



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120051** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

C07D 251/54 (2006.01)

C07D 295/00

A61K 31/53 (2006.01)

A61K 31/5375 (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2016 11884**

(22) Дата подання заявки: **24.11.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **25.09.2019**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **25.05.2018, Бюл.№ 10**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.09.2019, Бюл.№ 18**

(72) Винахідник(и):

**Демченко Анатолій Михайлович (UA),
Суховєєв Володимир Володимирович
(UA),**

**Барчина Олена Ігорівна (UA),
Бобкова Людмила Станіславівна (UA)**

(73) Власник(и):

**НІЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ МИКОЛИ ГОГОЛЯ,
вул. Графська, 2, м. Ніжин, 16602 (UA)**

(74) Представник:

Москаленко Олег Вадимович

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

US 6335339 B1, 01.01.2002, 114 арк.

US 5536722 A, 16.07.1996, 11 арк.

Jagadeesh Kumar, G., Sriramkumar Bomma,
HVS, Srihari, E. et al. Med Chem Res (2013)
22: 5973-5981

Mingfang Zheng et al., Synthesis and
antitumor evaluation of a novel series of
triaminotriazine derivatives, Bioorganic &
Medicinal Chemistry, Volume 15, Issue 4,
2007, Pages 1815-1827

Pascal Dao et al., Synthesis of novel
diaryl-amino-1,3,5-triazine derivatives as FAK
inhibitors with anti-angiogenic activity,
Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,
Volume 23, Issue 16, 2013, Pages 4552-4556

MATSUNO Toshiyuki et al., Synthesis and
Antitumor Activity of Benzimidazolyl-1,3,5-
triazine and Benzimidazolylpyrimidine
Derivatives, Chemical & Pharmaceutical
bulletin, 48, 1778-1781

(54) ЗАСТОСУВАННЯ N-(3,4-ДИМЕТИЛФЕНІЛ)-6-МОРФОЛІН-4-ІЛ-N¹-(3¹-ТРИФЛУОРОМЕТИЛФЕНІЛ)-[1,3,5]ТРИАЗИН-2,4-ДІАМІНУ ЯК ПРОТИПУХЛИННОГО ЗАСОБУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ПІДТИПУ MDA-MB-468

(57) Реферат:

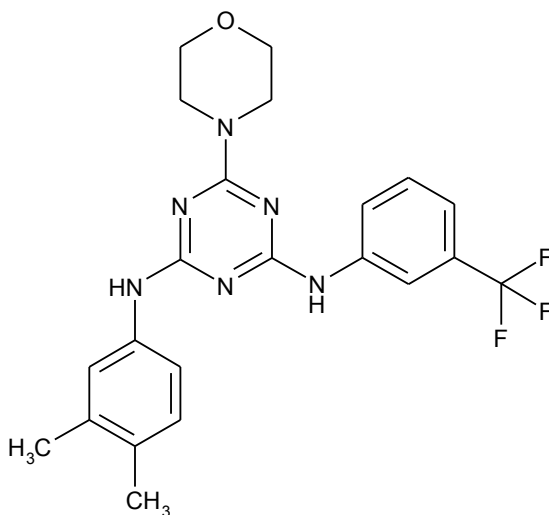
N-(3,4-Диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3¹-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діамін, що має протипухлинні властивості.

UA 120051 C2

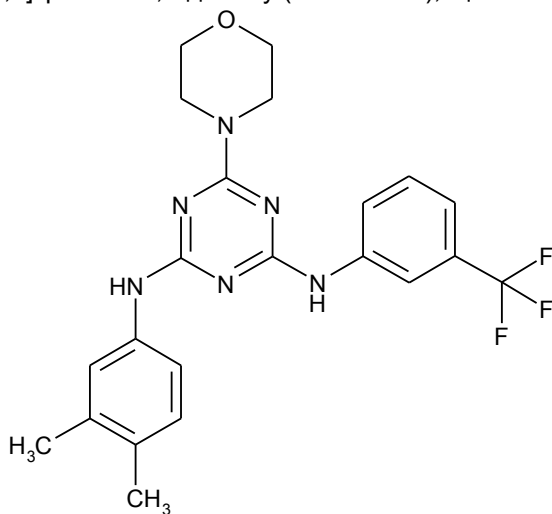
Патент на винахід належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини. Заявлена сполука може бути використана при лікуванні лейкемії, меланоми, дрібноклітинного раку легенів, нирок, раку товстого кишечника та пухлини молочної залози.

