



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07F 9/572 (2020.08); A61K 31/675 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020117071, 30.04.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.04.2020Дата регистрации:
12.11.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.04.2020

(45) Опубликовано: 12.11.2020 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

420088, Респ. Татарстан, г. Казань, ул.
Арбузова, 8, ФИЦ КазНЦ РАН, Патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Газизов Альмир Сабирович (RU),
Смолобочкин Андрей Владимирович (RU),
Турманов Рахымжан Ахметханович (RU),
Волошина Александра Дмитриевна (RU),
Бурилов Александр Романович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

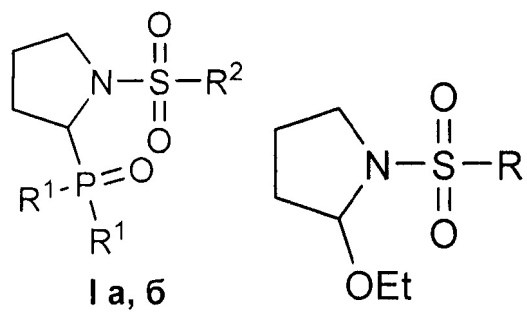
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки "Федеральный
исследовательский центр "Казанский
научный центр Российской академии наук"
(RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: А.В.СМОЛОБОЧКИН и др.
Синтез 1-(арилсульфонил)пирролидинов из
фенолов и 1-[(4-хлорфенил)сульфонил]-2-
этоксипирролидина, ЖУРН. ОРГ. ХИМИИ,
2017, т.53, 2, с.209-212. Л.И.ВАГАПОВА и др.
Первые представители арилзамещенных
пирролидинов, содержащих этилфосфоновую
и этилбис(фосфоновую) группу, в сборнике
тезисов докладов VII МОЛОДЕЖНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ ИОХ (см. прод.)

(54) 1-Сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидины, обладающие цитотоксичностью в отношении раковых клеток шейки матки, и способ их получения

(57) Реферат:

Изобретение относится к 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинам формулы I, обладающим цитотоксическим действием в отношении раковых клеток. В формуле I $R^1=Ph$, $R^2=Me$ (а); $R^1=R^2=Ph$ (б). Изобретение относится также к способу получения соединений формулы I. Способ заключается во взаимодействии 1-сульфонил-2-этоксипирролидинов представленной ниже общей формулы, для которых $R = Me, Ph$, с избытком дифенилхлорфосфина в присутствии уксусной кислоты в подходящем растворителе при

комнатной температуре до завершения реакции и выделения целевого продукта известными способами. Технический результат: полученные соединения селективно подавляют рост раковых клеток при низком или отсутствующем токсическом действии на нормальные клетки. 3 н. и 1 з.п. ф-лы, 1 табл., 4 пр.



(56) (продолжение):

РАН, М.:МАКС Пресс, 2017, с.126. А.В.СМОЛОБОЧКИН и др. Синтез 2-(дифенилфосфорил)пирролидин-1-карбоксамидов на основе реакции 1-(4,4-диэтоксипентил)мочевин с дифенилхлорфосфином, ЖУРН. ОБЩ. ХИМИИ, 2019, т.89, 10, с.1606-1610.

RU 2736205 C1

RU 2736205 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07F 9/572 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C07F 9/572 (2020.08); A61K 31/675 (2020.08)(21)(22) Application: **2020117071, 30.04.2020**(24) Effective date for property rights:
30.04.2020

Registration date:
12.11.2020

Priority:

(22) Date of filing: **30.04.2020**(45) Date of publication: **12.11.2020 Bull. № 32**

Mail address:

**420088, Resp. Tatarstan, g. Kazan, ul. Arbuzova,
8, FITS KazNTS RAN, Patentnyj otдел**

(72) Inventor(s):

**Gazizov Almir Sabirovich (RU),
Smolobochkin Andrej Vladimirovich (RU),
Turmanov Rakhymzhan Akhmetkhanovich (RU),
Voloshina Aleksandra Dmitrievna (RU),
Burilov Aleksandr Romanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

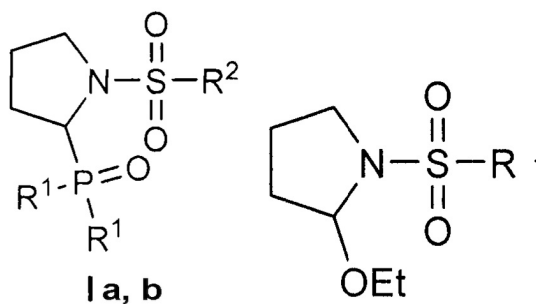
**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie nauki "Federalnyj issledovatel'skij
tsentr "Kazanskij nauchnyj tsentr Rossijskoj
akademii nauk" (RU)**

