

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **235483**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **408238**

(22) Data zgłoszenia: **19.05.2014**

(51) Int. Cl.

C07C 50/18 (2006.01)

C07D 241/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54) **Wielocząsteczkowe układy molekularne zawierające pierścienie 9,10-antrachinonu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

23.11.2015 BUP 24/15

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

24.08.2020 WUP 12/20

(73) Uprawniony z patentu:

UNIWERSYTET GDAŃSKI, Gdańsk, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ELŻBIETA MAGDALENA CZACZYK,
Pruszcz Gdański, PL**

**PAWEŁ LUCJAN NIEDZIAŁKOWSKI,
Człuchów, PL**

TADEUSZ OSSOWSKI, Gdańsk, PL

JOANNA WIETRZYK, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Justyna Pawłowska

PL 235483 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są wielocząsteczkowe układy molekularne zawierające pierścienie 9,10-antrachinonu.

Wynalazek dotyczy grupy nowych antybiotyków cytostatycznych hamujących podział komórek.

Choroby nowotworowe stały się główną przyczyną umieralności, szczególnie w XXI wieku głównie dlatego, że są one bardzo trudne do zdiagnozowania i wyleczenia.

Znane związki posiadające w swej strukturze szkielet 9,10-antrachinonu zaliczane są do najliczniejszej grupy antybiotyków zwanych antracyklinami, bądź antybiotykami antrachinonowymi. Wśród stosowanych pochodnych antrachinonów można wyróżnić antracykliny (*doksorubicyna*, *daunorubicyna*, *idarubicyna*, *epirubicyna*, *alkarubicyna*, *mitoksantron* i ich syntetyczne pochodne). Związki te stosowane są głównie jako leki w terapii leczenia ostrych białaczek, chłoniaków i różnych guzów litych, w tym raka piersi, płuc, tarczycy, jajnika oraz raka tkanek miękkich (Zajca A., Gorczyca M., *Chemia leków*. PZWL, Warszawa, 1999).

Antybiotyki antracyklinowe są najliczniejszą grupą antybiotyków cytostatycznych hamujących podział komórek stosowanych w najczęściej w terapii przeciwnowotworowej.

W znanej literaturze zaproponowano kilka różnych mechanizmów wyjaśniających biologiczne działanie tych antybiotyków. Pierwszy z nich oparty jest na interkalacji, czyli wstawianiu chemioterapeutyku pomiędzy dwie sąsiadujące ze sobą pary zasad w DNA. Interkalacja w helisę DNA może spowodować jej wydłużenie lub pęknięcie oraz zmianę właściwości biochemicznych, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania zdolności do replikacji i transkrypcji (F. Gieseler, H. Biersack, T. Brieden, J. Manderscheid, V. Nübler, *Annals of Hematology*, 1994, 69, 13–17).

Antybiotyki antracyklinowe są również inhibitorami topoizomerazy I i II. Topoizomerazy I i II są grupą homodimerycznych enzymów chromosomalnych odgrywających zasadniczą rolę w utrzymaniu fizjologicznej funkcji DNA. Enzymy te katalizują proces relaksacji cząsteczek DNA z chromosomów przez spowodowanie okresowo powtarzających się tzw. pęknięć, przerw w jednej lub dwóch niciach DNA, co ma wpływ na prawidłowy proces replikacji i transkrypcji (Omyła-Staszewska J., Deptała A. *Współczesna onkologia*, 2003, 7, 45–53).

Dodatkowo związki te związane z błoną komórkową mogą mieć istotny wpływ na płynność błon komórkowych, transport jonów, a także zakłócają równowagę procesów biochemicznych w komórce. Właściwości redoks antybiotyków antracyklinowych mogą doprowadzić do wytworzenia wolnych rodników lub rodników hydroksylowych, które powodują uszkodzenie DNA, co w konsekwencji prowadzi do zablokowania procesu transkrypcji (Frederick C. A., Williams L. D., Ughetto G., Marel G. A., Boom J. H., Rich A., Wang A. H. *Biochemistry*, 1990, 29, 2538–2549).

Znane i opisane rozwiązania środków o aktywności przeciwnowotworowej i sposobów ich otrzymywania wykazują liczne wady.

Wadą antybiotyków antracyklinowych jest ich kardiotoxyczność oraz rozwój oporności w komórkach nowotworowych występująca obok innych działań niepożądanych. Zaburzenia w krążeniu przypisuje się produktom powstającym podczas biotransformacji antracyklin, szczególnie przy redukcji ugrupowań chinonowych do hydrochinonowych. Powstające rodniki tlenowe oraz rodniki hydroksylowe powodują tworzenie struktur nadtlenkowych w lipidach, a ich stopniowy rozkład prowadzi do związków działających uszkodzająco na mięsień sercowy.

