

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 243308 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **438175**

(22) Data zgłoszenia: **2021.06.16**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.12.19 BUP 51/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.07.31 WUP 31/2023**

(51) MKP:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 31/53** (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet Medyczny w Lublinie,  
Lublin, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**MAŁGORZATA SZTANKE, Lublin, PL  
KRZYSZTOF SZTANKE, Lublin, PL**

(74) Pełnomocnik:

**Anna Cieniuch-Kokowicz, Lublin, PL**

(54) Tytuł:

**3-(4-Fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-ony  
podstawione monochlorofenylem lub dichlorofenylem, sposób ich otrzymania  
i zastosowanie medyczne**

**PL 243308 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są 3-(4-fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-ony o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik, taki jak: monochlorofenyl – zwłaszcza 2-chlorofenyl, 3-chlorofenyl, 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl – zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl. Związki te wykazują istotną aktywność przeciwnowotworową. Przedmiotem wynalazku jest również sposób ich otrzymywania oraz zastosowanie medyczne.

Z piśmiennictwa znane są pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onu, zarówno niepodstawione, jak i podstawione na N-8. Zostały one zsyntetyzowane w reakcji hydrazonu imidazolidyno-2-onu lub hydrazonu 1-metyloimidazolidyno-2-onu z pirogronianem etylu, fenylopirogrońianem etylu, *para*-chlorobenzoilomrówczanem etylu lub acetylenodikarboksylianem dimetylu (Bruger M., Korte F.: Liebigs Ann. Chem. 764, 112, 1972; Le Count D.J., Taylor P.J.: Tetrahedron 31, 433, 1975; Eberle M.K., Schirm P.: J. Heterocycl. Chem. 14, 59, 1977), lub w reakcji 1-arylo-2-hydrazynoimidazolin: z  $\alpha$ -okso kwasami, takimi jak kwas 2-ketomasłowy, kwas 2-(furan-2-yl)glioksalowy, kwas pirogronowy, kwas fenylopirogrońowy i jego pochodne (Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Chem. 95, 103480, 2020; Sztanke K.: Arabian J. Chem. 12, 5302, 2019; Sztanke K., Tuzimski T., Sztanke M., Rzymowska J., Pasternak K.: Bioorg. Med. Chem. 19, 5103, 2011; Sztanke K.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 59, 235, 2002; Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 71, 1997), z  $\alpha$ -oksoestrami, takimi jak ester etylowy kwasu 3,3,3-trifluoro-2-oksopropanowego, ester etylowy kwasu 3-metylo-2-okso-2-masłowego, ester etylowy kwasu 4-nitrofenyloglioksalowego, ester etylowy kwasu 2-(tiofen-2-yl)glioksalowego, ester etylowy kwasu 2-okso-4-fenylomasłowego, ester etylowy kwasu 2-(2-amino-4-tiazolylo)glioksalowego, ester etylowy kwasu benzoilomrówkowego (Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Chem. 95, 103480, 2020; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: Arabian J. Chem. 12, 4044, 2019; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: Arabian J. Chem. 12, 5302, 2019; Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Med. Chem. 23, 3448, 2015; Sztanke K., Pasternak, Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M., Kozioł A.E., Dybała I.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 5095, 2009; Sztanke K.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 61, 373, 2004; Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 223, 1997), z estrem dietylowym kwasu 2-okso-malonowego lub z estrem dietylowym kwasu 2-(hydroksymino)malonowego (Sztanke K., Rzymowska J., Niemczyk M., Dybała I., Kozioł A.E.: Eur. J. Med. Chem. 41, 539, 2006), a także w wyniku addycji hydrazonów 1-aryloimidazolidyno-2-onów do potrójnego wiązania węgiel-węgiel w cząsteczce estru dietylowego lub dietylowego kwasu acetylenodikarboksylowego oraz cyklokondensacji łańcuchowych intermedatów (Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Med. Chem. 21, 7465, 2013; Sztanke K., Tkaczyński T.: Acta Pol. Pharm.-Drug Res. 54, 147, 1997). Natomiast hydrazyd kwasu 8-(4-metoksyfenilo)-4-okso-6H-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyno-3-mrówkowego otrzymano w wyniku reakcji estru etylowego kwasu 8-(4-metoksyfenilo)-4-okso-6H-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyno-3-mrówkowego z wodzianem hydrazyny (Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M.: Eur. J. Med. Chem. 43, 1085, 2006).