(54) **1-SULFONYL-2-(DIPHENYLPHOSPHORYL)PYRROLIDINES HAVING CYTOTOXICITY AGAINST CERVICAL CANCER CELLS, AND A METHOD OF PRODUCING SAID**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

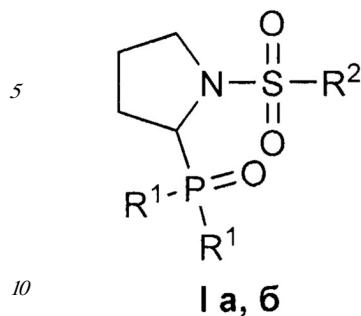
SUBSTANCE: invention relates to 1-sulfonyl-2-(diphenylphosphoryl)pyrrolidines of formula I, having cytotoxic action on cancer cells. In the formula I $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (a); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (b). Invention also relates to a method of producing compounds of formula I. Method involves reacting 1-sulphonyl-2-ethoxypyrrolidines of the general formula given below, for which $R = \text{Me}$, Ph , with excess of diphenylchlorophosphine in the presence of acetic acid in a suitable solvent at room temperature until completion of the reaction and extraction of the end product using known methods.



EFFECT: obtained compounds selectively suppress growth of cancer cells with low or no toxic effect on normal cells.

4 cl, 1 tbl, 4 ex

Изобретение относится к области органической химии, в частности, к новым 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинам формулы I



где $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (а); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (б),

которые могут найти применение в фармакологии и медицине.

15 Пирролидиновый фрагмент входит в состав многих известных биологически активных соединений (Debnath B., Singh W.S., Das M., Goswami S., Singh M.K., Maiti D., Manna K. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities, Mater. Today Chem., 2018, 9, 56-72; Singh P., Manda S.L.K., Samanta K., Panda G. α -Amino acids with electrically charged and polar uncharged side chains as chiral synthon: Application to the synthesis of bioactive alkaloids (1996-Dec, 2013), Tetrahedron, 2017, 73, 1911-2008; Gouliaev A.H., Senning A. Piracetam and other structurally related nootropics, Brain Res. Rev., 1994, 19, 180-222; Hollstein U. Actinomycin. Chemistry and mechanism of action, Chem. Rev., 1974, 74, 625-652). Согласно литературным данным, пирролидин является одним из наиболее часто встречающихся в составе лекарственных препаратов гетероциклов (Haria M., Balfour J.A. Levetiracetam, CNS Drugs, 1997, 7, 159-164). Следует особо отметить один из новых противораковых

20 препаратов, содержащих фрагмент 2-замещенного пирролидина, «Акалабрутиниб» (Byrd J.C., Harrington B., O'Brien S., Jones J.A., Schuh A., Devereux S., Chaves J., Wierda W.G., Awan F.T., Brown J.R., Hillmen P., Stephens D.M., Ghia P., Barrientos J.C., Pagel J.M., Woyach J., Johnson D., Huang J., Wang X., et al. Acalabrutinib (ACP-196) in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia, N. Engl. J. Med., 2016, 374, 323-332) компании «Астра Зенека» для

30 взрослых пациентов с мантийноклеточной лимфомой, одобренный Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США в 2017 году.

Значительный интерес вызывают производные пирролидина, имеющие в своем составе фосфорорганический фрагмент - фосфорсодержащие аналоги аминокислоты пролина. В частности, представители этого класса соединений обладают

35 бактерицидными, фунгицидными, гербицидными свойствами (Sirrenberg W., Hammann I., Homeyer B. O-(1,2-dibromo-2,2-dichloro-ethyl)-phosphoric acid diester-amides, 3911058, 1975; Sirrenberg W., Hammann I. O-(1-Methyl-2-alkylmercapto-vinyl)-phosphoric acid ester amides, 3856892, 1999; Hassan J. Phosphorous organic compounds and their use, 6812224, 2004); олигопептиды, содержащие фрагмент фосфопрлина (2-фосфорилпирролидина) могут