Визначення протипухлинної активності N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N'-(3'-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну проведено *in vitro* на 60 лініях ракових клітин при дії речовини в концентрації 10^{-5} моль/л за стандартною процедурою оцінки мітотичної активності, виконаних у Національному інституті раку США (National Cancer Institute of Health, USA) в рамках Development Therapeutic Program.

Показано, що зазначена сполука проявила відносно лейкемії, меланоми, дрібноклітинного раку легенів, нирок, раку товстого кишечника та пухлини молочної залози більш високу протипухлинну активність, ніж препарат порівняння - 5-флуороурацил. Так, щодо клітин лейкемії HL-60(TB), K-562 та SR затримка росту пухлин вище стандарту на 57.13 %, 92.87 % та 90.26 % відповідно; меланоми - затримка росту клітин LOX IMVI та UACC-257 вище стандарту на 59.36 % і 72.25 %; дрібноклітинного раку легенів - пригнічення росту клітин NCI-H460 вище стандарту на 64.70 %; раку нирок - затримка росту клітин 786-0, ACHN, RXF 393 та A498 вище стандарту на 57.20 %, 47.29 %, 78.19 %, та 83.09 % відповідно; товстого кишечника - пригнічення росту і поділу більшості ракових клітин вище на 41.19-82.55 %. Для клітин товстого кишечника HCT-15, меланоми M-14 та раку молочної залози MDA-MB-468 значення складають - 13.22 %, - 32.36 % та - 34.43 % відповідно. Від'ємні значення свідчать не лише про пригнічення росту і поділу клітин, а й про їх знищення.



Винахід належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активного N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N'-(3'-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914), що має формулу:



5 Зазначена сполука проявляє протипухлинну активність і може бути використана при лікуванні лейкемії, меланоми, дрібноклітинного раку легенів, нирок, раку товстого кишечника та пухлини молочної залози.

 Захворювання на рак об'єднує більше, ніж 100 хвороб, які можуть вражати будь-яку частину організму. Рак - це утворення злоякісної пухлини, що розвивається з епітеліальних клітин. Приблизно 90 % випадків захворювання дорослих людей на злоякісні пухлини є саме рак. Прикладом інших злоякісних пухлин є саркома, яка розвивається з клітин сполучної тканини. За даними ВООЗ, основними формами раку, що призводять до смерті, є: рак легенів, від якого помирає приблизно 1,3 мільйона населення планети щорічно; рак шлунку - понад 1 мільйон; рак печінки - 662 тисячі; рак товстого кишечника - 655 тисяч; рак молочної залози - 502 тисячі [1].

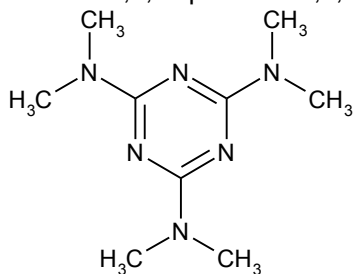
15 Тому розробка нових протипухлинних засобів є нагальною проблемою сучасної фармацевтичної хімії.

 На сьогодні нараховується понад 50 протипухлинних препаратів, що використовуються при лікуванні цього недугу, а потенціальних протипухлинних засобів досліджено понад 500 тисяч сполук [2]. Протипухлинні препарати відрізняються один від іншого механізмом дії на хворі клітини та застосуванням у схемах лікування. При цьому виражений клінічний ефект складає лише від 20 до 80 %.

