



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114598** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61K 31/00
A61P 9/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 10053	(72) Винахідник(и): Степанюк Георгій Іванович (UA), Степанюк Наталія Георгіївна (UA), Сокирко Маргарита Володимирівна (UA), Короткий Юрій Васильович (UA), Гладких Федір Володимирович (UA)
(22) Дата подання заявки: 03.10.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.03.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.03.2017, Бюл.№ 5	(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)

(54) ЗАСТОСУВАННЯ 1-(1-АДАМАНТИЛ-1-ЕТОКСИ)-3-(N-МЕТИЛ МОРФОЛІНІЙ)-2-ПРОПАНОЛ ЙОДИДУ, ЯКИЙ МАЄ КАРДІОПРОТЕКТОРНУ ДІЮ

(57) Реферат:

Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодиду (ЮК-76), який має кардіопротекторну дію.

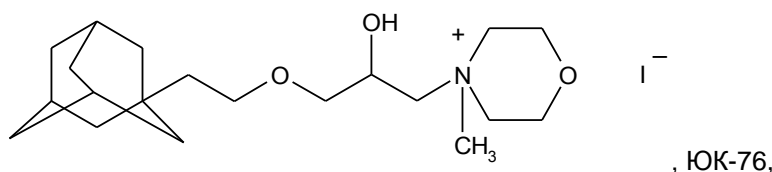
UA 114598 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до фармакології і кардіології, та може бути використана для лікування адреналін-індукованого ішемічного ураження міокарда.

Великий арсенал лікарських засобів, які використовуються у лікуванні ішемічної хвороби серця (ІХС), не завжди задовольняє запити клініцистів як через їх недостатню ефективність, так і наявність побічних реакцій. Тому сьогодні ведеться інтенсивний пошук нових молекул з кардіопротекторною дією, придатних для створення на їх основі більш ефективних та безпечних препаратів [Гуменюк А.Ф. Аспекти раціонального лікування серцево-судинних хворих з поліморбідними ураженнями / А.Ф.Гуменюк // Український медичний часопис. - 2009. - № 5 (73). - С. 25-32; Бобров В.О. Адаптаційні ішемічні і реперфузійні синдроми у хворих ішемічною хворобою серця: механізми, діагностика, обґрунтування терапії / В.О. Бобров, С.К. Кулішов. - Полтава: Дивосвіт, 2004. - 240 с].

Як препарат порівняння вибрано кордарон, який широко використовується для лікування ІХС [Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции / И.С. Чекман, Н.А. Горчакова, С.Б. Французова, Е.А. Нагорная. - К., 2009. - 155 с.].

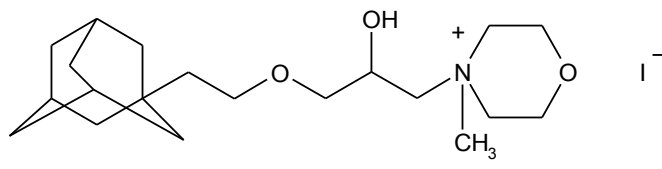
У цьому плані нашу увагу привернуло похідне адамантану - 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодид (ЮК-76) формули:



якій притаманна захисна дія на ішемізований мозок [Патент України на корисну модель № UA 97765 Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил діалкіламоній)-2-пропанол йодидів формули, як засобів, які мають церебропротекторну дію / Ю.В. Короткий, Г.І. Степанюк, Б.О. Коваль, Н.Г. Степанюк, О.А. Смертенко; Бюл. № 7, 2015].

Задачею корисної моделі є пошук хімічних сполук з вираженою кардіопротекторною активністю для розширення арсеналу сучасних лікарських засобів зазначеної дії.

Поставлена задача була вирішена застосуванням відомої сполуки 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодиду формули:



яка має церебропротекторну активність.

