

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **236095**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **422342**

(22) Data zgłoszenia: **25.07.2017**

(51) Int.Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/49 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

(54) **Triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego,
sposób ich otrzymywania oraz ich zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
12.02.2018 BUP 04/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.11.2020 WUP 19/20

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL
INSTYTUT IMMUNOLOGII
I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**PRZEMYSŁAW BORATYŃSKI, Wrocław, PL
RAFAŁ KOWALCZYK, Jelcz-Laskowice, PL
ARTUR ANISIEWICZ, Wrocław, PL
JOANNA WIETRZYK, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzec. pat. Katarzyna Paprzycka

PL 236095 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego, sposób ich wytwarzania oraz ich zastosowanie w preparacie farmaceutycznym.

Alkaloidy drzewa chinowego pozyskiwane są na drodze ekstrakcji kory roślin z rodzaju *Cinchona* (L.) [Jucker i Stoll w *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie*, 1953, 3, 213.]. Wykorzystywane są w leczeniu chorób wywołanych przez pierwotniaki z rodziny Plasmodium, oraz w leczeniu zaburzeń pracy serca. Znane są pochodne alkaloidów chinowca, w których dołączono pierścień 1,2,3-triazolu w pozycjach 9 oraz 3. Triazolochinoliny znajdują zastosowanie jako inhibitory enzymów obecnych w makrofagach ludzkich, [Cisneros, J. A. i wsp. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2017, 8, 124–127] preparaty przeciwgrzybicze, [Thomas, K. D. i wsp. *Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 3803–3810] przeciwbakteryjne [Gohil, J. D. i wsp. *Ind. J. Adv. Chem. Sci.* 2016, 4, 102–113] i przeciwmalaryczne. [Hamann, A. R. i wsp. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014, 24, 5466–5469; Boechat, N. i wsp. *Chem. Biol. Drug Des.* 2014, 84, 325–332; Dharshan, J. C. i wsp. *Pharma Chemica* 2012, 4, 272–281]. Opisano przydatność niektórych triazolochinolin w diagnostyce medycznej do wykrywania BCRP (brest cancer resistance protein) [Zhang, M. R. i wsp., JP 2012136444 A 20120719] oraz zdolność do modulacji agregacji amyloidów, [Jones, M. R. i wsp. *J. Inorg. Biochem.* 2016, 158, 131–138] oraz właściwości antyoksydacyjne. [Shirame, S. P. i wsp. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2014, 7, 163–165]. Triazolochinoliny wykorzystywane są ponadto jako barwniki fluorescencyjne [Zhu, Q. i wsp. CN 106478594 A 20170308].

Dotychczas nie są znane pochodne alkaloidów chinowca zawierające układ triazolochinoliny, w której znajduje się wiązanie chemiczne między ugrupowaniem 1,2,3-triazolu oraz ugrupowaniem chinoliny.

Niektóre inne substancje, zawierające w swojej strukturze pierścienie chinoliny oraz 1,2,3-triazolu nie połączone bezpośrednio, posiadają umiarkowane właściwości cytotoksyczne [Praveena, K. S. S. i wsp. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2015), 25(5), 1057–1063] i przeciwnowotworowe [Gong, P. i wsp. CN 104119317 A 20141029]. Ugrupowanie 1,2,3-triazolu wykorzystywano także jako łącznik alkaloidów drzewa chinowego ze znanymi substancjami przeciwnowotworowymi, nieznacznie zmieniając ich właściwości.

Prowadząc poszukiwania aktywnych cytotoksycznie substancji w szeregu heterocyklicznych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego niespodziewanie ujawniono znaczną aktywność tych substancji, w których występowało ugrupowanie triazolo-chinolinowe. Dalsze badania wykazały, że sam układ triazolo-chinoliny nie związanej z alkaloidem drzewa chinowego nie posiada istotnej aktywności cytotoksycznej.

Istotą wynalazku są triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego zawierające ugrupowanie 1,2,3-triazolu w pozycji C-2' lub C-6' przedstawione odpowiednio wzorem ogólnym 1 lub wzorem ogólnym 2, w których R oznacza grupę hydroksylową lub wodór. Istotą wynalazku są również triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego, zawierające ugrupowanie 4-(chinolin-2-ylo)-1,2,3-triazolu w pozycji C-9 przedstawione wzorem ogólnym 3.

