



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129434** (13) **U**  
(51) МПК (2018.01)  
**C07D 417/00**  
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

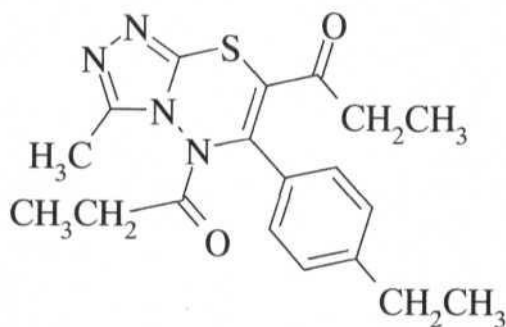
**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: <b>u 2018 05732</b>	(72) Винахідник(и): <b>Демченко Анатолій Михайлович (UA), Янченко Віктор Олексійович (UA), Демченко Діана Анатоліївна (UA), Бобкова Людмила Станіславівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>22.05.2018</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.10.2018</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.10.2018, Бюл.№ 20</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "ЧЕРНІГІВСЬКИЙ КОЛЕГІУМ" ІМЕНІ Т.Г. ШЕВЧЕНКА, вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013 (UA)</b>

**(54) 1-[6-(4<sup>1</sup>-ЕТИЛФЕНІЛ)-3-МЕТИЛ-5-ПРОПІОНІЛ-5Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[3,4-Ь][1,3,4]ТІАДІАЗИН-7-ІЛ]-ПРОПАН-1-ОН, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ**

(57) Реферат:

1-[6-(4<sup>1</sup>-Етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-Ь][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он

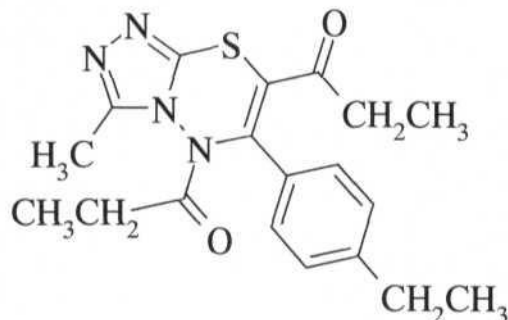


що має протипухлинну активність.

UA 129434 U



Корисна модель належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активного 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону



5 що проявляє протипухлинну активність та може бути використаний при лікуванні лейкемії.

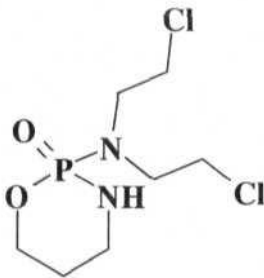
Лейкемія - онкологічне захворювання клітин крові, що вражає кістковий мозок і інші кровотворні органи і супроводжується значним збільшенням кількості лейкоцитів. Патологічні лейкоцити втрачають захисні функції та знищують здорові клітини, після чого організм стає беззахисним перед будь-якою інфекцією. Лікування проводиться за допомогою опромінення і  
10 цитотоксичних препаратів для придушення розмноження клітин, що дегенерували, або трансплантацією кісткового мозку [1].

Серед злоякісних новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин, на частку лейкозів у дитячому віці припадає 38-40 % [2]. Частота гострого лімфобластного лейкозу у дітей становить 4 випадки на 100000 дитячого населення з співвідношенням хлопчики/дівчата 1,3 до 1 та  
15 вираженою хворобою від 2 до 5 років [2]. Розвитку лейкозу сприяє іонізуюча радіація, хімічні речовини, віруси та бактерії [3], генетичні синдроми з ненормальною кількістю хромосом, дефектами в генах [4]. Серед цих факторів найбільш частим є синдром Дауна, при якому ризик розвитку лейкемії в 20 разів вище, ніж у дітей без цього синдрому [4].