Синтез та фізико-хімічні властивості нами були описані в патенті [Патент України на корисну модель № 97765 Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил діалкіламоній)-2-пропанол йодидів формули, як засобів, які мають церебропротекторну дію / Ю.В. Короткий, Г.І. Степанюк, Б.О. Коваль, Н.Г. Степанюк, О.А. Смертенко; Бюл. № 7, 2015].

Корисна модель ілюструється наступним прикладом.

Приклад.

Дослідження проведене на 60 нелінійних щурах обох статей масою 165-220 г, розділених на 4 групи: I група (n=15) - інтактні щури; II група (n=15) - щури з експериментальною адреналіновою міокардіодистрофією (АМД) без лікування (контроль); III група (n=15) - щури з АМД, ліковані сполукою ЮК-76 (10 мг/кг, в/о); IV група (n=15) - щури з АМД, ліковані кордароном (10 мг/кг, внутрішньоочередово (в/о)).

Всі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами проводили в атестованій Головною організацією метрологічної служби Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України лабораторії кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ ім. М.І. Пирогова; свідоцтво про атестацію № 023/13 від 05.03.2013 р.) з урахуванням вимог належної лабораторної практики GLP (Good Laboratory Practice) і з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 "Про

затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів", та Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-1V "Про захист тварин від жорстокого поводження" [Мельник В.М. Етичні та правові аспекти проведення наукових досліджень та випробувань лікарських засобів / В.М. Мельник // Український хіміотерапевтичний журнал. - 2002. - № 1 (13). - С. 11-15].

Біохімічні дослідження виконані в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, атестованій Головною організацією метрологічної служби МОЗ України (свідоцтво про переатестацію № 049/15 від 02.03.2015 р.).

АМД моделювали за методикою Маркової О.О. (1998 р.) шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,18 % розчину адреналіну тартрату (ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", м. Київ) в дозі 1 мг/кг маси тіла [Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму. - Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. - 150 с.].

Дози кордарону (10 мг/кг, ТОВ "Санофі-Авентіс Україна", м. Київ) та сполуки ЮК-76 (10 мг/кг) були запозичені з літератури [Патент України на корисну модель № UA 97765 Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил діалкіламоній)-2-пропанол йодидів формули, як засобів, які мають церебропротекторну дію / Ю.В. Короткий, Г.І. Степанюк, Б.О. Коваль, Н.Г. Степанюк, О.А. Смертенко; Бюл. № 7, 2015; І.О. Петрик Моніторинг кардіопротекторних ефектів похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу сполуки R-86 при модельній кардіальній ішемії за різних режимів введення / І.О. Петрик // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2014. - Т. 18, № 2. - С. 441-444.]. Тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду (NaCl, ПАТ "Галичфарм", м. Львів).

Досліджувані речовини вводили групам тварин щоденно протягом 7 днів, перше введення - через 30 хв. після моделювання АМД. Ефективність терапії оцінювали на 2 та 8 добу експерименту за динамікою вмісту в міокарді аденілових нуклеотидів, активності маркерів ішемічного пошкодження серця - креатинфосфокінази (КФК) та аспартатамінотрансферази (АСТ) в сироватці крові та показником летальності в групах тварин.

Евтаназію щурів здійснювали шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом. Видалене з грудної порожнини тварин серце відмивали від крові охолодженим 1,15 % ізотонічним розчином калію хлориду (KCl) та висушували фільтрувальним папером.

Тканини серця гомогенізували при 3000 об/хв. (тефлон-скло) в середовищі 1,15 % розчину KCl у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм) при температурі 4-6 °С. Гомогенат центрифугували 30 хв. при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки "Eppendorf" і до проведення досліджень зберігали при температурі -20 °С.

