

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **219424**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **402592**

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **28.01.2013**

(54) **Estry etylowe kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych, sposób ich otrzymywania i zastosowanie medyczne**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
12.05.2014 BUP 10/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.04.2015 WUP 04/15

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIwersYTET MEDYCZNY W LUBLINIE,
Lublin, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
KRZYSZTOF SZTANKE, Lublin, PL
MAŁGORZATA SZTANKE, Lublin, PL

(74) Pełnomocnik:
rzech. pat. Anna Bełz

PL 219424 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są biologicznie aktywne estry etylowe kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik arylowy, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl. Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania nowych związków oraz ich zastosowanie medyczne.

Jak wynika z badań przeprowadzonych wcześniej pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onu wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej, w tym aktywność przeciwnowotworową (Sztanke K., Rzymowska J., Niemczyk M., Dybała I., Kozioł A.: Eur. J. Med. Chem. 41, 539, 2006; Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M.: Eur. J. Med. Chem. 43, 1085, 2008; Sztanke K., Pasternak K., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M., Kozioł A., Dybała I.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 5095, 2009; Sztanke K., Tuzimski T., Sztanke M., Rzymowska J., Pasternak K.: Bioorg. Med. Chem. 19, 5103, 2011), antymetastatyczną (Sztanke K., Pasternak K., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M., Kozioł A., Dybała I.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 5095, 2009), a także przeciwwirusową i przeciwbakteryjną (Sztanke K., Pasternak K., Rajtar B., Sztanke M., Majek M., Polz-Dacewicz M.: Bioorg. Med. Chem. 15, 5480-5486, 2007). Na szczególną uwagę zasługują pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onu, które w badaniach *in vitro* okazały się niskotoksyczne lub nietoksyczne wobec komórek prawidłowych przy wysokiej cytotoksyczności wobec komórek nowotworowych (Sztanke K., Rzymowska J., Niemczyk M., Dybała I., Kozioł A.: Eur. J. Med. Chem. 41, 539, 2006; Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M.: Eur. J. Med. Chem. 43, 1085, 2008; Sztanke K., Tuzimski T., Sztanke M., Rzymowska J., Pasternak K.: Bioorg. Med. Chem. 19, 5103, 2011). Inne pochodne tego układu odznaczają się zaś silną aktywnością analgetyczną przy relatywnie niskiej toksyczności ostrej (LD₅₀ powyżej 2000 mg/kg m.c. i.p.), co dowiedziono w testach behawioralnych na zwierzętach laboratoryjnych (myszy Albino-Swiss) (Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 71, 1997; Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 147, 1997). Z danych literaturowych wynika też, że niektóre pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onu znalazły zastosowanie jako herbicydy (Franke W., Klose W., Arndt F.: Patent niemiecki DE 3302413, 1984; Chem. Abstr. 101,230576a).

Znane są pochodne estru metylowego kwasu 2-(4,6,7,8-tetrahydro-4-oksoimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowego. Zostały one po raz pierwszy otrzymane przez Le Counta i Greera, a następnie przez Franke i wsp. w wyniku reakcji jodowodoru 2-hydrazyno-2-imidazoliny i 1-metylo-2-hydrazyno-2-imidazoliny z estrem dimetylowym kwasu acetylenodikarboksylowego (DMAD) (Le Count D.J., Greer A.T.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 2, 297, 1974; Franke W., Klose W., Arndt F.: Patent niemiecki DE 3302413, 1984; Chem. Abstr. 101, 230576a, 1984). Związki te w pozycji 8 nie zawierały podstawnika lub zawierały podstawnik alkilowy i znalazły zastosowanie jako herbicydy. W poprzednich badaniach także stwierdzono, że arylove pochodne estru metylowego kwasu 6,7-dihydro-4-oksoimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowego tworzą się w wyniku addycji 1-fenylpodstawionych pochodnych 2-hydrazonoimidazolidyny do estru dimetylowego kwasu acetylenodikarboksylowego (DMAD) oraz cyklokondensacji łańcuchowych intermediatów (Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 147, 1997). Związki te wykazywały aktywność przeciwbólową w testach behawioralnych na zwierzętach laboratoryjnych (myszy Albino-Swiss).

Będące przedmiotem wynalazku estry etylowe kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych podstawione w pozycji 8 fenylem, alkilofenylem, alkoksyfenylem, monochlorofenylem i dichlorofenylem stanowią grupę związków nowych i dotychczas nieopisanych w literaturze źródłowej.

