

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 242765 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **436747**

(22) Data zgłoszenia: **2021.01.25**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.08.01 BUP 31/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.04.17 WUP 16/2023**

(51) MKP:

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:
UNIwersytet Śląski w Katowicach,
Katowice, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:
ROBERT MUSIOŁ, Będzin, PL
JACEK MULARSKI, Katowice, PL
KATARZYNA MALARZ, Bielsko-Biała, PL

(74) Pełnomocnik:
Mariusz Grzesiczak, Dąbrowa Górnicza, PL

(54) Tytuł:

1,3-benzodioksolo-5-sulfonylowa pochodna chinazoliny do zastosowania w leczeniu nowotworów

PL 242765 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 1,3-benzodioksolo-5-sulfonylowa pochodna chinazoliny do zastosowania w leczeniu nowotworów, zwłaszcza białaczek, nowotworów jelit lub mózgu. Pełna nazwa chemiczna związku to 4-[1,3-benzodioksolo-5-sulfonian]-2-[(E)-2-(2-metoksyfenylo)-etenyl]chinazolina, a nazwa kodowa: BS1.

Inhibitory kinaz tyrozynowych stały się pierwszymi celowanymi lekami skutecznymi w leczeniu chorób nowotworowych. Kinazy białkowe to duża grupa enzymów odpowiedzialnych za aktywację szeregu procesów w komórkach poprzez przenoszenie grupy fosforanowej na specyficzne białko, będące celem molekularnym kinazy. Taka fosforylacja białka prowadzi do zmian konformacyjnych, umożliwiających zmianę aktywności białka. Inhibitory kinaz są skuteczne zwłaszcza w przypadku chorób nowotworowych gdzie często dochodzi do nadczynności enzymów. Nadekspresja niektórych kinaz prowadzi do nadmiernej proliferacji komórek oraz ułatwia powstawanie dalszych mutacji na drodze karcenogenezy. Do leków mających obecnie znaczenie w leczeniu nowotworów należą między innymi leki oparte na strukturze chinoliny i chinazoliny, jak na przykład gefitynib, erlotynib czy lapatynib. Wprowadzenie kilku leków z grupy pochodnych chinazoliny zaowocowało znacznym zainteresowaniem pod kątem ich dalszego rozwijania oraz powstaniem szeregu prac opisujących ich aktywność, w tym zgłoszeń patentowych. Jak zaobserwowano, wśród pochodnych chinazoliny dominują związki podstawione w pozycji C4 zwłaszcza grupą aminoarylową lub aminoalkilową [G. Marzaro, A. Guiotto, A. Chilin, Quinazoline derivatives as potential anticancer agents: a patent review (2007–2010)., Expert Opin. Ther. Pat. 22 (2012) 223–52]. W opisie wynalazku WO2005115145 ujawniono pochodne chinoliny i chinazoliny będące inhibitorami kinaz proteinowo-tyrozynowych (PTK) związanych z angiogenezą komórek rakowych. Aktywność opisywanych związków polegała na hamowaniu czynników wzrostu receptorów kinaz, które regulują rozwój naczyń krwionośnych. Działanie opisanych układów jest nieodwracalne, a więc polega na silnym i trwałym wiązaniu do odpowiednich receptorów. Opis wynalazku przewiduje obecność podstawników w pozycji 2 szkieletu chinoliny, lecz nie obejmuje pochodnych 2-styrylochinazolinowych.

W opisie wynalazku WO2006040522 opisano układy chinoliny modyfikowane w położeniu 4- podstawionym pirazolem. Według opisu, związki mogą stanowić środki ograniczające proliferację komórek rakowych poprzez mechanizm hamowania PDGF receptorów kinaz. Szeroka grupa pochodnych chinazolinonu oraz ich zastosowanie do wytwarzania leków przeciwnowotworowych znana jest także z opisu WO2006125555.

Pochodne modyfikowane w pozycji C2 szkieletu chinazoliny zawierają głównie podstawnik aminoarylowy lub aminoalkilowy, jak w dokumentach: WO2008020203, WO2008068507, WO2008079988. Znane są również podstawniki aryłowe, również o rozbudowanej strukturze, jak w dokumentach: WO2010056758, WO2010026122, WO2009053694.

W opisie patentowym US9216177 przedstawiono 2-styrylochinazolinony jako inhibitory rekombinazy RAD51. Związki takie mogą być wartościowymi składnikami leków przeciwnowotworowych. Ujawnione w opisie zostały przede wszystkim pochodne modyfikowane w pozycji N3 pierścienia chinazolinonu.

