



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **43852** (13) **U**
(51) МПК (2009)
C07C 233/00
A61K 31/16
A61P 29/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЕНДО-3-{N,N-МЕТИЛ(1,1-ДІОКСОТЕТРАГІДРОТІОФЕН-3-ІЛ)КАРБАМОІЛ}БІЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТ-5-ЕН-ЕНДО-2-КАРБОНОВА КИСЛОТА, ЯКА ВІЯВЛЯЄ ТРАНКВІЛІЗУЮЧУ, АНАЛЬГЕТИЧНУ, ПРОТИСУДОМНУ ТА АНТИГІПОКСИЧНУ ДІЮ

1

(21) u200809783

(22) 28.07.2008

(24) 10.09.2009

(46) 10.09.2009, Бюл.№ 17, 2009 р.

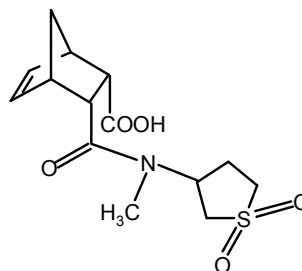
(72) МАМЧУР ВІТАЛІЙ ЙОСИПОВИЧ, КАС'ЯН ЛІЛІЯ ІВАНІВНА, ЗЛЕНКО ОЛЕНА ТИМОФІВНА, ПАЛЬЧИКОВ ВІТАЛІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ДУЛЬНЄВ ПЕТРО ГЕОРГІЙОВИЧ, КАС'ЯН АНДРІЙ ОЛЕГОВИЧ, ТАРАБАРА ІГОР МИКОЛАЙОВИЧ, МАКАРЕНКО ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

(57) Ендо-3-{N,N-метил(1,1-діоксотетрагідротіофен-3-іл)-

2

карбамоіл}біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонова кислота, формули $C_{14}H_{19}NO_5S$, яка виявляє транквілізуючу, анальгетичну, протисудомну та антигіпоксичну дію.

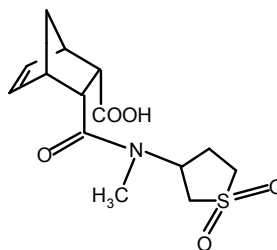


Корисна модель відноситься до нової хімічної сполуки - похідного ангідриду біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти (I, ендикового ангідриду) [1, 2], яка містить сульфолановий (тіоландіоксидний) фрагмент. Заявляема сполука (II) виявляє транквілізуючу, анальгетичну, протисудомну та антигіпоксичну дію, що передбачає можливість застосування її в медичній практиці як лікарського препарату.

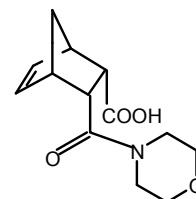
Шляхи пошуку ефективних засобів боротьби з болем залишаються важливим напрямком сучасної медицини [3]. Біль, що є сигналом загрози, при тривалому впливі перетворюється в небезпечний патологічний фактор. Анальгетики є активними захисними засобами від болювого стресу, але сучасним беззаспокійливим препаратам притаманні численні побічні ефекти.

Ефект сполуки (II) порівнювали з результатами, отриманими для кислоти (III) [4], хімічна структура якої близька до заявляємої речовини. Як аналог було обрано широко відомий класичний анальгетик помірної беззаспокійливої дії - метамізол (анальгін) у загальноприйнятому дозуванні

100мг/кг. Дія останнього вивчалася в аспекті беззаспокійливої дії.



II



III

Задачею корисної моделі є розробка нового біологічно активного засобу, що має транквілізуючу, анальгетичну, протисудомну та антигіпоксичну дію.

Ця задача вирішується синтезом не описаної в літературі сполуки - ендо-3-{N,N-метил(1,1-діоксотетрагідротіофен-3-іл)карбамоіл}біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонової кислоти ($C_{14}H_{19}NO_5S$) (II).