Sposób wytwarzania triazolo-chinolinowych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego zawierających ugrupowanie 1,2,3-triazolu w pozycji C-2' lub C-6' przedstawionych odpowiednio wzorem ogólnym 1 lub wzorem ogólnym 2, w których R oznacza grupę hydroksylową lub wodór, polega na tym, że pochodną alkaloidu wybraną z grupy obejmującej halogenek i ester sulfonowy poddaje się sekwencji reakcji Sonogashiry, usunięcia grupy silylowej oraz reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji z alkinem wobec miedzi (I).

Sposób wytwarzania triazolo-chinolinowych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego, zawierających ugrupowanie 4-(chinolin-2-ylo)-1,2,3-triazolu w pozycji C-9 przedstawionych wzorem ogólnym 3, polega na tym, że 9-azydoalkaloid poddaje się sekwencji reakcji z 2-etynylocholiną wobec miedzi (I).

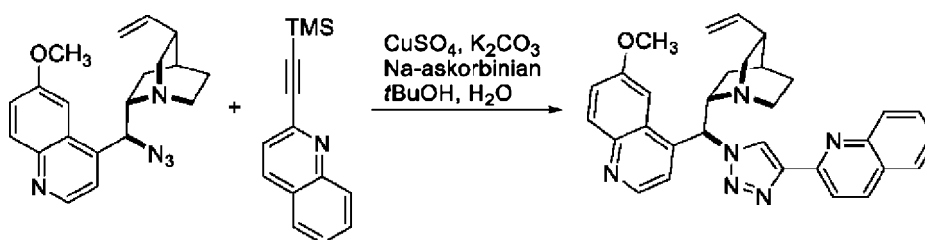
Istotą wynalazku jest również zastosowanie triazolo-chinolinowych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego określonych powyżej, przedstawionych wzorami 1–3 oraz ich farmaceutycznie akceptowalnych soli, wodzianów lub solwatów jako środków przeciwnowotworowych, przeznaczonych zwłaszcza do leczenia nowotworów jelita grubego, gruczołu sutkowego, płuc, prostaty.

Zasadniczą korzyścią wynikającą z wynalazku jest utworzenie nowych substancji o właściwościach cytotoksycznych, w których obecność ugrupowania alkaloidu powoduje istotne zwiększenie aktywności oraz selektywności w porównaniu do znanego leku przeciwnowotworowego – cisplatyny.

Jako modele badawcze do oceny aktywności nowych substancji wybrano linię ludzkich nowotworów: białaczki mielomonocytovej MV-4-11, raka gruczołu sutkowego MCF-7, raka płuc A549, raka prostaty Du-145, gruczolakoraka jelita grubego HT-29 w odniesieniu do prawidłowych komórek: mysich fibroblastów BALB/3T3 oraz ludzkiego nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A. Dla wszystkich badanych linii nowotworowych, triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego będące przedmiotem wynalazku okazały się posiadać zbliżoną do cisplatyny aktywność przeciwproliferacyjną lub też przewyższać ją nawet 10-krotnie w przypadku 2'-triazolo-pochodnych alkaloidów drzewa chinowego. Dla tej ostatniej grupy wskazano znacząco wyższą selektywność w odniesieniu do pozostałych substancji badanych. Pochodna alkaloidu zawierająca ugrupowanie hydroksyfenylotriazolochinolinowe wykazała szczególnie wysoką aktywność w stosunku do linii ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego HT-29. Istotnie, dla 2-(4-(4-hydroksyfenilo)-1,2,3-triazol-1-yl)chinoliny nie obserwowano właściwości cytotoksycznych.

Wynalazek bliżej przedstawiono w przykładach realizacji oraz na schematach reakcji.

Przykład 1



W celu wytworzenia 9-epi-9-deoksy-9-(4-chinolin-2-yl-1,2,3-triazol-1-yl)-chininy próbkę 216 mg 9-epi-9-azydo-9-deoksy-chininy otrzymanej metodą znaną z publikacji [Kacprzak, *Gierczyk Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2740] oraz 248 mg 2-(trimetylosiiloetynylo)-chinoliny rozpuszcza się w mieszaninie złożonej z 5 ml tert-butanolu i 2 ml wody i dodaje 40 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 157 mg askorbinianu sodu i 155 mg węgla potasu. Mieszaninę miesza się intensywnie przez 24 h, po czym mieszaninę rozcieńcza się dichlorometanem i przesącza przez warstwę żelu krzemionkowego, odparowuje na wyparce rotacyjnej.