40 выступать в качестве ингибиторов различных протеаз (Vander Veken P., Soroka A., Brandt I., Chen Y.-S., Maes M.-B., Lambeir A.-M., Chen X., Haemers A., Scharpé S., Augustyns K., DeMeester I. Irreversible Inhibition of Dipeptidyl Peptidase 8 by Dipeptide-Derived Diaryl Phosphonates, J. Med. Chem., 2007, 50, 5568-5570; Belyaev A., Zhang X., Augustyns K., Lambeir A.-M., DeMeester I., Vedernikova I., Scharpé S., Haemers A. Structure-Activity Relationship of Diaryl Phosphonate Esters as Potent Irreversible Dipeptidyl Peptidase I Inhibitors, J. Med. Chem., 1999, 42, 1041-1052; Gilmore B.F., Carson L., McShane L.L., Quinn D., Coulter W.A., Walker B. Synthesis, kinetic evaluation, and utilization of abiotic nylated dipeptide proline

45

diphenylphosphonate for the disclosure of dipeptidyl peptidase IV-like serine proteases, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006, 347, 373-379; Sabidó E., Tarragó T., Niessen S., Cravatt B.F., Giralt E. Activity-Based Probes for Monitoring Postproline Protease Activity, *ChemBioChem*, 2009, 10, 2361-2366) и протеиназы ВИЧ-1 (Camp N.P., Hawkins P.C.D., Hitchcock P.B., Gani D. Synthesis of stereochemically defined phosphoramidate-containing peptides: Inhibitors for the HIV-1 proteinase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1992, 2, 1047-1052; Camp N.P., Perrey D.A., Kinchington D., Hawkins P.C.D., Gani D. Synthesis of peptide analogues containing phosphoramidate methyl ester functionality: HIV-1 proteinase inhibitors possessing unique cell uptake properties, *Bioorg. Med. Chem.*, 1995, 3, 297-312). Нуклеозид, содержащий фрагмент 2-фосфорилпирролидина, может быть использован при лечении гепатита, в частности, вирусного гепатита В (Das H., Wang L., Kamath A., Bukowski J.F. Vgamma 2 V delta 2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobis phosphonates, *Blood*, 2001, 98, 1616-1618). Неменьший интерес вызывают производные 1-сульфонилпирролидина, предложенные для лечения тромбоэмболических (Noguchi T., Tanaka N., Nishimata T., Goto R., Hayakawa M., Sugidachi A., Ogawa T., Asai F., Fujimoto K., Matsui Y., Fujimoto K. Indoline Derivatives I: Synthesis and Factor Xa (FXa) Inhibitory Activities, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 2006, 55, 1494-1504) и нейродегенеративных заболеваний, таких, как болезнь Паркинсона (Vincent M., Jürgen W. 1-Sulfonylpyrrolidine derivatives, US 2003212066, 2013; Vincent M., Eric V., Jürgen W. 1-arenesulfonyl-2-aryl-pyrrolidine and piperidine derivatives, US 6284785B1, 04.09.2001) и Альцгеймера (Guo T., Gu H., Hobbs D.W., Rokosz L.L., Stauffer T.M., Jacob B., Clader J.W. Design, synthesis, and evaluation of tetrahydroquinoline and pyrrolidine sulfonamide carbamates as γ -secretase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17, 3010-3013); а также способные выступать в качестве антагонистов опиоидных рецепторов (Verhoest P.R., Sawant Basak A., Parikh V., Hayward M., Kauffman G.W., Paradis V., McHardy S.F., McLean S., Grimwood S., Schmidt A.W., Vanase-Frawley M., Freeman J., VanDeusen J., Cox L., Wong D., Liras S. Design and Discovery of a Selective Small Molecule κ Opioid Antagonist (2-Methyl-N-((2'-(pyrrolidin-1-ylsulfonyl)biphenyl-4-yl)methyl)propan-1-amine, PF-4455242), *J. Med. Chem.*, 2011, 54, 5868-5877) и хемокинового рецептора CCR4 (Burdí D.F., Chi S., Mattia K., Flarrington C., Shi Z., Chen S., Jacutin-Porte S., Bennett R., Carson K., Yin W., Kansra V., Gonzalo J.-A., Coyle A., Jaffee B., Ocain T., Hodge M., LaRosa G., Harriman G. Small molecule antagonists of the CC chemokine receptor 4 (CCR4), *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17, 3141-3145). Кроме того, имеются сведения об ингибировании этими соединениями матриксной металлопротеиназы 2 (MMP2) (Cheng X.-C., Wang Q., Fang H., Tang W., Xu W.-F. Synthesis of new sulfonylpyrrolidine derivatives as matrix metalloproteinase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, 16, 7932-7938). В то же время, несмотря на интенсивные исследования в области химии и фармакологии производных 2-фосфорилпирролидина и 1-сульфонилпирролидина, сведения об их противораковой активности и цитотоксическом действии в отношении раковых клеток представлены в литературе единственным примером (Bagautdinova R.K., Vagapova L.I., Smolobochkin A.V., Gazizov A.S., Burilov A.R., Pudovik M.A., Voloshina A.D. Synthesis of 1-(2-aminoethylsulfonyl)-2-phosphorylpyrrolidines via consecutive Arbuzov and Michael reactions and their antitumor activity, *Mendeleev Commun.*, 2019, 29, 686-687).

