



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121195** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/00
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

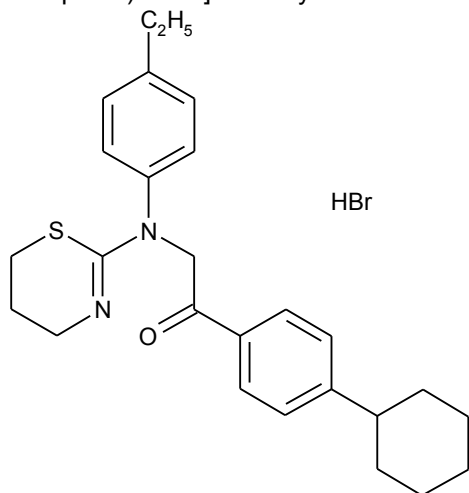
(21) Номер заявки: u 2017 06316	(72) Винахідник(и): Демченко Сергій Анатолійович (UA), Волочнюк Дмитрій Михайлович (UA), Бобкова Людмила Станіславівна (UA), Демченко Анатолій Михайлович (UA)
(22) Дата подання заявки: 21.06.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.11.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.11.2017, Бюл.№ 22	(73) Власник(и): ЧЕРНІГІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ Т.Г. ШЕВЧЕНКА, вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013 (UA)

(54) ГІДРОБРОМІД 1-(4¹-ЦИКЛОГЕКСИЛФЕНІЛ)-2-[5,6-ДИГІДРО-4Н-[1,3]ТІАЗИН-2-ІЛ)-(4²-ЕТИЛФЕНІЛ)АМІНО]ЕТАНОНУ, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ

(57) Реферат:

Гідробромід
етилфеніл)аміно]етанону:

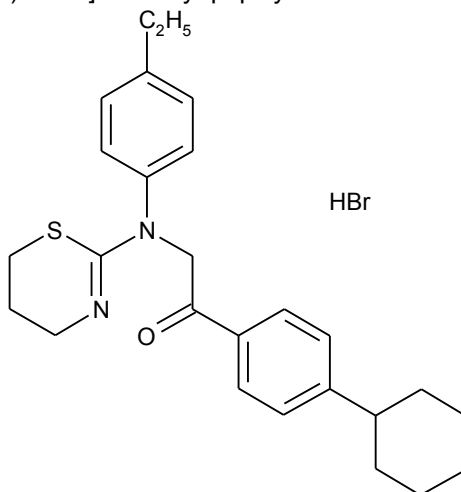
1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-



має протипухлинні властивості.

UA 121195 U

Корисна модель належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активного гідроброміду 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону формули

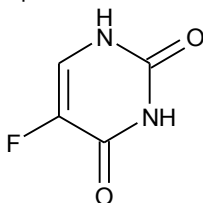


що проявляє протипухлинну активність і може бути використаний при лікуванні лейкемії, меланоми, раку легенів, товстого кишечника, раку головного мозку, яєчників, нирок, простати та молочної залози.

Фармакотерапія пухлинної патології є найважливішою складовою у боротьбі з онкологічними захворюваннями. За останні роки вона збагатилась численними новими препаратами, що збільшують її ефективність та безпечність [1]. За даними ВООЗ, щороку з'являється понад 10 млн. нових онкохворих. Ризик розвитку онкологічних захворювань становить 27,7 % для чоловіків і 18,5 % для жінок. Злоякісні новоутворення вражають в Україні кожного четвертого чоловіка і кожну шосту жінку [2]. Тому розробка нових протипухлинних засобів є нагальною проблемою сучасної фармацевтичної хімії.

Перелік сучасних фармацевтичних субстанцій, що призводить до досягнення паліативного ефекту та зменшення пухлини і відповідно до клінічної ремісії, досить широкий. Відомі протипухлинні препарати мають різний механізм дії і застосовуються у відповідних схемах лікування. При цьому виражений клінічний ефект складає від 20 до 80 %. В окремих випадках ремісія складає до 2 років, а понад 10 % хворих мають ремісію понад 3 роки. Широке застосування набули детіцен, метатрексат, вінкристин, адриабластин. Лікарські засоби, що перелічені, мають необхідні лікувальні властивості, але проявляють значні побічні ефекти, що супроводжується розвитком патологічних процесів в організмі.