 Широке застосування серед протипухлинних препаратів набули такі алкілувальні та антиметаболічні засоби, як циклофосфан, тіофосфамід, міелосан, меркаптопурин, метатрексат, флуороурацил тощо.

25 Еталоном для порівняння протипухлинної активності заявленої сполуки використано препарат з групи антагоністів піримідинів флуороурацил (5-флуороурацил), який порушує обмін пуринів. Він гальмує синтез ДНК та частково - РНК. Флуороурацил пригнічує ріст і розвиток пухлин, а також гемопоез. Побічними ефектами є пригнічення кровотворення (анемія, лейкопенія, тромбоцитопенія), анорексія, діарея, виразковий стоматит, дерматит, ішемія міокарду, тромбоз, алопеція тощо [3].

30 Аналогом за структурою є алкілюючий антинеопластичний препарат триазинової групи - Альтретамін [4]. Альтретамін - похідне s-триазину, діючою речовиною якого є N, N,N',N'',N'''-гексаметил-1,3,5-триазин-2,4,6-триамін:



35 Він належить до фармакотерапевтичної групи протипухлинних, імунодепресивних і супутніх (цитостатичних) засобів. Альтретамін застосовується при лікуванні раку яєчників. Протипухлинна

дія цього лікарського засобу визначається активністю його метаболітів, які утворюють ковалентні зв'язки з РНК і ДНК, та перешкоджає включенню в ДНК тимідину, порушуючи життєдіяльність і блокуючи мітоз пухлинних клітин, сповільнює їх ріст і розвиток. Препарат швидко і достатньо повно всмоктується з ШКТ, легко проходить гістогематичні бар'єри, проникає в органи і тканини з високим вмістом ліпідів (головний мозок, підшкірна жирова клітковина, сальник) та інтенсивно деметилується в печінці до пента- і тетраметилмеламіну. Виводиться він нирками протягом 24 годин у вигляді метаболітів [4].

При застосуванні Алтретаміну можуть розвиватися судомні напади, периферична невропатія, порушення настрою, сплутаність свідомості, порушення координації рухів, судомні напади, атаксія, запаморочення, лейкопенія, тромбоцитопенія, анемія, кровоточивість, кровотечі, нудота, стоматит, виразки в порожнині рота і на губах, біль у животі, діарея, порушення функції печінки (токсичний гепатит), порушення функції нирок, хворобливе і утруднене сечовипускання, аменорея, азооспермія, грипоподібний синдром, лихоманка, розвиток інфекцій, алопеція, алергічні реакції тощо. При тривалому застосуванні можливий розвиток вторинних злоякісних пухлин [5].