Bardzo niewiele leków z opisanej grupy wykorzystuje układ sulfonylowy. Znane są pochodne posiadające grupy sulfonamidowe jak w przypadku pazopanibu gdzie ugrupowanie sulfonamidowe odpowiada za wiązanie z białkiem celowym leku – receptorem VEGFR. Natomiast grupy sulfonylowe wykorzystywane są jako wygodne grupy odchodzące oraz w metodach syntezy różnych typów związków, na przykład sulfonamidów. Brak jest danych na temat wykorzystania takich związków w otrzymywaniu leków. Stosuje się grupy mezyłowe lub tozylowe do otrzymywania farmaceutycznych postaci niektórych leków, tam gdzie istnieje potrzeba zwiększenia rozpuszczalności i biodostępności. Grupy te stanowią wówczas przeciwnon dla sprotonowanej grupy aminowej lub podobnej. Nie przedstawiono natomiast dotychczas pochodnych kwasów sulfonowych chinazoliny o wysokiej aktywności przeciwnowotworowej.

Celem twórców niniejszego wynalazku było wskazanie nowego zastosowania związku z grupy benzodioksolo-sulfonylowych pochodnych chinazoliny w leczeniu nowotworów oraz wykazanie jego niespodziewanie wysokiej aktywności wobec szeregu kinaz tyrozynowych oraz działania antyproliferacyjnego w komórkach nowotworów należących do różnych typów.

Istotę wynalazku stanowi 1,3-benzodioksolo-5-sulfonylowa pochodna chinazoliny przedstawiona wzorem 1 o pełnej nazwie chemicznej 4-[1,3-benzodioksolo-5-sulfonian]-2-[(E)-2-(2-metoksyfenylo)-etenyl]chinazoliny (kodowa nazwa: BS1) do zastosowania w leczeniu nowotworów, zwłaszcza białaczek, nowotworów jelit lub mózgu.

Rozwiązanie według wynalazku zostanie bliżej przedstawione i wyjaśnione na poniższych przykładach, przy czym w przykładzie 1 opisano sposób otrzymywania omawianej pochodnej, w przykładzie 2 przedstawiono aktywność pochodnej wobec izolowanych kinaz białkowych kluczowych dla leczenia nowotworów, w przykładach 3–5 przedstawiono aktywność pochodnej wobec linii komórek nowotworowych oraz normalnych komórek ludzkich, w przykładzie 6 przedstawiono zastosowanie znanej procedury do oznaczania poziomu ekspresji kinaz w komórkach nowotworowych, a więc podatność nowotworów na leczenie wykorzystujące leki otrzymane z zastosowaniem pochodnej według wynalazku, natomiast w przykładzie 7 przykładowy skład leku na bazie pochodnej BS1.

Z przedstawionych badań wynika wysoka aktywność 4-[1,3-benzodioksolo-5-sulfonian]-2-[(E)-2-(2-metoksyfenylo)-etenilo]chinazoliny wobec kinaz tyrozynowych istotnych w procesach nowotworzenia. Związek ten wykazuje też wysoką aktywność antyproliferacyjną względem komórek pochodzących z różnych guzów litych oraz białaczek. Szczególnie wobec nowotworów jelit gdzie wartość IC_{50} stosowana jako miara aktywności jest o dwa rzędy wielkości niższa niż imatynibu – stosowanego obecnie leku o zbliżonym mechanizmie działania. Jednocześnie pochodna przedstawiona w niniejszym wynalazku wykazuje niewielką toksyczność wobec komórek normalnych. Dzięki temu może być z powodzeniem stosowana do wytwarzania leku o działaniu przeciwnowotworowym. Warto podkreślić że dotychczas estry kwasów sulfonowych nie były wykorzystywane bezpośrednio w podobnych zastosowaniach. Tymczasem mogą stanowić korzystną alternatywę dla dostępnych rozwiązań, choćby z uwagi na prostotę otrzymywania. Według poniższych przykładów synteza związku BS1 jest nieskomplikowana oraz zachodzi z dobrą wydajnością, jednocześnie wymaga mniej etapów niż pochodne sulfonamidowe, w których może być substratem. Ponadto specyficzny mechanizm działania pochodnej BS1 przedstawiony w przykładach jest inny niż postulowany dla pochodnych sulfonamidowych, które są najczęściej inhibitorami dehydrogenazy węglanowej zależnej od jonów cynku (zgodnie z: Cassini i wsp. *Cancer Drug Targets*, 2002, 2, 55). Zatem rozwiązanie opisane wynalazkiem może sprawdzić się również w przypadku leczenia takich odmian choroby, które zyskały odporność na dotychczas stosowane środki.