Wzmiankowane w piśmiennictwie pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onu charakteryzowały się szerokim spektrum aktywności biologicznej wykazując: aktywność antyproliferacyjną wobec nowotworowych linii komórkowych (Sztanke K., Rzymowska J., Niemczyk M., Dybała I., Kozioł A.E.: 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.E., 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; Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Med. Chem. 21, 7465, 2013; Sztanke M., Rzymowska J., Sztanke K.: Bioorg. Med. Chem. 23, 3448, 2015; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: Arabian J. Chem. 12, 4044, 2019; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: Arabian J. Chem. 12, 5302, 2019; Sztanke M., Sztanke K., Rajtar B., Świątek Ł., Boguszewska A., Polz-Dacewicz M.: Eur. J. Pharm. Sci. 132, 34, 2019; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: Bioorg. Chem. 95, 103480, 2020), właściwości antymetastatyczne (Sztanke K., Pasternak K., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M., Kozioł A.E., Dybała I.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 5095, 2009), aktywność przeciwwirusową (Sztanke M., Sztanke K., Rajtar B., Świątek Ł., Boguszewska A., Polz-Dacewicz M.: Eur. J. Pharm. Sci. 132, 34, 2019), właściwości antyoksydacyjne (Sztanke M., Sztanke K.: Redox Rep. 22, 572, 2017), działanie ochronne na erythrocyty narażone na reaktywne formy tlenu (Sztanke M., Sztanke K., Rajtar B., Świątek Ł., Boguszewska A., Polz-Dacewicz M.: Eur. J. Pharm. Sci. 132, 34,

2019; Sztanke M., Rzymowska J., Janicka M., Sztanke K.: *Bioorg. Chem.* 95, 103480, 2020) lub aktywność przeciwbólową w ośrodkowym układzie nerwowym (Sztanke K., Tkaczyński T.: *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.* 54, 71, 1997; Sztanke K., Tkaczyński T.: *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.* 54, 147, 1997; Tkaczyński T., Sztanke K.: *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.* 52, 123, 1995; Sztanke K., Rzymowska J., Niemczyk M., Dybała I., Kozioł A.E.: *Eur. J. Med. Chem.* 41, 539, 2006; Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefler-Szerszeń M.: *Eur. J. Med. Chem.* 43, 1085, 2008; Sztanke K.: PL 199750, 2008; Sztanke K.: PL 196751, 2008; Sztanke K.: PL 201092, 2009). Ponadto hydrazyd kwasu 8-(4-metoksyfenilo)-4-okso-6*H*-7,8-dihydroimidazo[2,1-*c*][1,2,4]triazyno-3-mrówkowego odznaczał się silnym działaniem przeciwzapalnym i przeciw włóknieniu wątroby (Szuster-Ciesielska A., Kandefler-Szerszeń M., Sztanke K.: *Chem. Biol. Interact.* 195, 18, 2012), więc jego nowe zastosowanie medyczne zastrzeżono patentem (Kandefler-Szerszeń M., Szuster-Ciesielska A., Sztanke K., Pasternak K.: PL 216264, 2014). Natomiast pochodne 7,8-dihydroimidazo[2,1-*c*][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onu, które posiadały ugrupowanie estrowe na C-3 a nie posiadały podstawnika arylowego na N-8, zostały zastrzeżone patentem jako selektywne środki chwastobójcze (Franke W., Klose W., Arndt F.: DE 3302413, 1984).

Wynalazek dotyczy 3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-*c*][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onów (o wzorze ogólnym 1), które zostały podstawione 2-chlorofenylem, 3-chlorofenylem, 4-chlorofenylem lub 3,4-dichlorofenylem. Stanowią one grupę nowych – zarówno pod względem struktury, aktywności farmakologicznej, jak i zastosowania medycznego – związków dotychczas nieopisanych w literaturze źródłowej.