Otrzymane według wynalazku związki heterocykliczne są stałymi substancjami krystalicznymi, rozpuszczalnymi w polarnych aprotynowych rozpuszczalnikach organicznych, zwłaszcza w dimetyloformamidzie czy dimetylosulfotlenku oraz w rozpuszczalnikach polarnych protonowych, zwłaszcza w izopropanolu czy etanolu, charakteryzującymi się znaczącą aktywnością przeciwnowotworową.

Związki o wzorze ogólnym 1, według wynalazku otrzymuje się przez kondensację odpowiednio podstawionego halogenowodoru hydrazonu imidazolidyno-2-onu, to jest związku o wzorze ogólnym 2, w którym R oznacza podstawnik aromatyczny, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl, i 4-chlorofenyl, dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, a X oznacza halo-

gen, korzystnie jod, chlor lub brom, z estrem dietylowym kwasu acetylenodkarboksylowego (DEAD), to jest związkami o wzorze ogólnym 3, stosując proporcje molowe substratów 1:1. W przypadku pochodnej fenylowej i 2-metoksyfenylowej kondensację prowadzi się w środowisku metanolu lub etanolu w temperaturze pokojowej przez okres 6-24 godzin, natomiast w przypadku pozostałych pochodnych kondensację prowadzi się w środowisku alkoholu alifatycznego, zwłaszcza *n*-butanolu, izopropanolu, *n*-propanolu lub etanolu, w temperaturze wrzenia przez okres 4-6 godzin i proces prowadzi się w obecności substancji zasadowych wiążących wydzielający się halogenowodór, korzystnie w obecności trietyloaminy, pirydyny, alkoholanów metali alkalicznych, węgla sodu lub potasu. Po zakończeniu reakcji mieszaninę reakcyjną zatęże się przez oddestylowanie rozpuszczalnika organicznego do połowy objętości pod zmniejszonym ciśnieniem i oziębia się. Wydzielony osad po oddzieleniu od rozpuszczalnika przemywa się kolejno wodą i zimnym alkoholem w celu usunięcia soli zawierających chemicznie związany halogenowodór, a pozostałość oczyszcza się przez krystalizację z rozpuszczalników polarnych aprotowych, korzystnie z dimetyloformamidu lub z mieszaniny rozpuszczalników polarnych: protonowego, korzystnie alkoholu metylowego i aprotowego, korzystnie dimetyloformamidu w stosunku objętościowym 1:1 do 1:2.

Przedmiotem wynalazku są również związki o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik arylowy, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, do zastosowania jako leki przeciwnowotworowe.

Przedmiotem wynalazku jest również zastosowanie związków o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik arylowy, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl zwłaszcza, 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, do wytwarzania leków na szpiczaka mnogiego, raka szyjki macicy, a także na raka piersi.

Otrzymane według wynalazku nowe związki wykazują działanie przeciwnowotworowe. Działanie to potwierdzono w badaniach *in vitro*. Związki odznaczają się cytotoxycnością wobec komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego linii MM1R i MM1S, raka szyjki macicy linii HeLa oraz komórek ludzkiego raka piersi linii T47D. Nowo zsyntetyzowane związki odznaczają się najwyższą aktywnością antyproliferacyjną w stosunku do komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego linii MM1R.

Badania aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* nowo zsyntetyzowanych związków przeprowadzono na następujących liniach komórkowych:

1. HSF - fibroblasty skóry ludzkiej (linia prawidłowa)
2. MM1R - linia komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego oporna na talidomid (linia nowotworowa)
3. MM1S - linia komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego wrażliwa na talidomid (linia nowotworowa)
4. HeLa (ECACC 93021013) - linia komórek ludzkiego raka szyjki macicy (referencyjna linia nowotworowa)
5. T47D (ECACC 85102201) - linia komórek ludzkiego raka piersi (referencyjna linia nowotworowa).

Aktywność przeciwnowotworową badanych związków określono immunocytochemiczną metodą interkorporacyjną z 5-bromo-2'-deoksyurydyną po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji, a wyniki, wyrażone jako procent hamowania wzrostu komórek prawidłowych i nowotworowych, przedstawiono w Tabeli 1.