Имеющиеся методы синтеза фосфорсодержащих производных пирролидина могут быть разделены на два основных подхода. Первый базируется на модификации уже имеющегося пирролидинового ядра. Наибольшее распространение в рамках этого подхода получили методы, основанные на взаимодействии производных 1-пирролина (Huang S., Chen Z., Du L., Tian Q., Liu Y., Zheng Y., Liu Y. Site-Specific Detection of Free

Radicals in Membranes Using an Amphiphilic Spin Trap, *Appl. Magn. Reson.*, 2015, 46, 489-504; Odinets I.L., Artyushin O.I., Lyssenko K.A., Shevchenko N.E., Nenajdenko V.G.,

Röschenthaler G.-V. Facile synthesis of cyclic α -perfluoroalkyl 1- α -aminophosphonates, *J. Fluor. Chem.*, 2009, ISO, 662-666; Odinets I., Artyushin O., Shevchenko N., Petrovskii P.,

5 Nenajdenko V., Röschenthaler G.-V. Efficient Synthesis of Substituted Cyclic α -Aminophosphonates, *Synthesis (Stuttg.)*, 2009, 2009, 577-582), либотримера 1-пирролина (Couture A., Deniau E., Lebrun S., Grandclaude P., Carpentier J.-F. A new route to ene carbamates, precursors to benzindolizinones through sequential asymmetric hydrogenation and cyclization, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1998, 1403-1408; Borloo M., Jiao X.-Y., Wójtowicz

10 H., Rajan P., Verbruggen C., Augustyns K., Haemers A. A Convenient One-Pot Preparation of Disubstituted Phosphinic Acids Derived from Simple Amino Acids and Proline, *Synthesis (Stuttg.)*, 1995, 1995, 1074-1076; Koeller K.J., Rath N.P., Spilling C.D. Reactions of chiral phosphorus acid diamides: lewis acid catalyzed addition to imines and oxidation with SnCl_4 , *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.*, 1995, 103, 171-181) с гидрофосфорильными соединениями (реакция

15 Пудовика). Основными ограничениями этого подхода являются доступность и стабильность соответствующим образом замещенных исходных производных пирролидина, многостадийность превращений, требуемых для получения целевых соединений. Второй подход включает в себя формирование пирролидинового цикла из ациклических предшественников. Чаще всего в качестве исходных соединений

20 используются производные бутан-1-амин, содержащие фосфорильный заместитель (Qian R., Horak J., Hammerschmidt F. Conversion of nitriles to 1-aminophosphonic acids and preparation of phosphahomocysteines of high enantiomeric excess., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 2017, 192, 737-744; Ramírez-Marroquín O.A., Romero-Estudillo I.I., Viveros-

25 Ceballos J.L.J. L., Cativiela C., Ordóñez M., Ramirez-Marroquin O.A., Romero-Estudillo I.I., Viveros-Ceballos J.L., Cativiela C., Ordóñez M. Convenient Synthesis of Cyclic α -Aminophosphonates by Alkylation-Cyclization Reaction of Iminophosphoglycinates Using Phase-Transfer Catalysis., *European J. Org. Chem.*, 2016, 2016, 308-313; Chen Q., Yuan C. A Facile Synthesis of Chiral 4-(tert-Butylsulfinylamino)-2-oxophosphonates and Their Conversion into

30 5,5-Disubstituted 2-Benzylidene-3-oxopyrrolidines, *Synthesis (Stuttg.)*, 2008, 2008, 1085-1093; Davis F.A., Wu Y., Xu H., Zhang J. Asymmetric Synthesis of Cis-5-Substituted Pyrrolidine 2-Phosphonates Using Metal Carbenoid NH Insertion and δ -Amino β -Ketophosphonates., *Org. Lett.*, 2004, 6, 4523-4525). Существенным недостатком этого подхода является

35 необходимость предварительного введения в молекулы соединений-предшественников как фосфорильного фрагмента, так и функциональных групп, обеспечивающих возможность внутри- или межмолекулярной циклизации, что усложняет синтетическую схему и приводит к снижению выхода целевого соединения.

