



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **98037**

(13) **U**

(51) МПК

C07D 277/08 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 12827**

(22) Дата подання заявки: **01.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.04.2015**

(46) Публікація відомостей **10.04.2015, Бюл.№ 7**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Зіменковський Борис Семенович (UA),
Лесик Роман Богданович (UA),
Крицишин Анна Петрівна (UA),
Камінський Данило Володимирович
(UA),
Некстєгаєв Ігор Олексійович (UA)**

(73) Власник(и):

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

(54) **5-(1-ФЕНІЛ-2-МЕРКАПТО-1,3,4-ТРИАЗОЛІЛ-МЕТИЛЕН)-9-(4'-ХЛОРОФЕНІЛ)-3,7-ДИТІА-5-АЗАТЕТРАЦИКЛО-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]ТЕТРАДЕЦЕН-4(8)-ОН-6, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ**

(57) Реферат:

5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6, що проявляє протипухлинну дію.

UA 98037 U

Корисна модель стосується хіміко-фармацевтичної галузі, а саме нових індивідуальних хімічних сполук з біологічною активністю з класу тіазоло[2,3-d]тіопіранів, зокрема 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метиле)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6, що проявляє протипухлинну активність.

Незважаючи на широкий арсенал протипухлинних препаратів у сучасній фармакотерапії онкозахворювань, розробка та пошук нових високоефективних та малотоксичних агентів є актуальною проблемою фармацевтичної галузі. Спрямований пошук протипухлинних агентів серед похідних 4-тіазолідону дозволив виокремити цілу групу конденсованих тіазоло[2,3-d]тіопіранів, що інгібують ріст пухлинних клітин (ліній раку лейкемії, нирок, простати, центральної нервової системи, яйників, недрібноклітинного раку легень, меланоми) у мікро- та субмікромолярних концентраціях [1].

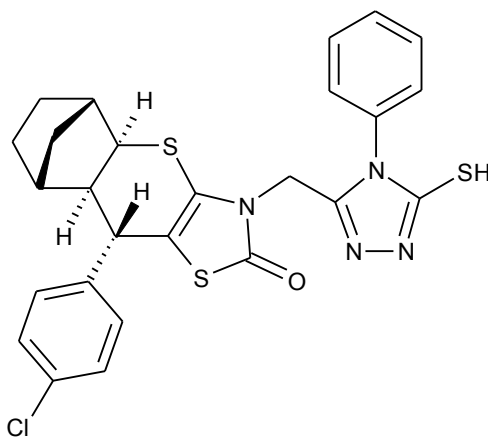
Відомий цитотоксичний протипухлинний препарат етопозид з класу інгібіторів топоізомерази використовується у моно- та комбінованій хіміотерапії сарком Капоші та Евінга, раку легень, яєчок, лімфоми, нелімфоцитарної лейкемії. Етопозид зв'язується із топоізомеразою II, попереджуючи зв'язування ДНК-ланцюгів, таким чином пригнічуючи синтез ДНК, що призводить до інгібування S-G2-інтерфази клітинного циклу та апоптозу ракових клітин. Хоча цей лікарський засіб є ефективним, він характеризується рядом побічних ефектів, найнебезпечнішими серед яких є гематологічна токсичність - мієлосупресія [2].

Серед похідних тіазолідину відомий цитостатик іміфос, що застосовується для терапії еритремії - мієлопроліферативного захворювання з групи лейкозів. Побічними ефектами цього лікарського засобу можуть бути лейкопенія, тромбоцитопенія, також у деяких хворих може розвиватися стійкість до препарату [3].

Отже, розробка нових хімічних сполук, що проявляли б протипухлинну активність, є актуальною проблемою сучасної онкології.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нової хімічної сполуки з класу похідних тіазоло[2,3-d]тіопіранів, що виявлятиме високу протипухлинну дію при низькій токсичності і може використовуватись як діюча речовина у складі фармацевтичних препаратів різних лікарських форм.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метиле)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6 загальної формули:



що проявляє протипухлинну активність.