Wszystkie nowo zsyntetyzowane związki wykazują znaczącą aktywność antyproliferacyjną w stosunku do komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego linii MM1R i MM1S. Ponadto pochodna fenylowa i 4-metylofenylowa odznaczają się znaczącą cytotoxycnością wobec komórek ludzkiego raka piersi linii T47D i ludzkiego raka szyjki macicy linii HeLa a pochodna 3,4-dichlorofenylowa wykazuje znaczącą aktywność antyproliferacyjną wobec komórek linii HeLa.

Z przeprowadzonych badań wynika, że najwyższą cytotoxycnością w stosunku do komórek szpiczaka mnogiego linii MM1R odznaczało się pięć związków: pochodna fenylowa, 3-chlorofenylowa, 4-chlorofenylowa, które dodane do hodowli komórek tej linii w stężeniu efektywnym 50 µg/ml po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji hamowały ich wzrost odpowiednio o 80, 85 i 90% oraz pochodne 2-metoksyfenylowa i 3,4-dichlorofenylowa, które dodane do hodowli komórek tej linii w stężeniu efektywnym 50 µg/ml po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji hamowały ich wzrost odpowiednio o 75, 80 i 95% oraz o 65, 80 i 90%. Ponadto stwierdzono wyraźnie zaznaczoną niską cytotoxycność pochodnej 3-chlo-

ro-fenylowej w stosunku do komórek prawidłowych - fibroblastów skóry ludzkiej (HSF), a kilkakrotnie wyższą - wobec komórek nowotworowych linii MM1R, MM1S, T47D po 24, 48 i 72 h inkubacji a także wobec komórek linii HeLa po 48 i 72 h inkubacji. Ta znacząca różnica w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych i prawidłowych może świadczyć o selektywnym działaniu tego związku. Związek ten może posłużyć do poznania i wyselekcjonowania nowych struktur wiodących o aktywności przeciwnowotworowej, odznaczających się mniejszą toksycznością a większą selektywnością działania.

P r z y k ł a d I. Do zawiesiny 12,17 g (0,04 mola) jodowodoru hydrazonu 1-fenylimidazolidyno-2-onu w 60 ml metanolu dodano 6,81 g (0,04 mola) estru dietylowego kwasu acetylenodikarboksylowego i umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło mechaniczne oraz wkraplacz. Następnie podczas ciągłego mieszania z wkraplacza dodano 5,6 ml trietyloaminy. Zawartość kolby pozostawiono na 24 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę reakcyjną zatężono przez oddestylowanie rozpuszczalnika do połowy objętości pod zmniejszonym ciśnieniem i po oziębieniu pozostawiono w lodówce na kilka godzin. Wytrącony surowy osad odsączono i przemyto na sączku kolejno czterema porcjami wody po 5 ml, a następnie 10 ml zimnego metanolu. Osad przekryształizowano z dimetyloformamidem. Po wysuszeniu otrzymano 6,61 g (55% wydajności teoretycznej) estru etyloвого kwasu 2-(4-okso-8-fenyl-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-yl)octowego o temperaturze topnienia 177-179°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1732.53 (egzocykl. C=O), 1694.84 (endocykl. C=O), 762.71, 696.67 (monopodstawiony pierścień benzenu).

Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.69 (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOCH}_2\text{CHO}_3$), 4.07-4.16 (m, 6H: 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ i 4H, 2CH₂), 7.12-7.85 (m, 5H, ar-H).

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 36.1 (C-9, CH₂), 40.1 (C-6, CH₂), 45.0 (C-7, CH₂), 60.5 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 118.7 (CH), 123.4 (2CH), 128.8 (2CH), 138.8 (C), 147.2 (C-3), 151.9 (C-8a), 152.0 (C-4, endocykl. C=O), 169.2 (C-10, egzocykl. C=O).