Przykład 1

Otrzymywanie 4-[1,3-benzodioksolo-5-sulfonian]-2-[(E)-2-(2-metoksyfenylo)-etenilo]chinazoliny (nazwa kodowa: BS1) o wzorze 1.

2-Styrylochinazolinę, niezbędną do syntezy końcowego produktu, otrzymano poprzez kondensację aldehydu 2-metoksybenzoesowego z 2-metylo-4(3H)-chinazolinonem. Reakcję przeprowadzono w kwasie octowym (99.5%) z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego (80 W, 140°C, 90 minut). Po ostudzeniu odsączono wytrącony osad i przemyto acetonem. Przykładowa metoda otrzymywania opisana jest w publikacji Mularski, J.; Malarz, K.; Pacholczyk, M.; Musiol, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 163, 610–625.

Pochodną BS1 otrzymano stosując 2-[(E)-2-(2-metoksyfenylo)etenilo]chinazol-4(3H)-on (otrzymaną w pierwszym etapie 2-Styrylochinazolinę) oraz chlorek kwasu 1,3-benzodioksolo-5-sulfonowego (w stosunku molowym 1:1) w obecności trietyloaminy i N,N-dimetyloaminopirydyny (DMAP). Reakcję prowadzono w 50 mL chlorku metylenu przez 24 godziny w warunkach temperatury pokojowej. Produkt izolowano przy użyciu chromatografii kolumnowej FLASH używając jako eluentu mieszaninę chloroform-octan etylu (40:1).

(BS1) 1H NMR (500 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ 8.26 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 8.15 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.89 (ddd, J = 8.5, 7.2, 1.6 Hz, 1H), 7.73 (dd, J = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.56 (ddd, J = 8.1, 7.1, 1.1 Hz, 1H), 7.47 (ddd, J = 8.8, 7.4, 1.7 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.08 (td, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.01 (s, 2H), 3.94 (s, 3H);

^{13}C NMR (126 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ 161.16, 158.94, 154.16, 147.71, 146.93, 143.74, 143.06, 139.23, 136.01, 133.18, 129.90, 127.84, 126.88, 123.54, 123.01, 121.53, 120.59, 119.88, 117.78, 112.61, 107.61, 106.72, 101.55, 56.28; HRMS (ESI) obliczono dla $C_{24}H_{18}N_2O_6S$ $[M - H]^-$ 461.0813; znaleziono 461.0821; T_{top} : 223–225°C.

Przykład 2

Oznaczanie hamowania kinazy białkowej.

Przykładowa procedura pomiaru inhibicji niereceptorowych kinaz tyrozynowych przy pomocy testów Kinase Selectivity Profiling Systems (Promega) oraz ADP-Glo Kinase Assay (Promega). Przed przystąpieniem do badania rozpuszczono związki BS1 w DMSO, a następnie przygotowano roztwory w stężeniu 0,5 μM w 1X Kinase Reaction Buffer (40 mM Tris – pH 7,5; 20 mM $MgCl_2$; 0,1 mg/mL BSA; 50 μM DTT), w którym końcowe stężenie DMSO wynosiło 5%. Następnie każdą kinazę (ABL1; BRK;

BTK; CSK; FYN A; LCK; LYN B; SRC) z 8-dołkowego paska rozpuszczono w 95 μL 2,5X Kinase Reaction Buffer, a 8-dołkowe paski zawierające substraty w 15 μL 100 μM ATP. Test na inhibicję kinaz tyrozynowych przeprowadzono na płytce białej 384-dołkowej, w tym celu przeniesiono roztwory BS1 w ilości 1 μL , a następnie dodano po 2 μL wcześniej przygotowanych roztworów kinaz oraz substratów i inkubowano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Aktywność kinaz wykrywano za pomocą testu ADP-Glo Kinase Assay. W metodzie tej dodano 5 μL odczynnika ADP-Glo™ Reagent do każdej studzienki, po czym płytkę wymieszano na wytrząsarce przez 2 minuty i inkubowano 40 minut w temperaturze pokojowej. Następnie, dodano 10 μL odczynnika Kinase Detection Reagent, ponownie mieszano i inkubowano 30 minut w temperaturze pokojowej. Wartość luminescencji odczytano przy użyciu wielodetekcyjnego czytnika płytek Synergy 4, Bio Tek. Wyniki, w postaci procentowej wartości zahamowania aktywności kinazy przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Hamowanie kinaz przez pochodną BS1