Хронічна лімфоцитарна лейкемія (ХЛЛ) - найчастіша форма лейкемії в Європі, показник захворюваності якої становить 3-4 випадки на 100000 населення. Хвороба більш всього спостерігається у людей похилого та старечого віку (70,0 % хворих на час діагностики ХЛЛ мають понад 65 років; 40,0 % - понад 75 років, 15,0 % - понад 85 років) [5, 6].

Гострий лейкоз вимагає негайної терапії, яка включає в себе прийом високих доз хіміотерапевтичних засобів, що дає можливість організму очищатися від лейкозних клітин. Після цього, при необхідності, призначається трансплантація здорових донорських клітин кісткового мозку. При хронічних лейкозах лікар вибирає підтримуючу терапію, мета якої - відкласти або  
25 виключити розвиток ускладнень.

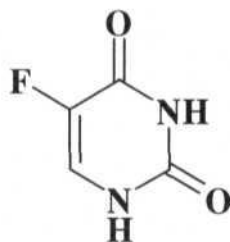
Одним із препаратів, який застосовується для лікування лейкемії, є похідне гетероциклічних сполук - циклофосфамід формули:



30 Механізм дії препарату полягає у дії його активних метаболітів на пухлинні клітини, внаслідок чого відбувається зшивка ДНК клітин пухлини, що призводить до зупинки мітозу пухлинних клітин та гальмування росту пухлини [7].

35 При застосуванні циклофосфаміду можуть виникати такі побічні ефекти: нудота, блювання, діарея або запор, гепатит, гепатотоксичність із імовірним розвитком печінкової недостатності, головний біль, запаморочення, нейротоксичність, некроз канальців нирок, гематурія, токсична нефропатія, артеріальна гіпертензія фібриляція шлуночків, алергічні реакції. При застосуванні під час вагітності можливі внутрішньоутробна загибель плоду, вади розвитку плоду, затримка росту плоду, ембріональна токсичність, ймовірні передчасні пологи.

Як прототип за фармакологічною дією нами вибрано 5-фторурацил формули:



Механізм дії препарату полягає в інгібуванні фермента тимідинсинтетази, що призводить до блокування синтезу ДНК та інгібування синтезу РНК у наслідок включення метаболіту препарату в структуру нуклеїнових кислот, наслідком чого є припинення мітозу. Він застосовується як протипухлинний препарат при різних видах раку: раку стравоходу, шлунку, підшлункової залози, раку печінки, колоректальної зони, яєчників, шийки матки, молочної залози, сечового міхура, простати, пухлин голови та шиї [8].

При застосуванні 5-фторурацилу побічні ефекти спостерігаються досить часто. Серед побічних ефектів препарату найчастішими є: дерматит, алопеція, стоматит, нудота, блювання, діарея, головний біль, неврит зорового нерва, стенокардія, ішемія міокарду, тромбофлебіт, анемія, тромбоцитопенія, лейкопенія та ін. [8].

