



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 69857

(13) U

(51) МПК

C07D 277/08 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 14202**

(22) Дата подання заявки: **01.12.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.05.2012**

(46) Публікація відомостей **10.05.2012, Бюл.№ 9**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

Гаврилюк Дмитро Ярославович (UA),
Зіменковський Борис Семенович (UA),
Лесик Роман Богданович (UA),
Роман Олександра Миронівна (UA)

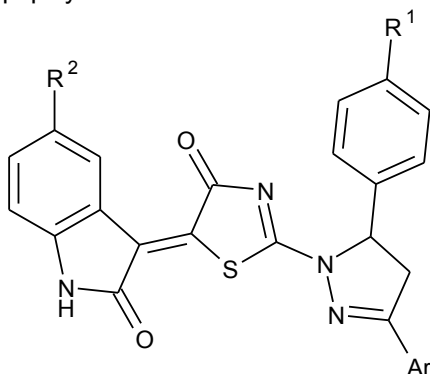
(73) Власник(и):

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА
ГАЛИЦЬКОГО,**
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна
(UA)

(54) 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-они, що виявляють протипухлинну активність

(57) Реферат:

3-{2-[5-(3,5-Діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-они
формул:



R¹=OMe, R²=Br, Ar=Ph (1),
R¹=OMe, R²=H, Ar=нафтален-2-іл (2),
R¹=OMe, R²=Br, Ar=нафтален-2-іл (3),
R¹=Cl, R²=H, Ar=Ph (4),
R¹=Cl, R²=H, Ar=нафтален-2-іл (5),
R¹=NMe₂, R²=H, Ar=Ph (6),

що виявляють протипухлинну активність.

UA 69857 U

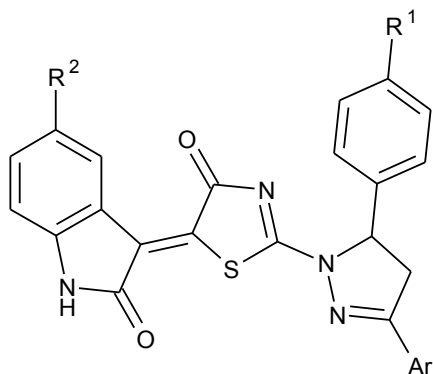
Корисна модель належить до синтезу нових гетероциклічних сполук і фармації, зокрема одержання біологічно активних сполук, що виявляють протипухлинну активність, і можуть бути використані в медицині як онкологічні лікарські засоби.

Еталонним лікарським засобом з протипухлинною активністю, що широко використовується в медицині, вибрано вінкрисдин [http://compendium.com.ua/info/43610/geideon-richter/vinkristin-rikhter].

Вінкрисдин - алкалоїд барвінку рожевого (*Cataranthus roseus*), який блокує мітотичний поділ клітин на стадії метафази. Протипухлинна дія зумовлена гальмуванням утворення мітотичних веретен, вибірково гальмуванням синтезу ДНК та РНК шляхом пригнічення ферменту РНК-полімерази. Цей лікарський засіб має необхідні лікувальні властивості, проте при тривалому застосуванні характеризується значними побічними ефектами: нейропатія, тяжкі парестезії, атаксія, помірна лейкопенія тощо. Вінкрисдину сульфат має протипоказання при захворюваннях нервової системи, гострих бактеріальних та вірусних інфекціях.

Серед гетерилзаміщених похідних 4-тіазолідинону є ряд протипухлинних агентів, серед яких особливу увагу викликають 2-іміно-5-ариліден-4-тіазолідини як інгібітори фосфатази [Патент США № 2004097566, МПК C07D277/20, опубл. 20.05.04]. Тому пошук нових синтетичних протипухлинних засобів із групи похідних 4-тіазолідинону з фармакологічно привабливими гетероциклами є актуальним для сучасної фармацевтичної і медичної хімії.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення ефективного протипухлинного засобу з низькими побічними явищами. Поставлена задача вирішується тим, що синтезовані 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-они формули:



$R^1 = \text{OMe}, R^2 = \text{Br}, \text{Ar} = \text{Ph}$ (1),
 $R^1 = \text{OMe}, R^2 = \text{H}, \text{Ar} = \text{нафтаден-2-іл}$ (2),
 $R^1 = \text{OMe}, R^2 = \text{Br}, \text{Ar} = \text{нафтаден-2-іл}$ (3),
 $R^1 = \text{Cl}, R^2 = \text{H}, \text{Ar} = \text{Ph}$ (4),
 $R^1 = \text{Cl}, R^2 = \text{H}, \text{Ar} = \text{нафтаден-2-іл}$ (5),
 $R^1 = \text{NMe}_2, R^2 = \text{H}, \text{Ar} = \text{Ph}$ (6),

що виявляють протипухлинну активність.