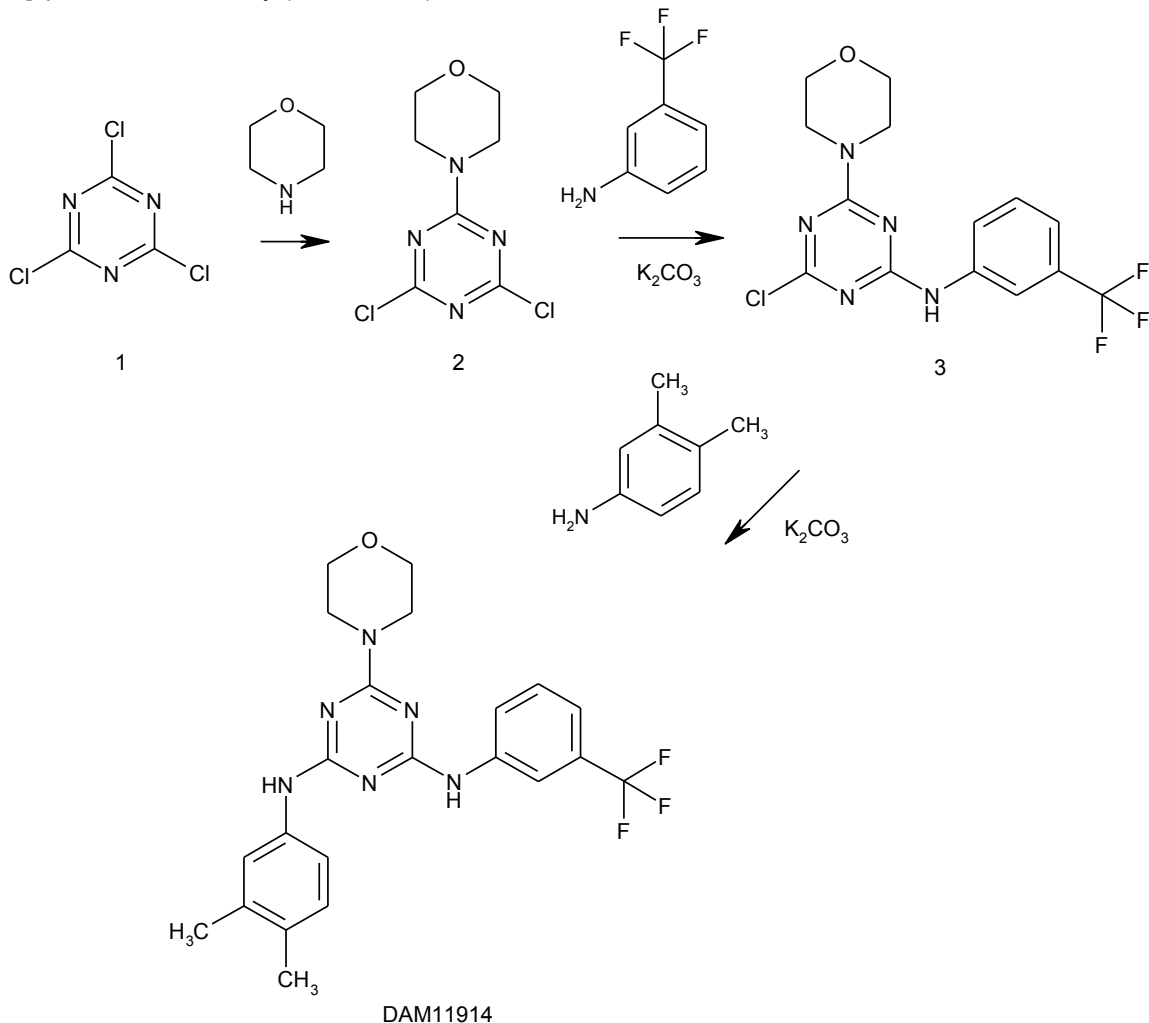
Підвищення ефективності хіміотерапії пухлинної хвороби в першу чергу пов'язано зі створенням нових, ефективних поліфункціональних протипухлинних препаратів.

В основу патенту на винахід 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 - N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3'-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914).

Заявлену сполуку DAM11914 одержують з високим виходом при використанні відомих синтетичних підходів у декілька стадій (схема 1).

Схема 1. Синтез N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3'-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914).



Приклади конкретного виконання

Приклад 1

2,4-Дихлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин (2) одержано взаємодією ціанурхлориду (1) з морфоліном у ацетоні при 5 °С за методикою [6].

