



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116804** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C07D 417/00
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

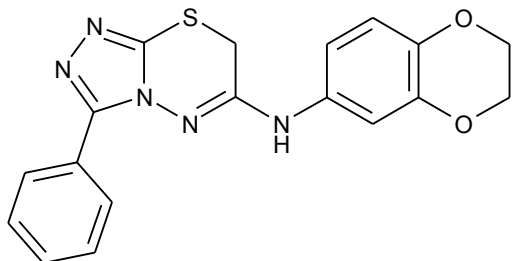
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2016 11805</p> <p>(22) Дата подання заявки: 22.11.2016</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.06.2017</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.06.2017, Бюл.№ 11</p>	<p>(72) Винахідник(и): Демченко Анатолій Михайлович (UA), Янченко Віктор Олексійович (UA), Коваль Андрій Ярославович (UA), Демченко Діана Анатолійовна (UA), Бобкова Людмила Станіславівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ЧЕРНІГІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ Т.Г. ШЕВЧЕНКА, вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013 (UA)</p>
--	---

(54) (2,3-ДИГІДРОБЕНЗО[1,4]ДІОКСАН-6-ІЛ)-(3-ФЕНІЛ-7Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[3,4-В][1,3,4]ТІАДІАЗИН-6-ІЛ)-АМІН, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ

(57) Реферат:

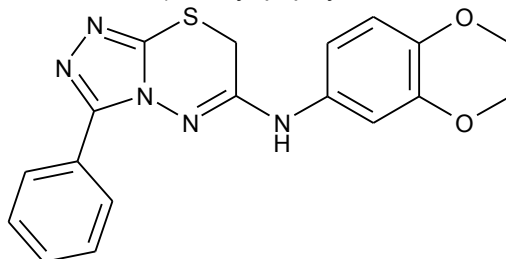
(2,3-Дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-в][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-амін:



що має протипухлинну активність.

UA 116804 U

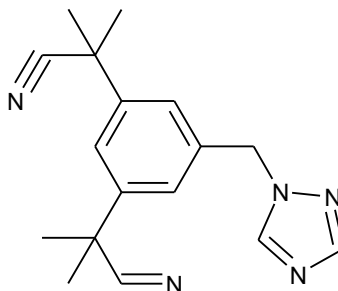
Корисна модель належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активного (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-аміну формули:



5 що проявляє протипухлинну активність та може бути використано при лікуванні пухлини молочної залози, меланоми, пухлин головного мозку, раку яєчників та раку нирок.

На сучасному етапі для лікування пухлинної хвороби застосовують понад 40 протипухлинних препаратів, активних при різних формах злоякісних утворень, які призводять до зменшення пухлини і, відповідно, до клінічної ремісії. Протипухлинні препарати з різними механізмами дії застосовують в схемах лікування. При цьому виражений клінічний ефект складає від 20 до 80 %, в окремих випадках ремісія - до 2 років, понад 10 % хворих мають ремісію понад 3 роки. Широке застосування набули циклофосфан, метатрексат, вінкристин, адриабластин. Зазначені лікарські засоби мають необхідні лікувальні властивості, але проявляють значні побічні ефекти на систему кровотворення (лейкопенія, анемія, тромбоцитопенія), ЦНС (почуття втоми, головокружіння, головна біль, афазія, сонливість, судоми), репродуктивної системи (порушення оогенезу та сперматогенезу, олігоспермія, порушення менструального циклу, зниження лібідо, імпотенція), сечовидільної системи (гематурія, цистит, виражені порушення функції нирок), алергічні та дерматологічні реакції, тощо.

20 Відома також сполука - похідне 1,2,4-триазолу (лікарський засіб анастрозол) формули:



Анастрозол [1] проявляє активність проти естрогензалежних пухлин молочної залози у жінок. Він є селективним нестероїдним інгібітором ферменту ароматази, який призводить до зниження рівня естрадіолу в периферичних тканинах. Відомо [2], що захворювання на пухлини молочної залози в світі становлять понад 20 % від загальної кількості онкологічних захворювань.