Dlatego też, oczywistą potrzebą współczesnej medycyny jest poszukiwanie nowych związków, potencjalnych chemioterapeutyków przeciwnowotworowych.

Wynalazek rozwiązuje zagadnienie opracowania nowych środków o aktywności przeciwnowotworowej nowego sposobu ich otrzymywania na bazie pochodnych 9,10-antrachinonu.

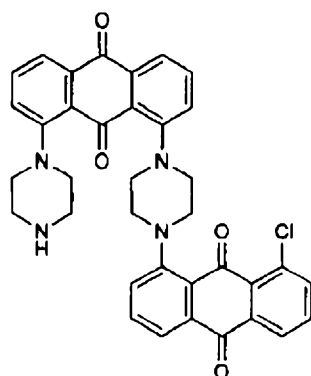
Wynalazek opiera się na otrzymaniu wielocząsteczkowych układów molekularnych powstałych na bazie 9,10-antrachinonu podstawionych w pozycji 1,8- i 1,5- pierścienia antrachinonu połączonych ze sobą i zawierających w swojej strukturze cząsteczki piperazyny.

Otrzymaną grupą związków będących przedmiotem wynalazku, są pochodne podstawione w pozycji 1,8- pierścienia antrachinonu.

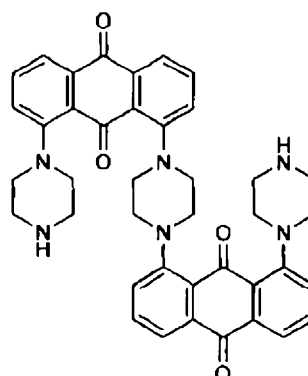
Pierwszym związkiem jest 1-chloro-8-(4-(8-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon-1-ylo)piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon (związek **1**) zawierający dwie cząsteczki piperazyny i atom chloru.

Drugim związkiem jest 8,8'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) (związek **2**) zawierający w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny.

Obie pochodne charakteryzują się zróżnicowaną aktywnością przeciwnowotworową w zależności od postawienia.



(Związek 1)

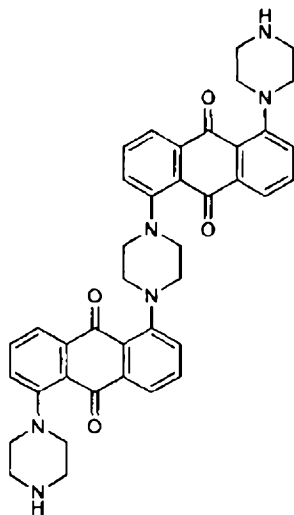


(Związek 2)

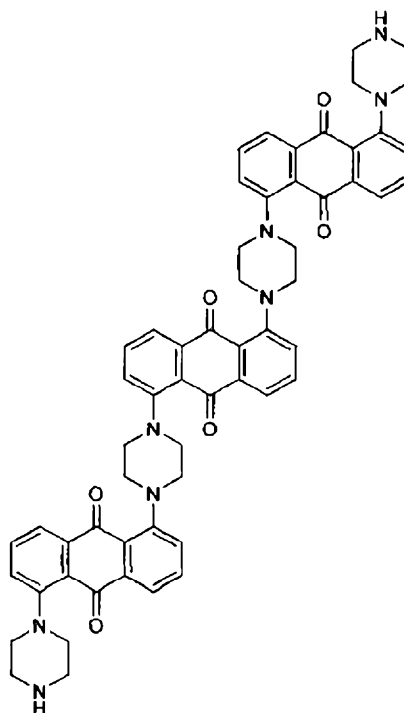
Trzecim i czwartym z wynalezionych związków, są pochodne podstawione w pozycji 1,5- pierścienia antrachinonu.

W wyniku reakcji chemicznych otrzymano trzeci związek 5,5'-(piperazyn-1,4-dylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) (związek 3) zawierający w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny.

Czwartym wynalezionym związkiem jest 5,5'-((9,10-antrachinon-1,5-dylo)di(piperazyn-4,1-dylo))di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) (związek 4) zawierający w swej strukturze cztery cząsteczki piperazyny.