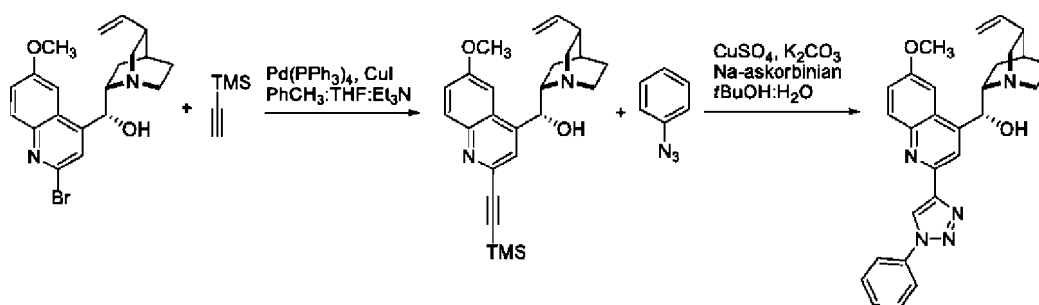
W celu uzyskania analitycznie czystego produktu, poddaje się go chromatografii na żelu krzemionkowym używając mieszaniny dichlorometanu z metanolem w stosunku objętościowym 20:1. Użykuje się 361 mg produktu (75%).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.84 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.26-8.28 (m, 1H), 8.14 (m, 1H), 8.02 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.94 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.61 (m, 1H), 7.60 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 6.52 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 5.91 (m, 1H), 5.05-5.09 (m, 2H), 3.97 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.51 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 2.70-2.78 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.55-1.65 (m, 2H), 0.91 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 158.8, 150.5, 148.6, 147.9, 147.4, 145.1, 141.4, 138.8, 136.8, 132.1, 129.7, 128.8, 128.3, 127.77, 127.74, 127.53, 126.3, 122.4, 121.4, 119.5, 118.8, 114.8, 77.8, 61.0, 58.1, 56.1, 55.9, 41.1, 39.2, 27.76, 27.74 ppm.

HR-MS (ESI-TOF) m/z : 503.2550 (M+H).

Przykład 2



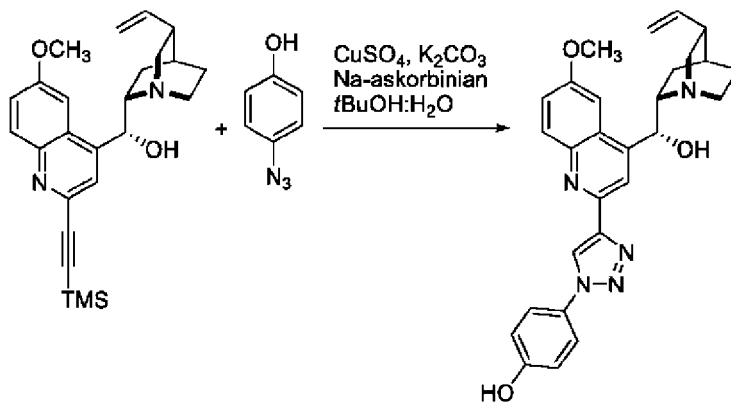
W celu wytworzenia 2'-(1-fenilo-1,2,3-triazol-4-ylo)-chininy 1,14 g 2'-bromochininy otrzymanej metodą znaną z publikacji [Wu, Y. i Deng, L. J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 14334–14337] oraz 2,2 ml trimetylosililoacetyleny zawieszają się w mieszaninie 55 ml toluenu, 40 ml tetrahydrofuranu jako rozpuszczalników i 17 ml trietyloaminy. Dodaje się jako katalizatorów 67 mg tetrakis(trifenylfosfin)apalladu oraz 65 mg jodku miedzi (I). Mieszaninę miesza się w temperaturze pokojowej przez 24 godziny, następnie rozpuszczalniki usuwa się pod obniżonym ciśnieniem na wyparce rotacyjnej. Pozostałość zawieszają się w 60 ml dichlorometanu i przemywa 30 ml 5% wodnego roztworu wodorowęglanu sodu, suszy nad bezwodnym siarczanem magnezu, sączy przez warstwę żelu krzemionkowego przemywając mieszaniną dichlorometanu i metanolu (10:1) i odparowuje na wyparce rotacyjnej uzyskując 1,13 g pośredniego produktu – 2'-(trimetylosililoetynylo)-chininy. Porcję 92 mg produktu pośredniego rozpuszcza się wraz z 0,05 ml azydobenzenu w mieszaninie złożonej z 2 ml tert-butanolu i 1 ml wody i dodaje 0,05 ml 10% wodnego roztworu $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i 0,15 ml 20% wodnego roztworu askorbinianu sodu oraz 8 mg węglanu potasu. Mieszaninę miesza się intensywnie przez 40 h, po czym mieszaninę rozcieńcza się dichlorometanem ekstrahuje dichlorometanem, suszy nad bezwodnym siarczanem sodu oraz odparowuje na wyparce rotacyjnej. Surowy produkt, z którego w wyniku oczyszczania metodą chromatografii na żelu krzemionkowym eluując mieszaniną chloroformu i metanolu w gradiencie od 20:1 do 5:1, otrzymuje się 51 mg czystego produktu, którego tożsamość potwierdzają dane spektroskopowe.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.20-7.23 (m, 2H), 5.84 (s, 1H), 5.67 (ddd, $J = 17.7, 10.3, 7.5$ Hz, 1H), 5.40 (s, 1H, OH), 4.93 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 3.16 (dd, $J = 13.4, 10.4$ Hz, 1H), 2.76 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 1.78-1.89 (m, 2H), 1.46-1.56 (m, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 158.0, 149.3, 148.3, 147.1, 144.1, 140.9, 137.0, 131.2, 129.8, 128.9, 126.1, 122.0, 120.5, 120.3, 116.5, 115.1, 101.5, 70.8, 60.2, 56.5, 56.2, 43.5, 39.4, 27.7, 26.8, 20.9.