P r z y k ł a d II. Do zawiesiny 12,73 g (0,04 mola) jodowodoru hydrazonu 1-(4-metylofenyl)imidazolidyno-2-onu w 60 ml *n*-butanolu dodano 6,81 g (0,04 mola) estru dietylowego kwasu acetylenodikarboksylowego i umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i mieszadło mechaniczne oraz wkraplacz. Następnie podczas ciągłego mieszania z wkraplacza dodano 5,6 ml trietyloaminy. Zawartość kolby mieszano przez 15 minut w temperaturze pokojowej a następnie przez 4 godziny w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Następnie mieszaninę reakcyjną zatężono przez oddestylowanie rozpuszczalnika do połowy objętości pod zmniejszonym ciśnieniem. Po oziębieniu pozostawiono w lodówce na kilka godzin, a wytrącony surowy osad odsączono i przemyto na sączku kolejno wodą (4 x 5 ml), a następnie 10 ml zimnego metanolu. Osad przekryształizowano z mieszaniny metanol/dimetyloformamid w stosunku objętościowym 1:2. Po wysuszeniu otrzymano 7,92 g (63% wydajności teoretycznej) osadu estru etyloвого kwasu 2-[4-okso-8-(4-metylofenyl)-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-yl]octowego o temperaturze topnienia 208-210°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1733.22 (egzocykl. C=O), 1687.47 (endocykl. C=O), 822.49 (1,4-dipodstawiony pierścień benzenu).

Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.30 (s, 3H, CH₃), 3.68 (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.06-4.14 (m, 6H: 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ i 4H, 2CH₂), 7.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, ar-H: H-2' i H-6'), 7.71 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, ar-H: H-3' i H-5').

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 20.3 (C-4', CH₃), 36.1 (C-9, CH₂), 40.1 (C-6, CH₂), 45.1 (C-7, CH₂), 60.5 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 118.8 (2CH), 129.2 (2CH), 132.6 (C), 136.3 (C), 146.9 (C-3), 151.9 (C-8a), 152.0 (C-4, endocykl. C=O), 169.3 (C-10, egzocykl. C=O).

P r z y k ł a d III. Postępując analogicznie jak w przykładzie I, do reakcji użyto jodowodorek hydrazonu 1-(2-metoksyfenyl)imidazolidyno-2-onu, metanol, ester dietylowy kwasu acetylenodikar-

boksylowego i trietyloaminę. Otrzymano 8,85 g (67% wydajności teoretycznej) osadu estru etylowego kwasu 2-[4-okso-8-(2-metoksyfenilo)-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo]octowego o temperaturze topnienia 183-185°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1732.07 (egzocykl. C=O), 1679.43 (endocykl. C=O), 757.22 (1,2-dipodstawiony pierścień benzenu).

Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.64 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{-COOCH}_2\text{CH}_3$), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.96-4.24 (m, 4H, 2CH_2), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 7.00-7.47 (m, 4H, ar-H).

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 36.1 (C-9, CH_2), 41.1 (C-6, CH_2), 46.9 (C-7, CH_2), 55.7 (C-2', CH_3O), 60.4 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 112.7 (CH), 120.6 (CH), 125.9 (C), 128.5 (CH), 129.2 (CH), 146.2 (C-3), 152.1 (C-8a), 153.6 (C-4, endocykl. C=O), 154.9 (C), 169.4 (C-10, egzocykl. C=O).

Przykład IV. Postępując analogicznie jak w przykładzie II, do reakcji użyto jodowodorek hydrazonu 1-(3-chlorofenylo)imidazolidyno-2-onu, *n*-butanol, ester dietylowy kwasu acetylenodkarboksylowego i trietyloaminę. Otrzymano 8,03 g (60% wydajności teoretycznej) osadu estru etylowego kwasu 2-[4-okso-8-(3-chlorofenylo)-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo]octowego o temperaturze topnienia 138-140°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1736.99 (egzocykl. C=O), 1691.61 (endocykl. C=O), 1093.36 (aromatyczne C-Cl), 889.96, 768.33, 676.92 (1,3-dipodstawiony pierścień benzenu).

Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.71 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.07-4.17 (m, 6H: 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ i 4H, 2CH_2), 7.18-8.14 (m, 4H, ar-H).

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 36.1 (C-9, CH_2), 40.2 (C-6, CH_2), 45.0 (C-7, CH_2), 60.5 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 116.7 (CH), 118.2 (CH), 123.0 (CH), 130.5 (CH), 133.3 (C), 140.2 (C), 147.8 (C-3), 151.7 (C-8a), 151.9 (C-4, endocykl. C=O), 169.1 (C-10, egzocykl. C=O).

Przykład V. Postępując analogicznie jak w przykładzie II, do reakcji użyto jodowodorek hydrazonu 1-(4-chlorofenylo)imidazolidyno-2-onu, *n*-butanol, ester dietylowy kwasu acetylenodkarboksylowego i trietyloaminę. Otrzymano 8,57 g (64% wydajności teoretycznej) osadu estru etylowego kwasu 2-[4-okso-8-(4-chlorofenylo)-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo]octowego o temperaturze topnienia 179-181°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1721.18 (egzocykl. C=O), 1688.69 (endocykl. C=O), 1092.88 (aromatyczne C-Cl), 830.32 (1,4-dipodstawiony pierścień benzenu).

Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.70 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 4.06-4.16 (m, 6H: 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ i 4H, 2CH_2), 7.46-7.91 (m, 4H, ar-H).

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 36.1 (C-9, CH_2), 40.2 (C-6, CH_2), 45.0 (C-7, CH_2), 60.5 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 120.2 (2CH), 127.2 (C), 128.7 (2CH), 137.8 (C), 147.5 (C-3), 151.8 (C-8a), 151.9 (C-4, endocykl. C=O), 169.2 (C-10, egzocykl. C=O).

Przykład VI. Postępując analogicznie jak w przykładzie II, do reakcji użyto jodowodorek hydrazonu 1-(3,4-dichlorofenylo)imidazolidyno-2-onu, *n*-butanol, ester dietylowy kwasu acetylenodkarboksylowego i trietyloaminę. Otrzymano 8,71 g (59% wydajności teoretycznej) osadu estru etylowego kwasu 2-[4-okso-8-(3,4-dichlorofenylo)-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo]octowego o temperaturze topnienia 180-182°C.

Widmo IR (KBr) (ν , cm^{-1}):

1728.94 (egzocykl. C=O), 1695.15 (endocykl. C=O), 1094.73 (aromatyczne C-Cl), 911.79, 845.54, 691.16 (1,2,4-tripodstawiony pierścień benzenu).

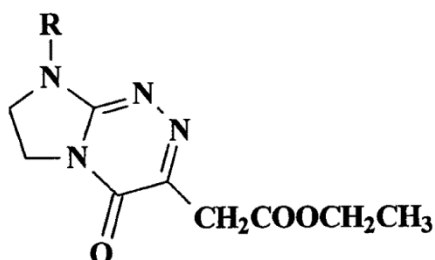
Widmo ^1H NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.71 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CHO}_3$), 4.07-4.16 (m, 6H: 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ i 4H, 2CH_2), 7.64-8.28 (m, 3H, ar-H).

Widmo ^{13}C NMR (δ , ppm, DMSO- d_6 , TMS, 300 MHz):

14.0 (C-12, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 36.1 (C-9, CH_2), 40.2 (C-6, CH_2), 45.0 (C-7, CH_2), 60.6 (C-11, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 118.3 (CH), 119.8 (CH), 124.9 (C), 130.6 (CH), 131.2 (C), 138.8 (C), 148.0 (C-3), 151.7 (C-8a), 151.8 (C-4, endocykl. C=O), 169.1 (C-10, egzocykl. C=O).

T a b e l a 1. Cytotoksyczność (wyrażona jako procent hamowania wzrostu komórek) nowych estrów etylowych kwasów 2-(4-okso-8-arylo-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych w stężeniu efektywnym 50 $\mu\text{g/ml}$



R	Czas inkubacji	% hamowania wzrostu w liniach komórkowych				
		HSF	MMIR	MMIS	HeLa	T47D
C_6H_5	24 h	25	80	25	20	40
	48 h	50	85	30	75	80
	72 h	50	90	80	75	85
4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$	24 h	50	60	50	20	25
	48 h	75	70	60	70	75
	72 h	80	75	70	70	80
2- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$	24 h	50	75	45	10	30
	48 h	80	80	55	45	35
	72 h	80	95	85	50	40
3- ClC_6H_4	24 h	10	80	55	10	55
	48 h	10	85	60	50	55
	72 h	10	90	80	50	55
4- ClC_6H_4	24 h	50	80	45	20	50
	48 h	75	85	75	30	50
	72 h	80	90	90	40	50
3,4- $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3$	24 h	50	65	40	45	25
	48 h	60	80	65	45	40
	72 h	70	90	80	80	50

HSF – human skin fibroblast cells – linia fibroblastów skóry ludzkiej – linia prawidłowa

MM1R – linia komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego oporna na talidomid (linia nowotworowa)

MM1S – linia komórek ludzkiego szpiczaka mnogiego wrażliwa na talidomid (linia nowotworowa)

HeLa (ECACC 93021013) – linia komórek ludzkiego raka szyjki macicy

T47D (ECACC 85102201) – linia komórek ludzkiego raka piersi

Stężenie efektywne 50 $\mu\text{g/ml}$ odpowiada następującym stężeniom; 0.166 mM (pochodna fenylova), 0.159 mM (pochodna 4-metylofenylova), 0.151 mM (pochodna 2-metoksyfenylova), 0.149 mM (pochodna 3-chlorofenylova i 4-chlorofenylova), 0.135 mM (pochodna 3,4-dichlorofenylova).