Еталоном для порівняння протипухлинної активності заявленої сполуки використано препарат з групи антагоністів-5-фторурацил:



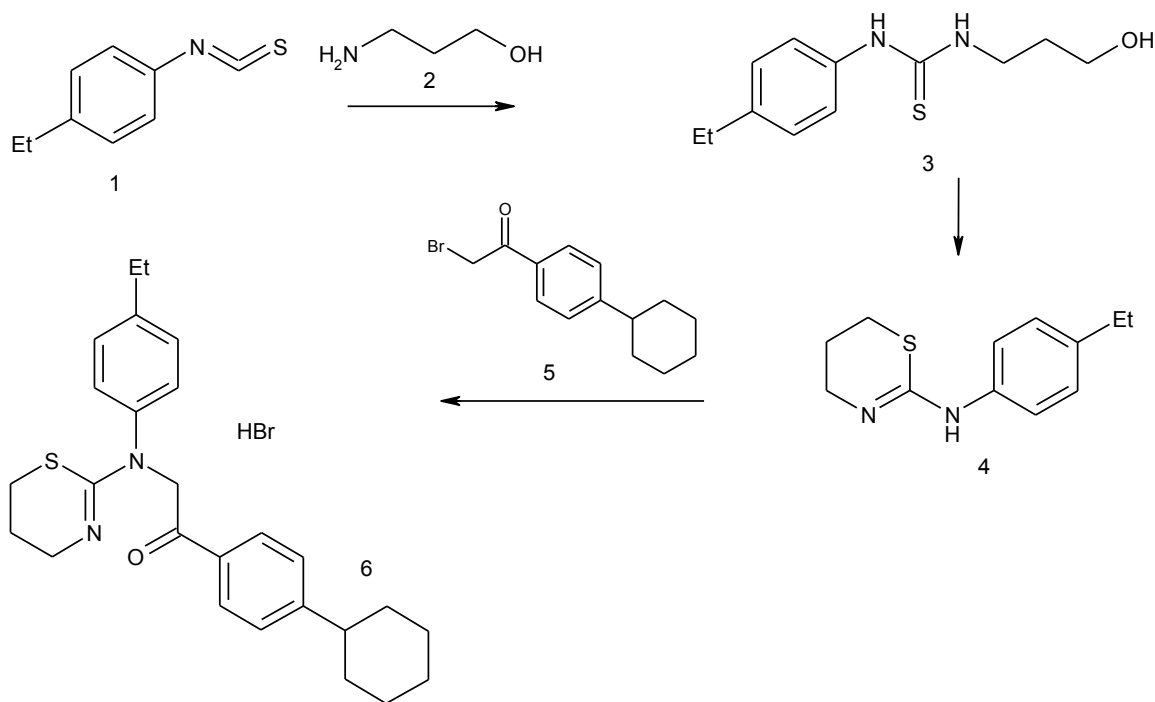
Він пригнічує процес ділення ракових клітин, блокуючи синтез ДНК. Цей препарат пригнічує ріст і розвиток пухлин, а також гемопоєз. Його використовують при лікуванні меланоми, раку товстого кишечника, прямої кишки, раку молочної залози, шлунка, печінки, карциноми ендометрії, раку яєчників та сечового міхура. Побічною дією цього препарату є: пригнічення кровотворення, центральної нервової системи, порушення серцево-судинної, травної та репродуктивної систем, дерматологічні та алергічні реакції [3].

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових речовин, що проявляють протипухлинну активність, здатність пригнічувати ріст клітин раку, що охоплюють широкий спектр онкологічних захворювань людини.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу нової хімічної речовини - гідроброміду 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону 6.

Заявлену сполуку одержують у декілька стадій, за наступною схемою:

Схема 1. Синтез гідроброміду 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону 6.



Приклади конкретного виконання.

5 (5,6-Дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4-етилфеніл)амін 4 одержано за методом [4] конденсацією 4-етилфенілізотіоціанату 1 з пропаноламіном 2 та подальшою обробкою одержаної тіосечовини 3 водним розчином соляної кислоти. 2-Бromo-1-(4-циклогексилфеніл)-етанон 5 був одержаний за методом [5].

10 Спектри ПМР були зареєстровані на спектрометрі Bruker DRX-500, робоча частота 500,13 МГц, внутрішній стандарт ТМС в розчині DMSO-d₆ + CCl₄ (1:3). Контроль за чистотою синтезованих сполук здійснювався за допомогою ТХС на пластинках Silufol UV-254 в системі хлороформ - метанол 9:1.

Приклад 1.