HR-MS (ESI-TOF) m/z : 468.2408 (M+H).

Przykład 3



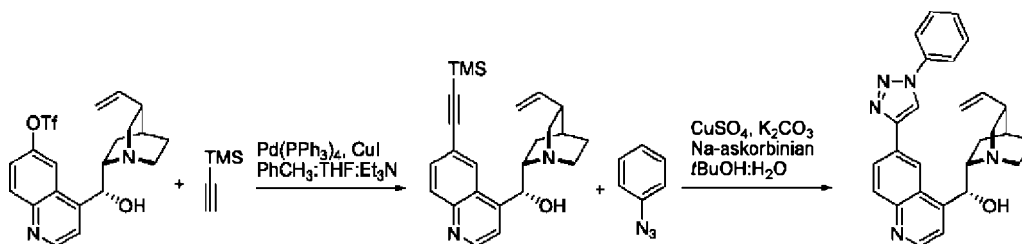
W celu wytworzenia 2'-(1-(4-hydroksyfenylo)-1,2,3-triazol-4-ylo)-chininy postępuje się jak w przykładzie 2, z tą różnicą, że do reakcji z 2'-(trimetylosilyloetynylo)-chininią (137 mg) zamiast azydobenzenu stosuje się p-azydofenol (57,3 mg). Produkt wydziela się z mieszaniny reakcyjnej w formie osadu, który przemywa się wodą i dichlorometanem, dając 75 mg produktu. Produkt jest dobrze rozpuszczalny w DMSO oraz mieszaninie metanolu z dichlorometanem, umiarkowanie rozpuszczalny w metanolu, praktycznie nierozpuszczalny w chloroformie. $T_{\text{topn.}} > 260^\circ\text{C}$ (rozkład).

^1H NMR (600 MHz, dmsO) δ 10.00 (s, 1H, OH), 9.17 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 5.85 (ddd, $J = 17.3, 10.5, 7.3$ Hz, 1H), 5.72 (d, 1H), 5.28 (m, 1H), 4.95 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 4.91 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.21-3.31 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 2.84 (dd, $J = 13.5, 10.2$ Hz, 1H), 2.35-2.43 (m, 2H), 2.17 (m, 1H), 1.62-1.76 (m, 4H), 1.40 (m, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, dmsO) δ 157.9, 157.0, 150.7, 148.3, 147.2, 143.7, 142.6, 130.8, 128.7, 126.7, 122.1, 121.6, 121.1, 116.16, 116.07, 114.2, 102.8, 71.0, 60.9, 56.0, 55.6, 41.9, 40.1, 27.4 (2C), 24.0 ppm.

HR-MS (ESI-TOF) m/z : 490.2892 (M+H).

