



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116873** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C07D 417/00
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

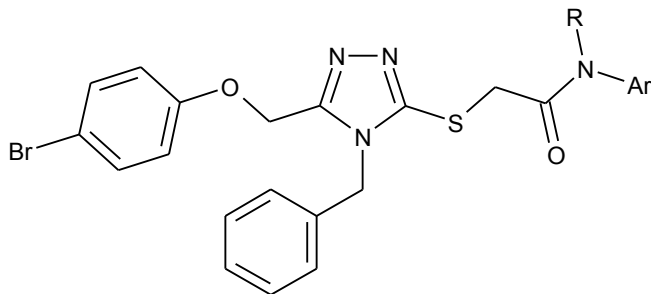
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 12402	(72) Винахідник(и): Демченко Анатолій Михайлович (UA), Янченко Віктор Олексійович (UA), Саїдов Нарзулло Бобоєвич (UA), Георгіянець Вікторія Акопівна (UA), Бобкова Людмила Станіславівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.12.2016	(73) Власник(и): ЧЕРНІГІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ Т.Г. ШЕВЧЕНКА, вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.06.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.06.2017, Бюл.№ 11	

(54) **2-[4-БЕНЗИЛ-5-(4¹-БРОМОФЕНОКСИМЕТИЛ)-4Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛ-3-ІЛСУЛЬФАНИЛ]-N-АРИЛАЦЕТАМИДИ, ЩО МАЮТЬ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ**

(57) Реферат:

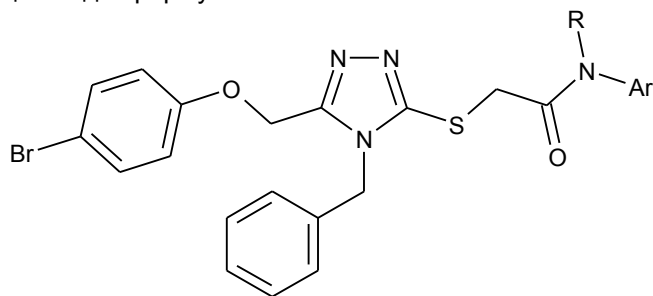
2-[4-Бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетаміди:



де R=H, CH(CH₃)₂, Ar=C₆H₅, C₆H₄CH₃(4), C₆H₂Cl₃(2,4,6), що мають протипухлинну активність.

UA 116873 U

Корисна модель належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активних 2-[4-бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетамідів формули:



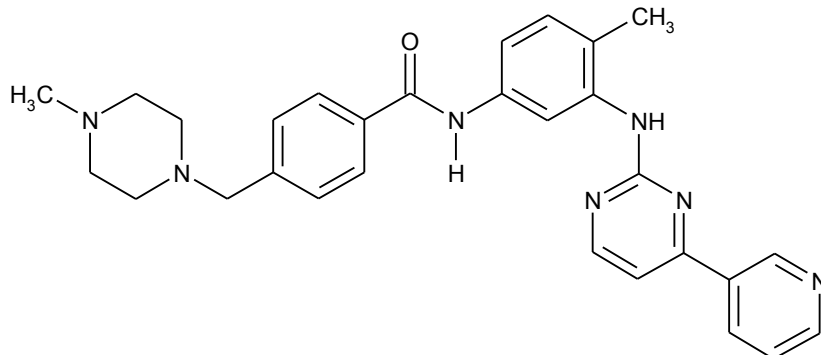
5 де R=H, CH(CH₃)₂, Ar=C₆H₅, C₆H₄CH₃(4), C₆H₂C₁₃(2,4,6),

що проявляє протипухлинну активність та може бути використана при лікуванні лейкемії.

На сучасному етапі для лікування різних видів лейкемії застосовують хіміотерапію. Навіть якщо повне лікування лейкемії є неможливим, хіміотерапія може продовжити людині життя, і пацієнт буде відчувати себе значно краще. Лікування лейкемії хіміотерапією складається, як
10 правило, з комбінації лікарських препаратів, що перешкоджає виникненню резистентності ракових клітин до якогось певного препарату. Інші лікарські препарати, що застосовуються для лікування лейкемії, можуть запобігти виникненню інфекційних захворювань і допомагають організму продукувати нові клітини крові. Для лікування різних видів лейкозу застосовують
15 преднізон, вінкрістін, даунорубіцин, L-аспарагіназу, метотрексат, циклофосфамід, ідарубіцин, цитозин арабінозу, мітоксантрон та інші препарати.