W badaniach *in vitro* wykazano, że związki o wzorze ogólnym 1 odznaczają się nie tylko bardzo silną lub silną – w zależności od podstawnika i czasu inkubacji – aktywnością antyproliferacyjną wobec komórek ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc, ludzkiego raka szyjki macicy i ludzkiego raka piersi, a także wyraźnie niższą cytotoksycznością wobec komórek prawidłowych nerki mały zielonej w przypadku pochodnej 2-chlorofenylowej i pochodnej 4-chlorofenylowej i dlatego mogą mieć zastosowanie w chemioterapii chorób nowotworowych (w tym tych najczęściej wykrywanych w Polsce w populacji kobiet – rak piersi oraz w populacji mężczyzn – rak płuc). Ponadto związki o wzorze ogólnym 1 charakteryzują się znaczącą cytotoksycznością wobec komórek szpiczaka mnogiego, komórek ostrej białaczki T-limfocytowej oraz komórek ostrej białaczki promielocytowej. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że obecność atomu fluoru w pierścieniu fenylovym w pozycji *para* we wszystkich zastrzeganych związkach niespodziewanie przyczyniła się do poszerzenia spektrum ich aktywności przeciwnowotworowej w porównaniu ze związkami znanymi ze stanu techniki (Sztanke K., Pasternak K., Sztanke M., Kandefler-Szerszeń M., Kozioł A.E., Dybała I.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 5095, 2009), które nie wykazywały takiej aktywności wobec komórek raka płuc, raka piersi, ostrej białaczki T-limfocytowej oraz ostrej białaczki promielocytowej, a jedynie obniżały żywotność komórek szpiczaka mnogiego.

Otrzymane sposobem według wynalazku związki o aktywności przeciwnowotworowej są krystalicznymi substancjami stałymi o ostrych punktach topnienia, rozpuszczającymi się w rozpuszczalnikach polarnych aprotynowych takich jak dimetylosulfotlenek, dimetyloformamid, acetonitryl. Związki te mogą być użyte w kompozycji farmaceutycznej zawierającej jako substancję aktywną pochodną 3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-*c*][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onu o wzorze ogólnym 1 w połączeniu z co najmniej jednym farmaceutycznie dopuszczonym nośnikiem lub rozcieńczalnikiem.

Związki o wzorze ogólnym 1 według wynalazku otrzymuje się przez kondensację odpowiednio podstawionego halogenowodoru hydrazonu imidazolidyno-2-onu, to jest reagenta nukleofilowego o wzorze ogólnym 2, w którym R oznacza monochlorofenyl zwłaszcza 2-chlorofenyl, 3-chlorofenyl, 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, a X oznacza halogen, korzystnie jod, brom lub chlor, z kwasem 4-fluoro- $\alpha$ -oksobenzenoocetowym, to jest reagentem elektrofilowym o wzorze ogólnym 3, stosując proporcje molowe substratów 1:1. Kondensację prowadzi się w środowisku rozpuszczalników organicznych, początkowo w metanolu (pozostawiając mieszaninę reakcyjną na 24 godziny w temperaturze otoczenia do wytrącenia się osadu produktu pośredniego), po czym dodaje się dimetyloformamid w ilości potrzebnej do całkowitego rozpuszczenia się osadu w czasie wrzenia, a powstały klarowny dimetyloformamidowo-metanolowy roztwór reakcyjny ogrzewa się w temperaturze wrzenia celem dokończenia reakcji. Powyższy proces chemiczny prowadzi się przez okres 2–4 godzin, w obecności substancji zasadowych wiążących wydzielający się halogenowodor, korzystnie w obecności trietyloaminy, pirydyny, alkoholanów metali alkalicznych, węglanu potasu lub sodu. Po zakończeniu reakcji mieszaninę reakcyjną zatęża się do połowy objętości pod zmniejszonym

ciśnieniem i oziębia się, a wydzielony osad przemywa się kilkakrotnie wodą destylowaną i zimnym alkoholem w celu usunięcia soli zawierających chemicznie związany halogenowódor. Następnie usuwa się rozpuszczalniki organiczne, a surowy produkt oczyszcza się przez krystalizację z mieszaniny dimetyloformamidu i alkoholu metylowego w stosunku objętościowym 3:1 w przypadku pochodnej 2-chlorofenylovej i pochodnej 3-chlorofenylovej lub z dimetyloformamidu w przypadku pochodnej 4-chlorofenylovej i pochodnej 3,4-dichlorofenylovej.

Przedmiotem wynalazku są również związki o wzorze ogólnym 1 do zastosowania w leczeniu nowotworów, zwłaszcza takich jak rak płuc, rak szyjki macicy, rak piersi, szpiczak mnogi, ostra białaczka T-limfocytowa oraz ostra białaczka promielocytowa.

