



(51) МПК
C07D 257/08 (2006.01)
A61K 31/395 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 31/495 (2022.02); *A61K 41/0057* (2022.02); *A61P 35/00* (2022.02); *C07D 257/08* (2022.02)

(21)(22) Заявка: 2021116143, 04.06.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.06.2021

Дата регистрации:
28.04.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.06.2021

(45) Опубликовано: 28.04.2022 Бюл. № 13

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 30, ФГАОУ ВО
Национальный исследовательский Томский
политехнический университет

(72) Автор(ы):

Петунин Павел Васильевич (RU),
 Плотников Евгений Владимирович (RU),
 Воткина Дарья Евгеньевна (RU),
 Постников Павел Сергеевич (RU),
 Трусова Марина Евгеньевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

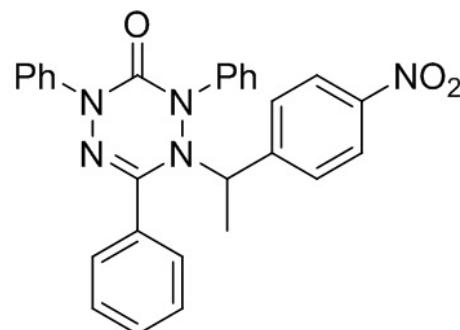
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования «Национальный
исследовательский Томский
политехнический университет» (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2411943 C2, 20.02.2011. RU
2071320 C1, 10.01.1997. RU 2646477 C1,
05.03.2018. EP 1472259 B1, 02.09.2009. WO
2001066550 A2, 13.09.2001.

(54) СЕНСИБИЛИЗАТОР ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО РАЗРУШЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической химии и онкологии, а именно к соединению для фотодинамического разрушения злокачественных опухолевых клеток. Предложен сенсибилизатор для фотодинамического разрушения опухолевых клеток, который представляет собой 1-(1-(4-нитрофенил)этил)-2,4,6-трифенил-1,4-дигидро-1,2,4,5-тетразин-3(2H)-он со структурной формулой:



Технический результат заключается в расширении арсенала средств для фотодинамического разрушения злокачественных опухолевых клеток. 1 ил.



(51) Int. Cl.
C07D 257/08 (2006.01)
A61K 31/395 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A61K 31/495 (2022.02); *A61K 41/0057* (2022.02); *A61P 35/00* (2022.02); *C07D 257/08* (2022.02)

(21)(22) Application: 2021116143, 04.06.2021

(24) Effective date for property rights:
 04.06.2021

Registration date:
 28.04.2022

Priority:

(22) Date of filing: 04.06.2021

(45) Date of publication: 28.04.2022 Bull. № 13

Mail address:

634050, g. Tomsk, pr. Lenina, 30, FGAOU VO
 Natsionalnyj issledovatelskij Tomskij
 politekhnicheskij universitet

(72) Inventor(s):

Petunin Pavel Vasilevich (RU),
 Plotnikov Evgenii Vladimirovich (RU),
 Votkina Daria Evgenevna (RU),
 Postnikov Pavel Sergeevich (RU),
 Trusova Marina Evgenevna (RU)

(73) Proprietor(s):

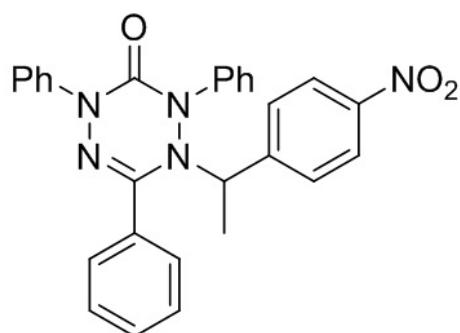
federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
 obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
 obrazovaniia «Natsionalnyi issledovatelskii
 Tomskii politekhnicheskii universitet» (RU)

(54) SENSITIZER FOR PHOTODYNAMIC DESTRUCTION OF TUMOR CELLS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical chemistry and oncology, namely to a compound for photodynamic destruction of malignant tumor cells. A sensitizer for photodynamic destruction of tumor cells is proposed, which is 1-(1-(4-nitrophenyl)ethyl)-2,4,6-triphenyl-1,4-dihydro-1,2,4,5-tetrazine-3(2H)-oh with the structural formula:



EFFECT: expanding the arsenal of means for photodynamic destruction of malignant tumor cells.

1 cl, 1 dwg

RU 2771237 C1

RU 2771237 C1

Изобретение относится к фармацевтической химии и онкологии, а именно к соединениям для фотодинамического разрушения злокачественных клеток.

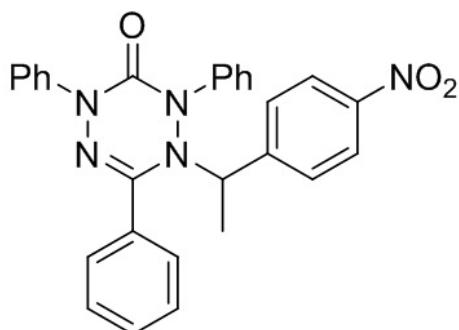
Известен сенсибилизатор для фотодинамического разрушения клеток злокачественных новообразований [RU 2071320 С1, МПК (1995.01) A61K31/40, C09B47/00(1995.01), опубл. 10.01.1997], который представляет собой сульфированный тетрафенилтетрабензопорфин общей формулы $C_{60}H_{38}N_4O_{12}S_4$, оказывающий терапевтический эффект при облучении криптоновым лазером с длиной волны 675 нм в течение 15 минут.

Известен фотосенсибилизатор [RU 2411943 С2, МПК (2006.01) A61K31/409, A61K9/10, A61N5/067, A61P35/00, C07D487/22, B82B1/00, опубл. 20.10.2010], представляющий собой наноструктурированную водную дисперсию на основе производного бактериохлорина р, который представляет собой метиловый эфир О-этилоксима N-этоксициклоимида бактериохлорина р $C_{38}H_{46}N_6O_6$. Наноструктурированная водная дисперсия представляет собой липосомальную дисперсию на основе лецитина и холестерина, а метиловый эфир О-этилоксима N-этоксициклоимида бактериохлорина р включен в липидный бислой липосом. Терапевтический эффект реализуется при облучении патологического участка оптическим излучением в спектральном диапазоне 790-810 нм.

Известен фотосенсибилизатор для лечения онкологических заболеваний, который содержит соль хлорин еб, N-метил-D-глюкамином (меглумин) и L-лизин в мольных соотношениях 1:2:1 [RU 2646477 С1, МПК (2006.01) A61K31/40, A61K41/00, A61P35/00, A61P31/04, опубл. 05.03.2018], проявляющий активность под воздействием лазера с длиной волны 662 нм.

Техническим результатом изобретения является расширение арсенала средств для фотодинамического разрушения опухолевых клеток.

В качестве сенсибилизатора для фотодинамического разрушения опухолевых клеток предлагается 1-(1-(4-нитрофенил)этил)-2,4,6-трифенил-1,4-дигидро-1,2,4,5-тетразин-3(2Н)-он со структурной формулой:



На фиг. 1 показана жизнеспособность опухолевых клеток после фотодинамического воздействия в присутствии фотосенсибилизатора.

Для получения предложенного сенсибилизатора в двугорлую круглодонную колбу объемом 100 мл внесли 76 мг обескислороженной суспензии порошка меди и 86 мг бромида меди (I) в 30 мл бензола, а затем добавили 125 мкл N,N,N',N'',N''-пентаметилдиэтилентриамина. К полученной смеси добавили обескислороженный раствор, полученный растворением 327 мг 1,3,5-трифенилвердазильного радикала и 276 мг 1-(1-бromoэтил)-4-нитробензола в 20 мл бензола.

Полученную реакционную массу кипятили 8 часов с обратным холодильником Димрота в атмосфере аргона, который подавали из линии Шленка. После охлаждения на воздухе до комнатной температуры полученную реакционную массу пропустили

через 3 см слоя силикагеля, а затем силикагель дополнительно промыли 15 мл бензола для полного переноса продукта в маточник. Полученный маточный раствор упарив вакууме в круглодонной колбе с помощью ротационного испарителя до 3-4 мл итогового раствора. После этого в колбу с концентрированным раствором добавили 50 мл гексана 5 для осаждения продукта. Выпавший продукт отфильтровали на фильтре Шотта, присоединенного к колбе Бунзена под абсолютным давлением 800 мбар, промыли гексаном 100 мл и сушили на воздухе в темноте.

В результате получили продукт массой 382 мг (что составило 80% от теоретического выхода), который представляет собой кристаллическое вещество бледно-желтого цвета 10 с формулой $C_{28}H_{23}N_5O_3$.

Оценку фотосенсибилизирующих свойств заявляемого соединения проводили по уровню жизнеспособности опухолевой клеточной культуры при световом воздействии с длиной волны 395-410 нм.

В качестве тестовой клеточной линии использовали опухолевую культуру клеток 15 MCF-7 (адгезивная линия рака молочной железы человека). Клетки засевали в 96-луночный планшет в концентрации 5000 клеток в лунке в полной питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и смеси антибиотиков (пенициллин 50 ед/мл и стрептомицин 50 мкг/мл). Далее клетки инкубировали в течение 24 часов при 37°C в среде 5% углекислого газа. После адгезии клеток и 20 микроскопического подтверждения жизнеспособности культуры, клетки использовали для оценки фотосенсибилизирующих свойств. Для этого готовили серию из 6 полных питательных сред DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, смеси антибиотиков (пенициллин 50 ед/мл и стрептомицин 50 мкг/мл) и предложенного сенсибилизатора. Концентрация сенсибилизатора в среде была 50, 25, 12, 6, 3 и 1,5 мкг/ 25 мл.

Питательную среду в лунках заменили на приготовленные среды, содержащие сенсибилизатор в соответствующих концентрациях. В качестве контрольной группы использовали лунки с опухолевыми клетками, в которых среду меняли на среду, не содержащую сенсибилизатор. После этого планшет подвергали световому воздействию 30 в течение 20 минут. Источник излучения: светодиодная матрица, состоящая из 5 столбцов по 7 светодиодов в столбце с расстояниями между диодами 18 мм в рядах и столбцах, сила света каждого диода 1 Кд, диапазон излучения 395-410 нм. Расстояние от светодиода до лунки с опухолевыми клетками – 2 см. После облучения планшеты помещали в CO_2 инкубатор при 37°C в среде 5% углекислого газа на 48 часов. Далее 35 проводили оценку жизнеспособности опухолевых клеток с помощью МТТ-теста.

Для МТТ-теста из каждой лунки удаляли питательную среду и вносили 100 мкл раствора МТТ-реагента (бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) в питательной среде, затем планшеты помещали в CO_2 инкубатор при 37°C на 4 часа. 40 После этого из планшетов снова удаляли среду, и в каждую лунку для растворения образовавшихся кристаллов формазана было добавлено по 100 мкл диметилсульфоксида. После этого проводили оценку оптической плотности образцов с помощью микропланшетного ридера (MULTISCAN FC) при длине волны 570 нм.

Жизнеспособность клеток рассчитывали по формуле:
45 жизнеспособность, % = $((OP_{обр} - OP_{пуст}) / (OP_{контр} - OP_{пуст})) \cdot 100$,
где $OP_{обр}$ – средняя оптическая плотность образцов с внесенным сенсибилизатором;
 $OP_{пуст}$ – средняя оптическая плотность среды без опухолевых клеток;
 $OP_{контр}$ – средняя оптическая плотность опухолевых клеток, не подвергавшихся

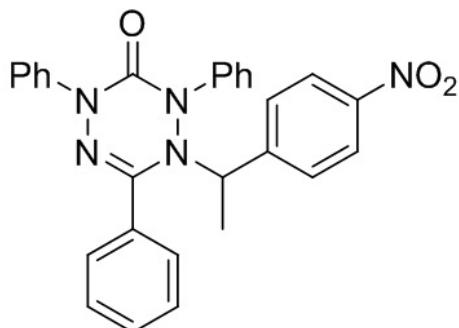
воздействию сенсибилизатора.

Результаты определения уровня жизнеспособности культуры клеток MCF-7 после фотодинамического воздействия с использованием предложенного сенсибилизатора и контрольной группы представлены на фиг. 1.

5 Наблюдается дозозависимое снижение жизнеспособности опухолевых клеток при воздействии облучения в присутствии сенсибилизатора. Процент жизнеспособных клеток после фотодинамического воздействия с сенсибилизатором концентрациях 50-1,5 мкг/мл статистически значимо ниже уровня контроля ($p<0,001$).

10 (57) Формула изобретения

Сенсибилизатор для фотодинамического разрушения опухолевых клеток, отличающийся тем, что он представляет собой 1-(1-(4-нитрофенил)этил)-2,4,6-трифенил-1,4-дигидро-1,2,4,5-тетразин-3(2Н)-он со структурной формулой:



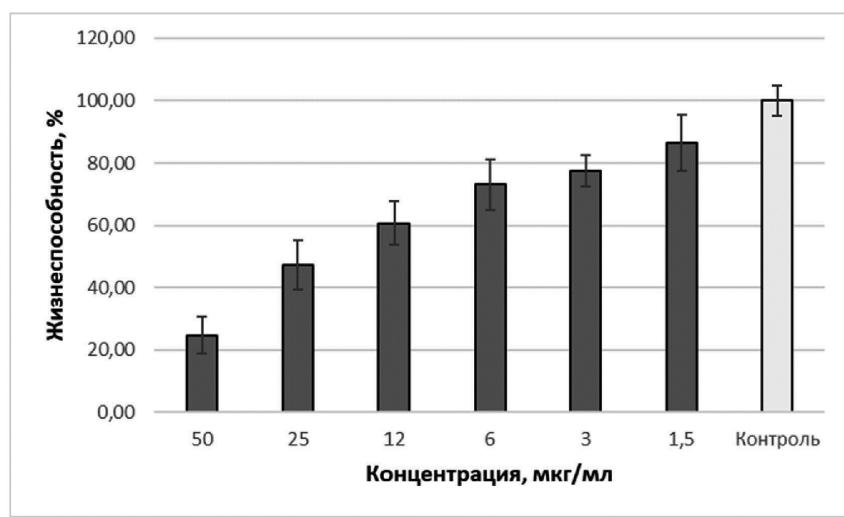
25

30

35

40

45



Фиг. 1