05	-4.22	>-4.00
UACC-62	-5.25	-4,51	>-4.00
Рак яєчників			
IGROV1	-4.78	-4,27	>-4.00
OVCAR-3	-4,77	-4,14	>-4.00
OVCAR-4	-4.96	-4,45	>-4.00
OVCAR-3	-4.20	>-4.00	>-4.00
OVCAR-8	-5.12	-4,56	-4,05
NCI/ADR-RES	-4.39	>-4.00	>-4.00

Продовження таблиці

1	2	3	4
SK-OV-3	-4,32	>-4.00	>-4.00
Рак нирок			
786-0	-4.86	-4,45	-4.05
A498	-4.52	>-4.00	>-4.00
ACHN	-5,13	-4,53	>-4.00
CACI-1	-4.57	>-4.00	>-4.00
RXF 393	-7.93	-5,29	-4,48
TK-10	-4.78	-4.30	>-4,00
UO-31	-4.60	>-4,00	>-4.00
Рак простати			
PC-3	-5,40	-4,69	-4,15
DU-145	-4.96	-4,54	-4.12
Рак молочної залози			
MCF7	-5,01	-4.18	>-4.00
HS 578T	-5,33	-4,57	>-4.00
BT-549	-4,55	>-4,00	>-4.00
T-47D	-5.32	>-4,00	>-4.00

Як видно з даних таблиці, 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-он, що заявляється, проявляє суттєве інгібування росту майже всіх ліній ракових клітин. Найнижчі ефективні значення концентрацій речовини спостерігалися при дії на лінію раку нирок RXF 393 ($\text{IgGI}_{50} = -7.93$), лінії лейкемії K-562 ($\text{IgGI}_{50} = -5.70$) та RPMI-8226 ($\text{IgGI}_{50} = -5.62$), лінію рику легень NCI-H226 ($\text{IgGI}_{50} = -5.68$), лінію раку кишечника MCT-15 ($\text{IgGI}_{50} = -5.60$). Крім того, спостерігався досить високий рівень ефективного інгібування на лінії раку нирок RXF 393 у порівнянні середнім значенням IgGI_{50} для 57 ліній, що становив -5,02.

Таким чином, заявлена сполука виявляє високу протипухлинну дію і є перспективним протипухлинним засобом.

Для розуміння даної корисної моделі нижче наведено приклад одержання 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону. Сполуку синтезують в декілька етапів наступним чином.

1. Синтез 4-(2-метил-4-гідроксипропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону. Еквімолярну суміш 0,04 моль 4-тіоксо-2-тіазолідону, гідрохлориду 4-аміно-2-ізопропіл-5-метилфенолу та безводного ацетату натрію в 30 мл етанолу кип'яють у колбі із

зворотнім холодильником протягом 30 хв. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають етанолом та ефіром.

Вихід 70%. Т.топл. 195-197°C. $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ Знайдено. %: N10,50, S12,00. Вирахувано. %: N10,60, S12,13.

2. Синтез 5-(4-діетиламінофенілметиліден)-4-(2-метил-4-гідроксипропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону. Суміш 0,0034 моль 4-(2-метил-4-гідрокси-5-ізопропілфеніламіно)-5Н-тіазол-2-ону, 0,0038 моль 4-діетиламінобензальдегіду та 0,0034 моль безводного ацетату натрію в 10 мл оцтової кислоти нагрівають протягом 1 год у колбі із зворотнім холодильником. Після повного охолодження реакційної суміші осад відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та ефіром, висушують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2) або ДМФА-оцтова кислота (1:2). Вихід 79%. Т.топл. >250°C. $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{S}_2\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$. Знайдено, %: N9,80. S7,40. Вирахувано, %: N9,92, S7,57. ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 1.15 (м, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{N}$). 2.07 (с, 3H, CH_3). 3.18 (кв, 1H, CH), 3.43 (кв, 4H, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{N}$), 6.70 (с, 1H, аром.), 6.82 (д, 2H, J=8.4 Гц, аром.), 6.84 (с, 1H, аром.), 7.41 (д, 2H, J=8.4 Гц, аром.), 7.91 (с, 1H, =CH). 9.39 (с, 11H, OH). 10.31 (с, 1H, NH).