(13) **U**

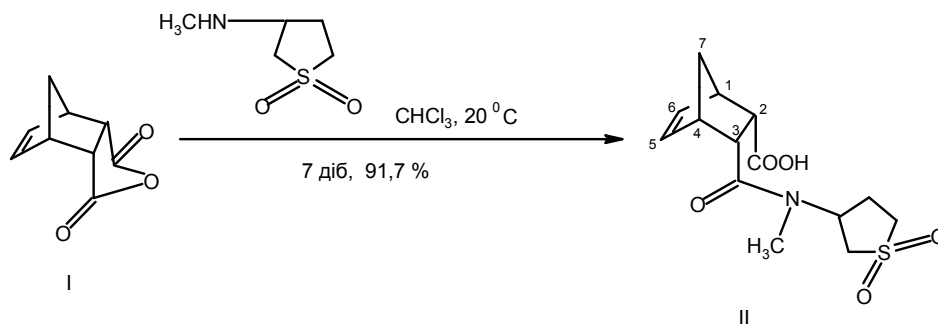
(11) **43852**

(19) **UA**

Амідокислоти ряду норборнену отримують амінолізом промислово доступного ендікового ангідриду (I) [1, 2] в різних умовах. Для деяких амідокислот цього ряду визначено галузі застосування як агентів з седативними властивостями [5], складових частин репелентних сумішей [6], антидотів у складі гербіциду для захисту хлопчатника [7]. Натрієві солі N-арилзаміщених амідокислот

сприяють проростанню насіння [8]. Як дезінфікуючі засоби, інсектициди і лікарські речовини використовують амідокислоти ароматичного ряду з сульфонамідними залишками, зокрема аддукт ендікового ангідриду (I) з сульфатіазолом [9].

Для синтезу сполуки (II) запропоновано спосіб, що полягає у взаємодії ангідриду (I) [1, 2] з N-метил-3-аміно-1,1-діоксотетрагідротіофеном.



Приклад. До 3.28г (0.02моль) ендікового ангідриду (I) в 30мл хлороформу додають 2.98г (0.02моль) N-метил-3-аміно-1,1-діоксотетрагідротіофену і перемішують реакційну масу на протязі 7 діб під контролем тонкошарової хроматографії. Кристали, що випадають, відфільтровують, промивають на фільтрі хлороформом і висушують на повітрі. Продукт додатково очищують перекристалізацією із 2-пропанолу. Вихід сполуки (II) 5.74г (91.7%), т.пл. 168-169.5°C (2-пропанол), R_f 0.07 (діетиловий етер, Silufol UV-254), 0.38 (2-пропанол, Silufol UV-254).

Сполука (II) синтезована вперше, раніше не описана. Склад та структура заявляємої речовини доведена елементним аналізом, а також даними ІЧ-спектра, спектрів ЯМР ^1H і ^{13}C .

Знайдено, %: С 53.64; Н 6.11; N 4.46. $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{S}$.

Обчислено, %: С 53.67; Н 6.07; N 4.47.

ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 3410 (ν_{OH}), 3120, 3015 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1740 ($\nu_{\text{C=O}}$ у складі COOH), 1622 ($\nu_{\text{C=O}}$ амід), 1505, 1425, 1320, 1175, 1137, 722 ($\delta_{\text{C-H}}$).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6), δ , м.ч.: 6.29 д.д. (1H, H^6 , $^3J_{5,6}$ 5.2 Гц, $^3J_{4,5}$ $^3J_{6,1}$ 2.8 Гц), 5.90 д.д. (1H, H^5), 4.95 м (1H, $\text{H}_{\text{цикл}}$), 3.15-3.43 (4H, $\text{H}_{\text{цикл}}$), 3.13 м (1H, H^2), 3.04 м (1H, H^3), 2.84 м (2H, $\text{H}^{1,4}$), 2.27 с (3H, CH_3), 2.08 м (1H, $\text{H}_{\text{цикл}}$), 1.95 м (1H, $\text{H}_{\text{цикл}}$), 1.33 д (1H, H^{7s} , $^2J_{7s,7a}$ 8.0 Гц), 1.21 д (1H, H^{7an}).

Спектр ЯМР ^{13}C (100.6 МГц, DMSO-d_6), δ , м.ч.: 175.2 (C=O), 174.8 (C=O), 136.3 (C^6), 133.7 (C^5), 57.6 ($\text{C}_{\text{цикл}}$), 57.1 ($\text{C}_{\text{цикл}}$), 52.2 ($\text{C}_{\text{цикл}}$), 51.6 ($\text{C}_{\text{цикл}}$),

49.7 (C^2), 49.3 (C^7), 49.2 (C^3), 47.6 (C^1), 47.5 (C^4), 34.7 (CH_3).