15 Гідробромід 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону 6: Суміш 2.20 г (0.01 моль) (5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4-етилфеніл)аміну 4 та 2.81 г (0.01 моль) 2-бromo-1-(4-циклогексилфеніл)-етанону в 50 мл етилацетату кип'ятили зі зворотним холодильником протягом однієї години. Після чого осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували із пропанолу-2. Вихід - 3.36 г (67 %). Т_{пл.}=176-8 °С. Знайдено, %: N=5.39 Br=15.6 C₂₆H₃₃BrN₂OS. Вираховано, %: N=5.58 Br=15.9. Спектр ПМР (DMSO-d₆, ТМС): 1.26 (т, 3Н, CH₂CH₃), 1.44-1.83 (м, 10Н, (CH₂)₅), 2.23 та 2.30 (м+м, 2Н, 4-CH₂), 2.57 (м, 1Н, CH), 2.72 (кв, 2Н, CH₂CH₃), 3.10 та 3.64 (м+м, 2Н, 6-CH₂), 3.30 та 3.39 (м+м, 2Н, 4-СМ₂), 4.39 (с, 2Н, NCH₂CO), 7.26 та 7.60 (д-д, 4Н, C₆H₄), 7.35 та 7.64(д-д, 4Н, C₆H₄), 8.15 (с, 1Н, МВr).

Приклад 2.

25 Визначення цитотоксичного ефекту in vitro. Для визначення протипухлинної активності гідроброміду 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону 6 дослідження проведено in vitro на 60 лініях ракових клітин (лейкемії, легень, товстого кишечника, ЦНС, меланоми, яєчників, нирок, простати, молочної залози) при дії речовини в концентрації 10⁻⁵ моль/л за стандартною процедурою [6] оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук методом флуоресцентного зафарбування (барвник - сульфородамін Б), виконаних 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-флуорурацилом. У таблиці показано ефективність сполуки є у пригніченні росту ракових клітин у порівнянні з контролем.

35 Визначення проводили високочутливим флюорометричним 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 до контролю. Використана система відбору та вивчення

сполук з потенційною протипухлинною активністю *in vitro* базується на визначенні відсотку росту клітин пухлини (PG) під впливом сполуки, що тестується.

В умовах експерименту заявлена сполука у концентрації 10^{-5} моль/л виявила здатність пригнічувати ріст клітин раку, що охоплює практично весь спектр онкологічних захворювань людини (табл. 1).

Відповідно до табл. 1, найбільш ефективною заявлена сполука виявилася відносно всіх клітин лейкемії CCRF-CEM, HL-60(TB), K-562, MOLT-4 та RPMI-8226 із значенням -3.76 %, -55.48 %, -13.40 %, -24.41 % та -37.55 % відповідно. Від'ємні значення свідчать про те, що досліджувана сполука не тільки загрожує ріст пухлини, але і знищує зазначені лінії ракових клітин). Заявлена сполука знищує клітини дрібноклітинного раку легенів HOP-92, NCI-H460 та NCI-11522 на -17.44 %, -73.50 % та -23.31 % відповідно. Найбільш активною заявлена сполука виявилася проти клітин меланоми LOX IMVI та SK-MEL-5 із значеннями -90.06 % та -86.39 % відповідно. Тобто, в концентрації 10^{-5} моль/л заявлена сполука на всіх досліджених лініях ракових клітин перевищує препарат порівняння 5-фторурацил по гальмуванню росту відповідних пухлин. А для 18-ти видів ракових клітин встановлено їх достовірне знищення (табл. 1).

На другому етапі досліджень, або поглибленому *in vitro* скринінгу, сполука 6 тестувалась у п'яти концентраціях при 10-кратному розведенні (100 μ M, 10 μ M, 1 μ M, 0,1 μ M та 0,01 μ M) на перелічених лініях ракових клітин людини. У результаті експерименту розраховано три дозозалежні параметри, а саме: GI_{50} - концентрація сполуки, яка викликає пригнічення росту 50 % клітин лінії; TGI - концентрація, що створює повне пригнічення росту клітин; LC_{50} - концентрація, яка викликає загибель 50 % пухлинних клітин. GI_{50} інтерпретовано як ефективний рівень інгібування, TGI - як цитостатичний ефект, а LC_{50} - летальна концентрація, що характеризує цитотоксичну дію. Якщо логарифмічні значення досліджуваних параметрів ($lgGI_{50}$, $lgTGI$ та $lgLC_{50}$) є меншими ніж - 4,00, то сполука вважається активною [7-9].

