



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117404** (13) **C2**

(51) МПК (2018.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 285/16 (2006.01)

C07D 249/08 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

C07D 319/18 (2006.01)

A61K 31/33 (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2016 11804**

(22) Дата подання
заявки: **22.11.2016**

(24) Дата, з якої є
чинними права на
винахід: **25.07.2018**

(41) Публікація
відомостей про
заявку: **11.09.2017, Бюл.№
17**

(46) Публікація
відомостей про
видачу патенту: **25.07.2018, Бюл.№
14**

(72) Винахідник(и):
**Демченко Анатолій Михайлович
(UA),
Янченко Віктор Олексійович (UA),
Коваль Андрій Ярославович (UA),
Демченко Діана Анатолійовна (UA),
Бобкова Людмила Станіславівна
(UA)**

(73) Власник(и):
**ЧЕРНІГІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ Т.Г.
ШЕВЧЕНКА,**
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013
(UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
PubChem, код сполуки CID 16764447
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16764447>
CN 106243130 A , 01.08.2016, формула винаходу,
пп. 1, 9, 10
М. А. Ирадян и др. «3,6-диарил-7Н-
[1,2,4]триазоло[3,4- b][1,3,4]тиадиазины»,
Химический журнал Армении, 65, №4, 2012,
стор.511-512, абзац 1, спол. 1-23
М. А. Ирадян и др. «Синтез и биологическая
активность замещенных 6-алкил(6Н)-3-фенил-
1,2,4триазоло[3,4-b]-1,3,4-тиадиазинов», Химико-
фармацевтический журнал, том 44, №8, 2010,
стор.11-15, спол. I-XXX
О.А. Быстрых и др. «Синтез производных 5Н-
[1,2,3]триазоло[5,1- b][1,3,4]тиадиазина»,
Актуальные проблемы органического синтеза и
анализа, 2012, стр.117-119

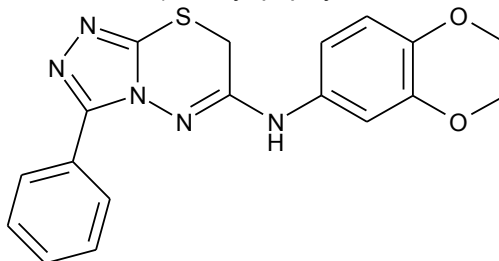
(54) (2,3-ДИГИДРОБЕНЗО[1,4]ДИОКСАН-6-ІЛ)-(3-ФЕНІЛ-7Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[3,4-В][1,3,4]ТІАДІАЗИН-6-ІЛ)-АМІН, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ

(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. Сполука може бути використана при лікуванні пухлини молочної залози, меланоми, пухлин головного мозку, раку яєчників та раку нирок.

UA 117404 C2

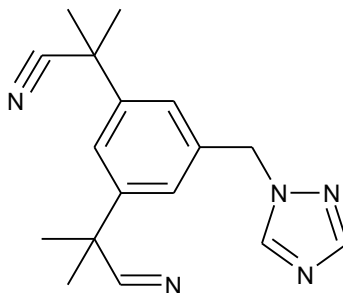
Патент на винахід належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активного (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-(3-феніл-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-аміну формули:



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, вінкрисдин, 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 зниженню рівня естрадіолу в периферичних тканинах. Відомо [2], що захворювання на пухлини молочної залози в світі становлять понад 20 % від загальної кількості онкологічних захворювань.