Біологічні властивості синтезованої речовини (II) вивчалися в експериментах на дорослих безпородних білих мишах масою 20-30г та білих щурах масою 180-200г обох статей. В першій серії визначалася гостра токсичність за методом Litchfield, Wilcoxon у модифікації В.Б.Прозоровського (1962) [10]. Заявляема речовина (II) вводилася внутрішньоочередно в рідкій лікарській формі з застосуванням солюбілізатора ТВІН-40. Досліди показали, що середня смертельна доза нової сполуки становить $864.4 \pm 50.4 \text{ мг/кг}$, тобто вона належить до речовин IV класу небезпеки, до мало токсичних речовин [11]. В подальших серіях вивчаєма сполука як і прототип вводилася в дозі $1/10 \text{ ЛД}_{50}$, тобто 86.4 мг/кг маси за 30 хвилин до досліді внутрішньошлунково, що за методом перерахування на шлях введення в 5 разів менше по токсичності [12].

Вивчення анальгетичної активності проводилося на щурах за методом електрошкірного подразнення кореня хвоста. Больовий поріг вивчався по реакції вокалізації (голосової) у відповідь на мінімальну інтенсивність електричного струму. Дані досліді співставлялися з контролем, що становили тварини, які отримували за півгодини до експерименту 0.9%-ний розчин натрію хлориду. Результати показали, що заявляема речовина (II) має безумовну перевагу по інтенсивності беззаспокійливого ефекту у порівнянні з прототипом (III) (Таблиця 1).

Таблиця 1

Анальгетична дія похідних норборнену при електрошкірному больовому подразненні

Препарат	Статистичні показники	Показники порогу больової чутливості, V				
		Вихідний стан	30 хвилин	60 хвилин	90 хвилин	120 хвилин
Заявляема речовина (II)	$M \pm m$ % від ВС	1.58 ± 0.34	1.91 ± 0.18 $+45.45$	2.75 ± 0.45 $+112.77$	3.29 ± 0.45 $+86.93$	3.12 ± 0.52 $+102.66$
Прототип (III)	$M \pm m$ % від ВС	2.05 ± 0.43	3.20 ± 1.49 -13.18	$3.83 \pm 1.54^*$ $+52.77$	$3.29 \pm 0.89^*$ $+86.93$	3.04 ± 0.94 $+108.33$

Продовження таблиці 1

Метамізол (анальгін)	M±m % від ВС	1.91±0.19	3.27±0.56* +48.63	3.95±0.94 +119.44	4.33±0.96* +146.02	3.52±129* +134.66
Контроль	M±m	1.91±0.38	2.20±0.53	1.80±0.58	1.76±0.46	1.50±0.37

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

Анальгетична дія синтезованої сполуки розвивається значно раніше, досягаючи максимального рівня - 112.77% через годину після введення. Дія прототипу (III) через 60 хвилин становить лише 52.77%, тобто поріг больової голосової реакції підвищується вдвічі слабкіше, ніж у заявляємій речовини (II). Через 1.5 і 2 години після надходження анальгетиків болезаспокійлива дія обох препаратів майже не відрізняється.

На відміну від ефекту нових засобів, анальгетична активність широко поширеного у медицині

препарату анальгін (метамізолу) в дозі 100мг/кг характеризується більшою тривалістю і досягає максимуму через 90 хвилин, перевершуючи на 33% заявляємий засіб.

Подальший аналіз болезаспокійливого ефекту нової речовини (II) проводився при застосуванні хімічного подразника, 0.6%-ного розчину оцтової кислоти, що вводився внутрішньошлунково білим мишам (Таблиця 2). Піддослідні тварини за 60 хвилин до експерименту отримували заявляемому речовину (II) в дозі $1/10$ ЛД₅₀ внутрішньошлунково.

Таблиця 2

Анальгетична дія енд-3-{N,N-метил(1,1-діоксотетрагідротіофен-3-іл)карбамоіл}біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонової кислоти на моделі «оцтовокислі корчі»

№ п/п	Препарат	Кількість корчів M±m	Анальгетична активність, %
1.	Заявляема сполука (II)	14.16±2.03*	64.96
2.	Прототип (III)	15.00±2.13*	62.88
3.	Контроль	40.41±0.92	-

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

Результати дослідів (Таблиця 2) свідчать, що заявляемій сполуці (II) притаманна певна болезаспокійлива дія по відношенню до хімічного подразнення і значної ноцицептивної реакції, що вміщує елементи вісцерального болю. Активність нового препарату становила 64.96%, що наближається і на 2.1% перевершує дані прототипу (III) (Таблиця 2).