	Inhibicja jako procent aktywności [%] – przy stężeniu 0.5 μM							
	ABL1	BRK	BTK	CSK	Fyn A	Lck	Lyn B	Src
BS1	28.39	15.30	18.80	0	23.68	25.78	0	0.19
Imatinib	77.17	0	0	0	0	0	0	0

Z danych przedstawionych w tabeli 1 wynika jednoznacznie, że związek BS1 wykazuje wysoką zdolność do hamowania kinaz tyrozynowych. Wyniki zostały przedstawione w porównaniu do imatinibu, to jest znanego leku przeciwnowotworowego o mechanizmie działania polegającym na hamowaniu aktywności kinaz.

Przykład 3

Aktywność przeciwnowotworowa chinazoliny BS1 wobec nowotworów jelita grubego.

Aktywność antyproliferacyjną oznaczono wobec komórek ludzkiego raka jelita HCT 116 +/+ (linia komórek p53 pozytywnych). Komórki wysiano w ilości 9 tysięcy na dołek (wraz z 100 μL /dołek medium DMEM) i pozostawiono na 24 godziny w temperaturze 37°C; 5% CO₂. Związek BS1 rozpuszczony w minimalnej ilości DMSO podawano w stężeniach umożliwiającym wyznaczenie krzywej aktywności. Przykładowa aplikacja związku – rozpuszczenie związku w DMSO w celu przygotowania roztworów o następujących stężeniach: 25 μM , 10 μM , 5 μM , 2,5 μM , 0,5 μM , 0,1 μM . Końcowa objętość w dołkach wynosiła 200 μL . Tak przygotowane komórki poddano inkubacji w czasie 72 godzin, po czym przeprowadzono ocenę żywotności komórek w teście MTS. Do każdej studzienki w płytce 96 dołkowej dodano 20 μL roztworu MTS (5 mg/mL) i inkubowano przez 1 godzinę. Wartości absorbancji odczytano przy użyciu spektrofotometru przy długości fali 490 nm. Wyniki testów w postaci średniej wraz z odchyleniem zostały przedstawione w tabeli 2 w przeliczeniu na wartości IC₅₀. Jako związek referencyjny zastosowano imatinib.

Przykład 4

Aktywność przeciwnowotworowa BS1 wobec nowotworów jelita grubego z delecją genu supresorowego TP53.

Aktywność antyproliferacyjną oznaczono wobec komórek ludzkiego raka jelita HCT 116 -/- (linia komórek z delecją genu p53). Komórki wysiano w ilości 9 tysięcy na dołek (wraz z 100 μL /dołek medium DMEM) i pozostawiono na 24 godziny w temperaturze 37°C; 5% CO₂. Związek BS1 rozpuszczony w minimalnej ilości DMSO podawano w stężeniach umożliwiającym wyznaczenie krzywej aktywności. Przykładowa aplikacja związku – rozpuszczenie związku w DMSO w celu przygotowania roztworów o następujących stężeniach: 25 μM , 10 μM , 5 μM , 2,5 μM , 0,5 μM , 0,1 μM . Końcowa objętość w dołkach wynosiła 200 μL . Tak przygotowane komórki poddano inkubacji w czasie 72 godzin, po czym przeprowadzono ocenę żywotności komórek w teście MTS. Do każdej studzienki w płytce 96 dołkowej dodano 20 μL roztworu MTS (5 mg/mL) i inkubowano przez 1 godzinę. Wartości absorbancji odczytano przy użyciu spektrofotometru przy długości fali 490 nm. Wyniki testów w postaci średniej wraz z odchyleniem zostały przedstawione w tabeli 2 w przeliczeniu na wartości IC₅₀.

W analogiczny sposób jak w przykładach 3 i 4 można oznaczyć aktywność przeciwnowotworową na dowolnych wyizolowanych komórkach nowotworów zwierzęcych, w szczególności ludzkich.

Przykład 5

Cytotoksyczność względem normalnych komórek ludzkich.