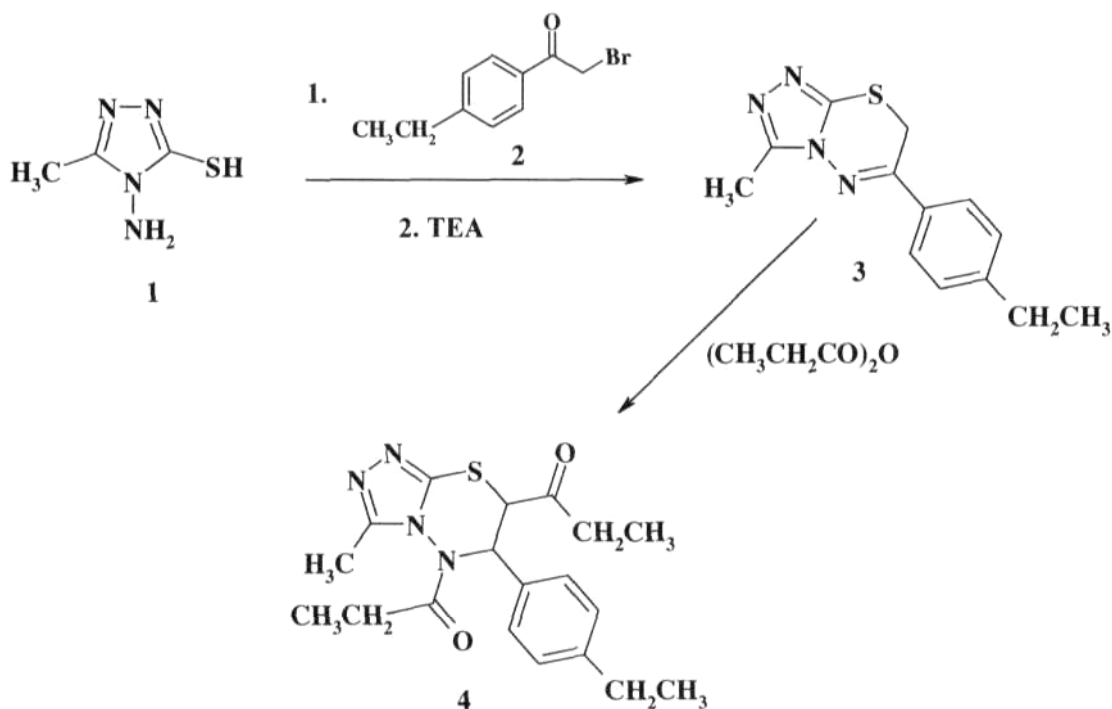
Підвищення ефективності хіміотерапії пухлинної хвороби в першу чергу пов'язано із створенням нових, ефективних протипухлинних препаратів.

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук, які виявляють протипухлинну активність та здатні лікувати лейкемію.

Поставлена задача вирішується тим, що як нову біологічну активну речовину запропоновано 1-[6-(4'-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он.

Заявлену сполуку 4 отримували за загальною схемою 1 кип'ятінням 6-(4'-етилфеніл)-3-метил-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину 3 в ангідриді пропанової кислоти. Заміщений 7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин 3 було синтезовано при конденсації 4-аміно-5-метил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіолу 1 з 4-етилфенацетилбромідом 2 та подальшою обробкою проміжного гідроброміду триетиламіном.

Схема 1. Синтез 1-[6-(4'-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону:



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

Приклади конкретного виконання.

4-Аміно-5-метил-4Н-[1,2,4]триазол-3-тіол 1 було одержано за методом [9], а  $\alpha$ -бромо-4-етилацетофенон 2 за методом [10].

5        Приклад 1. Синтез 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-  
b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону (4): Суміш 1,30 г (0,01 моля) 4-аміно-5-метил-4Н-  
[1,2,4]триазол-3-тіолу 1 та 2,27 г (0,01 моля)  $\alpha$ -бромо-4-етилацетофенону 2 кип'ятили в 100 мл  
етил ацетату протягом 4 годин з оберненим холодильником. Після охолодження утворений  
осад відфільтровували та висушували. Отриманий гідробромід 6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-7Н-  
10        [1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазину 3 розчиняли в 10 мл ДМФА та при перемішуванні  
додавали 1 мл триетиламіну, а через 15 хв 200 мл води. Утворений осад 6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-  
метил-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазину 3 відфільтровували, висушували та  
використовували без додаткового очищення та ідентифікації. 1.29 г (0.005 моля) 6-(4<sup>1</sup>-  
етилфеніл)-3-метил-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазину 3 кип'ятили в 10 мл ангідриду  
пропанової кислоти протягом 3 годин з оберненим холодильником. Реакційну суміш  
15        охолоджували і виливали в воду. Продукт відфільтровували та перекристалізували із  
пропанову-2. Вихід 1,42 г (77 %).  $T_{пл}=105-106\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч. (ДМСО): 1.05(т, 3Н,  
CH<sub>3</sub>), 1.14 (т, 3Н, CH<sub>3</sub>), 1.21(т, 3Н, CH<sub>3</sub>), 2.62 (к, 2Н, CH<sub>2</sub>), 2.64 (к, 2Н, CH<sub>2</sub>), 2.65 (с, 3Н, CH<sub>3</sub>), 3.00  
(к, 2Н, CH<sub>2</sub>), 7.33 та 7.59 (д-д, 4Н, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), Знайдено, %: N 15.0; S 8.44. C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. Вирахувано,  
%: N 15.1; S 8.65.