Відомо, що наркотичним анальгетикам притаманна флоголітична (протизапальна) дія. Тому в

четвертій серії дослідів ми визначали ступінь антиексудативного ефекту дослідженої сполуки. Патологічну модель створювали шляхом субплантарного введення у нижні кінцівки мишей 1%-вого розчину карагеніну, що викликає набряк, [13]. Оригінальна сполука (II) вводилася піддослідним тваринам за 60 хвилин до початку експерименту в дозі $1/10$ ЛД₅₀ внутрішньошлунково.

Таблиця 3

Протизапальна активність заявляемої сполуки (II)

№ п/п	Препарат	Різниця між здоровою та набряклою кінцівкою M±m	Протизапальна активність, %
1.	Заявляема сполука (II)	33.00±8.83*	70.02
2.	Прототип (III)	39.66±4.22*	63.97
3.	Контроль	110.08±11.25	-
4.	Диклофенак натрію	33.00±7.50	70.02

Примітки: аналогічні табл. 2.

Спостереження свідчать про значну протизапальну дію заявляемої сполуки (II), яка дещо переважає (на 6%) дані найближчого аналога (III) і дорівнює активності класичного протизапального засобу - диклофенаку натрію (ортофену) в загальноновживаній дозі 10мг/кг.

В п'ятій серії дослідів вивчалася дія оригінальної сполуки (II) на центральну нервову систему, а саме виявлення балансу процесів збудження і гальмування. На білих мишах визначався вплив заявляемої речовини на перебіг барбітурового (тіопенталового) наркозу. Тіопентал-натрій вводився

ли внутрішньоочеревинно в дозі 50мг/кг. За півгоди до тестування піддослідні тварини отримували заявляємої сполуки таким же шляхом в дозі $\frac{1}{10}$

ЛД₅₀, контрольні - ізотонічний розчин натрію хлориду (Таблиця 4).

Таблиця 4

Вплив енд-3-{N,N-метил(1,1-діоксотетрагідротіофен-3-іл)карбамоїл}-біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонової кислоти на тривалість барбітурового сну

№ п/п	Препарат	Тривалість сну (хвилини) $M \pm m$	Транквілізуюча активність, %
1.	Заявляема сполука (II)	72.2±2.5*	257.4
2.	Контроль до препарату (II)	20.2±2.7	-
3.	Прототип (III)	53.6±4.15*	152.8
4.	Контроль до прототипу (III)	21.2±3.3	-

Примітки: аналогічні табл. 2.

Дані експерименту свідчать про безумовну наявність синергізму вивчаємої сполуки (II) з тіопенталом, що доводить її гальмівну, гіпно-седативну, транквілізуючу дію на головний мозок. Ефект заявляемого засобу (II) значно, на 104.6% перевершує дію найближчого аналога (III).

Шоста серія дослідів була присвячена визначенню протисудомної дії нового препарату. Застосовувалася модель коразолових (100мг/кг) судом. Відмічалася тривалість життя піддослідних мишей, що отримували 7ш ЛД₅₀ заявляемого препарату (II) внутрішньоочеревинно і контролю (Таблиця 5).

Таблиця 5

Вплив заявляємої сполуки (II) на судомну дію коразолу

№ п/п	Препарат	Тривалість життя (хвилини) $M \pm m$	Протисудомна дія, %
1.	Заявляема сполука (II)	14.11±1.82*	79.0
2.	Прототип (III)	11.34±1.6*	43.9
3.	Контроль	7.88±1.18	-

Примітки: аналогічні табл. 2.

Досліди свідчать про чітко виражений антагонізм заявляємої речовини (II) із коразолом, тобто про суттєву наявність протисудомного ефекту (Таблиця 5). На відміну від вивчаемого засобу, найближчий аналог (III) при тих же умовах виявив набагато слабкішу антиконвульсантну дію, всього 43.9%, майже вдвічі поступаючись новому засобу.