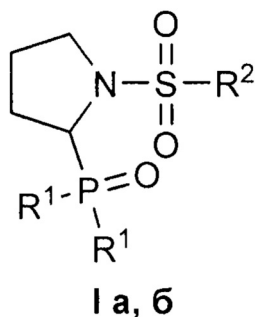
Задачей изобретения является создание новых средств, обладающих

40 цитотоксичностью в отношении раковых клеток, и при этом оказывающих низкое токсическое влияние на нормальные клетки, расширяющих ассортимент средств указанного назначения.

Техническим результатом является свойство новых 1-сульфонил-2-фосфорилпирролидинов селективно подавлять рост раковых клеток при низком или

45 отсутствующем токсическом действии на нормальные клетки. Технический результат также состоит в расширении арсенала средств указанного назначения.

Поставленная задача решается, и технический результат достигается заявляемыми новыми 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинами формулы I:



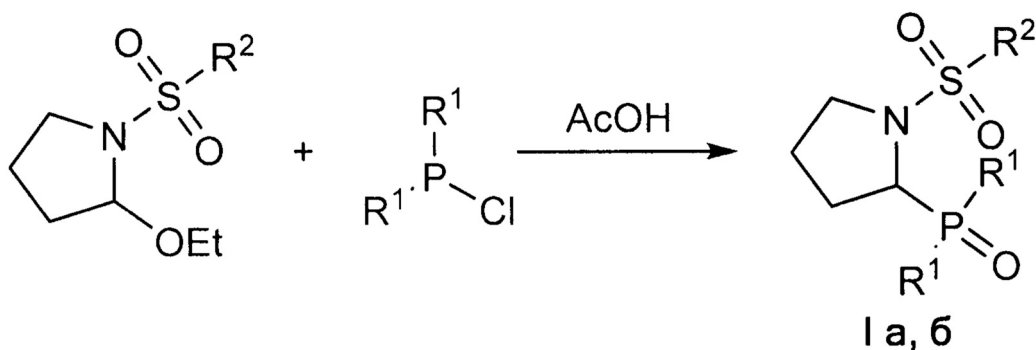
10 где $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (а); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (б).

Характеристики соединений формулы I приведены в соответствующих примерах, иллюстрирующих изобретение.

15 Для данных соединений определено свойство селективно подавлять рост раковых клеток при отсутствующем токсическом действии на нормальные клетки, что делает их перспективными в качестве новых противораковых препаратов. Заявленные соединения исследованы на цитотоксичность в отношении клеточных линий человека - нормальных клеток печени Chang liver и опухолевых M-Hela (рак шейки матки).

20 Кроме того поставленная задача решается, и технический результат достигается заявляемым способом получения 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинов формулы I, включающим взаимодействие при комнатной температуре 2-этоксипирролидинов с избытком дифенилхлорфосфина в присутствии уксусной кислоты в инертных растворителях, в качестве которых могут быть использованы хлороформ, бензол, толуол, ксилол. Далее выделяют целевой продукт известными 25 способами. Контроль за прохождением реакции осуществляют методом ^{31}P ЯМР-спектроскопии. Отсутствие избытка дифенилхлорфосфина приводит к снижению выхода целевого продукта.

Ниже приведена схема получения 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинов формулы I



40 где $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (а); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (б).

Исходные 2-этоксипирролидины были синтезированы по известной методике исходя из соответствующего сульфонилхлорида и 4,4-диэтоксипутан-1-амин (Gazizov A.S., Smolobochkin A.V., Anikina E.A., Voronina J.K., Burilov A.R., Pudovik M.A. Acid-catalyzed Intramolecular Cyclization of N-(4,4-diethoxybutyl)sulfonamides as a Novel 45 Approach to the 1-Sulfonyl-2 aryl-pyrrolidines, Synth. Commun., 2017, 47, 44-52).

При осуществлении заявленного способа были использованы коммерчески доступные растворители и реагенты: дифенилхлорфосфин (Tokyo Chemical Industry Co., чистота >97%), уксусная кислота (Tokyo Chemical Industry Co., чистота >99.5%), хлороформ,

бензол, толуол, ксилол (ООО НПФ «ТатХимПродукт», марка ХЧ).