Zastrzeżenia patentowe

1. Estry etylowe kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik aromatyczny, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl zwłaszcza, 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl.

2. Sposób otrzymywania nowych estrów etylowych kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik aromatyczny, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, **znamienny tym**, że związek o wzorze ogólnym 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie, a X oznacza halogen, korzystnie jod, chlor lub brom, poddaje się reakcji z estrem dietylowym kwasu acetylenodikarboksylowego, to jest związkiem o wzorze ogólnym 3, stosując proporcje molowe substratów 1:1, w obecności substancji zasadowych wiążących wydzielający się halogenowódor, przy czym w przypadku pochodnej fenylowej i 2-metoksyfenylowej proces prowadzi się w środowisku metanolu lub etanolu w temperaturze pokojowej przez okres 6-24 godzin, zaś w przypadku pozostałych pochodnych w środowisku alkoholu alifatycznego, zwłaszcza *n*-butanolu, izopropanolu, propanolu lub etanolu, w temperaturze wrzenia przez okres 4-6 godzin, a po zakończeniu reakcji wydzielony osad po oddzieleniu od rozpuszczalników przemycwa się kolejno wodą i zimnym alkoholem w celu usunięcia soli zawierających chemicznie związany halogenowódor, a następnie poddaje się krystalizacji.

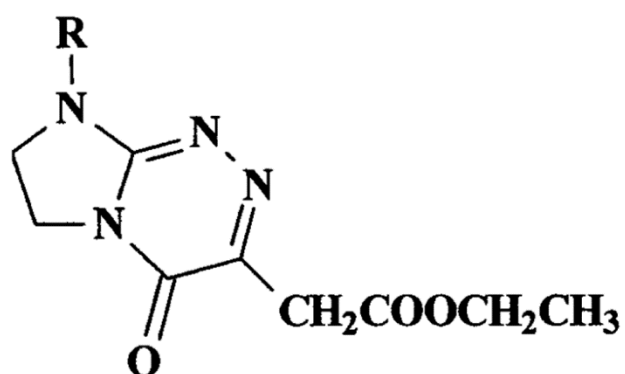
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że jako substancje zasadowe wiążące wydzielający się halogenowódor stosuje się trietyloaminę, pirydynę, alkoholany metali alkalicznych, węglan sodu lub potasu.

4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że krystalizację prowadzi się z użyciem rozpuszczalników polarnych aprotynowych, korzystnie dimetyloformamidu lub z użyciem mieszaniny rozpuszczalnika polarnego protonowego, korzystnie alkoholu metylowego oraz polarnego aprotynowego, korzystnie dimetyloformamidu w stosunku objętościowym 1:1 do 1:2.

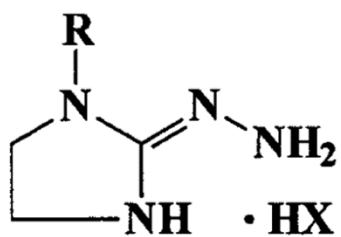
5. Estry etylowe kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik aryłowy, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, do zastosowania jako leki przeciwnowotworowe.

6. Zastosowanie estrów etylowych kwasów 2-(4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-3-ylo)octowych o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik aromatyczny, korzystnie fenyl i jego podstawione analogi, takie jak: alkilofenyl, zwłaszcza 4-metylofenyl, alkoksyfenyl, zwłaszcza 2-metoksyfenyl, monochlorofenyl, zwłaszcza 3-chlorofenyl i 4-chlorofenyl lub dichlorofenyl, zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, do wytwarzania leków na szpiczaka mnogiego, raka szyjki macicy oraz na raka piersi.

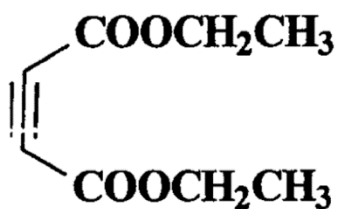
Rysunek



WZÓR 1



WZÓR 2



WZÓR 3