Таблиця 1

Протипухлинна активність гідроброміду 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно] етанолу 6 *in vitro* на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10^{-5} моль/л та у градієнті концентрацій 10^{-4} - 10^{-8} М

Тип раку	Лінії ракових клітин	Параметри протипухлинної активності DAM0002990			
		Мітотична активність, %	$lgGI_{50}$	$lgTGI$	$lgLC_{50}$
Лейкемія	CCRF-CEM	-3.76	-5.76	-5.32	-4.57
	HL-60(TB)	-55.48	-5.71	-5.38	-5.06
	K-562	-13.40	-5.84	-5.44	-5.05
	MOLT-4	-24.41	-5.81	-5.40	-4.92
	RPMI-8226	-37.55	-5.84	-5.45	-5.06
	SR		-5.84	-5.43	
Дрібноклітинний рак легенів	A549/ATCC	27.62	-5.79	-5.51	-5.23
	HOP-62	0.54	-5.74	-5.49	-5.24
	HOP-92	-17.44			
	NCI-H226	16.87	-5.80	-5.50	-5.20
	NCI-H23	17.02	-5.72	-5.38	-5.05
	NCI-H322M	61.73	-5.62	-5.23	-4.59
	NCI-H460	-73.50	-5.75	-5.45	
Рак товстого кишечника	NCI-H522	-23.31	-5.74	-5.45	-5.16
	COLO 205	2.00	-5.78	-5.50	-5.22
	HCC2998	4.65	-5.78	-5.48	5.18
	HCT-116	-31.69	-5.85	-5.55	-5.26
	HCT-15	11.33	-5.82	-5.52	-5.22
	HT-29	-26.75	-5.83	-5.51	-5.20
	KM12	1.98	-5.75	-5.49	-5.22
	SW-620	28.24	-5.79	-5.50	-5.21

Продовження Таблиці 1

Рак головного мозку	SF-268	11.66	-5.75	-5.46	-5.17
	SF-295	13.41	-5.78	-5.51	-5.24
	SF-539	-26.88	-5.80	-5.53	-5.27
	SNB-19	35.20	-5.86	-5.56	-5.26
	SNB-75	28.35	-5.85	-5.39	-4.81
	U251	-45.57	-5.83	-5.55	-5.26
Меланома	DOX IMVI	-90.06	-5.74	-5.46	-5.18
	MALME-3M		-5.83	-5.53	-5.24
	M14	-37.64	-5.77	-5.49	-5.22
	MDA-MB-435	19.52	-5.81	-5.53	-5.24
	SK-MEL-2	48.64	-5.70	-5.45	-5.20
	SK-MEL-28	31.81	-5.81	-5.54	-5.27
	SK-MEL-5	-86.39	-5.83	-5.55	-5.28
	UACC-257	-12.90	-5.78	-5.50	-5.22
	UACC-62	27.92	-5.80	-5.53	-5.25
Рак яєчників	IGROV1	33.02	-5.74	-5.41	-5.07
	OVCAR-3	37.47	-5.77	-5.51	-5.25
	OVCAR-4	27.55	-5.82	-5.44	-5.05
	OVCAR-5	23.52	-5.71	-5.33	-4.89
	OVCAR-8	6.89	-5.80	-5.52	-5.23
	NCI/ADR-RES	32.38	-5.72	-5.36	-4.95
	SK-OV-3	36.42	-5.70	-5.39	-5.09
Рак нирок	786-0	8.76	-5.78	-5.51	-5.23
	A498	13.87	-6.26	-5.68	
	ACHN	13.62	-5.77	-5.48	-5.18
	CAKI-1	33.15	-5.79	-5.48	-5.17
	RXF393	9.39	-5.88	-5.56	-5.24
	SN12C	24.18	-5.90	-5.57	-5.23
	TK-10	29.40	-5.76	-5.48	-5.20
	UO-31	29.02	-5.86	-5.39	-4.78
Рак простати	PC-3	12.89	-5.86	-5.56	-5.27
	DU-145	34.57	-5.76	-5.51	-5.25
Рак молочної залози	MC1-7	4.83	-5.86	-5.57	-5.27
	MDA-MB-231/ATCC	10.34	-5.82	-5.53	-5.23
	HS 578T	33.54	-5.69	-5.32	>-4.00
	BT-549	25.56	-5.72	-5.47	-5.22
	T47D	-3.52	-5.68	-5.27	-4.44
	MDA-MB-468	-22.84	-5.91	-5.58	-5.26