Синтезована сполука є дрібнокристалічним порошком білого кольору, розчинна у ДМФА, оцтовій кислоті, при нагріванні - в спиртах, нерозчинна у воді та ефірі.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані фізико-хімічні методи, зокрема спектроскопія ПМР та елементний аналіз.

Одержані результати свідчать про відповідність структури синтезованої сполуки заявленим.

Заявлений 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метиле)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6 одержаний з високим виходом у декілька стадій, що включають синтез 9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6, який через стадію одержання N-калійної солі алкілюють етилхлорацетатом. Одержаний естер вводять в реакцію з гідразин-гідратом та отримують гідразид 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-

4(8)-он-6-іл-5)-оцтової кислоти, який при взаємодії з фенілізотіоціанатом та наступному лужному гідролізі приводить до утворення цільового продукту.

Визначення протипухлинної активності 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6 проведено in vitro на лініях ракових клітин лейкемії (CCRF-CEM, K-562, RPMI-8226, SR), недрібноклітинного раку легень (EKVX, NCI-H460), раку центральної нервової системи (SF-295, SNB-75, U251), меланому (SK-MEL-5, UACC-62), раку нирок (CAKI-1, RXF 393, SN12Q, раку простати (PC-3), раку молочної залози (MCF7, BT-549) при дії речовин в концентраціях 10⁻⁴-10⁻⁸М, згідно зі стандартною процедурою оцінки протипухлинної активності сполук Національного Інституту Раку США (National Cancer Institute of National Institute of Health, USA, Development Therapeutic Program). У результаті проведених експериментальних досліджень одержано наступні дозозалежні параметри: IgGI₅₀ - логарифм концентрації досліджуваної речовини, яка пригнічує ріст 50 % клітин, IgTGI - логарифм концентрації досліджуваної речовини, яка повністю пригнічує ріст клітин, IgLC₅₀ - логарифм концентрації досліджуваної речовини, яка спричиняє загибель 50 % клітин [4].

В умовах експерименту, результати якого наведені у таблиці, заявлений 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6 виявив високу протипухлинну активність.

Таблиця

Протипухлинна активність 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6

Лінії ракових клітин	Параметри		
	IgGI ₅₀	IgTGI	IgLC ₅₀
Лейкемія			
CCRF-CEM	-5,48	-4,79	-4,12
K-562	-5,32	>-4,00	>-4,00
RPMI-8226	-5,30	-4,56	>-4,00
SR	-5,48	-4,67	>-4,00
Недрібноклітинний рак легень			
EKVX	-5,27	-4,29	>-4,00
NCI-H460	-5,28	-4,60	>-4,00
Рак центральної нервової системи			
SF-295	-5,47	-4,79	>-4,00
SNB-75	-5,33	-4,23	>-4,00
U251	-5,26	-4,66	-4,17
Меланома			
SK-MEL-5	-5,30	-4,76	-4,37
UACC-62	-5,65	-5,26	-4,69
Рак нирок			
CAKI-1	-5,42	-4,56	>-4,00
RXF393	-5,72	-5,12	-4,47
SN12C	-5,32	-4,54	>-4,00
Рак простати			
PC-3	-5,43	-4,27	>-4,00
Рак молочної залози			
MCF7	-5,30	-4,16	>-4,00
BT-549	-5,34	-4,71	-4,17

20

Сполука, що заявляється, проявила інгібування росту майже всіх ліній ракових клітин. Найменші ефективні значення концентрацій 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6 спостерігалися при дії на лінії лейкемії CCRF-CEM (IgGI₅₀ = -5,48) та SR (IgGI₅₀ = -5,48), лінію раку центральної нервової системи SF-295 (IgGI₅₀ = -5,47), лінію меланому UACC-62 (IgGI₅₀ = -5,65), лінію раку нирок RXF 393 (IgGI₅₀ = -5,72) та лінію раку простати PC-3 (IgGI₅₀ = -5,43).