Cytotoksyczność oznaczono wobec ludzkich fibroblastów (linia komórek NHDF). Komórki wysiano w ilości 9 tysięcy na dołek (wraz z 100 μ L/dołek medium DMEM) i pozostawiono na 24 godziny w temperaturze 37°C; 5% CO₂. Związek BS1 rozpuszczony w minimalnej ilości DMSO podawano w stężeniach umożliwiających wyznaczenie krzywej aktywności. Przykładowa aplikacja związku – rozpuszczenie związku w DMSO w celu przygotowania roztworów o następujących stężeniach: 25 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 2,5 μ M, 0,5 μ M, 0,1 μ M. Końcowa objętość w dołkach wynosiła 200 μ L. Tak przygotowane komórki poddano inkubacji w czasie 72 godzin, po czym przeprowadzono ocenę żywotności komórek w teście MTS. Do każdej studzienki w płytce 96 dołkowej dodano 20 μ L roztworu MTS (5 mg/mL) i inkubowano przez 1 godzinę. Wartości absorbancji odczytano przy użyciu spektrofotometru przy długości fali 490 nm. Wyniki testów w postaci średniej wraz z odchyleniem są przedstawione w Tabeli 2 (w przeliczeniu na wartości IC₅₀).

Tabela 2. Aktywność przeciwnowotworowa oraz cytotoksyczność BS1

	Aktywność jako - IC ₅₀ [μ M]							
	K562	HCT 116 p53 ^{+/+}	HCT 116 p53 ^{-/-}	MCF-7	A549	U-251	PANC-1	NHDF
BS1	0.172 $\pm$ 0.034	0.880 $\pm$ 0.086	0.563 $\pm$ 0.121	8.325 $\pm$ 1.940	>25	1.897 $\pm$ 0.649	3.981 $\pm$ 0.597	12.540 $\pm$ 0.855
CP-31398	3.087 $\pm$ 0.360	18.63 $\pm$ 0.92	26.28 $\pm$ 1.41	26.96 $\pm$ 2.10	>25	18.77 $\pm$ 1.65	>25	12.26 $\pm$ 0.54
Imatynib	0.133 $\pm$ 0.030	44.55 $\pm$ 2.41	51.21 $\pm$ 4.09	>25	>25	>25	>25	>25

Wyniki przedstawione w tabeli 2 zostały przedstawione w porównaniu do dwóch leków CP-31398 eksperymentalnego leku o strukturze zbliżonej do pochodnej BS1 (4-aminostyrylochinazolin) oraz imatynibu – leku stosowanego w leczeniu białaczek. Zgodnie z danymi można zaobserwować że pochodna BS1 wykazuje najwyższą aktywność zwłaszcza wobec nowotworów jelit, mózgu oraz białaczek.

Przykład 6

Oznaczanie podatności nowotworu na działanie leków otrzymanych z pochodnej BS1 według wynalazku.

Oznaczanie podatności wykonano jako wyznaczenie poziomu ekspresji genów kinaz z rodziny SRC (CSK; FYN A; LCK; LYN B; SRC) za pomocą metody Real-Time PCR (RT-PCR). Oznaczenia przeprowadzono na ludzkich liniach komórkowych: raka jelita grubego (HCT 116), gruczolakoraka jelita grubego (Caco-2), raka piersi (MCF-7), raka płuc (A549) oraz prawidłowych fibroblastów (NHDF). Przed przystąpieniem do właściwej części oznaczenia, komórki wysiano na 3 cm szalkach Petriego w ilości 500 tys./1 mL medium DMEM i inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C; 5% CO₂. Po tym czasie z komórek wyizolowano RNA za pomocą odczynnika TRIzol Reagent (Ambion), oczyszczono i zmierzono w spektrofotometrze typu NanoDrop. Następnie, 5 μ g wyizolowanego RNA poddano procesowi odwrotnej transkrypcji do cDNA za pomocą GoScript™ Reverse Transcriptase kit (Promega) oraz Oligo(dT)₂₃ Primers (Sigma). Otrzymany produkt wykorzystano do reakcji Real-Time PCR, którą przeprowadzono w termocyklerze CTX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Biorad). W tym celu, przygotowano mieszaninę reakcyjną w objętości 20 μ L. Przykładowo mieszaninę reakcyjną sporządzono z master mixu – 2X PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems), który zawierał dinukleotydy (dNTPs), polimerazę (Dual-Lock Taq DNA Polymerase) oraz barwnik SYBR Green, po czym dodano pary starterów w ilości 0,5 μ M, 1 μ L matrycy cDNA oraz uzupełniono sterylną wodą do końcowej objętości. Przykładowe pary starterów podano w tabeli 3. Gotową mieszaninę reakcyjną umieszczono w termocyklerze i przeprowadzono reakcję RT-PCR, składającą się z następujących etapów:

- początkowa denaturacja w 95°C przez 120 sekund,
- denaturacja w 95°C przez 15 sekund, przyłączanie starterów przez 30 sekund (temperatura specyficzna dla zaprojektowanych par starterów), wydłużanie matrycy w temperaturze 72°C przez 60 sekund; etap ten składa się z 40 cykli,
- pomiar krzywych topnienia w zakresie temperaturowym 65°C – 95°C (2–5 sekund na każde 0,5°C), celem weryfikacji otrzymanych produktów podczas reakcji RT-PCR.

Otrzymane dane analizowano porównując ekspresję badanych genów do referencyjnego genu podstawowego metabolizmu – β -aktyny przy pomocy standardowej metody $2^{-\Delta\Delta CT}$ wprowadzonej przez Livak i Schmittgen.

Wyniki badań, które zostały przedstawione w tabeli 4, wskazują na szczególnie wysoki poziom kinaz w komórkach nowotworów jelit.

Tabela 3. Zaprojektowane pary starterów

Gen	Forward primer (5' → 3')	Reverse primer (5' → 3')
CSK	GGCTCTACATCGTCACTGAG	CTCAGACACCAGCACATTG
FYN A	GTAGTCATGGCAACCCGCTA	ACAACCCCCACCCTCATTTTC
LCK	AGCTTTTCTGTGGCTGGTGA	CATTTCGGATGAGCAGCGTG
LYN B	GCGAGCGGGAATATGGGAT	AGATTCTGGAAGTGGTTGAGTCT
SRC	CCTCGTGCGAGAAAGTGAG	TGGCGTTGTCGAAGTCAG
β -aktyna	CTCGCCTTTGCCGATCC	GCTGGGGTGTGAAGGTCTC

Tabela 4. Względna ekspresja kinaz w badanych komórkach nowotworowych.

Komórki	Ekspresja kinaz				
	SRC	CSK	FYNA	LYN B	LCK
HCT116 p53 +/+	0,997561	3,597657	5,872974	5,536789	1,385958
HCT116 p53 -/-	0,448602	2,745799	3,57869	3,213361	4,957144
MCF-7	0,057369	1,222902	0,367766	0,477916	0,047678
A549	1,024934	0,871319	0,259529	0,605141	0,014632

Przykład 7

Leki o działaniu przeciwnowotworowym wytworzone z zastosowaniem pochodnej BS1 mogą mieć rozmaite postacie farmaceutyczne, takie jak tabletki, kapsułki, proszki, granulki, syropy i postacie do iniekcji i mogą być wytwarzane znanymi sposobami formułowania, łącznie z dodatkami, w tym zaróbkami, lepiszczami, środkami rozsadzającymi i środkami solubilizującymi.

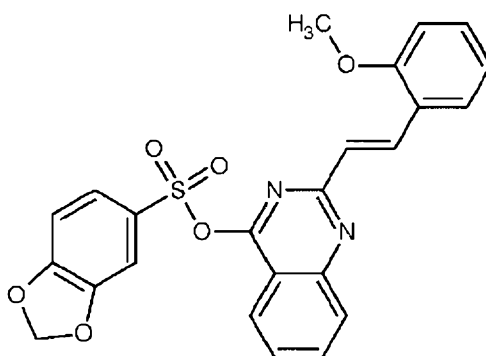
Poniżej przedstawiono przykładowy skład takiego leku w postaci tabletki:

Pochodna BS1	150 mg
Celuloza mikrokryształiczna	50 mg
Stearynian magnezu	5 mg
Hypromeloza	100 mg
Krzemionka koloidalna bezw.	20 mg
Masa tabletki ogółem	325 mg

Tabletka może być również powlekana przy pomocy mieszanki makrogolu 4000, hypromelozy i talku (w stosunku 3:1:1).

Zastrzeżenie patentowe

1. 1,3-benzodioxolo-5-sulfonylowa pochodna chinazoliny przedstawiona wzorem 1 do zastosowania w leczeniu nowotworów, zwłaszcza białaczek, nowotworów jelit lub mózgu.

Rysunek**Wzór 1**