5 Приклад 2

N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3¹-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діамін (DAM11914) одержано за наступною методикою. До розчину 4.7 г (0.02 моль) 2,4-дихлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазину (2) в 50 мл диметилформаміду при перемішуванні додали послідовно 2.76 г (0.02 моль) поташу та 3.22 г (0.02 моль) мета-трифлуорометиланіліну. Реакційну суміш перемішували за температури 20 °С дві години та вилили у 250 мл крижаної води. Осад відфільтровували, промили водою, висушили. Отримали 6.11 г 4-хлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2-іл-(3¹-трифлуорометилфеніл)-амін (3), який без додаткової очистки та ідентифікації розчинили в 50 мл тетрагідрофурану. До одержаного розчину при перемішуванні додали 2.06 г (0.017 моль) 3,4-диметиланіліну та 2.36 г (0.017 мол) поташу. Реакційну суміш перемішували 4 години за температури 40 °С, охолоджували та виливали в 200 мл води. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід становить 6.58 г (73 %). T_{пл.}=175-176 °С. Знайдено, %: N=19.2 C₂₂H₂₃F₃N₆O. Вираховано, %: N=18.9. Спектр ПМР (DMSO-d₆, TMC): 2.15 (с, 3H, CH₃), 2.26 (с, 3H, CH₃), 3.68 (м, 4H, CH₂CH₂), 3.77 (м, 4H, CH₂CH₂), 7.11-8.19 (м, 7H, ароматичні протони), 9.12 (уш.с, 1H, NH), 9.45 (уш.с, 1H, NH).

20 Приклад 3

Для визначення протипухлинної активності N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3¹-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914) дослідження проведено *in vitro* на 60 лініях ракових клітин (лейкемії, раку легень, товстого кишечника, ЦНС, меланоми, раку яєчників, нирок, простати та молочної залози) при дії речовини в концентрації 10⁻⁵ моль/л за стандартною процедурою [7] оцінки мітотичної активності нових потенційних біологічно активних сполук методом флуоресцентного зафарбування (барвник - сульфородамін Б). Дослідження виконано 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 значення показують на скільки досліджувані сполуки є більш ефективними у пригніченні росту ракових клітин порівняно з контролем.

Визначення проводили високочутливим флюорометричним методом, кількісно оцінюючи інтенсивність кольору флуоресцентного випромінювання (барвник - сульфородамін Б) через 48 год. опромінення клітини зі сполукою, що тестується.

35 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.

40 В умовах експерименту заявлена сполука DAM11914 у концентрації 10⁻⁵ моль/л виявила здатність пригнічувати ріст клітин раку, що охоплює практично весь спектр онкологічних захворювань людини (табл.).

Таблиця

Протипухлинна активність N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3¹-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914) *in vitro* на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10⁻⁵ моль/л.

Лінії ракових клітин		DAM11914
Лейкемія	CCRF-CEM	53.25
	HL-60(TB)	42.83
	K-562	7.13
	MOLT-4	53.15
	RPMI-8226	60.61
	SR	9.74

Противухлинна активність N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-
(3¹-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM11914) *in vitro*
на лініях клітин раку при дії речовин в концентрації 10⁻⁵ моль/л.

Лінії ракових клітин	DAM11914	
Меланома	LOX IMVI	40.64
	M14	-32.36
	MDA-MB-435	91.81
	SK-MEL-2	95.38
	SK-MEL-28	83.10
	SK-MEL-5	71.74
	UACC-257	27.75
	UACC-62	107.11
Дрібноклітинний рак легенів	A549/ATCC	73.94
	HOP-62	102.49
	HOP-92	66.54
	NCI-H226	101.23
	NCI-H23	100.09
	NCI-H322M	93.00
	NCI-H460	35.30
	NCI-H522	72.91
Рак простати	PC-3	57.83
	DU-145	69.97
Рак нирок	786-0	42.80
	A498	16.91
	ACHN	52.71
	CAKI-1	62.68
	RXF393	21.81
	SN12C	71.96
	TK-10	88.37
	UO-31	58.06
Рак товстого кишечника	COLO 205	40.63
	HCC-2998	47.28
	HCT-116	45.42
	HCT-15	-13.22
	HT29	17.45
	KM12	58.81
	SW-620	5.31
Рак яєчників	IGROV1	92.83
	OVCAR-3	106.41
	OVCAR-4	88.97
	OVCAR-5	74.95
	OVCAR-8	94.64
	NCI/ADR-RES	81.68
	SK-OV-3	95.70
Рак кори головного мозку	SF-268	101.40
	SF-539	75.29
	SNB-75	96.81
	U251	46.31
Рак молочної залози	MCF7	80.81
	MDA-MB-231/ATCC	66.61
	HS 578T	89.16
	BT-549	90.53
	T-47D	77.78
	MDA-MB-468	-34.43