25

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

Визначення параметрів гострої токсичності сполуки проводили внутрішньочеревним введенням безпородним білим мишам-самцям (вага 18-22 г), які знаходились на звичайному раціоні харчування (речовини суспендували у дистильованій воді з додаванням твіну-80). Значення параметру LD₅₀ заявленої сполуки складає 340±20 мг/кг, сполука відноситься до III класу токсичності згідно з класифікацією К.К. Сидорова [5]. Розрахунки LD₅₀ здійснювали за методом Літчфільда та Уілкоксона [6].

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метиле)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6.

1. Синтез 9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 5 ммоль 5-(4'-хлорофеніл)-метиліден-4-тіоксо-2-тіазолідону, 6 ммоль норборнену-2, кілька кристалів гідрокінону та 10 мл льодяної оцтової кислоти. Реакційну суміш кип'ятять протягом 1 години і охолоджують. Продукт реакції відфільтровують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2) чи оцтової кислоти. Вихід 86 %. Білий кристалічний порошок. T_{топл} = 222-224 °C. C₁₇H₁₆ClNOS₂, Знайдено, %: N 4,00, S 18,33; Вирахувано, %: N 4,10, S 18,20. ¹H ПМР (400 МГц, ДМСО-d₆), δ, м.ч.: δ 1,12м, 1,23д, 1,33м, 1,47м, 1,65м, 2,01м, 2,14м, 2,23м, 3,36д (11H); 7,30д, 7,34д (4H, 4-С1-С₆H₄, J=8,6 Гц); 11,24с (NH). ¹³C ПМР (100 МГц, ДМСО-d₆), δ, м.ч.: 28,29, 28,81, 34,03, 41,09, 42,97, 44,97, 51,15, 56,82, 113,23, 121,33, 128,50, 130,39, 132,00, 140,16, 170,34.

2. Синтез калійної солі 9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6. До підігрітої до 60 °C суспензії 4 ммоль 9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6 у 20 мл етанолу додають при перемішуванні розчин 4 ммоль гідроксиду калію в 10 мл етанолу. Утворену суміш охолоджують та утворений осад фільтрують. Одержану калійну сіль використовують у подальших перетвореннях без додаткової очистки.

3. Синтез етилового естру 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-оцтової кислоти. Суміш 3 моль відповідної калійної солі, 3,3 ммоль етилхлороацетату та каталітичних кількостей KI у 10 мл метанолу та 5 мл ДМФА нагрівають 3 години. Осад, що утворюється при охолодженні, відфільтровують та перекристалізують з оцтової кислоти. Вихід 78 %. Білий кристалічний порошок. T_{топл} = 178-180 °C. C₂₁H₂₂ClNO₃S₂, Знайдено, %: N 3,21, S 14,71; Вирахувано, %: N 3,05, S 15,85. ¹H ПМР (400 МГц, ДМСО-d₆), δ, м.ч.: 1,30т (3H, CH₂CH₃), 1,16м, 1,26д, 1,32м, 1,50т, 1,67т, 2,07м, 2,21м, 3,31д, 3,50д (11H, норборнановий фрагмент, Ar-CH), 4,21кв (2H, CH₂CH₃), 4,37с (2H, CH₂COOEt), 7,33м (4H, 4-Cl-C₆H₄).

4. Синтез гідразиду 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-оцтової кислоти. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують суміш 3 ммоль відповідного етилового естру, 4 ммоль гідразин-гідрату та 20 мл етанолу та кип'ятять протягом 5 годин. Утворений осад відфільтровують та перекристалізують з оцтової кислоти. Вихід 60 %. Білий кристалічний порошок. T_{топл} = 219-221 °C. C₁₉H₂₀ClN₃O₂S₂, Знайдено, %: N 9,96, S 15,20; Вирахувано, %: N 9,80, S 15,30. ¹H ПМР (400 МГц, ДМСО-d₆), δ, м.ч.: 1,14м, 1,23д, 1,31т, 1,48м, 1,66м, 2,02м, 2,20м, 2,26м, 3,32д (J=7,9 Гц), 3,52д (J=9,7 Гц) (11H, норборнановий фрагмент, Ar-CH) 4,31 дд (2H, J=16,3 Гц, CH₂CONHNH₂), 7,37м (4H, 4-Cl-C₆H₄), 8,10шс (1H, NH), 9,60 шс (2H, NH₂).