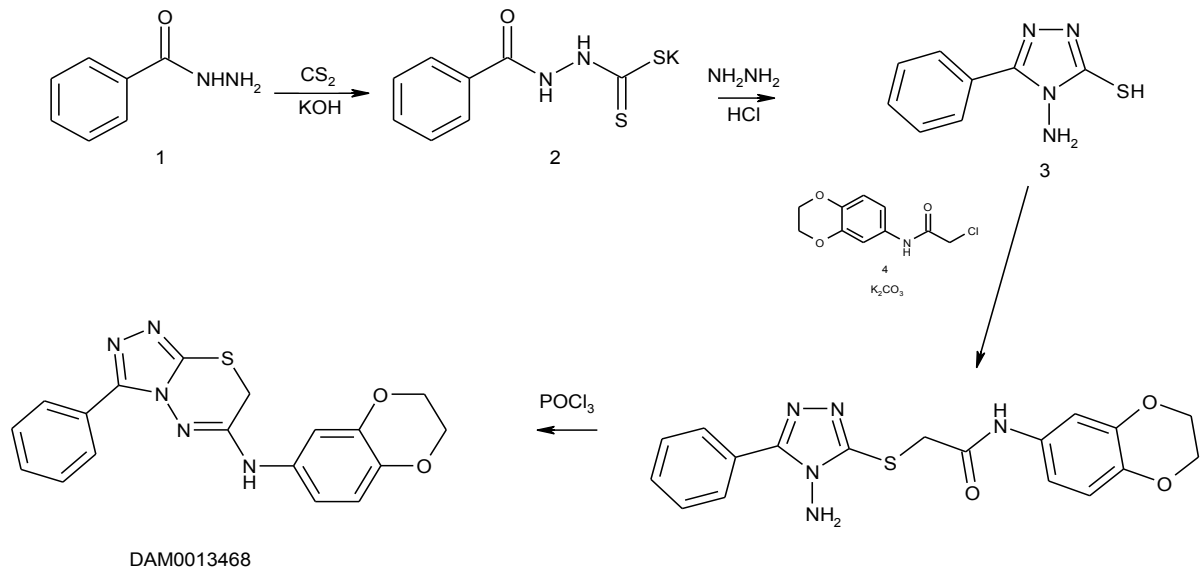
При застосуванні анастрозолу може розвиватися анемія, тромбофлебіта лейкопенія, що є показаннями для відміни препарату.

30 Підвищення ефективності хіміотерапії пухлинної хвороби в першу чергу пов'язано із створенням нових, ефективних протипухлинних препаратів.

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових речовин, що проявляють протипухлинну активність - здатність пригнічувати ріст клітин раку молочної залози, зокрема клітин MDA-MB-468.

35 Поставлена задача вирішується тим, що як нова хімічна речовина синтезовано (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-амін (DAM0013468).

Заявлену сполуку (DAM0013468) одержують з високим виходом у декілька стадій (схема 1).



Дослідження мітотичної активності проведено методом флуоресцентного зафарбування (барвник - сульфородамін Б) (табл. 1).

5

Таблица 1

Противухлинна активність сполуки DAM0013468 in vitro
на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10^{-5} моль/л

Лінії ракових клітин	Сполука DAM0013468
Рак молочної залози	
MCF7	17,21
MDA-MB-231/ATCC	50,36
HS 578T	14,85
T-47D	25,52
MDA-MB-468	-21,93
Лейкемія	
CCRF-CEM	17,78
HL-60(TB)	14,28
K-562	15,84
MOLT-4	42,37
RPMI-8226	13,62
SR	16,33
Дрібноклітинний рак легень	
A549/ATCC	45,21
EKVX	42,53

HOP-62	31,28
HOP-92	13,07
NCI-H226	37,96
NCI-H23	33,53
NCI-H322M	60,84
NCI-H460	18,24
NCI-H522	10,52
Рак товстої кишки	
COLO 205	13,24
HCC-2998	44,95
HCT-116	21,83
HCT-15	13,94
HT29	11,15

KM12	27,60
SW-620	19,19
Рак кори головного мозку	
SF-268	39,45
SF-295	22,60
SF-539	-25,39
SNB-19	39,25
SNB-75	-1,45
U251	34,14
Меланома	
LOX IMVI	19,06
MALME-3M	39,03
M14	17,78
MDA-MB-435	4,43
SK-MEL-28	52,66
SK-MEL-5	-47,30
UACC-257	54,09
UACC-62	32,49
Рак яєчників	
IGROV1	40,45
OVCAR-3	-14,16
OVCAR-4	48,72
OVCAR-5	45,76
OVCAR-8	37,51
NCI/ADR-RES	20,78
SK-OV-3	17,50
Рак нирок	
786-0	31,69
A498	34,76
ACHN	25,62
CAKI-1	28,57
RFX 393	-25,95
SN12C	43,76
TK-10	
TK-10	29,59
UO-31	40,91
Рак простати	
PC-3	32,10
DU-145	25,93

5 Для визначення протипухлинної активності (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-аміну (DAM0013468) проведено *in vitro* дослідження на 60 лініях ракових клітин (лейкемії, легень, товстої кишки, ЦНС, меланоми, яєчників, нирок, простати, молочної залози) при дії речовини в концентрації 10^{-5} моль/л за стандартною процедурою оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук, виконаних в Національному інституті раку США (National Cancer Institute of Health, USA) в рамках Development Therapeutic Program. Результат проведених досліджень виражали у відсотках росту клітин раку порівняно з контролем. Як еталон для порівняння використовували 5-фторурацил та адриаміцин.

10 В умовах експерименту заявлені сполуки у концентрації 10^{-9} моль/л виявили здатність пригнічувати ріст клітин раку, що охоплюють практично весь спектр онкологічних захворювань людини (Таблиця 1). Високу ефективність зазначені сполуки проявили відносно клітин раку молочної залози MDA-MB-468 (значення складає -21,93 %). Крім того сполука DAM0013468 є ефективною відносно клітин раку кори головного мозку SF-539 (значення складає -25,39 %), клітин меланоми SK-MEL-5 (-47,30 %), клітин раку яєчників OVCAR-3 (-14,16 %) та клітин раку нирок RFX 393 (-25,95 %).