Для визначення рівня аденілових нуклеотидів проводили десмоліз тканини серця 30 % розчином гідроксиду калію (KOH) із додаванням етилового спирту (C₂H₅OH). Проби центрифугували 25 хв. при 1000 g. Вміст аденілових нуклеотидів визначали в депротеїнізованому трихлороцтовому супернатанті тканин серця 1:10 (10 % розчин трихлороцтової кислоти) хроматографічним методом на пластинках "Silufol" [Прохорова М.І. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М.І. Прохорова. - Л.: Из-во Ленинградского ун-та, 1982. - 272 с.]. Енергетичний заряд розраховували за формулою:

$$\text{Енергетичний заряд} = \frac{2\text{АТФ} + \text{АДФ}}{2(\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})}$$

Активність АСТ (КФ 2.6.1.1) в сироватці крові визначали методом Райтмана-Френкеля за утворенням гідразонів піровиноградної кислоти в лужному середовищі за набором "АСТ" (Філісіт-Діагностика, Україна). Активність КФК (КФ 2.7.3.2) в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за швидкістю утворення НАДФН за набором "Креатинкіназа-кін." (СпайнЛаб, Україна).

Цифрові данні наведені у вигляді "M±m" для первинної вибірки (n), де M - середнє арифметичне значення, m - стандартна похибка. Вірогідність розбіжностей визначали методом варіаційної статистики за використанням двовибіркового t-критерію Стюдента. Розрахунки здійснювали за допомогою електронних таблиць Excel програмного забезпечення Microsoft Office-2010. Статистично достовірними вважали зміни при рівні вірогідності вище 95 % (p<0,05) [Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич - К.: Морион, 2000. - 320 с.].

Проведене дослідження показало, що в сироватці крові нелікованих (контрольних) щурів з експериментальною АМД мало місце значне зростання активності КФК (табл. 1). Це особливо було помітно на 2 добу експерименту, коли показники активності КФК вірогідно збільшилися у

3,9 рази відносно здорових тварин і становили в середньому 263,5 Од/л проти 67,8 Од/л у інтактних тварин.

Введення щурам з АМД сполуки ЮК-76 подібно до кордарону супроводжувалось на 2 добу експерименту зниженням величини показника КФК приблизно в однаковій мірі: під дією ЮК-76 на 50,3 % під впливом кордарону на 50,8 % відносно показника контрольних тварин. При цьому у нелікованих щурів активність КФК на тлі обох досліджуваних речовин на 2 добу досліду було удвічі вище від показників здорових тварин. На 8 добу спостереження зміни активності КФК зберігали зазначену спрямованість і на тлі дії ЮК-76, як і кордарону, сягали рівня здорових щурів.

Те ж саме стосується і показника АСТ. Із даних табл. 1 видно, що у нелікованих (контрольних) щурів з АМД на 2 добу експерименту активність АСТ збільшилась у 2 рази відносно здорових і становила 79,4 мкмоль/хв.хл проти 36,8 мкмоль/хв.хл у інтактних щурів. Під дією ЮК-76, так само, як і кордарону, в даний період досліду показник активності АСТ вірогідно зменшувався, але не досягав рівня здорових тварин.

На 8 добу експерименту активність АСТ у контрольних щурів ще залишилася підвищеною, а під впливом обох досліджуваних речовин активність АСТ нормалізувалась і досягла рівня здорових щурів.

Таблиця 1

Вплив сполуки ЮК-76 та кордарону на активність КФК та АСТ у сироватці крові щурів на тлі експериментальної АМД ($M \pm m$, $n=7$)

№ групи	Умови досліду	Термін спостереження	КФК, Од/л	АСТ, мкмоль/хв.хл
I	Інтактні щурі	2 доба	67,8 \pm 2,68	36,8 \pm 0,87
		8 доба	64,9 \pm 3,68	37,3 \pm 1,08
II	АМД без лікування (контроль)	2 доба	263,5 \pm 16,86*	79,4 \pm 2,65*
		8 доба	82,0 \pm 5,80*	48,2 \pm 0,85*
III	АМД+ЮК-76	2 доба	130,9 \pm 12,27*#	56,2 \pm 1,96*#°
		8 доба	61,9 \pm 2,55#	38,5 \pm 1,78#
IV	АМД+кордарон	2 доба	129,7 \pm 7,14*#	48,6 \pm 1,7*#
		8 доба	63,7 \pm 3,59#	37,1 \pm 1,84#

Примітки:

- * - $p \leq 0,05$ відносно групи інтактних щурів (I);
- # - $p \leq 0,05$ відносно групи контрольних щурів (II);
- ° - $p \leq 0,05$ відносно групи щурів з АМД, лікованих кордароном (IV).