Встановлено, що гідробромід 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону при поглибленому скринінгу in vitro на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10⁻⁴-10⁻⁸ моль/л має ефективний рівень інгібування на всіх ліній ракових клітин. Так для ліній раку лейкої показник Log₁₀ GI₅₀ знаходиться в межах від -5,84 до -5,71, для клітин дрібноклітинного раку легенів в межах від -5,80 до -5,62, для клітин раку товстого кишечника в межах -5,83 - -5,75, для клітин раку головного мозку в інтервалі від -5,86 до -5,74, для клітин меланоми в інтервалі від -5,83 до -5,74, для клітин раку нирок від -6,26 до -5,76.

Відносно клітин раку молочної залози показник знаходиться в межах від -5,91 до -5,72.

Повне пригнічення росту всіх досліджених ракових клітин Log₁₀ TGI під дією заявленої сполуки знаходиться в інтервалі -5.68 - -5.23.

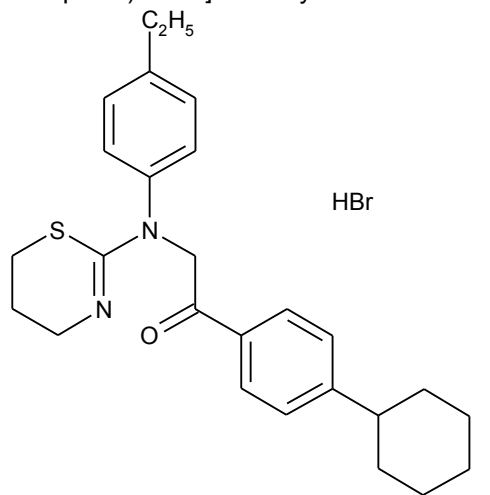
Таким чином, заявлений гідробромід 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4-Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону проявляє доведену протипухлинну активність по відношенню до широкого спектра ракових клітин та може стати основою для створення нових ефективних протипухлинних засобів.

Джерела інформації:

1. Протипухлинні (протибластомні) лікарські засоби. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://pidruchniki.com/68392/meditsina/protipuhlinni_protiblastomni_likarski_zasobi - Назва з екрану.
2. Статистика онкологічних захворювань в Україні. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://diapharma.ua/articles/statistika-onkologichnih-zahvoryuvan-v-ukrayini> - Назва з екрану.
- 5 3. 5-Фторурацил. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://m.wikipedia.org/wiki/5%D0%A4%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%83%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB> - Назва з екрану.
4. Raymond Caujolle, Hamid Amarouch, Marc Payard, Philippe R Loiseau, Christian Bories, Philippe M Loiseau, Philippe Gayral. Aminothiazine and aminothiazole open analogs of levamisole: synthesis and anthelmintic activity //European Journal of Medicinal Chemistry; vol. 24; (1989); p. 287-292.
- 10 5. Khuloud Takrouiri, Ting Chen, Evangelos Papadopoulos, Rupam Sahoo, Eihab Kabha, Han Chen, Sonia Cantel, Gerhard Wagner, Jose A. Halperin, Bertal H. Aktas, Michael Chorev. Structure-activity relationship study of 4EGI-1, small molecule eIF4E/eIF4G protein-protein interaction inhibitors. European Journal of Medicinal Chemistry; vol. 77; (2014); p. 361-377.
- 15 6. Beverly A. Teicher, Paul A. Andrews. Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical. - Medical. -2004. - V. 1. -450 p.
7. 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 et al. //Cancer Res.-1988. - Vol. 48. - P. 589-601.
- 20 8. Carter P.H. Photochemically enhanced binding of small molecules to the tumor necrosis factor receptor-1 inhibits the binding of TNF- α /P. H.Carter, P.A.Scherle, J.A. Muckelbauer et al. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2001. - Vol. 98. - P. 11879-11886.
9. Grever M.R. The National Cancer Institute: cancer drug discovery and development program /M.R. Grever, S.A. Schepartz, B.A. Chabner //Seminars in Oncol. - 1992. - Vol. 19, № 6. - P. 622-638.
- 25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 30 Гідробромід 1-(4¹-циклогексилфеніл)-2-[5,6-дигідро-4Н-[1,3]тіазин-2-іл)-(4²-етилфеніл)аміно]етанону:



що має протипухлинні властивості.

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