Изобретение иллюстрируется примерами получения заявляемых соединений формулы I и исследования их цитотоксичности в отношении нормальных клеток печени и опухолевых клеток шейки матки.

Пример 1.

Получение (1-(Метилсульфонил)пирролидин-2-ил)дифенилфосфин оксида (Ia).

В круглодонную колбу помещают 0.29 г 2-этокси-1-(метилсульфонил)пирролидина (1.52 ммоль) и 10 мл абсолютного хлороформа. Затем добавляют 0.39 г дифенилхлорфосфина (1.77 ммоль) и 0.1 мл ледяной уксусной кислоты (1.75 ммоль), перемешивают при температуре 20°C в течение 24 часов до окончания реакции. Контроль за прохождением реакции осуществляют методом ^{31}P ЯМР-спектроскопии. Затем от реакционной смеси отгоняют растворитель, остаток промывают диэтиловым эфиром (5 мл). Образовавшийся белый осадок отфильтровывают и сушат в вакууме (10 мм рт. ст., 20°C, 5 ч). Выход 0.34 г (65%), т.пл. 169°C. ИК спектр ν , см^{-1} : 1341, 1438, 1591, 2938. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 1.78-1.89 м (1H, CH_2), 1.90-2.02 м (2H, CH_2), 2.08-2.20 м (1H, CH_2), 2.77 с (3H, CH_3), 3.21-3.31 м (1H, CH_2), 3.51-3.63 м (1H, CH_2), 5.00-5.10 м (1H, CH), 7.45-7.63 м (6H, CH_{Ar}), 7.79-7.85 м (2H, CH_{Ar}), 7.88-7.95 м (2H, CH_{Ar}). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 25.03, 26.73, 36.76, 50.03, 58.32 д (J 85.6 Гц), 128.57 д (J 1.5 Гц), 129.24 д (J 10.9 Гц), 131.45 д (J 8.5 Гц), 132.29 д (J 8.2 Гц). Спектр ЯМР ^{31}P (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 30.67. Масс-спектр (ESI-TOF), m/z : 372 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Найдено, %: C, 58.55; H, 5.90; N, 3.93; P, 8.92; S, 9.33. $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_3\text{PS}$. Вычислено, %: C, 58.44; H, 5.77; N, 4.01; P, 8.87; S, 9.18.

Пример 2.

Дифенил(1-(фенилсульфонил)пирролидин-2-ил)фосфин оксид - Ib получают аналогично примеру 1 из 0.39 г 2-этокси-1-(фенилсульфонил)пирролидина (1.52 ммоль). Получают белый порошок. Выход 0.19 г (30%), т.пл. 138-139°C. ИК спектр ν , см^{-1} : 1349, 1438, 1590, 2972. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 0.99-1.14 м (1H, CH_2), 1.50-1.63 м (1H, CH_2), 1.71-1.84 м (2H, CH_2), 3.22-3.31 м (1H, CH_2), 3.39-3.47 м (1H, CH_2), 5.14-5.24 м (1H, CH), 7.50-7.60 м (6H, CH_{Ar}), 7.69 т (1H, CH_{Ar} , J 7.5 Гц), 7.71-7.76 м (2H, CH_{Ar}), 7.84 д (2H, CH_{Ar} , J 7.4 Гц), 7.86-7.93 м (2H, CH_{Ar}), 7.94-7.99 м (2H, CH_{Ar}). Спектр ЯМР ^{31}P (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 31.98. Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 24.35, 26.06, 50.04, 58.66 д (J 84.8 Гц), 128.00, 128.62 д (J 11.6 Гц), 124.29 д (J 11.0 Гц), 132.13 д (J 9.2 Гц), 132.33 д (J 27.5 Гц), 133.79, 138.31. Масс-спектр (ESI-TOF), m/z : 412 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 434 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Найдено, %: C, 64.51; H, 5.65; N, 3.39; P, 7.79; S, 7.87. $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_3\text{PS}$. Вычислено, %: C, 64.22; H, 5.39; N, 3.40; P, 7.53; S, 7.79.

Пример 3.