Otrzymane według wynalazku nowe związki wykazują znaczącą aktywność przeciwnowotworową. Działanie to potwierdzono w badaniach *in vitro* na referencyjnych liniach komórkowych pozyskanych z Europejskiej Kolekcji Uwierzytelnionych Hodowli Komórkowych: A549 (ECACC 86012804, komórki ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc), HeLa (ECACC 93021013, komórki ludzkiego raka szyjki macicy), T47D (ECACC 85102201, komórki ludzkiego raka piersi). Aktywność przeciwnowotworową nowych związków określono immunocytochemiczną metodą interkorporacyjną z 5-bromo-2'-deoksyurydyną po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji z badanym związkiem w stężeniu efektywnym (0,15 mM). Uzyskane wyniki wyrażono jako procent hamowania wzrostu komórek nowotworowych i prawidłowych przez badany związek i porównano z wynikami uzyskanymi dla substancji referencyjnej (pemetreksed), co przedstawiono w Tabeli 1. Wszystkie nowo zsyntetyzowane związki wykazały znaczącą, zależną od podstawnika i czasu inkubacji, cytotoksyczność wobec komórek użytych linii nowotworowych o pochodzeniu nabłonkowym. Najwyższą aktywnością przeciwnowotworową wobec komórek wszystkich linii nowotworowych odznaczały się dwa związki: pochodna 3,4-dichlorofenylovej i pochodna 3-chlorofenylovej. Wszystkie związki charakteryzowały się silną cytotoksycznością wobec komórek linii HeLa. Wobec komórek linii A549 najwyższą aktywność antyproliferacyjną wykazały dwa związki: pochodna 3,4-dichlorofenylovej i pochodna 3-chlorofenylovej, zaś wobec komórek linii T47D trzy związki: pochodna 3,4-dichlorofenylovej, pochodna 4-chlorofenylovej i pochodna 3-chlorofenylovej. Wartym uwagi jest fakt, że większość z badanych związków wykazała wyższą aktywność przeciwnowotworową niż klinicznie stosowany lek przeciwnowotworowy będący antymetabolitem kwasu foliowego – pemetreksed. Ponadto dwa związki: pochodna 2-chlorofenylovej i pochodna 4-chlorofenylovej, nieoczekiwanie odznaczały się najniższą cytotoksycznością wobec komórek prawidłowych o pochodzeniu nabłonkowym linii GMK po wszystkich czasach inkubacji.

Nieoczekiwanie okazało się, że związki o wzorze ogólnym 1 dodatkowo wykazały znaczącą cytotoksyczność wobec komórek szpiczaka mnogiego (MM1) pozyskanych z Amerykańskiej Kolekcji Hodowli Komórkowych, a także wobec komórek ostrej białaczki T-limfocytowej (Jurkat E6-1, ECACC 88042803) i ostrej białaczki promielocytowej (HL-60, ECACC 98070106) pozyskanych z Europejskiej Kolekcji Uwierzytelnionych Hodowli Komórkowych. Cytotoksyczność związków w stężeniu efektywnym (0,15 mM) określono po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji metodą barwienia błękitem trypanu. Uzyskane wyniki wyrażono jako procent martwych komórek w powyższych liniach nowotworowych oraz przedstawiono w Tabeli 2. Wszystkie nowe związki odznaczały się zależną od podstawnika i czasu inkubacji aktywnością przeciwnowotworową. Najwyższą cytotoksyczność wobec komórek linii MM1 wykazały dwie pochodne: 2-chlorofenylovej i 4-chlorofenylovej. Jednocześnie pochodna 4-chlorofenylovej odznaczała się najwyższą cytotoksycznością wobec komórek linii Jurkat E6-1. Natomiast wobec komórek linii HL-60 najwyższą aktywność antyproliferacyjną wykazały dwie pochodne: 2-chlorofenylovej i 3,4-dichlorofenylovej.