Przykład 4



W celu wytworzenia 6'-(1-(4-hydroksyfenylo)-1,2,3-triazol-4-ylo)-cynchonidyny postępuje się jak w przykładzie 2, z tą różnicą, że do reakcji zamiast 2'-bromo-chininy stosuje się 3,43 g 6'-trifloksy-cynchonidyny znanej z publikacji [Ritter T. i wsp. J. Am. Chem. Soc., 2009, 131, 1662–1663], reakcję z 4 ml trimetylosilyloacetyleny prowadzi się w 26 g diizopropylaminy jako rozpuszczalniku. Uzyskuje się 5,42 produktu pośredniego – 6'-(trimetylosililoetynylo)-cynchonidyny. Produkt końcowy uzyskano postępując dalej jak w przykładzie 2. Tożsamość produktu potwierdzają przytoczone niżej wyniki spektroskopowe.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.48 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 7.93 (br. s, 2H), 7.77 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.54 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.43-7.47 (m, 2H), 5.73 (m, 1H), 5.70 (ddd, $J = 17.5, 10.4, 7.8$ Hz, 1H), 4.92 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 4.87 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.7 (br, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.02-3.10 (m, 2H), 2.67 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 1.79-1.85 (m, 3H), 1.48-1.56 (m, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 150.2, 149.8, 147.8, 147.5, 141.8, 136.9, 130.6, 129.9, 129.0, 127.9, 126.6, 125.8, 120.5, 119.3, 118.8, 118.6, 114.5, 70.8, 60.5, 56.8, 43.2, 40.0, 28.0, 27.6, 21.5 ppm.

Przykład 5

Opis i schemat oceny aktywności przeciwproliferacyjnej triazolo-chinolin wobec komórek ludzkiej białaczki mielomonocytowej.

Aktywność przeciwproliferacyjna została zbadana na komórkach ludzkiej białaczki MV-4-11 (komórki zawieszinowe) w liczbie 10^4 na dołek w teście MTT oraz prawidłowych mysich fibroblastach BALB/3T3 (komórki adherentne) w liczbie 10^4 na dołek w teście SRB.

Po osiągnięciu 80% konfluencji hodowle komórkowe pasażowano, sprawdzano ich żywotność z wykorzystaniem błękitu trypanu, a następnie wysiewano na płytkę 96-cio dołkową w odpowiednim stężeniu w objętości 100 μl medium hodowlanego rekomendowanego dla danej linii z dodatkiem płodowej surowicy bydlęcej (FBS) oraz antybiotyków.

Po 24 godzinnej inkubacji płytek w 37°C w wilgotnej atmosferze nasyconej 5% CO_2 na komórki nakładano rozcieńczenia badanych związków w stężeniach 200, 20, 2 oraz 0,2 $\mu\text{g/ml}$ w objętości 100 μl medium testowego z dodatkiem płodowej surowicy bydlęcej (FBS) oraz antybiotyków w celu uzyskania końcowych stężeń na płytce 100, 10, 1 oraz 0,1 $\mu\text{g/ml}$ (objętość końcowa w każdym dołku płytki = 200 μl). Naważki badanych związków rozpuszczano w DMSO do stężenia roboczego 10 mg/ml (stężenie końcowe DMSO w dołkach traktowanych najwyższym rozcieńczeniem 100 $\mu\text{g/ml} = 1\%$). Równocześnie przygotowywano i nakładano rozcieńczenia DMSO (kontrola rozpuszczalnika) w taki sposób, aby jego stężenie było analogiczne do stężenia rozpuszczalnika w próbkach materiału badanego nakładanych na płytki. Jako związek referencyjny służący do oceny prawidłowego przebiegu testu wybrano cisplatynę, której rozcieńczenia przygotowywano analogicznie jak rozcieńczenia substancji badanych do końcowych stężeń na płytce 10, 1, 0,1 oraz 0,01 $\mu\text{g/ml}$. Kontrolę komórek stanowiły dołki, na które wysiewano komórki, a następnie nakładano 100 μl medium testowego używanego do przygotowywania rozcieńczeń materiałów badanych. Jednocześnie przygotowywano również kontrolę medium, tj. dołki do których dodawano wyłącznie medium hodowlane.

Po 72 godzinnej ekspozycji płytek na materiały badane (37°C wilgotna atmosfera nasycona 5% CO_2) wykonywano test MTT dla linii MV-4-11 oraz SRB dla pozostałych linii. W teście MTT do każdego dołka dodawano 20 μl roztworu MTT (bromek 3-(4,5-dimetylo-tiazol-2-ilo)-2,5-difenylotetrazolu) po czym płytki inkubowano przez 4 h w 37°C . Następnie do każdego dołka dodawano 80 μl buforu lizującego (mieszanina DMF + SDS) i inkubowano przez kolejne 24 h. Po tym czasie płytki odczytywano za pomocą czytnika płytkowego Synergy H4 przy długości fali 570 nm. Test SRB wykonywano z wykorzystaniem stacji dozująco-płuczającej a na poszczególne etapy składały się: dodanie 50 μL /dołek 50%