Синтезовані сполуки є червоними кристалічними порошками, розчинними у ДМСО і ДМФА, малорозчинними в оцтовій кислоті, нерозчинними в спирті, ацетоні, воді та ефірі.

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.

Заявлені сполуки одержують взаємодією 3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-карботіоамідів в умовах одностадійної реакції, що поєднує [2+3]-циклоконденсацію та реакцію Кньюенагеля з монохлороцтовою кислотою та відповідними ізітинами. Реакцію проводять в середовищі оцтової кислоти в присутності двократної кількості безводного ацетату натрію.

Для визначення активності 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів попередньо проведено прескринінг протипухлинної дії на 60 лініях ракових клітин людини, діючи на них лише однією дозою досліджуваної сполуки (10^{-5} моль/л) [A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. J. Nat. Cancer Inst, 1991, 83(11), 757-766].

За результатами проведеного прескринінгу 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів встановлено, що діапазон середнього значення відсотків росту клітин відносно контролю становить $-59,81 \div -25,09$ % без вираженої селективності дії на окремі види ракових клітин.

Таблиця 1

Результати прескринінгу протипухлинної активності досліджуваних сполук

Сполука	Середнє значення	Діапазон активності	Найбільш чутлива лінія клітин
1	-55,11	-95,64 to 7.87	SF-539 (рак ЦНС)
2	-26,26	-90,18 to 54.01	U251 (рак ЦНС)
3	-59,81	-100,00 to 1.59	SK-MEL-5 (меланома)
4	-56,90	-100,00 to 35.68	SK-MEL-5 (меланома)
5	-25,09	-91,19 to 111.03	U251 (рак ЦНС)
6	-39,61	-100,00 to 72.46	U251 (рак ЦНС)

На основі високих результатів прескринінгу проведено ґрунтовний протипухлинний *in vitro* скринінг [R. H. Shoemaker. The NCI60 Human Tumour Cell Line Anticancer Drug Screen. Nature Reviews / Cancer, 2006, 6, 813-823], який полягав у тестуванні сполук, що заявляються, на 60 лініях людських ракових клітин у 5 концентраціях при 10-кратному розведенні.

Протиракова активність 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів 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, NCI/ADR-RES, SK-OV-3), раку нирок (Renal Cancer) (786-0, A498, ACHN, CAKI-1, RXF 393, SN12C, TK-10, UO-31), раку простати (Prostate Cancer) (PC-3, DU-145), раку молочної залози (Breast Cancer) (MCF7, MDA-MB-231/ATCC, HS 578T, MDA-MB-468, BT-549, T-47D).

В умовах експерименту 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-они проявили високу протипухлинну активність при тестуванні на 60 лініях пухлинних клітин в інгредієнті концентрацій 10^{-4} - 10^{-8} моль/л, як наведено в таблиці 2.

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, речовина, що заявляється, у концентрації менше 10^{-4} моль/л пригнічує ріст пухлинних клітин на 50 % на 50 з 60 досліджуваних ліній та створює повне інгібування росту пухлинних клітин у концентрації менше 10^{-4} моль/л на 37 з 60 досліджуваних ліній.

Результати ґрунтового скринінгу протипухлинної активності, які наведені в таблиці 2, свідчать про високу ефективність досліджуваних сполук, на що вказує діапазон ефективної інгібуючої концентрації 0,12÷8,05 мкМ. Особливо слід відзначити активність сполуки 3, для якої показники ефективної інгібуючої концентрації на більшості видів раку є на порядок меншими ($GI_{50} < 10^{-7}$ М), в порівнянні з іншими сполуками. За результатами *in vitro* скринінгу сполуки, що заявляються, були відібрані для вивчення токсичності *in vivo* і виявились нетоксичними.

Таким чином, сполуки, що заявляються, проявляють високу протипухлинну активність в мікромольних концентраціях і є перспективними протипухлинними засобами.

Таблиця 2

Протипухлинна активність 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів (середні значення активності на різних видах ракових захворювань, мкмоль/л)