#### Przykład 1

Do zawiesiny 0,02 mola (6,77 g) jodowodoru hydrazonu 1-(2-chlorofenilo)imidazolidyno-2-onu w 10 ml metanolu dodano 0,02 mola (3,36 g) kwasu 4-fluoro- $\alpha$ -oksobenzenoocetowego oraz 2,8 ml trietyloaminy uzyskując klarowny roztwór reakcyjny, który pozostawiono na 24 godziny w temperaturze otoczenia, aby wytrącił się osad produktu przejściowego. W celu całkowitego rozpuszczenia osadu mieszaninę reakcyjną doprowadzono do wrzenia pod chłodnicą zwrotną dodając 25 ml dimetyloformamidu. Po uzyskaniu klarownego dimetyloformamidowo-metanolowego roztworu reakcyjnego proces kondensacji prowadzono w temperaturze wrzenia przez 2–4 godzin. Mieszaninę reakcyjną zateżono do połowy objętości pod zmniejszonym ciśnieniem i oziębiono. Wydzielony osad odsączono, a następnie przemyto na sączku pięciokrotnie wodą destylowaną (po 10 ml) oraz trzykrotnie zimnym metanolem (po 10 ml). Po wysuszeniu osad przekrystalizowano z mieszaniny dimetyloformamidu

i metanolu w stosunku objętościowym 3:1. Otrzymano z 70,1% wydajnością 8-(2-chlorofenylo)-3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-on o temperaturze topnienia 264–266°C.

Widmo <sup>1</sup>H NMR (δ, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS, 500 MHz):

4,08-4,35 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,27-8,13 (m, 8H, aromatyczne-H).

Widmo IR (ATR-FTIR) (ν, cm<sup>-1</sup>):

3066, 2990 (aromatyczne C-H), 1672 (C=O), 1597, 1506, 1448 (szkielet aromatyczny), 1556 (C=N), 1320 (aromatyczne C-F, monofluorowany pierścień benzenu), 1098 (aromatyczne C-Cl).

Widmo UV (MeOH):

λ<sub>max</sub> (ε): 242 nm (11 100), λ'<sub>max</sub> (ε): 328,5 nm (9740).

#### Przykład 2

Postępując analogicznie jak w przykładzie 1, oraz używając jako reagenty: jodowoderek hydrazonu 1-(3-chlorofenylo)imidazolidyno-2-onu i kwas 4-fluoro-α-oksobenzenoctowy w stosunku molowym 1:1, a trietyloaminę jako substancję zasadową wiążącą wydzielający się produkt uboczny, otrzymano z 72,2% wydajnością 8-(3-chlorofenylo)-3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-on o temperaturze topnienia 234–236°C (po krystalizacji z mieszaniny metanolu i dimetyloformamidu w stosunku objętościowym 3:1).

Widmo <sup>1</sup>H NMR (δ, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS, 500 MHz) δ (ppm):

4,22 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,22-8,22 (m, 8H, aromatyczne-H).

Widmo IR (ATR-FTIR) (ν, cm<sup>-1</sup>):

3110, 3080, 2998 (aromatyczne C-H), 1664 (C=O), 1598, 1484 (szkielet aromatyczny), 1544 (C=N), 1323 (aromatyczne C-F, monofluorowany pierścień benzenu), 1094 (aromatyczne C-Cl).

Widmo UV (MeOH):

λ<sub>max</sub> (ε): 267 nm (14 600), λ'<sub>max</sub> (ε): 334,5 nm (10 400).

#### Przykład 3

Postępując analogicznie jak w przykładzie 1, oraz używając jako reagenty: jodowoderek hydrazonu 1-(4-chlorofenylo)imidazolidyno-2-onu i kwas 4-fluoro-α-oksobenzenoctowy w stosunku molowym 1:1, a trietyloaminę jako substancję zasadową wiążącą wydzielający się produkt uboczny, otrzymano z 75,4% wydajnością 8-(4-chlorofenylo)-3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-on o temperaturze topnienia 297–299°C (po krystalizacji z dimetyloformamidu).

Widmo <sup>1</sup>H NMR (δ, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS, 500 MHz):

4,22 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,29-8,21 (m, 8H, aromatyczne-H).

Widmo IR (ATR-FTIR) (ν, cm<sup>-1</sup>):

3111, 3084 (aromatyczne C-H), 1680 (C=O), 1579, 1492, 1480 (szkielet aromatyczny), 1542 (C=N), 1318 (aromatyczne C-F, monofluorowany pierścień benzenu), 1089 (aromatyczne C-Cl).

Widmo UV (MeOH):

λ<sub>max</sub> (ε): 278 nm (10 100), λ'<sub>max</sub> (ε): 361,5 nm (6600).