Під час лікування лейкемії хіміотерапією виникають побічні ефекти, серед яких найпоширенішими і найбільш неприємними є нудота і блювота, а також порушення роботи систем організму.

Відома також сполука, похідне N-ариламідів (лікарський засіб іматиніб) формули:



20

Іматиніб - протилейкозний цитостатичний препарат, один з представників нового класу таргетних цитостатиків, які вибірково впливають на клітини, які мають ті чи інші характерні для пухлин генетичні дефекти. Виробляється під назвами: Gleevec (Канада, Південна Африка і США), Glivec (Австралія, Європа і Латинська Америка), зустрічається під назвою STI-571, яку
25 було присвоєно препарату під час випробувань Іматиніб ефективно пригнічує гібридну тирозинкіназу BCR-ABL, ген якої знаходиться на "філадельфійській хромосомі" (Ph), що утворюється внаслідок реципрокної транслокації між 9 і 22 хромосомами, *in vitro* та *in vivo*. [1-6].

30

При застосуванні іматинібу часто виникають нейтропенія, тромбоцитопенія, анемія, пригнічення кістково-мозкового кровотворення, анорексія, головний біль, запаморочення, порушення смаку, безсоння, геморагічний інсульт, кон'юнктивіт, глаукома, серцева недостатність, набряк легень, тахікардія, артеріальна гіпотензія, припливи до обличчя, нудота, блювота, діарея, диспепсія, болі в животі, метеоризм, екзема, висип, ниркова недостатність, біль у нирках, часте сечовипускання та ряд інших побічних ефектів.

35

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

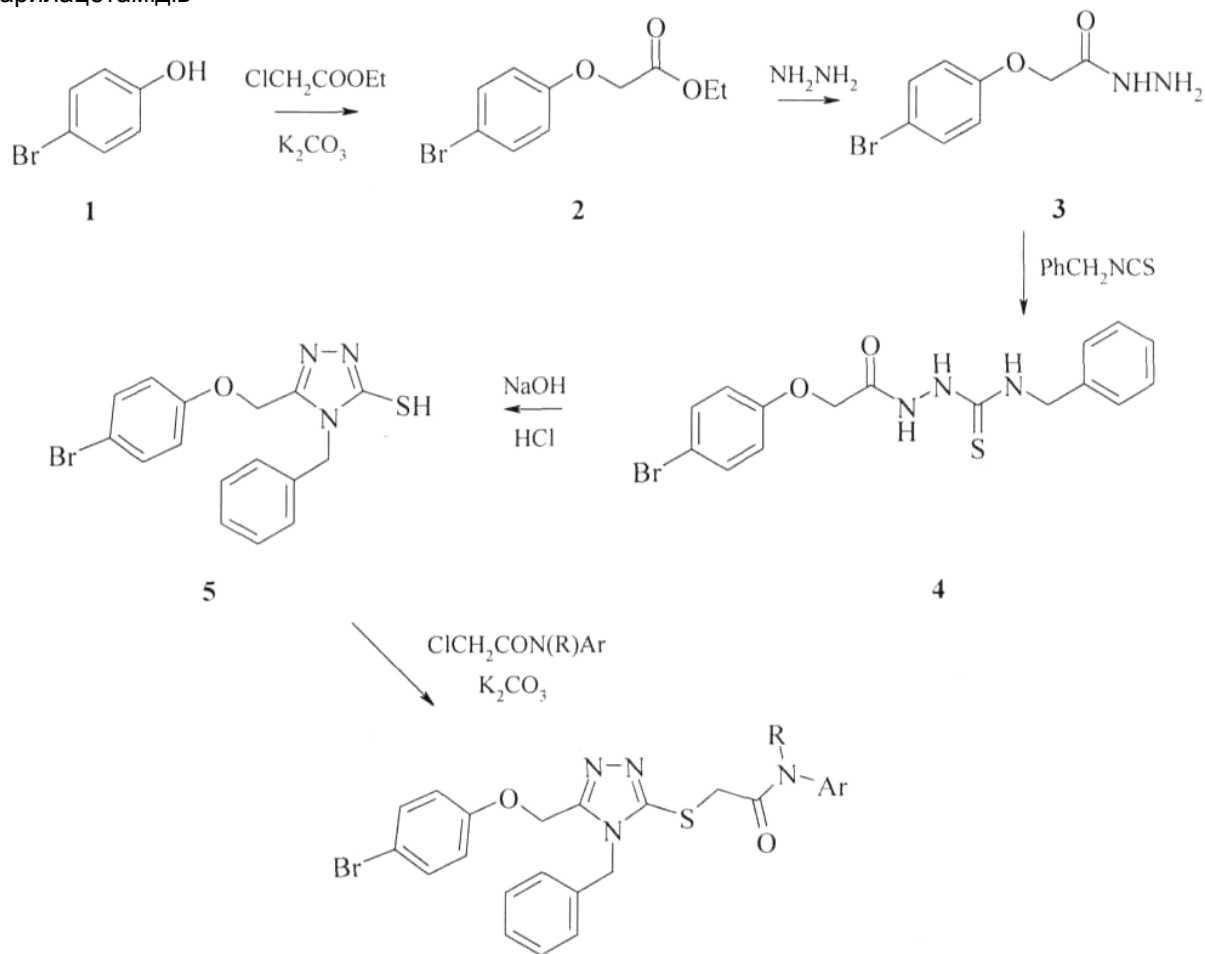
В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових речовин, що проявляють протипухлинну активність - здатність пригнічувати ріст ракових клітин лейкемії: CCRF-CEM, HL-60(TB), K-562, MOLT-4, RPMI-8226 та SR.