5. Синтез 4-[9-(4'-хлорофеніл)-6-оксо-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ен-5-іл]-ацетил-1-феніл-тіосемікарбазиду. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 3 ммоль сполуки гідразиду 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-оцтової кислоти, 4 ммоль фенілізотіоціанату, 20 мл етанолу та кип'ятять протягом 1 години і охолоджують. Продукт реакції відфільтровують, промивають водою, спиртом, ефіром і перекристалізують з етанолу. Вихід 64 %. Білий кристалічний порошок. T_{топл} = 188-190 °C. C₂₆H₂₅ClN₄O₂S₃, Знайдено, %: N 10,06, S 17,26; Вирахувано, %: N 9,90, S 17,40.

6. Синтез 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метиле)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ону-6. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 2,5 ммоль 4-[9-(4'-хлорофеніл)-6-оксо-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-ен-5-іл]-ацетил-1-феніл-тіосемікарбазиду, 10 мл 2 % розчину NaOH і кип'ятять протягом 2 годин. Після охолодження реакційну суміш підкислюють до pH=5 розведеним розчином HCl та фільтрують. Кристалізують з суміші ДМФА: EtOH(1:2). Вихід 72 %. Білий кристалічний порошок. T_{топл} = >250 °C. C₂₆H₂₃ClN₄OS₃, Знайдено, %: N 10,39, S 17,84; Вирахувано, %: N 10,30, S 18,00. ¹H ПМР (400 МГц, ДМСО-d₆), δ, м.ч.: 1,11т, 1,20д, 1,30т, 1,44т,

1,63м, 1,95м, 2,15м, 2,23м, 3,25д (J=7,6 Гц), 3,49д (J=10,5 Гц) (11H, норборнаний фрагмент, Ar-CH), 4,74дд (2H, J=16,9 Гц, CH₂COC), 7,40м, 7,56м (9H, Ar), 13,90с (1H, SH).

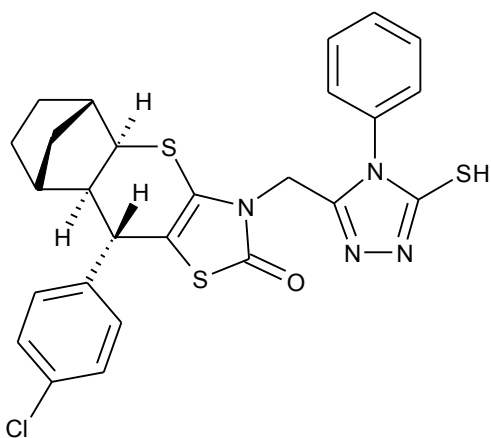
Джерела інформації:

- 5 1. Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S., Kaminsky D.V. et al. Thiazolidinone motif in anticancer drug discovery. Experience of DH LNMU medicinal chemistry scientific group // Biopolymer and Cell.-2011. - Vol. 27, №2. - P. 107-117; Kryshchysyn A., Atamanyuk D., Lesyk R. Fused thiopyrano[2,3-d] thiazole derivatives as potential anticancer agents // Scientia Pharmaceutica.-2012. - Vol. 80, №3.- P.509-529.
- 10 2. Hande, K. R. Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor // European Journal of Cancer.-1998. -Vol. 34, №10. -P. 1514-1521.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т.2. Изд. 14-е, новое. - Москва: Новая волна, 2002.-417 с.
- 15 4. 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. - Vol. 48. - P.589-601; Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen // Drug Development Research.-1995. - Vol. 34, №2. - P.91-109; Monks A., Scudiero D., Skehan P., et al. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines // Journal of National
- 20 Cancer Institute.-1991. - Vol. 83, №11. - P.757-766.
5. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ.-1973. -№ 13.-С. 47-51.
6. Litchfield J.J., Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.-1949. -Vol. 96.-P. 99-103.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метил)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6 загальної формули:



30

що проявляє протипухлинну дію.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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

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