(Związek 3)



(Związek 4)

W celu uzyskania 1-chloro-8-(4-(8-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon-1-ylo)piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinonu, zawierającego dwie cząsteczki piperazyny i atom chloru sposobem według wynalazku, wykorzystuje się jako substraty wyjściowe 1,8-dichloro-9,10-antrachinon i piperazynę, na których przeprowadza się reakcję w środowisku bezwodnego etanolu lub w środowisku toluenu, ogrzewając

mieszaninę reakcyjną do temperatury 80°C przez czas około 96 godzin, po upływie którego z mieszaniny poreakcyjnej usuwa się etanol na wyparce próżniowej, pozostałość rozpuszcza się w chlorku metylenu i przemywa się wodą (3 x 200 ml), otrzymaną warstwę organiczną suszy się bezwodnym MgSO_4 i odparowuje rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, po czym mieszaninę otrzymanych w wyniku reakcji chemicznej związków izoluje się stosując jako metodę rozdzielu chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent początkowo sam chlorek metylenu, a następnie układ chlorek metylenu i metanol ze wzrastającym gradientem metanolu, uzyskując produkt z wydajnością 80%.

W celu uzyskania 8,8'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) zawierającego w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny sposobem według wynalazku, wykorzystuje się jako substraty wyjściowe 1,8-dichloro-9,10-antrachinon i piperazynę, na których przeprowadza się reakcję w środowisku bezwodnego etanolu lub w środowisku toluenu, ogrzewając mieszaninę reakcyjną do temperatury 80°C przez czas około 96 godzin, po upływie którego z mieszaniny poreakcyjnej usuwa się etanol na wyparce próżniowej, pozostałość rozpuszcza się w chlorku metylenu i przemywa się wodą (3 x 200 ml), otrzymaną warstwę organiczną suszy się bezwodnym MgSO_4 i odparowuje rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, po czym mieszaninę otrzymanych w wyniku reakcji chemicznej związków izoluje się stosując jako metodę rozdzielu chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent początkowo sam chlorek metylenu, a następnie układ chlorek metylenu i metanol ze wzrastającym gradientem metanolu, uzyskując produkt z wydajnością 80%.

W celu uzyskania 5,5'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) zawierającego w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny sposobem według wynalazku, wykorzystuje się jako substraty wyjściowe 1,5-dichloro-9,10-antrachinon i piperazynę, na których przeprowadza się reakcję w środowisku bezwodnego etanolu lub toluenu, ogrzewając mieszaninę reakcyjną do temperatury 100°C przez czas około 48 godzin, po upływie którego z mieszaniny poreakcyjnej usuwa się toluen na wyparce próżniowej, pozostałość rozpuszcza się w chlorku metylenu i przemywa się wodą (2 x 200 ml), otrzymaną warstwę organiczną suszy się bezwodnym MgSO_4 i odparowuje rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, po czym mieszaninę otrzymanych w wyniku reakcji chemicznej związków izoluje się stosując jako metodę rozdzielu chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent początkowo sam chlorek metylenu, a następnie układ chlorek metylenu i metanol ze wzrastającym gradientem metanolu, uzyskując produkt z wydajnością 80%.

W celu uzyskania 5,5'-((9,10-antrachinon-1,5-diylo)di(piperazyn-4,1-diylo))di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon), zawierającego w swej strukturze cztery cząsteczki piperazyny sposobem według wynalazku, wykorzystuje się jako substraty wyjściowe 1,5-dichloro-9,10-antrachinon i piperazynę, na których przeprowadza się reakcję w środowisku bezwodnego toluenu, ogrzewając mieszaninę reakcyjną do temperatury 100°C przez czas około 48 godzin, po upływie którego z mieszaniny poreakcyjnej usuwa się toluen na wyparce próżniowej, pozostałość rozpuszcza się w chlorku metylenu i przemywa się wodą (2 x 200 ml), otrzymaną warstwę organiczną suszy się bezwodnym MgSO_4 i odparowuje rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, po czym mieszaninę otrzymanych w wyniku reakcji chemicznej związków izoluje się stosując jako metodę rozdzielu chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent początkowo sam chlorek metylenu, a następnie układ chlorek metylenu i metanol ze wzrastającym gradientem metanolu, uzyskując produkt z wydajnością 80%.

Wszystkie otrzymane związki chemiczne scharakteryzowano technikami spektroskopowymi i masowymi.

Poniżej przedstawiono analizy masowe MALDI, IR oraz HPLC. Dla wszystkich wynalezionych związków wykonano analizy wykorzystując zestaw analityczny HPLC firmy Shimadzu, używając kolumny (firmy Phenomenex Luna C18, 150 x 4,6 mm, o średnicy ziaren sorbentu 3 μm i wielkości porów 100Å), stosując przepływ 1,2 ml/min w gradiencie rozpuszczalników (A = H_2O + 0,1% TFA, B = ACN + 0,1% TFA) przy długości fali 254 nm.