#### Przykład 4

Postępując analogicznie jak w przykładzie 1, oraz używając jako reagenty: jodowoderek hydrazonu 1-(3,4-dichlorofenylo)imidazolidyno-2-onu i kwas 4-fluoro-α-oksobenzenoctowy w stosunku molowym 1:1, a trietyloaminę jako substancję zasadową wiążącą wydzielający się produkt uboczny, otrzymano z 72,9% wydajnością 8-(3,4-dichlorofenylo)-3-(4-fluorofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-on o temperaturze topnienia 299–300°C (po krystalizacji z dimetyloformamidu).

Widmo <sup>1</sup>H NMR (δ, ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS, 500 MHz):

4,23 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,30-8,37 (m, 7H, aromatyczne-H).

Widmo IR (ATR-FTIR) (ν, cm<sup>-1</sup>):

3108, 3076, 3059, 3000 (aromatyczne C-H), 1680 (C=O), 1595, 1495, 1472 (szkielet aromatyczny), 1564 (C=N), 1313 (aromatyczne C-F, monofluorowany pierścień benzenu), 1094 (aromatyczne C-Cl).

Widmo UV (MeOH):

λ<sub>max</sub> (ε): 273 nm (16 620), λ'<sub>max</sub> (ε): 349 nm (13 040).

Tabela 1

Aktywność przeciwnowotworowa nowych 3-(4-fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo-[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onów (o wzorze ogólnym 1) podstawionych monochlorofenylem lub dichlorofenylem (w stężeniu efektywnym – 0,15 mM) oraz pemetreksedu jako substancji referencyjnej.

R	Czas inkubacji	Aktywność przeciwnowotworowa wyrażona jako % hamowania wzrostu w liniach komórkowych			
		prawidłowa	nowotworowe		
		GMK	A549	HeLa	T47D
2-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	2 ± 0.1	45 ± 2.8	45 ± 3.7	5 ± 0.3
	48 h	15 ± 0.9	55 ± 4.6	75 ± 5.8	30 ± 2.8
	72 h	20 ± 1.8	65 ± 5.5	90 ± 8.2	45 ± 4.2
3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	20 ± 2.5	60 ± 4.7	75 ± 7.1	45 ± 3.8
	48 h	50 ± 2.5	75 ± 6.2	90 ± 8.3	55 ± 4.7
	72 h	90 ± 10.2	85 ± 7.2	100 ± 8.8	75 ± 6.4
4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	5 ± 0.6	15 ± 0.9	80 ± 7.6	35 ± 2.8
	48 h	10 ± 0.8	55 ± 3.2	95 ± 9.1	75 ± 7.2
	72 h	25 ± 2.5	85 ± 7.9	100 ± 9.9	100 ± 7.0
3,4-Cl <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	24 h	65 ± 5.8	85 ± 8.2	90 ± 6.3	30 ± 2.2
	48 h	80 ± 7.5	98 ± 8.8	98 ± 8.1	85 ± 7.8
	72 h	90 ± 10.2	100 ± 9.5	100 ± 9.4	100 ± 9.6
Pemetreksed	24 h	5 ± 0.3	15 ± 0.9	15 ± 1.2	5 ± 0.4
	48 h	20 ± 1.2	30 ± 1.8	50 ± 2.5	15 ± 0.7
	72 h	25 ± 1.4	50 ± 3.2	60 ± 4.5	25 ± 0.9

GMK – komórki nerki małpy zielonej – *Macacacus rhesus* (linia prawidłowa)

A549 (ECACC 86012804) – komórki ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (referencyjna linia nowotworowa)

HeLa (ECACC 93021013) – komórki ludzkiego raka szyjki macicy (referencyjna linia nowotworowa)

T47D (ECACC 85102201) – komórki ludzkiego raka piersi (referencyjna linia nowotworowa)

Pemetreksed – w stężeniu 0,18 mM; związek referencyjny; zarejestrowany i stosowany w praktyce klinicznej lek przeciwnowotworowy z grupy antymetabolitów kwasu foliowego

Tabela 2

Cytotoksyczność nowych 3-(4-fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo-[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onów (o wzorze ogólnym 1) podstawionych monochlorofenylem lub dichlorofenylem (w stężeniu efektywnym – 0,15 mM).