Дифенил(1-(фенилсульфонил)пирролидин-2-ил)фосфин оксид - Ib получают аналогично примеру 2, используя в качестве растворителя 10 мл абсолютного бензола. Получают белый порошок. Выход 0.21 г (34%), т.пл. 138-139°C. ИК спектр ν , см^{-1} : 1349, 1438, 1590, 2972. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 0.99-1.14 м (1H, CH_2), 1.50-1.63 м (1H, CH_2), 1.71-1.84 м (2H, CH_2), 3.22-3.31 м (1H, CH_2), 3.39-3.47 м (1H, CH_2), 5.14-5.24

м (1H, CH), 7.50-7.60 м (6H, CH_{Ar}), 7.69 т (1H, CH_{Ar}, J 7.5 Гц), 7.71-7.76 м (2H, CH_{Ar}), 7.84 д (2H, CH_{Ar}, J 7.4 Гц), 7.86-7.93 м (2H, CH_{Ar}), 7.94-7.99 м (2H, CH_{Ar}). Спектр ЯМР ³¹P (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 31.98. Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 24.35, 26.06, 50.04, 58.66 д (J 84.8 Гц), 128.00, 128.62 д (J 11.6 Гц), 124.29 д (J 11.0 Гц), 132.13 д (J 9.2 Гц), 132.33 д (J 27.5 Гц), 133.79, 138.31. Масс-спектр (ESI-TOF), m/z: 412 [M+H]⁺, 434 [M+Na]⁺. Найдено, %: C, 64.51; H, 5.65; N, 3.39; P, 7.79; S, 7.87. C₂₂H₂₂NO₃PS. Вычислено, %: C, 64.22; H, 5.39; N, 3.40; P, 7.53; S, 7.79.

Пример 4.

Цитотоксичность заявляемых соединений

Соединения Ia и Ib были исследованы на цитотоксичность в отношении нормальных и опухолевых клеточных линий человека Chang liver и M-Hela (рак шейки матки). Оценку их цитотоксического действия проводят путем подсчета жизнеспособных клеток с помощью многофункциональной системы Cytell Cell Imaging (GE Health care Life Science, Швеция), используя приложение Cell Viability Bio App, которое позволяет точно подсчитать количество клеток, оценить их жизнеспособность на основании интенсивности флуоресценции.

В экспериментах используют два флуоресцентных красителя, которые избирательно проникают в клеточные мембраны и флуоресцируют на разных длинах волн.

Низкомолекулярный 4',6-диамидин-2-фенилиндо́л (DAPI) способен проникать через неповрежденные мембраны живых клеток и окрашивать ядра в синий цвет.

Высокомолекулярный пропидий йодид способен проникает только в мертвые клетки с поврежденными мембранами, окрашивая их в желтый цвет. В результате живые клетки окрашиваются в синий цвет, а мертвые - в желтый. В исследовании использованы 4',6-Диамидин-2-фенилиндо́л и пропидий йодид производства фирмы Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Германия).

Клетки культивируют в стандартной питательной среде «Игла», изготовленной в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова (компания PanEco), с добавлением 10% эмбриональной сыворотки теленка и 1% заменимых аминокислот. Клетки высевают в 96-луночный планшет (Eppendorf) в концентрации 100000 клеток/мл, 150 мкл среды на лунку и культивируют в CO₂-инкубаторе при 37°C.

Через 24 часа после посева клеток в лунки добавляют исследуемое соединение определенной концентрации (150 мкл/лунку). Растворы соединений (1-100μM) готовят непосредственно в питательной среде с добавлением для лучшей растворимости 5% ДМСО, раствор которого не вызывает ингибирования клеток при этой концентрации. Каждый эксперимент повторяют три раза. В качестве контроля используют интактные клетки, культивируемые параллельно с экспериментальными клетками.

Для экспериментов используют опухолевую культуру клеток M-Hela клон 11 (эпителиоидная карцинома шейки матки, сублиния Hela, клон M-Hela), полученную из Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук», и культуру нормальных клеток печени (Chang liver), полученную из Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи». Полученные значения концентраций полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для соединений Ia и Ib приведены в таблице. В качестве препаратов сравнения используют известные препараты Тамоксифен и Доксорубин.

Экспериментально определенное значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) для соединения Ia составила $63.3 \mu M$, для соединения Ib - $56.1 \mu M$, для препаратов сравнения Тамоксифена и Доксорубина - 28.0 ± 2.5 и $3.0 \pm 0.2 \mu M$ соответственно (для опухолевой культуры клеток линии M-Hela). Данные, представленные в таблице, показывают, что все исследованные соединения проявляют активность в отношении культуры клеток линии M-Hela, хотя значения IC_{50} препаратов сравнения оказались существенно ниже, чем для заявленных соединений: для соединения Ia значение IC_{50} в 2.2 раз выше, чем для препарата сравнения Тамоксифен, и в 21.1 раз выше, чем для препарата сравнения Доксорубин, для соединения Ib значение IC_{50} в 2.0 раз выше, чем для Тамоксифена, и в 18.7 раз выше, чем для Доксорубина.