40

Поставлена задача вирішується тим, що як нові хімічних речовин синтезовано 2-[4-бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетаміди (6 а-с).

Заявлені сполуки (6 а-с) одержують з високим виходом при використанні відомих синтетичних підходів у декілька стадій (схема 1).

Схема 1. Синтез 2-[4-бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетамідів



5

де а) $\text{R}=\text{H}$, $\text{Ar}=\text{2,4,6C}_6\text{H}_2\text{Cl}_3$, б) $\text{R}=\text{H}$, $\text{Ar}=\text{4C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$, в) $\text{R}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{Ar}=\text{C}_6\text{H}_5$.

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

10

Таблиця 1

Протипухлинна активність сполук 6 (а-с) *in vitro*
на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10^{-5} моль/л

Лінії ракових клітин лейкемії	Сполука а	Сполука б	Сполука с
CCRF-CEM	59.79	62.48	-0.87
HL-60(TB)	92.57	49.36	-16.59
K-562	67.03	5.96	5.09
MOLT-4	69.95	57.50	2.03
RPMI-8226	48.93	81.72	-35.98
SR	74.00	30.78	-2.07

15

Для визначення протипухлинної активності похідних 2-[4-бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетамідів 6 а-с проведено *in vitro* дослідження на 6 лініях ракових клітин лейкемії, 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 у порівнянні з контролем. Як контроль використовували 5-фторурацил.

Приклади конкретного виконання.

5 Гідрозид 4-бромфеноксіоцтової кислоти 3 був одержаний за методом [7] послідовним алкілюванням 4-бромфенолу 1 етиловим естером монохлор-оцтової кислоти та подальшим кип'ятінням естеру 2 з гідрзингідратом.