R	Czas inkubacji	Cytotoksyczność wyrażona jako procent martwych komórek w liniach		
		MM1	Jurkat E6-1	HL-60
2-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	45 ± 3.1	10 ± 0.7	80 ± 2.8
	48 h	60 ± 4.5	15 ± 0.8	100 ± 3.8
	72 h	70 ± 1.8	35 ± 1.6	100 ± 4.2
3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	10 ± 0.6	10 ± 0.5	25 ± 1.2
	48 h	15 ± 0.9	20 ± 1.1	40 ± 1.6
	72 h	25 ± 0.8	45 ± 2.5	70 ± 2.5
4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24 h	55 ± 4.2	50 ± 3.6	50 ± 2.6
	48 h	70 ± 3.6	60 ± 4.6	60 ± 3.2
	72 h	90 ± 3.6	80 ± 3.5	80 ± 3.6
3,4-Cl <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	24 h	15 ± 1.1	20 ± 1.2	75 ± 3.2
	48 h	20 ± 0.9	25 ± 1.2	90 ± 3.8
	72 h	30 ± 1.1	50 ± 2.2	100 ± 4.8

MM1 – komórki szpiczaka mnogiego

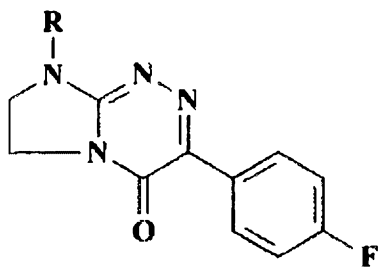
Jurkat E6-1 (ECACC 88042803) – komórki ostrej białaczki T-limfocytowej

HL-60 (ECACC 98070106) – komórki ostrej białaczki promielocytowej

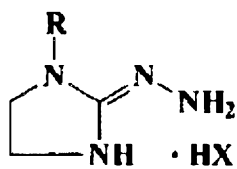
## Zastrzeżenia patentowe

1. 3-(4-Fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-ony o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza monochlorofenyl – zwłaszcza 2-chlorofenyl, 3-chlorofenyl, 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl – zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl.
2. Sposób otrzymywania nowych 3-(4-fluorofenilo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6*H*)-onów o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza podstawnik taki jak: monochlorofenyl – zwłaszcza 2-chlorofenyl, 3-chlorofenyl, 4-chlorofenyl, lub dichlorofenyl – zwłaszcza 3,4-dichlorofenyl, **znamienny tym**, że reagent nukleofilowy o wzorze ogólnym 2, w którym R ma wyżej podane znaczenie, a X oznacza halogen, korzystnie jod, chlor lub brom, poddaje się kondensacji z kwasem 4-fluoro- $\alpha$ -oksobenzenoocetowym – reagentem elektrofilowym o wzorze ogólnym 3, w stosunku molowym 1:1, a powyższy proces chemiczny prowadzi się w środowisku rozpuszczalników organicznych, początkowo w metanolu do wytrącenia się osadu, a następnie po dodaniu dimetyloformamidu (w ilości potrzebnej do rozpuszczenia osadu podczas wrzenia) w roztworze dimetyloformamidowo-metanolowym we wrzeniu przez okres 2–4 godzin w obecności substancji zasadowych wiążących wydzielający się halogenowódor, a po zakończeniu reakcji wydzielony osad przemywa się kilkakrotnie wodą destylowaną i zimnym metanolem oraz oczyszcza przez krystalizację z rozpuszczalnika organicznego lub z mieszaniny rozpuszczalników organicznych.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że do wiązania i neutralizacji halogenowodoru stosuje się trietyloaminę, pirydynę, alkoholany metali alkalicznych, węglan potasu lub sodu.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że krystalizację pochodnej 2-chlorofenylowej i pochodnej 3-chlorofenylowej prowadzi się z użyciem mieszaniny dimetyloformamidu i alkoholu metylowego w stosunku objętościowym 3:1, a pochodnej 4-chlorofenylowej i pochodnej 3,4-dichlorofenylowej z użyciem dimetyloformamidu.
5. Związki o wzorze ogólnym 1 określone w zastrz. 1 do zastosowania w chemioterapii nowotworów.
6. Związki według zastrz. 5 do zastosowania w chemioterapii raka płuc, raka szyjki macicy, raka piersi, szpiczaka mnogiego, ostrej białaczki T-limfocytowej i ostrej białaczki promielocytowej.

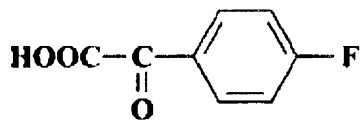
## Rysunki



WZÓR 1



WZÓR 2



WZÓR 3