



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **62458** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
C01D 7/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) 7'-ЗАМІЩЕНІ-1-(4-ХЛОРОФЕНІЛ)-3',7'-ДИГІДРО-2Н,2'Н,5Н-СПІРО[ПІРОЛІДИН-3,6'-ТІОПІРАНО[2,3-d][1,3]ТІАЗОЛ]-2,2',5-ТРІОНИ, ЩО ВІЯВЛЯЮТЬ АНТИТРИПАНОСОМНУ АКТИВНІСТЬ

1

2

(21) u201102222

(22) 25.02.2011

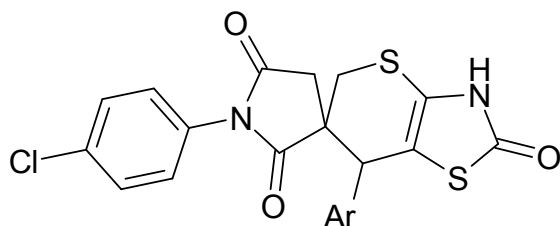
(24) 25.08.2011

(46) 25.08.2011, Бюл.№ 16, 2011 р.

(72) ЗЕЛІСКО НАТАЛІЯ ІВАНІВНА, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС СЕМЕНОВИЧ, ЛЕСИК РОМАН БОГДАНОВИЧ, ФІЛІП ГРЕЛЬЄ, FR

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) 7'-Заміщені-1-(4-хлорофеніл)-3',7'-дигідро-2Н,2'Н,5Н-спіро[піролідін-3,6'-тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол]-2,2',5-тріони формул:

Ar=3,4-(OMe)₂-C₆H₃, (1)4-NMe₂-C₆H₄, (2)4-Net₂-C₂H₄, (3)

що виявляють антитрипаносомну активність.

Корисна модель стосується синтезу нових гетероциклічних сполук і фармації, зокрема одержання біологічно активних сполук, що виявляють антитрипаносомну активність, і можуть бути використані в клінічній медицині як антипротозойні лікарські засоби.

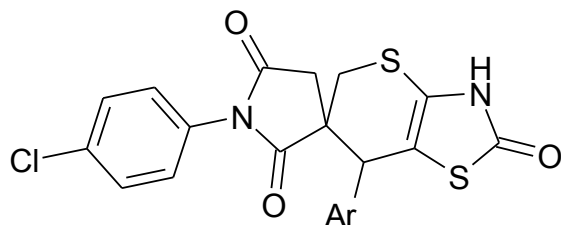
Відомі лікарські засоби з антитрипаносомною активністю, наприклад, ефлорнітин [Pepin J., Milord F., Guern C, Schechter P.J. Difluoromethylornithine for arseno-resistant Trypanosoma brucei gambiense sleeping sickness // The Lancet.-1987, V. 330 (8573). - P. 1431-1433]. Ефлорнітин (α-дифлуорометилорнітин) - синтетичний препарат з групи фторомісних α-амінокислот. Лікарський засіб ефективний при сонній хворобі (африканському трипаносомозі), викликаній Trypanosoma brucei gambiense (як на гемолітичній, так і на менингоенцефалічній стадії), однак Trypanosoma brucei rhodesiense помірно стійка до ефлорнітину. Цей лікарський засіб менш токсичний, ніж пентамідин, сурамін, меларсопрол. Препарат незворотно інгібує орнітиндекарбоксилазу збудника, має необхідні лікувальні властивості, проте при застосуванні можливі значні побічні ефекти: судоми, ураження

кісткового мозку, анемія, лейкопенія, діарея, алопеція тощо.

Дослідження останніх років дозволили виділити серед 2-гідразоно-4-тіазолідонів сполуки з активністю проти Trypanosoma cruzi та Toxoplasma gondii [Claudio Luis Donnici, Maria Helena Araujo, Henrique S. Oliveira, Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira, Valeria R. Alves Pereira, Marina de Assis Souza, Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro and Ana Cristina Lima Leite. Ruthenium complexes endowed with potent anti-Trypanosoma cruzi activity: Synthesis, biological characterization and structure-activity relationships // Bioorganic & Medicinal Chemistry.-2009, V. 17(14). - P. 5038-5043; Romulo P. Tenorio, Cristiane S. Carvalho, Carla S. Pessanha, Jose G. de Lima, Antonio R. de Faria, Antonio J. Alves, Edesio J.T. de Melo and Alexandre J.S. Goes. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.-2005, V 15 (10). - P. 2575-2578], що підтверджує актуальність пошуку нових синтетичних антипротозойних, зокрема антитрипаносомних засобів серед похідних 2-тіоксо-4-тіазолідону.

(13) **U**(11) **62458**(19) **UA**

В основу корисної моделі поставлена задача створення ефективного антитрипаносомного засобу з меншими побічними ефектами.



Поставлена задача вирішується тим, що синтезовані 7'-заміщені-1-(4-хлорофеніл)-3',7'-дигідро-2H,2'H,5H-спіро[піролідін-3,6'-тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол]-2,2',5-тріоні формул:

Ar=3,4-(OMe)₂-C₆H₃, (1)
4-NMe₂-C₆H₄, (2)
4-Net₂-C₂H₄, (3)

що виявляють антитрипаносомну активність.

Синтезовані сполуки є білими кристалічними порошками, розчинними у ДМСО і ДМФА, малорозчинними в оцтовій кислоті, спиртах, ацетонітрилі, нерозчинні у воді, бензолі та толуолі.

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

Заявлені сполуки одержують взаємодією 1-(4-хлорофеніл)-3-метилепіролідін-2,5-діону та 5-ариліден-4-тіоксо-2-тіазолідонів в умовах реакції гетеро-Дільса-Альдера. Реакцію проводять у се-

редовищі оцтової кислоти в присутності слідів гідрокінону.

Для синтезованих 7'-заміщених-1-(4-хлорофеніл)-3',7'-дигідро-2H,2'H,5H-спіро[піролідін-3,6'-тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол]-2,2',5-тріонів проведено попередню оцінку фармакологічного потенціалу. Речовини досліджувалися in vitro у концентраціях 10 мкг/мл та 1 мкг/мл у середовищі HMI9 на мікропластинах з 96-лунок на *Trypanosoma brucei brucei* (bloodstream form), в результаті визначали відсотки інгібування росту паразитів за рівнем флуоресценції барвника Alamar Blue (Табл. 1) у порівнянні з контролем (негативний контроль - розчин ДМСО).

Таблиця 1

Антипротозойна активність синтезованих сполук в концентрації 10 мкг/мл та 1 мкг/мл на *Trypanosoma brucei brucei*

Досліджувані сполуки	Відсоток інгібування росту паразитів, %	
	При концентрації 10 мкг/мл	При концентрації 1 мкг/мл
1	93,62	80,42
2	98,19	36,77
3	98,23	21,11

На основі одержаних результатів прескринінгу проведено ґрунтовні in vitro дослідження, які полягали у визначенні інгібуючої концентрації IC₅₀ досліджуваних речовин на клітинах *Trypanosoma brucei gambiense* TBG та *Trypanosoma brucei brucei* TBV, що додавалися в концентрації 10⁵ клітин/мл. [Raz B., Iten M., Grether-Buhler Y., Kaminsky R., Brun R. The Alamar Blue assay to determine drug sensitivity of African trypanosomes (*T. b. rhodesiense*, *T. b. gambiense*) in vitro // Acta Trop. 1997, V. 68. - P. 139-147]. Дослідження проводилося на мікропластинах з 96 лунок у середовищі HMI9* для серії двократних розведень від 10 мкг/мл

до 4,88 нг/мл. За негативний контроль вибрано лунки з розчином ДМСО, середовищем та клітинами паразитів. Мікропластини інкубувалися при 37 °C та 5 % CO₂ атмосфері протягом 24 год. з наступним додаванням 20 мкл барвника Alamar Blue. Після 4-годинного інкубування вимірювали флуоресценцію. Відсотки росту паразитів визначалися за рівнем флуоресценції барвника Alamar Blue, а IC₅₀ - за дозозалежною кривою відсоткового росту паразитів від концентрації досліджуваних сполук.

Результати дослідження наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

IC₅₀ синтезованих сполук на *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense*

Досліджувані сполуки	TBG		TBV		TBG/TBV
	IC ₅₀ , мкг/мл	Стандартне відхилення, мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	Стандартне відхилення, мкг/мл	
1	0,1321	0,0071	0,2128	0,0787	0,62
2	0,6108	0,1571	0,7149	0,0426	0,85

5

62458

6

3	1,233	0,2115	1,8604	0,4755	0,66
---	-------	--------	--------	--------	------

Таким чином, в умовах експерименту встановлено, що сполуки, які заявляються, проявляють високу антитрипаносомну активність і є перспективними антипротозойними засобами.

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання 7'-заміщених-1-(4-хлорофеніл)-3',7'-дигідро-2Н,2'Н,5Н-спіро[піролідін-3,6'-тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол]-2,2',5-тріонів. Сполуки синтезують наступним чином.

Синтез 7'-заміщених-1-(4-хлорфеніл)-3',7'-дигідро-2Н,2'Н,5Н-спіро[піролідін-3,6'-тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол]-2,2',5-тріонів. Суміш 0,005 моль відповідного 5-ариліден-4-тіоксо-2-тіазолідону, 0,0055 моль 1-(4-хлорфеніл)-3-метилепіролідін-2,5-діону, декілька кристалів гідроксидону в 10 мл оцтової кислоти нагрівають протягом 8 год. в колбі із зворотним холодильником. Осад, який утворюється після повного охолодження реакційної суміші, відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та ефіром. Перекристалізують з ацетонітрилу (1), етанолу (2) та суміші ДМФА-етанол (1:2) (3).

Сполука 1. Вихід - 34 %, Т.топл. 258-260 °С. Знайдено, %: N - 5,80, S - 12,84. $C_{23}H_{19}ClN_2O_5S_2$. Вирахувано, %: N - 5,57, S - 12,75. ЯМР¹H, δ, м.ч.:

2,96д (1H, CH₂CO, J = 18,1 Гц), 3,03д (1H, CH₂CO, J = 18,1 Гц), 3,50д (1H, CH₂S, J = 12,8 Гц), 3,63с (3H, OCH₃), 3,70д (1H, CH₂S, J = 12,8 Гц), 3,74с (3H, OCH₃), 4,35с (1H, CH), 6,74шс (1H, аром), 6,80д (3H, аром.), 6,93д (1H, аром.), 7,52д (2H, аром., J = 8,5Гц), 11,56с (1H, NH). LC-MS (m/z):503 (M⁺), 504 (M⁺+1).

Сполука 2. Вихід - 32 %, Т.топл. 240-242 °С. Знайдено, %: N - 8,58, S - 13,33. $C_{23}H_{20}ClN_3O_3S_2$. Вирахувано, %: N - 8,65, S - 13,19. ЯМР¹H, δ, м.ч.: 2,86с (6H, 2*CH₃), 2,93д (1H, CH₂CO, J = 18,5 Гц), 2,95д (1H, CH₂CO, J = 18,5 Гц), 3,48д (1H, CH₂S, J = 12,8 Гц), 3,65д (1H, CH₂S, J = 12,8 Гц), 4,26с (1H, CH), 6,80д (2H, аром., J = 8,1 Гц), 6,85д (2H, аром., J = 8,4 Гц), 7,01шс (2H, аром.), 7,49д (2H, аром., J = 8,4 Гц), 11,51с (1H, NH). LC-MS (m/z):486 (M⁺), 487 (M⁺+1).

Сполука 3. Вихід - 34 %, Т.топл. 242-244 °С. Знайдено, %: N - 8,00, S - 12,32. $C_{25}H_{24}ClN_3O_3S_2$. Вирахувано, %: N - 8,17, S - 12,47. ЯМР¹H, δ, м.ч.: 1,04т (6H, 2*CH₃), 2,93д (1H, CH₂CO, J = 18,4Гц), 2,95д (1H, CH₂CO, J = 18,4Гц), 3,28-3,30м (4H, 2*CH₂CH₃), 3,44д (1H, CH₂S, J = 12,8Гц), 3,66д (1H, CH₂S, J = 12,6Гц), 4,22с (1H, CH), 6,55д (2H, аром., J = 8,2 Гц), 6,82д (2H, аром., J = 8,4 Гц), 6,96шс (2H, аром.), 7,44д (2H, аром., J = 8,4 Гц), 11,49с (1H, NH). LC-MS (m/z):514 (M⁺), 515 (M⁺+1).