В тоже время, в отличие от препаратов сравнения, заявленные соединения не проявили цитотоксичности по отношению к культуре нормальных клеток печени Chang liver в изученном диапазоне концентраций: значения IC_{50} для соединений Ia и Ib, составили $>100 \mu M$, в том времени как для препарата сравнения Тамоксифен значение IC_{50} для нормальных клеток печени Chang liver составило $46.2 \pm 3.5 \mu M$, для препарата сравнения Доксорубин - $3.0 \pm 0.1 \mu M$, что сравнимо со значениями цитотоксичности для раковых клеток. Значения таблицы свидетельствуют, что заявленные соединения демонстрируют селективность в диапазоне концентраций $1-100 \mu M$ - проявляют цитотоксичность в отношении опухолевых клеток человека линии M-Hela и не проявляют цитотоксичности по отношению к нормальным клеткам печени Chang liver.

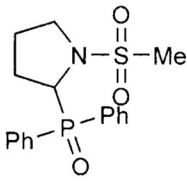
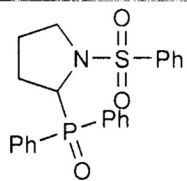
Таким образом, предложены новые 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидины, обладающие цитотоксичностью в отношении раковых клеток линии M-Hela, при этом не оказывающие цитотоксического действия на нормальные клетки линии Chang liver. Заявляемые новые соединения благодаря свойству селективно подавлять рост раковых клеток при отсутствующем токсическом действии на нормальные клетки представляют интерес как новые противораковые препараты.

Предлагаемый способ получения заявляемых 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинов, основанный на взаимодействии избытка дифенилхлорфосфина с 2-этокси-1-сульфонилпирролидинами в присутствии уксусной кислоты, является новым и позволяет получать целевые соединения с выходом 30-65% в мягких условиях в одну стадию.

*1-Сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидины,
обладающие цитотоксичностью в отношении
раковых клеток шейки матки*

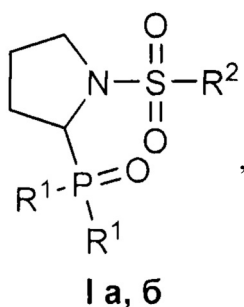
Таблица

Сравнение значений ингибирующей концентрации IC_{50} в отношении
опухолевой линии M-Hela и для Chang liver для заявляемых соединений и
систем сравнения

Соединение	IC_{50} (μM)	
	Раковые клеточные линии, μM	Нормальные клеточные линии, μM
	M-Hela	Chang liver
 Ia	63.3	>100
 Ib	56.1	>100
Тамоксифен	28.0 ± 2.5	46.2 ± 3.5
Доксорубицин	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.1

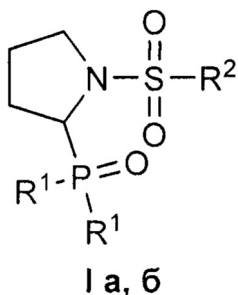
(57) Формула изобретения

1. 1-Сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидины формулы I



где $R^1 = Ph$, $R^2 = Me$ (a); $R^1 = R^2 = Ph$ (б).

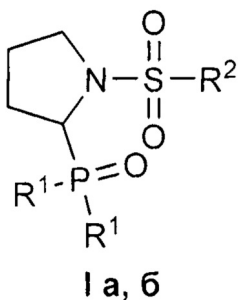
2. 1-Сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидины формулы I



где $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (а); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (б),

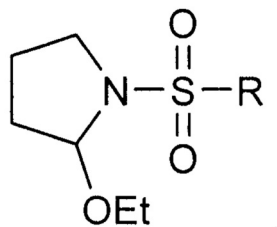
обладающие цитотоксичностью в отношении раковых клеток шейки матки.

3. Способ получения 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинов формулы I



где $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}$ (а); $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ (б),

включающий взаимодействие при комнатной температуре 1-сульфонил-2-этоксипирролидинов формулы



где $R = \text{Me}$, Ph ,

с избытком дифенилхлорфосфина в присутствии уксусной кислоты в подходящем растворителе до завершения реакции и выделение целевого продукта известными способами.

4. Способ получения 1-сульфонил-2-(дифенилфосфорил)пирролидинов по п.3, отличающийся тем, что в качестве растворителя используют хлороформ, бензол, толуол, ксилол.