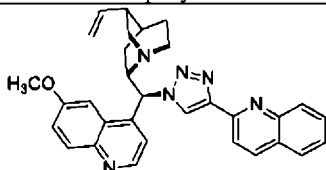
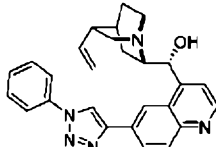
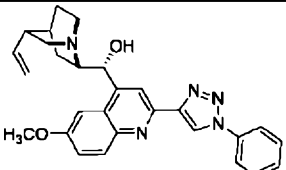
kwasu TCA i 1-godzinna inkubacja w temperaturze pokojowej, odpłukanie kwasu i medium hodowlanego poprzez 5-krotne przepłukanie dołek 250 μL /dołek wodą destylowaną, dodanie 50 μL /dołek 0,01% roztworu sulforodaminy B i 30-minutowa inkubacja w temperaturze pokojowej, odpłukanie roztworu sulforodaminy B poprzez 6-krotne przepłukanie dołek 200 μL /dołek 1% roztworem kwasu octowego w wodzie, dodanie 150 μL 10 mM roztworu TRIS i 30-minutowa inkubacja. Po tym czasie płytki odczytywano za pomocą czytnika płytkowego Synergy H4 przy długości fali 540 nm.

Po uwzględnieniu i odjęciu absorbancji tła (kontrola medium) zahamowanie proliferacji dla poszczególnych stężeń badanych związków wyliczono według wzoru:

$$\text{zahamowanie proliferacji: } 100 \cdot [1 - (\text{Ab badana} / \text{Ab kontroli})]$$

Na podstawie uzyskanych zależności zahamowania proliferacji od stężenia substancji badanych określano stężenie materiałów badanych hamujące proliferację komórek w 50% czyli wartość IC50. Uzyskane wyniki zebrano w Tabeli 1.

Tabela 1

Lp.	Substancja	IC ₅₀ ($\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)		Indeks selektywności
		BALB3T3 (prawidłowe)	MV-4-11 (nowotworowe)	
1	cisplatyna	9,23 \pm 1,40	5,53 \pm 1,37	1,7
2		6,29 \pm 2,29	4,70 \pm 1,37	1,3
3		5,73 \pm 1,51	3,49 \pm 0,57	1,6
4		7,03 \pm 0,83	0,53 \pm 0,12	13,3

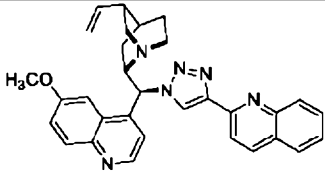
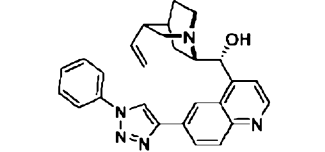
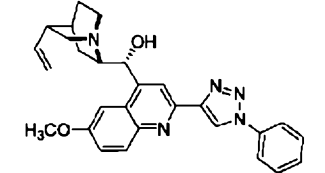
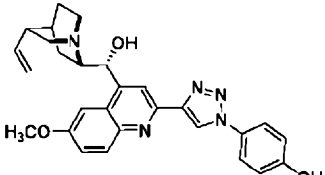
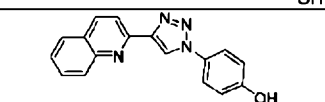
Przykład 6

Opis i schemat oceny aktywności przeciwo proliferacyjnej triazolo-chinolin wobec komórek ludzkiego raka gruczołu sutkowego.

Aktywność przeciwo proliferacyjna została zbadana w sposób podany w przykładzie 5 na komórkach ludzkiego raka gruczołu sutkowego MCF-7 (komórki adherentne) w ilości $7,5 \cdot 10^3$ na dołek w teście SRB oraz prawidłowych komórkach nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A (komórki adherentne) w ilości 10^4 na dołek w teście SRB.

Na podstawie uzyskanych zależności zahamowania proliferacji od stężenia substancji badanych określano stężenie materiałów badanych hamujące proliferację komórek w 50% czyli wartość IC50. Uzyskane wyniki zebrano w Tabeli 2.