Під дією ЮК-76 показник летальності щурів з АМД був нижчим у 6 раз, під впливом кордарону у 3 рази (табл. 2).

Таблиця 2

Показники летальності в групах тварин ($n=15$)

Інтактні тварини	АМД без лікування (контроль, абс/%)	АМД + ЮК-76 (абс/%)	АМД + кордарон (абс/%)
0 (0 %)	6 (40,0 %)	1 (6,6 %)	2 (13,2 %)

Характеризуючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що на тлі одноразового в/м введення щурам адреналіну тартрату в дозі 1 мг/кг має місце значне (особливо на 2 добу спостереження) зростання активності КФК та АСТ в плазмі крові, що згідно з даними літератури свідчать про ішемічне ушкодження міокарду [Крижанівський В.О. Діагностика та лікування інфаркту міокарда / В.О. Крижанівський. - К.: Фенікс, 2000. - 451 с.]. Це супроводжувалося загибеллю 6 із 15, тобто (40,0 %) нелікованих тварин у першу годину експерименту. На 8 добу активність обох маркерів ішемічного пошкодження серця наближалася до норми.

Сполука ЮК-76 так само, як і кордарон, здатна вірогідно гальмувати зростання активності маркерів ішемічного пошкодження міокарда КФК та АСТ, що особливо помітно на 2 добу досліджу. Це узгоджувалось із зниженням показника летальності.

Результати дослідження засвідчили, що введення адреналіну викликало значні порушення енергетичного обміну в міокарді щурів у різні терміни експерименту (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив сполуки ЮК-76 та кордарону на вміст аденілових нуклеотидів в тканинах серця щурів на тлі експериментальної АМД ($M \pm m$, $n=7$)

№ групи	Умови досліджу	Термін спостереження, доба	Вміст аденілових нуклеотидів, мкмоль/г сухої тканини			Енергетичний заряд
			АТФ	АДФ	АМФ	
I	Інтакт	2 доба	3,64 \pm 0,08	1,04 \pm 0,027	0,515 \pm 0,016	0,801 \pm 0,005
		8 доба	3,69 \pm 0,06	1,05 \pm 0,048	0,486 \pm 0,018	0,807 \pm 0,005
II	АМД без лікування (контроль)	2 доба	1,35 \pm 0,05*	1,72 \pm 0,14*	1,12 \pm 0,036*	0,528 \pm 0,008*
		8 доба	1,71 \pm 0,08*	1,97 \pm 0,15*	0,987 \pm 0,039*	0,577 \pm 0,008*
III	АМД+ЮК-76	2 доба	2,38 \pm 0,15*#	1,20 \pm 0,07#	0,785 \pm 0,03*#°	0,681 \pm 0,010*#°
		8 доба	2,95 \pm 0,09*#°	0,930 \pm 0,05#°	0,560 \pm 0,031#°	0,769 \pm 0,005*#°
IV	АМД+кордарон	2 доба	2,03 \pm 0,04*#	1,27 \pm 0,08*#	0,869 \pm 0,028*#	0,639 \pm 0,008*#
		8 доба	2,21 \pm 0,23*	1,26 \pm 0,06*#	0,760 \pm 0,028*#	0,665 \pm 0,019*#

Примітки:

1. * - $p \leq 0,05$ відносно групи інтактних щурів (I);
2. # - $p \leq 0,05$ відносно групи контрольних щурів (II);
3. ° - $p \leq 0,05$ відносно групи щурів з АМД, лікованих кордароном (IV).