Дослідження показали, що заявляема речовина (II) має чітко виражені протисудомні і транквілі-

зуючі властивості, що свідчить про перевагу гальмівних процесів в ЦНС. Такі прояви можуть призводити до підвищення резистентності до дефіциту кисню. Тому в наступній серії ми вивчали антигіпоксичну дію оригінальної сполуки по визначенню тривалості життя у замкнутому просторі, на моделі нормобаричної артеріально-гіпоксичної гіпоксії (О.Н. Єлізарова, 1971).

Таблиця 6

Антигіпоксична активність енд-3-{N,N-метил(1,1-діоксотетрагідротіофен-3-іл)карбамоїл}-біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонової кислоти

№ п/п	Препарат	Тривалість життя (хвилини) $M \pm m$	Антигіпоксична активність, %
1.	Заявляема сполука (II)	23.64±1.12*	62.47
2.	Прототип (III)	22.41 ±2.2*	54.0
3.	Контроль	14.55±1.17	-

Примітки: аналогічні табл. 2.

Спостереження показали, що заявляема сполука (II) призводить до значного збільшення тривалості життя в умовах гіпоксії, що на 62.47% перевершує час життя контрольних тварин (Таблиця 6). Найближчий аналог (III) також виявив протигіпоксичну дію, але дещо слабкіше виражену - 54.0%.

Таким чином, заявляема речовина (II) виявляє значну анальгетичну та протизапальну дію, а також транквілізуючий, протисудомний і антигіпоксичний ефекти, які переважають властивості найближчого аналога - препарату зіставлення (III), близькому по хімічній структурі до заявляємої речовини (II).

Джерела інформації:

1. Онищенко А.С. Диеновый синтез. - М: Изд. АН СССР. - 1963. - 650с.
2. Fringuelli F., Taticchi A. The Diels-Alder Reaction: Selected Practical Methods. - John Wiley & Sons, Ltd. - 2002. - 340p.
3. Медикаментозная анальгезия при экстремальных состояниях / Мамчур В.Й., Зленко Е.Т., Опришко В.И. и др. // Тез. 2-го съезда Российского научного общества фармакологов „Фундаментальные проблемы фармакологии“. - М.: 2003. - С.8.
4. Пат. 81501 Україна, МПК C07C 233/58, C07C 233/57, A61K 31/16, A61P 29/00 / ендо-3-(1-Морфолілкарбоніл)біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо-2-карбонова кислота, яка виявляє анальгетичну та протизапальну дію / Зленко О.Т., Кас'ян Л.І., Мамчур В.Й., Макаренко О.В., Тарабара І.М., Пальчиков В.О. // №a200512599. Заявл. 26.12.2005; Опубл. 10.01.2008; Бюл. №1. - 4с.
5. Thalidomid-Analoga, 3. Mitt / H. Koch, J. Kotlan, E. Farkouh, M. Lindner // Monatsh. Chem. - 1971. - Bd. 102. - №2. - S. 609-621.
6. Пат. 2824822 США. Insect repellent method and composition / Goodhue L.D., Cantrel K.E.; - Заявл. 25.02.58 // РЖХим. - 1960. - 22 Н 92 П.
7. Пат. 3998621 США, МКИ A01 №9/22. Triasine-antidote composition and methods of use for cotton / Pallos F.M.; - №651875; Заявл. 23.01.76; Опубл. 21.12.76 // РЖХим. - 1977. - 18 О 350 П.
8. Effetto sul geotropismo radicale di semi di *Lens esculenta* Moench s. 1. di una serie di sostanze correlate all'acido N- α -naftilftalamic / Pagani G., Caccialanza G., Vicarini L., Baruffini A. // Farmaco. Ed. sci. - 1970. - Vol. 25, №3. - P. 203-225 // РЖХим. - 1970. - 16 Ж 316.
9. Пат. 21017 Япония, МКИ 16E351, (C 07 d). Способ получения сульфамидов /Тосихико М., Сюндзи С; Заявл. 24.07.68; Опубл. 14.06.71 // РЖХим. - 1972. - 2Н346П.
10. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакология и токсикология. - 1962. - Т. 25. - №1. - С. 115-119.
11. 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. - 74с.
12. Биоскрининг. Лекарственные средства / Под. ред. Стефанова А.В. - К.: Изд. дом. «Авицена». - 1998. - 250с.
13. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, предлагаемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств / СМ. Дроговоз, Н.А. Мохорт, И.А. Зупанец, Л.В. Яковлева, Б.М. Клебанов. - К.: ФК МЗ Украины. - 1994. - 40с.