Tabela 2

Lp.	Substancja	IC ₅₀ (μmol·dm ⁻³)		Indeks selektywności
		MCF-10A (prawidłowe)	MCF-7 (nowotworowe)	
1	cisplatyna	5,54	1,53 ± 0,36	3,6
2		9,23	2,97 ± 1,42	3,1
3		2,90	1,84 ± 1,37	1,6
4		3,62	2,19 ± 0,89	1,6
5		5,05	2,99 ± 0,43	1,7
6		>100	>100	-

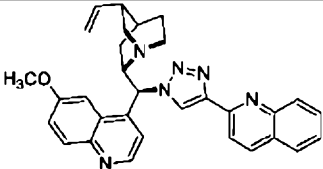
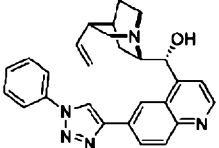
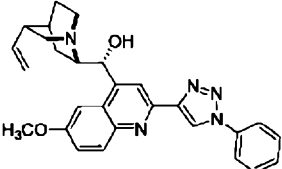
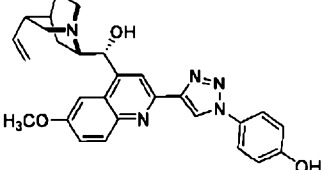
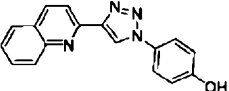
Przykład 7

Opis i schemat oceny aktywności przeciwproliferacyjnej wobec komórek ludzkiego raka płuc.

Aktywność przeciwproliferacyjna została zbadana w sposób podany w przykładzie 5 na komórkach ludzkiego raka płuc A549 (komórki adherentne) w ilości $2,5 \cdot 10^3$ na dołek w teście SRB oraz wskazanych w przykładzie 6 prawidłowych komórkach nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A.

Na podstawie uzyskanych zależności zahamowania proliferacji od stężenia substancji badanych określano stężenie materiałów badanych hamujące proliferację komórek w 50% czyli wartość IC₅₀. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 3.

Tabela 3

Lp.	Substancja	IC ₅₀ (μmol · dm ⁻³)		Indeks selektywności
		MCF-10A (prawidłowe)	A549 (nowotworowe)	
1	cisplatyna	5,54	1,06 ± 0,2	5,2
2		9,23	3,55 ± 0,1	2,6
3		2,90	2,22 ± 0,27	1,3
4		3,62	1,51 ± 0,4	2,4
5		5,05	2,27 ± 0,74	2,22
6		>100	>100	-

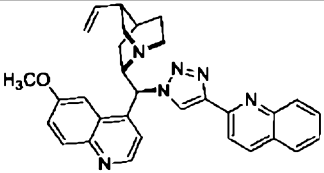
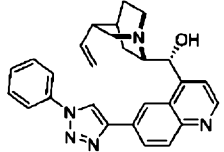
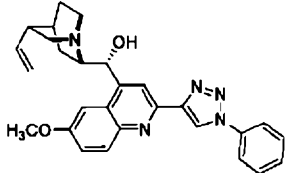
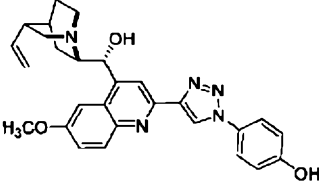
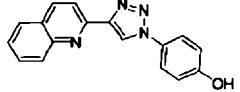
Przykład 8

Opis i schemat oceny aktywności przeciwproliferacyjnej wobec komórek ludzkiego raka prostaty.

Aktywność przeciwproliferacyjna została zbadana w sposób podany w przykładzie 5 na komórkach ludzkiego raka prostaty Du-145 (komórki adherentne) w ilości 10⁴ na dołek w teście SRB oraz wskazanych w przykładzie 6 prawidłowych komórkach nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A.

Na podstawie uzyskanych zależności zahamowania proliferacji od stężenia substancji badanych określano stężenie materiałów badanych hamujące proliferację komórek w 50% czyli wartość IC₅₀. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 4.

Tabela 4

Lp.	Substancja	IC ₅₀ (μmol·dm ³)		Indeks selektywności
		MCF-10A (prawidłowe)	DU-145 (nowotworowe)	
1	cisplatyna	5,54	0,99 ± 0,24	5,6
2		9,23	3,35 ± 1,05	2,8
3		2,90	3,07 ± 0,12	<1
4		3,62	2,90 ± 0,33	1,2
5		5,05	2,79 ± 0,38	1,8
6		>100	>100	-

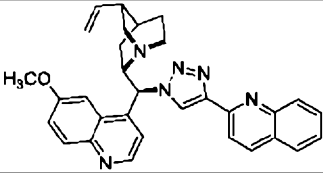
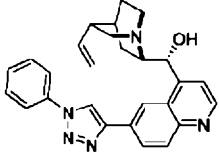
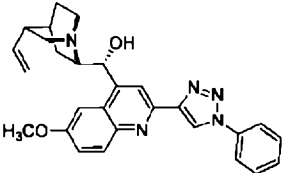
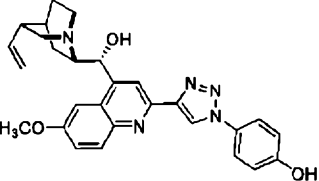
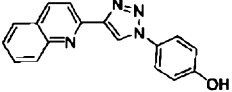
Przykład 9

Opis i schemat oceny aktywności przeciwproliferacyjnej wobec komórek ludzkiego raka jelita grubego.