Так, на 2 добу (гострий період) у щурів групи контролю реєструвався значний дисбаланс в системі аденілових нуклеотидів в міокарді: вміст АТФ був нижчим на 62,9 %, в той час як вміст АДФ та АМФ був вищим на 65,4 та 117,5 % порівняно з інтактними тваринами. Виявлені зміни свідчать про розвиток мітохондріальної дисфункції із пригніченням окисного фосфорилування та його сполучення з тканинним диханням в міокарді щурів за умов АМД. Станом на 8 добу АМД у щурів групи контролю ознаки енергодефіциту залишались досить виразними: вміст АТФ був на 53,7 % меншим, а вміст АДФ та АМФ, відповідно, вищим на 87,6 % та 103,1 %, ніж у інтактних тварин. Перебіг АМД асоціювався із значним падінням енергетичного заряду серцевого м'язу у різні терміни експерименту: в групі контролю цей показник був вірогідно нижчим на 34,1 % та 28,5 % станом на 2-у та 8-у добу, ніж у інтактних щурів.

Застосування кордарону стримувало формування дисбалансу аденілових нуклеотидів в серцевому м'язі щурів за умов АМД: станом на 2 добу вміст міокардіального АТФ виявився вірогідно вищим на 50,4 %, а АДФ та АМФ, навпаки, меншим на 26,2 % та 22,4 %, ніж у тварин групи контролю. Застосування кордарону покращувало процеси окисного фосфорилування в міокарді і при подальшому спостереженні: станом на 8 добу у щурів в групі "ЕІМ+кордарон" вміст АТФ був вищим на 29,2 %, а вміст АДФ та АМФ - нижчим на 36,1 % та 23,0 %, ніж в групі контролю.

Введення сполуки ЮК-76 також вірогідно стримувало розвиток гіпоенергетичного стану за умов АМД і за ефективністю не поступалось застосуванню кордарону. Так, у щурів в групі "АМД+ЮК-76" станом на 2 та 8 добу міокардіальний вміст АТФ був вищим на 76,3 % та 72,5 %, а вміст АДФ був нижчим на 30,2 та 52,8 %, а АМФ - на 29,9 та 43,3 %, відповідно, ніж у щурів групи контролю. Введення сполуки ЮК-76, як і кордарону, викликало майже еквівалентне підвищення (на 29,0 % та 21,0 %) енергетичного заряду в міокарді відносно показників контрольних тварин станом на 2 добу за АМД. Станом на 8 добу приріст енергетичного заряду в групі "АМД+ЮК-76" був більш виразним, ніж в групі "АМД+кордарон" 33,3 % проти 15,3 %, відповідно.

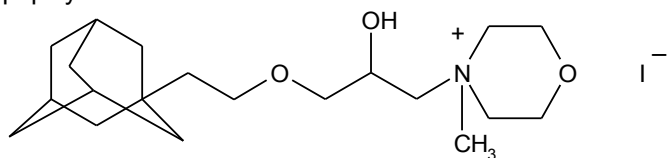
Таким чином, сполука ЮК-76 ефективно покращує функціональний стан мітохондрій і за здатністю коригувати вміст аденілових нуклеотидів в міокарді не поступається кордарону у гострому і, особливо, у підгострому періоді АМД.

Отже, за результатами проведеного дослідження можна констатувати, що 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодиду (сполука ЮК-76), як і кордарону, притаманна виразна кардіопротекторна дія.

- Крім цього, сполука ЮК-76 вигідно відрізняється від кордарону тим, що має також високу церебропротекторну дію, що має принципове значення при комплексному лікуванні ішемізованих хвороб серця та мозку.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодиду (ЮК-76), формули:



який має кардіопротекторну дію.

15

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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