Związek (1)

1-chloro-8-(4-(8-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon-1-ylo)piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon

MALDI – TOF MS: m/z 619,6 $[\text{M}+2\text{H}]^+$, (MW = 617,10).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3430, 2922, 2817, 1667, 1580, 1471, 1445, 1426, 1377, 1308, 1273, 1214, 1130, 1090, 1049, 1009, 982, 938, 891, 837, 787, 739, 721.

RP-HPLC: R_t = 12.710 – gradient 0–100% (A – B) w 15 min

Związek (2)

8,8'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon)

MALDI – TOF MS: m/z 669,2 $[\text{M}+3\text{H}]^+$, (MW = 666,78).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3417, 2992, 2827, 2732, 2484, 1662, 1583, 1452, 1426, 1400, 1380, 1310, 1258, 1216, 1096, 982, 917, 890, 840, 789, 746, 691, 671, 616, 534, 489, 421.

RP-HPLC: $R_t = 11.296$ gradient 0–100% (A – B) w 20 min

Związek (3)

5,5'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon)

MALDI – TOF MS: m/z 668,3 $[M+2H]^+$, (MW = 666,78).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3433, 3007, 2836, 2735, 2488, 1781, 1677, 1656, 1611, 1583, 1559, 1449, 1425, 1379, 1350, 1318, 1257, 1241, 1222, 1191, 1131, 1099, 1044, 1018, 915, 832, 799, 770, 720, 710, 536, 572.

RP-HPLC: $R_t = 7.892$ gradient 0–100% (A – B) w 10 min

Związek (4)

5,5'-((9,10-antrachinon-1,5-diylo)di(piperazyn-4,1-diylo))di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon)

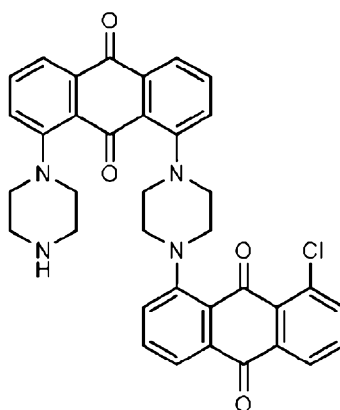
MALDI – TOF MS: m/z 959,0 $[M+2H]^+$, (MW = 957,10).

IR (film) (cm^{-1}): 3433, 3122, 2924, 2852, 1679, 1582, 1431, 1399, 1322, 1258, 1206, 1136, 1043, 1013, 838, 802, 723.

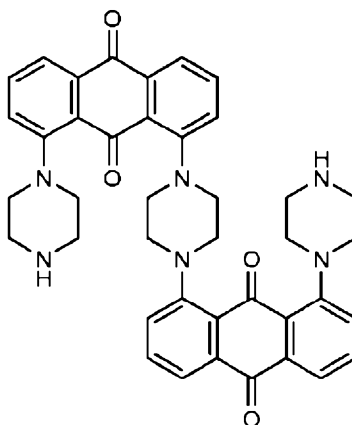
RP-HPLC: $R_t = 8.699$ gradient 0–100% (A – B) w 10 min.

Zastrzeżenia patentowe

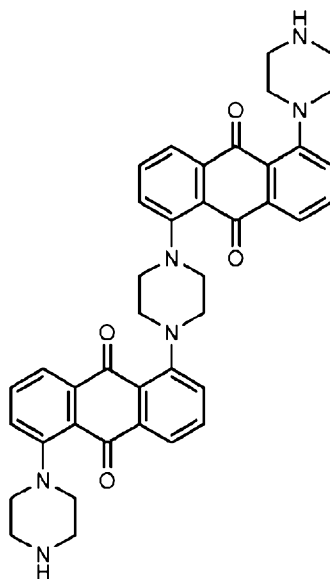
1. Wielocząsteczkowy układ molekularny zawierający pierścienie 9,10-antrachinonu, **znamienny tym**, że stanowi go 1-chloro-8-(4-(8-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon-1-ylo)piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon, zawierający dwie cząsteczki piperazyny i atom chloru o wzorze:



2. Wielocząsteczkowy układ molekularny zawierający pierścienie 9,10-antrachinonu, **znamienny tym**, że stanowi go 8,8'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) zawierający w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny o wzorze:



3. Wielocząsteczkowy układ molekularny zawierający pierścienie 9,10-antrachinonu, **znamienny tym**, że stanowi go 5,5'-(piperazyn-1,4-diylo)di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) zawierający w swej strukturze trzy cząsteczki piperazyny o wzorze:



4. Wielocząsteczkowy układ molekularny zawierający pierścienie 9,10-antrachinonu, **znamienny tym**, że stanowi go 5,5'-((9,10-antrachinon-1,5-diylo)di(piperazyn-4,1-diylo))di(1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinon) zawierający w swej strukturze cztery cząsteczki piperazyny o wzorze:

