



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 81501

(13) C2

(51) МПК (2006)

C07C 233/58 (2007.01)

C07C 233/57 (2007.01)

A61P 29/00

A61K 31/16

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) ЕНДО-3-(1-МОРФОЛІЛКАРБОНІЛ)БІЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТ-5-ЕН-ЕНДО-2-КАРБОНОВА КИСЛОТА, ЯКА ВІДНОСИТЬСЯ ДО АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ**

1

2

(21) а200512599

(22) 26.12.2005

(24) 10.01.2008

(72) ЗЛЕНКО ОЛЕНА ТИМОФІЇВНА, UA, КАС'ЯН ЛІЛІЯ ІВАНІВНА, UA, МАМЧУР ВІТАЛІЙ ЙОСИПОВИЧ, UA, МАКАРЕНКО ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА, UA, ТАРАБАРА ІГОР МИКОЛАЙОВИЧ, UA, ПАЛЬЧИКОВ ВІТАЛІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA

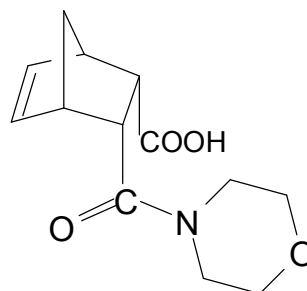
(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, UA, ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, UA

(56) Albers T. et al. Desymmetrisation of meso-Anhydrides Utilising (S)-Proline Derivatives // Synthesis, 3, 1996, p. 393-398
Koch H. Monatshefte fur Chemie, 102, 1971, p. 609-621

РЖХим., 16 (I), 1970, 16Ж316

(57)

ендо-3-(1-

Морфолілкарбоніл)біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонова кислота формули $C_{13}H_{17}NO_4$:

яка виявляє анальгетичну та протизапальну дію.

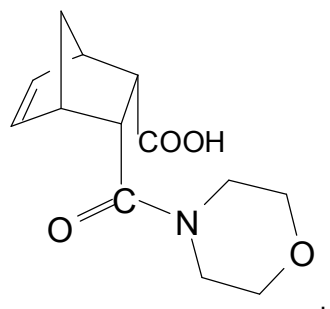
Винахід відноситься до нової хімічної сполуки - ендо-3-(1-морфолілкарбоніл)біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонівної кислоти, яка володіє анальгетичною та протизапальною дією, що передбачає можливість застосування її в медичній практиці як лікарського препарату.

Пошук нових ефективних засобів корекції больового синдрому зберігають своє домінуюче значення у фармакології і медицині як дійсний засіб подолання стресу і підтримки гомеостазу в екстремальних ситуаціях [1]. Арсенал анальгетичних препаратів постійно поповнюється новими речовинами, однак наявність негативних властивостей і побічної дії вимагає розширення обсягу цієї групи лікарських засобів [2].

Задачею винаходу є розробка нової біологічно активної речовини з вираженою болезаспокійливою дією.

Ця задача вирішується синтезом не описаної в літературі оригінальної сполуки, що належить до групи амідокислот ряду норборнена-ендо-3-(1-

морфолілкарбоніл)біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонівної кислоти ($C_{13}H_{17}NO_4$, робоча назва «Ендоморфолен») (I), умовно позначеної шифром С-58.



Амідокислоти ряду норборнена отримують амінолізом промислово доступного ангідриду біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонівної кислоти (ендикового ангідриду, II) [3]. Для деяких амідокислот цього ряду визначено галузі застосування як агентів з седативними

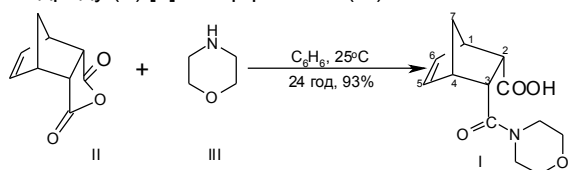
(13) C2

(11) 81501

(19) UA

властивостями [4], складових частин репелентних сумішей [5], антидотів у складі гербіциду для захисту хлопчатника [6]. Натрієві солі N-арилзаміщених амідокислот сприяють проростанню насіння [7]. В якості дезинфікуючих засобів, інсектицидів і лікарських речовин використовують амідокислоти ароматичного ряду з сульфонамідними залишками, зокрема аддукт ендикового ангідриду з сульфатіазолом [8]. Аналогами заявляємої сполуки (I) є відомі лікарські засоби - диклофенак натрію і парацетамол, у якого недостатньо виражена протизапальна активність.

Для синтезу сполуки (I) запропоновано спосіб, що полягає у взаємодії промислово доступного ангідриду (II) [3] з морфоліном (III).



Приклад. До 3.28г (0.02 моль) ендикового ангідриду (II) в 30мл безводного бензолу додають при перемішуванні 1.74г (0.02моль) морфоліну (III). Реакційну масу продовжують перемішувати при кімнатній температурі до закінчення реакції, на що потрібно 1 добу (дані тонкошарової хроматографії). Кристали, що випадають, відфільтровують, промивають на фільтрі бензолом і висушують на повітрі. Продукт додатково очищують перекристалізацією із бензолу.

Вихід (I) 4.67г (93%), т.пл. 148-150°C, R_f (2-пропанол, Silufol UV-254) 0.69. Сполука синтезована вперше, раніше не описана. Склад та структура заявляємої сполуки доведені елементним аналізом, а також даними ІЧ-спектрів і спектрів ЯМР ^1H .

Знайдено, %: С 62.18; Н 6.82; N 5.54. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_4$.

Обчислено, %: С 62.15; Н 6.77; N 5.58.

ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 3430 (ν_{OH}), 3060 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1730 ($\nu_{\text{C=O}}$ у складі COOH), 1635 ($\nu_{\text{C=O}}$ амід), 1560, 1280 (ν_{CN}), 1190, 715 ($\delta_{\text{C-H}}$).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6), δ , м.ч.: 6.30 м (1H, H^6), 5.92 м (1H, H^5), 3.60-3.55 (8H, ядра гідрогену морфолінового фрагменту), 3.48 м (2H, H^2 , H^3), 3.11 м (1H, H^1), 2.92 м (1H, H^4), 1.31 м (2H, H^{7s} , H^{7an}).

Біологічна активність заявляємої сполуки вивчалася в чотирьох серіях дослідів. У першій серії експериментів вивчалася токсичність сполуки С-58 за методом Litchfield, Wilcoxon (1949) у модифікації В.Б. Прозоровського (1962) [9]. Досліджувана речовина вводилася у зростаючих дозах чотирьом групам білих дорослих мишей внутрішньоочеревинно з доданням TWIN-40 як солюбілізатора.

LD_{50} , середньо смертельна доза, виявилася рівною 123 ± 42.0 мг/кг. Таким чином, заявляємо сполука (I) відноситься до IV класу небезпеки, до мало токсичних речовин [10].

Анальгетичну дію вперше синтезованого засобу вивчали на білих щурах масою 180-200г по відношенню до електрошкіряного подразнення [11]. Критерієм больового порогу вважалася голосова реакція (вокалізація). Дані дослідженої серії порівнювали з результатами контрольної групи тварин, які одержували в середину ізотонічний 0.9%-ний розчин натрію хлориду. Піддослідним щурам за 30 хвилин до тестування порогу болю вводили внутрішньошлунково заявляємої препарат у дозі, яка дорівнює 12.3мг/кг, що складає $1/10 \text{ LD}_{50}$ при внутрішньоочеревинному введенні препарату. Перерахунки, засновані на співвідношенні між різними методами введення, свідчать, що для перорального введення (через рот) обрана нами доза відповідає $1/50 \text{ LD}_{50}$, тобто є винятково безпечною [10]. Ефект досліджуваного препарату порівнювали з двома класичними анальгетиками: диклофенаком натрію і парацетамолом, у загальноприйнятому дозуванні - 10 і 300мг/кг відповідно [12]. Результати показали, що навіть така невелика доза нового препарату викликає чіткий болезаспокійливий ефект (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив анальгетиків при пероральному введенні на рівень больового порогу при електричному подразненні кореня хвоста інтактних щурів

Препарат	Статистичні показники	Показники порогу больової чутливості, V				
		Вихідний стан	30 хвилин	60 хвилин	90 хвилин	120 хвилин
Контроль	$M \pm m$ % від ВС	1.91 ± 0.38	2.20 ± 0.53 +15.18	1.80 ± 0.58 -5.75	1.76 ± 0.46 -7.85	1.50 ± 0.37 -21.46
Заявляємо сполука (I)	$M \pm m$ % від ВС % від контр.	2.05 ± 0.43	3.20 ± 0.49 +20.88 -13.18	3.83 ± 1.54 +74.05 +52.77	3.29 ± 0.89 +108.22 +86.93	3.04 ± 0.94 +97.78 +108.33
Диклофенак натрію	$M \pm m$ % від ВС % від контр.	1.97 ± 0.39	2.52 ± 0.60 +27.91 +14.54	3.60 ± 0.96 +82.74 +100.00	3.23 ± 0.99 +62.95 +83.52	2.75 ± 0.79 +39.59 +83.33
Парацетамол	$M \pm m$ % від ВС % від контр.	2.23 ± 0.36	3.83 ± 0.57 +71.74 +74.09	4.87 ± 1.82 +118.38 +170.55	5.50 ± 2.19 +146.63 +212.50	4.37 ± 0.95 +95.96 +191.33

Примітки: знак * - вірогідність $P < 0.05$; ВС - вихідний стан; V - вольт.

Як видно з таблиці 1, через 60 хвилин після введення досліджуваної речовини величина больового порогу у щурів зростає на 74.0% у

порівнянні з вихідним фоном і на 52.8% у порівнянні з даними контролю. Через 90 хвилин анальгетичний ефект продовжує наростати і зберігається на досить високому рівні навіть через 2 години після введення заявляемого засобу.

Ефект нової речовини перевершує ступінь беззаспокійливої дії класичного анальгетика і нестероїдного протизапального засобу - диклофенака натрію, широко розповсюдженого в медичній практиці [13]. Однак, порівняння з парацетамолом, нетиповим центральним анальгезуючим препаратом, свідчить про більш слабкий беззаспокійливий ефект, що поступається у 1.5-2 рази цьому класичному ненаркотичному анальгетику.

У третій серії експериментів вивчався беззаспокійливий ефект заявляемої речовини у порівнянні з аналогами на моделі больового порогу, викликаного хімічним подразником - внутрішньоочеревинним введенням білим мишам 0.6%-ного розчину оцтової кислоти [14].

Спостереження показали, що заявляема сполука виявила суттєву анальгетичну дію, зменшуючи ступінь і кількість судорожних посмикувань - "оцтовокислих корчів". Ступінь беззаспокійливої активності була близькою до аналога диклофенака натрію, але меншою від ефекту парацетамолу (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив анальгетиків на ступінь беззаспокійливої дії на моделі «оцтовокислих корчів»

№ п/п	Препарат	Доза, мг/кг	Кількість корчів $M \pm m$	Анальгетична активність, %
1.	Контроль	10 г/0.1 мл	40.41 \pm 10.92	-
2.	Заявляема сполука (I)	12.3	15.00 \pm 2.13	62.88*
3.	Парацетамол	300	7.33 \pm 2.18	81.86*
4.	Диклофенак натрію	10	14.00 \pm 2.25	65.35*

Примітки: знак * - вірогідність показника, $P < 0.05$; активність розраховувалася по відношенню до даних контролю.

Відомо, що диклофенаку натрію властива протизапальна дія, яка слабо виражена у парацетамолу. Тому у четвертій серії експериментів нами вивчалася протизапальна дія оригінальної сполуки на моделі карагенінового набряку на мишах. Вивчаєму сполуку тварини одержували за 30 хвилин до карагеніну, що вводився субплантарно у стопу однієї з нижніх кінцівок [14]. Аналіз наведених даних свідчить про чітко виражену антиексудативну властивість досліджуваного препарату, що майже на 64% зменшував масу кінцівки, обробленої карагеніном. Ці дані наближаються до показників, одержаних під впливом могутнього протизапального засобу диклофенаку натрію (70.0%), і суттєво перевищують ефект парацетамолу (40.9%) (табл. 3).

Таблиця 3

Протизапальна активність анальгетиків
(модель - карагеніновий набряк)

№ п/п	Препарат	Різниця між здоровою та набряклою лапою $M \pm m$	Протизапальна активність, %
1.	Контроль	110.08 \pm 11.25	-
2.	Заявляема сполука (I)	39.66 \pm 4.22	63.97*
3.	Парацетамол	65.08 \pm 3.52	40.87*
4.	Диклофенак натрію	33.00 \pm 7.50	70.02*

Примітки: аналогічні табл. 2.

Таким чином, заявляема сполука виявляє як протизапальну (значнішу за парацетамол), так і анальгетичну дію, що перевершує аналог - диклофенак натрію.

Джерела інформації:

1. Болевой синдром / Под. ред. В.А. Михайловича и Ю.Д. Игнатова. - Л.: «Медицина». - 1990. - 333 с.

2. Мамчур В.Й., Подплетняя Е.Н., Макаренко О.В., Серединская Н., Мохорт Н.А. / Современные представления о механизмах терапевтического и побочного действия НПВС // Вісник фармакології та фармації. - 2005. - №4. - С. 3-17.

3. Онищенко А.С. Диеновый синтез. - М.: Изд. АН СССР. - 1963. - 650 с.

4. Thalidomid-Analoga, 3. Mitt / H. Koch, J. Kotlan, E. Farkouh, M. Lindner // Monatsh. Chem. - 1971.-Bd. 102.-№ 2.-S. 609-621.

5. Пат. 2824822 США. Insect repellent method and composition / Goodhue L.D., Cantrel K.E. (США); - Заявл. 25.02.58; // РЖХим. - 1960. - 22 Н 92 П.

6. Пат. 3998621 США, МКИА01 №9/22. Triasine-antidote composition and methods of use for cotton / Pallos F.M. (США); - № 651875; Заявл. 23.01.76; Опубл. 21.12.76 // РЖХим. - 1977. - 18 О 350 П.

7. Efetto sul geotropismo radicale di semi di Lensesculenta Moench S.I. Li unaserie di sostanze correlate all'acido N- α -naftilftalamico / Moench S.I., Pagani G., Graecialanza G. et al. // Farmaco. Ed. sci. - 1970. - Vol.25. - № 3. - P. 203-225 // РЖХим. - 1970. - 16 Ж 316.

8. Пат. 21017 Япония, МКИ 16Е351, (С 07 d). Способ получения сульфамидов / Тосихико М., Сюндзи С. (Япония); Заявл. 24.07.68; Опубл. 14.06.71 // РЖХим. - 1972. - 2 Н 346 П.

9. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакология и токсикология. -1962.-Т.25.-№1.-С. 115-119.

10. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів. - Київ. - 2001. - 74 с.

11. Биоскрининг. Лекарственные средства / Под. ред. Стефанова А.В. - К.: Изд. дом. «Авицена». - 1998. - 250 с.

12. Подплетня О.А. Вплив ненаркотичних анальгетиків на процеси перекисного окислення ліпідів в утвореннях головного мозку щурів в умовах гострого больового подразнення / Автореферат д-ре. канд. біол. наук.-Київ.-2000.-18с.

13. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т. 1. - М.: ООО «Новая волна». - 2002. - 540 с.

14. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, предлагаемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств / С.М. Дроговоз, Н.А. Мохорт, И.А. Зупанец, Л.В. Яковлева, Б.М. Клебанов. - К.: ФК МЗ Украины.-1994.-40 с.