20        Приклад 2. Для визначення протипухлинної активності 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-  
пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону 4 дослідження проведено  
in vitro на 6 лініях ракових клітин лейкемії при дії речовини в концентрації 10<sup>-5</sup> моль/л за  
стандартною процедурою [11] оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно  
активних сполук методом флуоресцентного фарбування (барвник - сульфородамін Б).  
25        Дослідження виконувались у 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 - 5-флуороурацилом. Наведені  
у таблиці 1 значення показують на скільки досліджувана сполука є більш ефективною у  
пригніченні росту ракових клітин у порівнянні з контролем.

30        Показано, що в умовах експерименту заявлений 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-  
[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он в концентрації 10<sup>-5</sup> моль/л виявив  
здатність пригнічувати ріст всіх ліній ракових клітин лейкемії (табл. 1).

Таблиця 1

Протипухлинна активність 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-  
b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону in vitro на лініях ракових клітин лейкемії при дії речовин в  
концентрації 10<sup>-5</sup> моль/л

	Лінії ракових клітин	Сполука 3
Лейкемія	CCRF-CEM	11,47
	HL-60(TB)	29,27
	K-562	29,53
	MOLT-4	14,36
	RPMI-8226	3,22
	SR	33,34

35        Відповідно до наведеної таблиці 1, досліджуваний 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-  
5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он відносно клітин лейкемії виявив більш  
високу протипухлинну активність, ніж препарат порівняння - 5-флуороурацил. Так, щодо ліній  
клітин лейкемії затримка росту клітин вище стандарту на 96,78 – 66,66 %.

40        Приклад 2. На другому етапі досліджувану 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-  
[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он тестували у п'яти концентраціях при 10-  
кратному розведенні (100  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , та 0,01  $\mu\text{M}$ ) на 6 лініях людських ракових  
клітин лейкемії. У результаті експерименту було розраховано 3 дозозалежні параметри: 1) GI<sub>50</sub> -  
концентрація сполуки, яка викликає пригнічення росту 50 % пухлинних клітин лінії; 2) TG<sub>1</sub> -  
концентрація, при якій відмічається повне пригнічення росту клітин; 3) LC<sub>50</sub> - концентрація, за  
45        якої гине 50 % пухлинних клітин.

Якщо логарифмічні значення цих параметрів є меншими за -4,00, то сполуки розглядають як  
активні [12-14].

Таблиця 2

Log<sub>10</sub>GI<sub>50</sub>, Log<sub>10</sub> TGI та Log<sub>10</sub> LC<sub>50</sub> 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-  
b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-ону in vitro на лініях ракових клітин лейкемії при концентрації 10<sup>-4</sup>-10<sup>-8</sup> моль/л

Лінії ракових клітин	Log <sub>10</sub> GI <sub>50</sub>	Log <sub>10</sub> TGI	Log <sub>10</sub> LC <sub>50</sub>
CCRF-CEM	-5,50	-4,84	-4,00
HL-60(TB)	-5,48	-5,00	-4,00
K-562	-5,42	-4,61	-4,00
MOLT-4	-5,46	-4,84	-4,00
RPMI-8226	-5,45	-5,23	-4,00
SR	-5,45	-4,80	-4,00

Встановлено, що 1-[6-(4<sup>1</sup>-етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-  
b][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он при поглибленому скринінгу in vitro на лініях клітин раку при дії речовини в концентрації 10<sup>-4</sup>-10<sup>-8</sup> моль/л має ефективний рівень інгібування ліній раку лейкемії: показник Log<sub>10</sub> GI<sub>50</sub> знаходиться в межах від -5,65 (лінія RPMI-8226) до -5,42 (лінія K-562). Повне пригнічення росту клітин було також відмічено для всіх ліній раку лейкемії. Показник Log<sub>10</sub> TGI знаходиться в межах від -5,23 (лінія RPMI-8226) до -4,51 (лінія K-562).