Aktywność przeciwproliferacyjna została zbadana w sposób podany w przykładzie 5 na komórkach ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego HT-29 (komórki adherentne) w ilości 10⁴ na dołek w teście SRB oraz wskazanych w przykładzie 6 prawidłowych komórkach nabłonka gruczołu sutkowego MCF-10A.

Na podstawie uzyskanych zależności zahamowania proliferacji od stężenia substancji badanych określano stężenie materiałów badanych hamujące proliferację komórek w 50% czyli wartość IC₅₀. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 5.

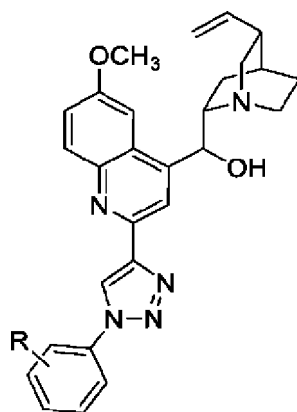
Tabela 5

Lp.	Substancja	IC ₅₀ (μmol dm ⁻³)		Indeks selektywności
		MCF-10A (prawidłowe)	HT-29 (nowotworowe)	
1	cisplatyna	5,54	2,85 ± 1,24	1,9
2		9,23	3,01 ± 0,19	3,1
3		2,90	2,36 ± 0,09	1,2
4		3,62	2,13 ± 0,63	1,7
5		5,05	0,65 ± 0,13	7,8
6		>100	>100	-

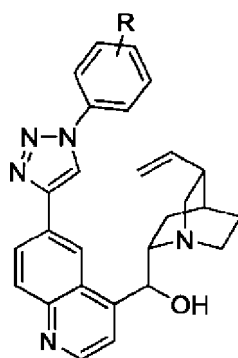
Zastrzeżenia patentowe

1. Triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego, zawierające ugrupowanie 1,2,3-triazolu w pozycji C-2' lub C-6' przedstawione odpowiednio wzorem ogólnym 1 lub wzorem ogólnym 2, w których R oznacza grupę hydroksylową lub wodór.
2. Triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego, zawierające ugrupowanie 4-(chinolin-2-ylo)-1,2,3-triazolu w pozycji C-9, przedstawione wzorem ogólnym 3.
3. Sposób wytwarzania triazolo-chinolinowych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego, zawierających ugrupowanie 1,2,3-triazolu w pozycji C-2' lub C-6' przedstawione odpowiednio wzorem ogólnym 1 lub wzorem ogólnym 2, w których R oznacza grupę hydroksylową lub wodór, **znamienny tym**, że pochodną alkaloidu wybraną z grupy obejmującej halogenek i ester sulfonowy poddaje się sekwencji reakcji Sonogashiry, usunięcia grupy silylowej oraz reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji z alkinem wobec miedzi (I).
4. Sposób wytwarzania triazolo-chinolinowych pochodnych alkaloidów drzewa chinowego, zawierających ugrupowanie 4-(chinolin-2-ylo)-1,2,3-triazolu w pozycji C-9, przedstawione wzorem ogólnym 3, **znamienny tym**, że 9-azydoalkaloid poddaje się sekwencji reakcji z 2-etynylochinoliną wobec miedzi (I).
5. Triazolo-chinolinowe pochodne alkaloidów drzewa chinowego określone w zastrz. 1–2, przedstawione wzorami 1–3 oraz ich farmaceutycznie akceptowalne sole, wodziany lub solваты do zastosowania w leczeniu nowotworów jelita grubego, gruczołu sutkowego, płuc, prostaty.

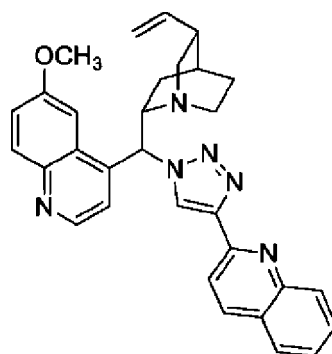
Rysunki



Wzór 1



Wzór 2



Wzór 3