Приклади конкретного виконання

4-Аміно-5-феніл-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіол 3 було одержано за методом [3] взаємодією гідразиду бензойної кислоти 1 з CS_2 в лужному середовищі та подальшою циклізацією проміжної солі 2 з гидразином.

Приклад 1

5 Синтез (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-аміну DAM0013468. До розчину 1.92 г (0.01 моль) 4-аміно-5-феніл-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу та 0,56 г (0.01 моль) КОН в 40 мл етанолу додавали 2.27 г (0.01 моль) 2-хлоро-N(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)ацетаміду. Нагрівали при перемішуванні на водяній бані 2 години. Охолоджували і випарювали досуха. До сухого кристалічного залишку додали 15 мл $POCl_3$ і кип'ятили протягом 3 годин. Після охолодження реакційну суміш виливали на лід. Утворений кристалічний осад відфільтровували та перекристалізовували з диметилформаміду. Вихід - 2.96 г (81 %), $T_{пл.} = 242-4$ °C. Знайдено, %: N-18.9, $C_{18}H_{15}N_5O_2S$. Розраховано, %: N 19.2. ЯМР 1H (δ, м.ч., $DMSO-d_6$): 3.98 (с, 2H, $SCH_2C=$), 4.21 (м, 4H, OCM_2CH_2O), 6.81-8.10 (м, 8H, Ph + C_6H_3), 9.58 (с, 1H, NH).

15 Приклад 2

Для визначення протипухлинної активності похідних 7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину дослідження проводили *in vitro* па 60 лініях ракових клітин (лейкемії, легень, товстої кишки, ЦНС, меланоми, яєчників, нирок, простати, молочної залози), при цьому сполуки використовували в концентрації 10^{-5} моль/л та визначали мітотичну активність сполук за стандартною процедурою оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук [4]. Визначення проводили високочутливим флуориметричним методом, кількісно оцінюючи інтенсивність кольору флуоресцентного випромінювання (барвник сульфородамін Б) через 48 год. опромінення клітини зі сполукою, що тестується. Результат проведених досліджень виражали у відсотках росту клітин раку, порівняно до контролю. Використана система відбору та вивчення сполук з потенційною протипухлинною активністю *in vitro* основана на визначенні відсотку росту клітин пухлини (PG) під впливом тестованої сполуки, який обчислюється за однією із наступних формул:

Якщо (середня OD_{test} - середня OD_{tzero}) > 0, тоді

$$PG = 100 \times (\text{середнє } OD_{test} - \text{середнє } OD_{tzero}) / (\text{середнє } OD_{ctrl} - \text{середнє } OD_{tzero}).$$

30 Якщо (середнє OD_{test} - середнє OD_{tzero}) < 0, тоді

$$PG = 100 \times (\text{середнє } OD_{test} - \text{середнє } OD_{tzero}) / \text{середнє } OD_{tzero},$$

де:

середнє OD_{tzero} = середня величина оптичних вимірювань густини SRB-похідних кольорів безпосередньо перед дією на клітини сполуки, що тестується;

35 середнє OD_{test} = середня величина оптичних вимірювань густини SRB-похідних кольорів після 48 год. опромінення клітини тестованої сполуки; середнє OD_{ctrl} = середня величина оптичних вимірювань густини SRB-похідних кольорів після 48 год. без будь-якої дії на клітини сполуки, що тестується.

40 Таким чином, запропонована нова біологічно активна сполука (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-амін, яка може бути потенційним протипухлинним засобом.

Джерела інформації:

1. M. Baum, J. Cuzick, J. Forbes, J. Houghton, A. Howell (The ATAC Trialists Group): Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early stage breast cancer. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) trial efficacy and safety update analyses. Cancer 2003, 98:1802-1810.

2. "World Cancer Report". International Agency for Research on Cancer. 2008. Retrieved 2011-02-26. (cancer statistics often exclude non-melanoma skin cancers such as basal cell carcinoma, which are common but rarely fatal).

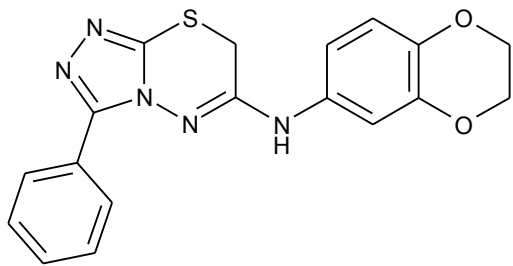
50 3. Синтезы гетероциклических соединений. - Ереван, 1964, Вып. 6. - С. 42.

4. Beverly A. Teicher, Paul A. Andrews. Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical. - Medical. - 2004. - V. 1. - 450 p.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

(2,3-Дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)амін:



що має протипухлинну активність.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601