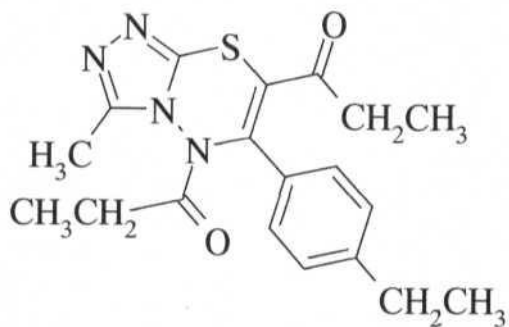
Таким чином, запропонована нова біологічно активна сполука, яка може бути потенційним протипухлинним засобом з ефективним рівнем інгібування росту ракових клітин лейкемії.

Джерела інформації:

1. Атаман О.В. Патофізіологія. Вінниця, 2010. - 512 с.
2. Детская онкология: кол. моногр. Москва, 2012. - 684 с.
3. Руководство по детской онкологии. Москва, 2003. - 504 с.
4. Гематология и иммунология детского возраста. Санкт-Петербург, 2009. - 1044 с.
5. Siegel R. Cancer treatment and survivorship statistics /R. Siegel, C. DeSantis, K. Virgo [et al.] //CA Cancer J. Clin. - 2012. - Vol. 62. - P. 220-241.
6. Guo B. Individualized fludarabine-based regimen in elderly patients with, chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma /B. Guo, H. Zhu, H. Fan [et al.] //Adv. Ther. - 2012. - Vol. 29. - P. 178-186.
7. Hall A.G. Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of haematological malignancies /A.G. Hall, M.J. Tilby //Blood Reviews. - 1992. - Vol. 6. - P. 163-173.
8. 5-фторурацил [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/5-%D1%84%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%83%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB> - Назва з екрану.
9. Invidiata, F.P. 1,2,4-Triazoles. Improved Synthesis of 5-Substituted 4-Amino-3-mercato-(4H)-1,2,4-triazoles and a Facile Route to 3,6-Disubstituted 1,2,4-Triazolo[3,4-b] [1,3,4]thiadiazoles /F.P. Invidiata, G. Furno, I. Lampronti, D. Simoni //J. Het. Chem. - 1997. - Vol. 34. - P. 1255-1258.
10. Kihara M.A new synthesis of 7,12-dihydro-12-phenyl-5H-6,12-methanodibenz[c, f]azocines via N-benzyl-1,2,3,4-tetrahydro-4-phenylisoquinolin-4-ols /M. Kihara, M. Kashimoto, Y. Kobayashi, Y. Nagao //Heterocycles. - 1992. - Vol. 34(4). - P. 747-756
11. Teicher B.A. Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical trials, and approval /B.A. Teicher, P.A. Andrews. - Totowa, N.J.: Humana Press, 2004. - 450 с. - (Humana Press).
12. Alley M.C. Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay /M.C. Alley, D.A. Scudiero, P.A. Monks //Cancer Research. - 1988. - Vol. 48. - P. 589-601.
13. Boyd M.R. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen /M.R. Boyd, K.D. Pauli //Drug Development Research. - 1995. - Vol. 34, № 2. - P. 91-109.
14. Monks A. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines /A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan [et al.] //Journal of National Cancer Institute. 1991. - Vol. 83, № 11. - P. 757-766.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 1-[6-(4<sup>1</sup>-Етилфеніл)-3-метил-5-пропіоніл-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-в][1,3,4]тіадіазин-7-іл]-пропан-1-он



що має протипухлинну активність.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

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

---

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