Сполука	Показник активності	Середнє значення	Лейкемія	Рак легень	Епітеліальний рак	Рак ЦНС	Меланома	Рак яєчників	Рак нирок	Рак простати	Рак молочної залози
1*	GI ₅₀	0,21	0,25	0,20	0,19	0,18	0,21	0,23	0,18	0,24	0,20
	TGI	1,24	4,23	0,51	0,39	0,39	0,55	3,63	0,36	0,66	0,48
	LC ₅₀	17,51	51,02	3,275	1,07	6,48	5,01	23,42	1,27	39,47	26,54
2*	GI ₅₀	3,16	17,50	0,62	1,68	0,67	4,80	0,97	0,87	0,36	5,96
	TGI	20,96	59,63	4,03	12,36	12,57	27,03	24,19	13,60	2,47	32,79
	LC ₅₀	65,41	97,50	48,73	38,33	48,21	64,07	66,91	51,27	100,0	73,68
3*	GI ₅₀	0,12	0,25	0,078	0,079	0,073	0,075	0,25	0,086	0,091	0,104
	TGI	7,34	14,27	0,43	0,27	1,20	0,26	21,72	3,51	0,73	23,64
	LC ₅₀	41,70	90,95	41,53	25,37	20,90	34,67	56,26	44,63	18,95	41,59
4*	GI ₅₀	0,26	0,37	0,23	0,19	0,19	0,28	0,23	0,27	0,25	0,32
	TGI	9,08	70,77	6,29	0,39	0,50	0,54	0,65	0,85	0,85	0,91
	LC ₅₀	27,76	100,0	30,01	0,81	2,07	1,00	26,67	22,09	-	39,44
5*	GI ₅₀	5,13	19,14	0,46	0,53	8,80	0,35	15,37	0,40	0,40	0,74
	TGI	44,68	71,59	20,91	70,27	27,32	24,67	56,14	42,14	50,72	38,34
	LC ₅₀	89,21	93,10	100,0	83,75	75,86	83,00	100,0	75,50	100,0	91,73
6**	GI ₅₀	8,05	33,91	7,42	2,55	1,11	6,90	1,22	6,37	0,27	5,26
	TGI	27,96	45,62	25,2	35,30	3,24	29,42	39,71	18,84	34,02	20,25
	LC ₅₀	50,94	94,83	48,95	40,36	41,61	43,90	47,12	43,02	41,37	57,30
Вінкристин	GI ₅₀	0,20	0,10	0,25	0,10	0,13	0,16	0,32	0,32	0,13	0,32
	TGI	10,0	15,85	15,85	3,98	6,31	7,94	19,95	19,95	6,31	7,94
	LC ₅₀	251,2	630,9	251,2	79,4	199,5	251,2	316,2	251,2	316,2	316,2

* середні значення двох досліджень

** середні значення трьох досліджень

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів. Сполуки синтезують таким чином.

Синтез 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-онів. Суміш 0,003 моль відповідного 3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміду, 0,003 моль монохлороцтової кислоти, 0,0033 моль відповідного ізатину та 0,006 моль ацетату натрію в 10 мл оцтової кислоти нагрівають протягом 3 год. 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).

Сполука 1. Вихід - 78 %, Т.топл. 310-313 °С. Знайдено, %: N-10,01, S-5,73. C₂₇H₁₉BrN₄O₃S. Вирахувано, %: N-10,32, S-5,58. ЯМР¹H, δ, м.ч.:

3,50 (дд, J=18,6, 3,8 Hz, 1H, CHCH₂), 3,71 (с, 3H, OMe), 4,15 (дд, J=18,6, 10,9 Hz, 1H, CHCH₂), 5,90 (дд, J=10,9, 3,8 Hz, 1H, CHCH₂), 6,85-6,92 (м, 3H, аром.), 7,22 (д, J=8,7 Hz, 2H, аром.), 7,47-7,59 (м, 4H, аром.), 7,89-7,93 (м, 2H, аром.), 9,08 (с, 1H), 11,02 (с, 1H, NH).

Сполука 2. Вихід - 69 %, Т.топл. 309-311 °С. Знайдено, %: N-10,56, S-6,04. C₃₁H₂₂N₄O₃S. Вирахувано, %: N-10,23, S-6,31. ЯМР¹H, δ, м.ч.:

3,62 (дд, J=18,5, 3,1 Hz, 1H, CHCH₂), 3,74 (с, 3H, OMe), 4,26 (дд, J=18,5, 10,8 Hz, 1H, CHCH₂), 5,95 (дд, J=10,8, 3,1 Hz, 1H, CHCH₂), 6,93-6,95 (м, 3H, аром.), 7,02 (д, J=7,3 Hz, 1H, аром.), 7,27 (д, J=8,4 Hz, 2H, аром.), 7,32 (т, J=7,6 Hz, 1H, аром.), 7,60-7,63 (м, 2H, аром.), 7,98-8,08 (м, 4H, аром.), 8,38 (с, 1H, аром.), 8,92 (д, J=7,9 Hz, 1H, аром.), 10,96 (с, 1H, NH).