Приклад 1

10 Синтез 4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу 5. До розчину 9.8 г (0.04 моля) гідрозиду 4-бромфеноксіоцтової кислоти 3 в 150 мл сухого діоксану при перемішуванні додавали 5.97 г (0.04 моля) фенілізотіоціанату. Реакційну суміш кип'ятили протягом 40 хвилин, охолоджували, осад, що утворився, відфільтровували. До одержаної таким чином заміщеної тіосечовини 4 додавали 100 мл 0.1 М розчину гідроксиду натрію. Реакційну суміш кип'ятили протягом 2-х годин. Після охолодження, підкисляли реакційну суміш 0.1 М розчином соляної кислоти до рН=8. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Вихід 12.8 г (85 %), T_{пл}=242-3 °С. Знайдено, %: N-11.4, Br-20.9, C₂₄H₁₄BrN₃O₂S. Обчислено, %: N-11.2, Br-21.2. ЯМР ¹H (δ, м. ч.): 5.01 (с, 2Н, NCH₂), 5.31 (с, 2Н, OCH₂), 6.72 та 7.38 (д-д, 4Н, C₆H₄-пара), 7.21-7.30 (м, 5Н, Ph), 13.9 (с, 1Н, SH).

Приклад 2

20 2-[4-Бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-(2²,4²,6²-трихлорофеніл)ацетамід 6 а. До розчину 1.88 г (0.005 моль) 4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу 5 в 40 мл сухого ДМФА додавали 1.38 г (0.01 моля) карбонату калію. Потім додавали 1.365 г (0.005 моль) 2-хлор-N-(2²,4²,6²-трихлорофеніл)ацетаміду. Нагрівали при перемішуванні на водяній бані 2 години. Охолоджували і виливали в 100 мл води. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою. Перекристалізовували із етанолу. Вихід 2.57 г (84 %), T_{пл}=180-2 °С. Знайдено, %: N-9.29, S-5.27, C₂₄H₁₈BrCl₃N₄O₂S. Обчислено, %: N-9.14, S-5.23. ЯМР ¹H (δ, м. ч.): 4.15 (с, 2Н, SCH₂), 5.17 (с, 2Н, NCH₂), 5.31 (с, 2Н, OCH₂), 6.82 та 7.33 (д-д, 4Н, C₆H₄-пара), 7.12-7.28 (м, 5Н, Ph), 7.49 (с, 2Н, C₆H₂), 10.1 (с, 1Н, NH).

Приклад 3

30 2-[4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-(пара-толіл)ацетамід 6 б був одержаний аналогічно прикладу 2 із 1.88 г (0.005 моль) 4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу 5 та 0.918 г (0.005 моль) 2-хлор-N-(пара-толіл)ацетаміду. Вихід 2.04 г (78 %), T_{пл}=174-6 °С. Знайдено, %: N-10.5, Br-15.6, C₂₅H₂₃BrN₄O₂S. Обчислено, %: N-10.7, Br-15.3. ЯМР ¹H (δ, м. ч.): 2.30 (с, 3Н, CH₃), 4.09 (с, 2Н, SCH₂), 5.17 (с, 2Н, NCH₂), 5.30 (с, 2Н, OCH₂), 6.81 та 7.34 (д-д, 4Н, C₆H₄-пара), 7.22 та 7.41 (д-д, 4Н, C₆H₄-пара), 7.14-7.29 (м, 5Н, Ph), 10.0 (с, 1Н, NH).

Приклад 4

40 2-[4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-ізопропіл-N-фенілацетамід 6 с був одержаний аналогічно прикладу 2 із 1.88 г (0.005 моль) 4-бензил-5-(4¹-бромфеноксиметил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу 5 та 1.059 г (0.005 моль) 2-хлор-N-ізопропіл N-фенілацетаміду. Вихід 2.23 г (81 %), T_{пл}=141-3 °С. Знайдено, %: - N 10.4, Br-14.3, C₂₇H₂₇BrN₄O₂S. Обчислено, %: N-10.2, Br-14.5. ЯМР ¹H (δ, м.ч.): 1.01 (д, 6Н, CH(CH₃)₂), 3.67 (с, 2Н, SCH₂), 4.76 (м, 1Н, CH(CH₃)₂), 5.17 (с, 2Н, NCH₂), 5.24 (с, 2Н, OCH₂), 6.83 та 7.38 (д-д, 4Н, C₆H₄-пара), 7.08-7.47 (м, 10Н, 2Ph).