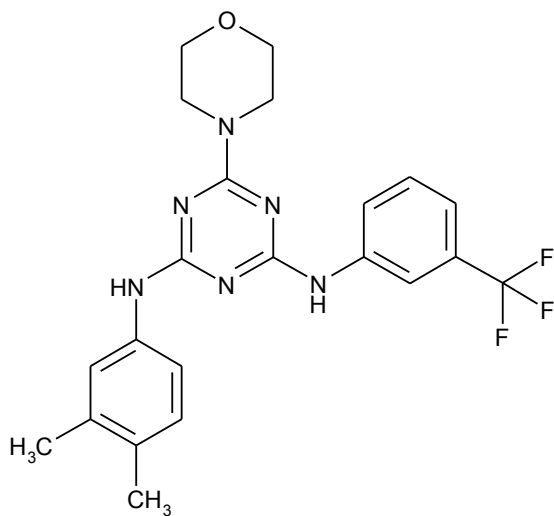
- Відповідно до наведеної таблиці, сполука DAM11914 проявила відносно лейкемії, меланоми, дрібноклітинного раку легенів, нирок, раку товстого кишечника та пухлини молочної залози більш високу протипухлинну активність, ніж препарат порівняння - 5-флуороурацил. Так, щодо клітин лейкемії HL-60(TB), K-562 та SR затримка росту пухлин вище стандарту на 57.13 %, 92.87 % та 90.26 % відповідно; меланоми - затримка росту клітин LOX IMVI та UACC-257 вище стандарту на 59.36 % і 72.25 %; дрібноклітинного раку легенів - пригнічення росту клітин NCI-H460 вище стандарту на 64.70 %; раку нирок - затримка росту клітин 786-0, ACHN, RXF 393 та A498 вище стандарту на 57.20 %, 47.29 %, 78.19 %, та 83.09 % відповідно; товстого кишечника - пригнічення росту і поділу більшості ракових клітин вище на 41.19-82.55 %. Для клітин товстого кишечника HCT-ракових клітин вище на 41.19-82.55 %. Для клітин товстого кишечника HCT-15, меланоми M-14 та раку молочної залози MDA-MB-468 значення складають -13.22 %, -32.36 % та -34.43 % відповідно. Від'ємні значення свідчать не лише про пригнічення росту і поділу клітин, а й про їх знищення. Таким чином, запропонована нова біологічно активна сполука, яка може бути потенційним протипухлинним засобом.
- Джерела інформації:
1. Рак. Раковые опухоли. Режим доступу: <http://euromedicine.ru/oncology/cancer/>
 2. Протипухлинні засоби. Режим доступу: <http://dmupharm.pp.ua/index.php/temi/20-khimioterapevtichni-zasobi-riznilch-grup/228-protipukhlinni-zasobi>
 3. 5-Фторурацил. 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>
 4. Режим доступу: Алтретамин. <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BB%D1%82%D1%80%D0%B5%D1%82%D0%B0%D0%BC%D0%B8%D0%BD>
 5. Алтретамин (Altretamine): инструкция, применение и формула. Режим доступу: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_601.htm
 6. Treatment of prostate cancer, melanoma or hepatic cancer. ZENYAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA Patent: US2007/244110 A1, 2007.
 7. Beverly A. Teicher. Paul A. Andrews. Anticancer drug development guide: preclinical screening, clinical. - Medical. - 2004. - V. 1. - 450 p.

35

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування N-(3,4-диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-N¹-(3¹-трифлуорометилфеніл)-
[1,3,5]триазин-2,4-діаміну:

5



як протипухлинного засобу при раку молочної залози підтипу MDA-MB-468.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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