Сполука 3. Вихід - 71 %, Т.топл. 283-285 °С. Знайдено, %: N-9,19, S-5,26. C₃₁H₂₁BrN₄O₃S. Вирахувано, %: N-9,35, S-5,45. ЯМР¹H, δ, м.ч.: 3,66 (дд, J=17,9, 2,3 Hz, 1H, CHCH₂), 3,76 (с, 3H, OMe), 4,29 (дд, J=17,9, 10,9 Hz, 1H, CHCH₂), 5,98 (дд, J=10,9, 2,3 Hz, 1H, CHCH₂), 6,89 (д, J=8,0 Hz, 1H, аром.), 6,94 (д, J=7,6 Hz, 2H, аром.), 7,29 (д, J=7,6 Hz, 2H, аром.), 7,49 (д, J=7,5 Hz, 2H, аром.), 7,61-7,64 (м, 2H, аром.), 7,99-8,08 (м, 4H, аром.), 8,40 (с, 1H, аром.), 9,12 (с, 1H, аром.), 11,10 (с, 1H, NH).

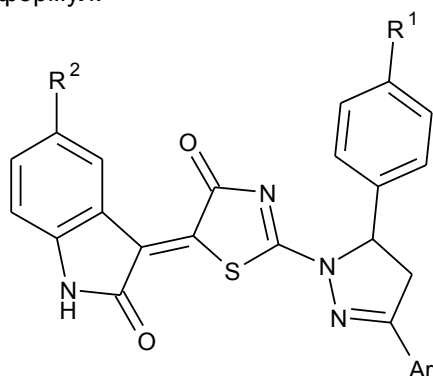
Сполука 4 Вихід - 83 %, Т.топл. 301-303 °С. Знайдено, %: N-11,55, S-6,61. C₂₆H₁₇ClN₄O₂S. Вирахувано, %: N-11,23, S-6,87. ЯМР¹H, δ, м.ч.: 3,52 (дд, J=18,5, 3,8 Hz, 1H, CHCH₂), 4,20 (дд, J=18,5, 11,3 Hz, 1H, CHCH₂), 5,98 (дд, J=11,3, 3,8 Hz, 1H, CHCH₂), 6,94 (д, J=7,8 Hz, 1H, аром.), 7,04 (т, J=7,5 Hz, 1H, аром.), 7,33-7,36 (м, 4H, аром.), 7,45 (д, J=8,4 Hz, 2H, аром.), 7,54-7,61 (м, 4H, аром.), 7,92 (д, J=6,9 Hz, 3H, аром.), 8,92 (д, J=7,9 Hz, 1H, аром.), 11,10 (с, 1H, NH).

Сполука 5 Вихід - 79 %, Т.топл. 312-314 °С. Знайдено, %: N-10,47, S-5,99. $C_{30}H_{19}ClN_4O_2S$.
 Вирахувано, %: N-10,63, S-6,18. ЯМР¹H, δ , м.ч.: 3,67 (дд, J=17,6, 3,2 Hz, 1H, CHCH₂) 4,31 (дд, J=17,6, 10,9 Hz, 1H, CHCH₂), 6,05 (дд, J=10,9, 3,2 Hz, 1H, CHCH₂), 6,94 (д, J=8,1 Hz, 1H, аром.), 7,05 (т, J=7,5 Hz, 1H, аром.), 7,34-7,40 (м, 3H, аром.), 7,47 (д, J=7,2 Hz, 2H, аром.), 7,63-7,66 (м, 2H, аром.), 8,01-8,13 (м, 4H, аром.), 8,41 (с, 1H, аром.), 8,92 (д, J=7,5 Hz, 1H, аром.), 11,15 (с, 1H, NH),

Сполука 6 Вихід - 83 %, Т.топл. 282-285 °С. Знайдено, %: N-14,19, S-6,50. $C_{28}H_{23}N_5O_2S$.
 Вирахувано, %: N-14,35, S-6,21. ЯМР¹H, δ , м.ч.: 2,84 (с, 6H, NMe₂), 3,47 (дд, J=18,5, 4,1 Hz, 1H, CHCH₂), 4,10 (дд, J=18,5, 11,1 Hz, 1H, CHCH₂), 5,82 (дд, J=11,1, 4,1 Hz, 1H, CHCH₂), 6,68 (д, J=8,4 Hz, 2H, аром.), 6,90 (д, J=7,5 Hz, 1H, аром.), 7,02-7,12 (м, 3H, аром.), 7,32 (т, J=7,7 Hz, 1H, аром.), 7,53-7,57 (м, 3H, аром.), 7,89-7,94 (м, 2H, аром.), 8,90 (д, J=7,7 Hz, 1H, аром.), 11,13 (с, 1H, NH).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

3-{2-[5-(3,5-Діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4H-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідроіндол-2-они
 формул:



R¹=OMe, R²=Br, Ar=Ph (1),
 R¹=OMe, R²=H, Ar=нафтален-2-іл (2),
 R¹=OMe, R²=Br, Ar=нафтален-2-іл (3),
 R¹=Cl, R²=H, Ar=Ph (4),
 R¹=Cl, R²=H, Ar=нафтален-2-іл (5),
 R¹=NMe₂, R²=H, Ar=Ph (6),

що виявляють протипухлинну активність.

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601