45 Визначення цитотоксичного ефекту *in vitro*. Основною метою досліджень *in vitro* є оцінка прямого цитотоксичного ефекту потенційних протипухлинних сполук та виявлення можливої диференційної чутливості пухлинних клітин людини різного ґенезу до сполук, що вивчаються. Експеримент *in vitro* проводили на 6 лініях ракових клітин лейкемії, при цьому сполуки використовували в концентрації 10⁶ моль/л та визначали мітотичну активність сполук за стандартною процедурою оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук [8]. Визначення проводили високочутливим флуориметричним методом, кількісно оцінюючи інтенсивність кольору флуоресцентного випромінювання (барвник - сульфо-родамін Б) через 48 год. опромінення клітини з тестованою сполукою. Результат проведених досліджень виражали у відсотках росту клітин раку у порівнянні з контролем. 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_{тест} - середня OD_{тzero}) > 0, тоді

PG=100 × (середнє OD_{тест} - середнє OD_{тzero}) / (середнє OD_{ctrl} - середнє OD_{тzero});

якщо (середнє OD_{тест} - середнє OD_{тzero}) < 0, тоді

60 PG=100 × (середнє OD_{тест} - середнє OD_{тzero}) / середнє OD_{тzero}

де:

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

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 тестованої сполуки.

Таким чином, оскільки сполука 2-[4-бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-ізопропіл-N-фенілацетамід 6 с набагато ефективніше стримує ріст клітин лейкемії K-562 та MOLT-4 ніж стандарт - 5-фторурацил, а ріст клітини CCRF-CEM, HL-60(TB), RPMI-8226 та SR не тільки стримує, а й знищує (див. табл. 1), то запропонована нова біологічно активна сполука, яка може бути потенційним протипухлинним засобом.

Джерела інформації:

1 Novartis Pharma AG. Gleevec® (imatinib mesylate) tablets prescribing information. East Hanover, NJ; 2006 Sep. Anon. Drugs of choice for cancer. Treat Guidel Med Lett. 2003; p 41-52

2. К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, М.С. Фоминых. Дженераки иматиниба: мифы и реальность (обзор литературы и собственные данные) Клиническая онкогематология. Т7 - № 3-2014-311-316

3. Абдулкадыров К.М., Абдуллаев А.О., Авдеева Л.Б. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза. Вестн. гематол. 2013; 9(3): 4-40.

4. Воробьев А.И., Абдулкадыров К.М., Хорошко Н.Д. Диагностика и терапия хронического миелолейкоза. М., 2011. 35 с.

5. Guidelines N. Version 4.2013 Chronic Myelogenous Leukemia. <http://www.nccn.org> (Accessed on 18.09.2013).

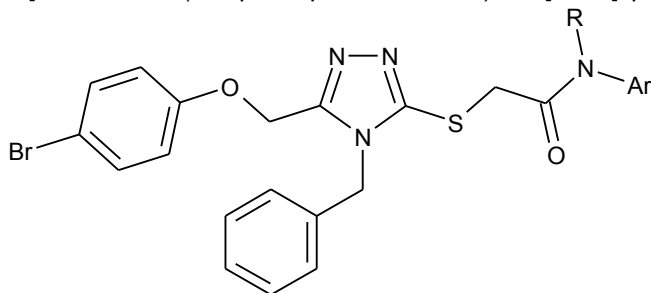
6. Vaccarani M., Deininger M.W., Rosti G. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. Blood 2013; 122(6): 872-84.

7. Maingot, Lucie; Elbakali, Jamal; Dumont, Julie; Bosc, Damien; Cousaert, Nicolas; Urban, Agathe; Deglane, Gaelle; Villoutreix, Bruno; Nagase, Hideaki; Sperandio, Olivier; Leroux, Florence; Deprez, Benoit; Deprez-Poulain, Rebecca; European Journal of Medicinal Chemistry; vol. 69; (2013); p. 244-261.

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

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

2-[4-Бензил-5-(4¹-бромофеноксиметил)-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл]-N-арилацетаміди:



де R=H, CH(CH₃)₂, Ar=C₆H₅, C₆H₄CH₃(4), C₆H₂Cl₃(2,4,6),
що мають 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