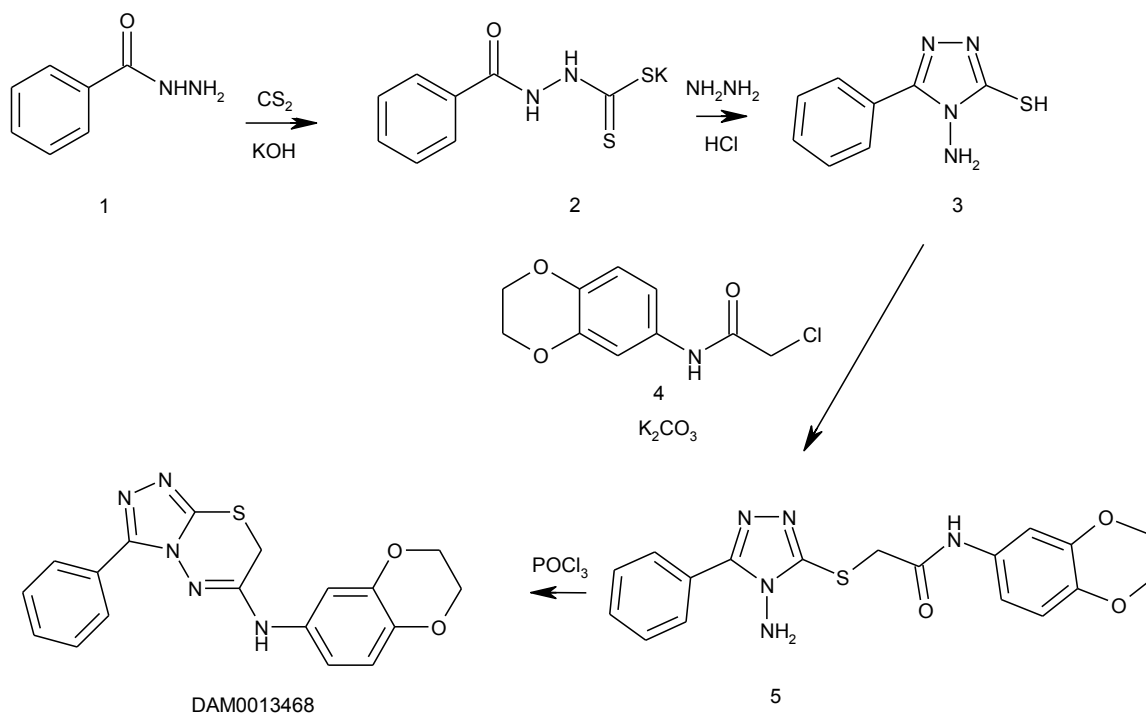
При застосуванні анастрозолу може розвиватися анемія, тромбоемболія та лейкопенія, що є показаннями для відміни препарату.

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

В основу патенту на винахід 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 нову хімічну речовину 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.).

5

Таблиця

Протипухлинна 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 |

Продовження Таблиці

| | |
|--------------------------|--------|
| 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 | 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^{-5} 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 гідразида бензойної кислоти 1 з CS₂ в лужному середовищі та подальшою циклізацією проміжної солі 2 з гідразином.

Приклад 1

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 випарили досуха. До сухого кристалічного залишку додали 15 мл POCl₃ 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, C₁₈H₁₅N₅O₂S. Розраховано, %: N-19.2. ЯМР ¹H (δ, м. ч., DMSO-d₆): 3.98 (с, 2H, SCH₂C=), 4.21 (м, 4H, OCH₂CH₂O), 6.81-8.10 (м, 8H, Ph+C₆H₃), 9.58 (с, 1H, NH).

Приклад 2

Для визначення протипухлинної активності похідних 7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину дослідження проводили *in vitro* на 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_{тест} - середня OD_{тzero}) > 0, тоді

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

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

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

де:

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

середнє OD_{тест} = 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.

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.

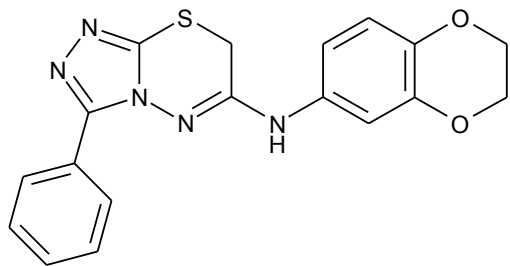
2. "World Cancer Report". International Agency for Research on Cancer. 2008. Retrieved 2011-02-26 (cancer statistics often exclude non-melanoma skin cancers such as basal cell carcinoma, which are common but rarely fatal).

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 ВИНАХОДУ

(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:



5

що має протипухлинну активність.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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