



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 112347

(13) U

(51) МПК

C07D 277/08 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 06672

(22) Дата подання заявки: 17.06.2016

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: 12.12.2016(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 12.12.2016, Бюл.№ 23

(72) Винахідник(и):

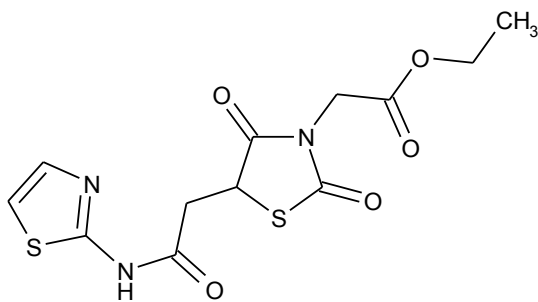
Лесик Роман Богданович (UA),
Піняжко Олег Романович (UA),
Мироненко Соломія Ігорівна (UA),
Нектегаєв Ігор Олексійович (UA)

(73) Власник(и):

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА
ГАЛИЦЬКОГО,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)(54) ЕТИЛ-2-[2,4-ДІОКСО-5-[2-ОКСО-2-(ТІАЗОЛ-2-ІЛАМІНО)ЕТИЛ]ТІАЗОЛІДИН-3-ІЛ]АЦЕТАТ, ЯКИЙ МАЄ
ПРОТИСУДОМНУ АКТИВНІСТЬ

(57) Реферат:

Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат загальної формули:



який має протисудомну активність.

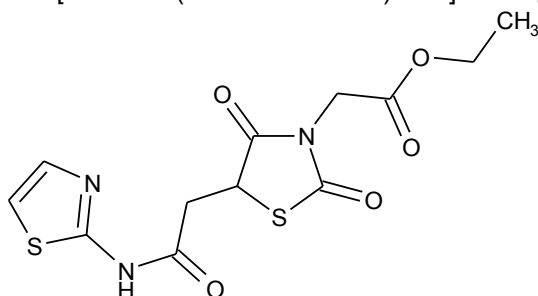
UA 112347 U

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме нових індивідуальних біологічно активних гетероциклічних сполук, зокрема етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат, який має протисудомну активність і може знайти застосування як протиепілептичний засіб (ПЕЗ).

Відомі ПЕЗ є похідними барбітурової кислоти (фенобарбітал, бензонал), гідантоїну (дифенін), сукциніміду (етосуксимід, морсуксимід), похідні бенздіазепіну (клоназепам), похідні найпростіших амінів та амідів (мідокалм, метиндіон, хлоракон) [1]. Недоліком ПЕЗ є спектр побічних ефектів (загальне пригнічення або збудження нервової системи, седативний, транквілізуючий, алергічний ефекти, порушення координації руху тощо) [2]. Враховуючи тривалість терапії епілепсії, очевидна необхідність виключення або зниження ступеня тяжкості побічної дії ПЕЗ. Тому пошук нових хімічних сполук, які мають виразну протисудомну активність на фоні низької токсичності, є актуальною проблемою медичної та фармацевтичної галузі.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нової хімічної сполуки, що виявлятиме високу протисудомну дію при низькій токсичності і може використовуватись як діюча речовина у складі фармацевтичних препаратів.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу індивідуальної хімічної сполуки етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату загальної формули:



що проявляє протисудомну дію.

Синтезована сполука є жовто-коричневим кристалічним порошком, розчинним в ДМФА, малорозчинним в оцтовій кислоті, спиртах і нерозчинним в етері та воді.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема спектроскопія ПМР та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність структури синтезованої сполуки заявленій.

Заявлений етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат отримують з високим виходом у результаті алкілювання етилхлорацетатом калієвої солі N-(тіазол-2-іл)-(2,4-тіазолідиндіон-5-іл)ацетаміду [3].

Пропонована корисна модель пояснюється ілюстраціями. На Фіг. 1 показано вплив фармакотерапії на число відтворених умовно-рефлекторних реакцій активного уникнення, де по осі абсцис I - контроль, II - етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат дозою 50,0 мг/кг, III - етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат дозою 100,0 мг/кг, IV-5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону дозою 50,0 мг/кг, V-5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону дозою 100,0 мг/кг, VI - леветирацетам дозою 15,0 мг/кг, VII - леветирацетам дозою 50,0 мг/кг, VIII - діазепам дозою 0,1 мг/кг, IX - діазепам дозою 0,5 мг/кг: по осі ординат - число відтворених УРАУ ($\#-P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (тест ANOVA + критерій Newman-Keuls). На Фіг. 2 проілюстровано динаміку латентного періоду за різних умов застосування фармакологічних препаратів Позначки: ті ж, що на Фіг. 1 ($\#-P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (тест ANOVA + критерій Newman-Keuls). На Фіг. 3 представлені показники пасивно-адаптивного плавання щурів за умов застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату, де по осі абсцис I - інтактні щури (контроль), II - кіндлінгові щури, III - застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 25,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно, IV - застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно, V - застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 100,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно, VI - застосування 5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону дозою 25,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно, VII - застосування 5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно, VIII - застосування 5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону дозою 100,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно; по осі ординат - число щурів, які демонстрували три і більше пасивно-адаптивних плавальних

рухів у відсотках до числа щурів в групі, яке було прийнято за 100 відсотків (*- $P < 0,05$ порівняно до показника в групі контролю; #- $P < 0,05$ - порівняно до показника в групі кіндлінгових щурів (критерій "z" порівняння двох пропорцій)). На Фіг. 4 продемонстрована плавальна поведінка щурів за умови сумісного застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату та акситинібу, де по осі абсцис I - інтактні щури (контроль), II - кіндлінгові щури, III - застосування акситинібу дозою 5,0 мг/кг та етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату дозою 25,0 мг/кг, IV - застосування акситинібу дозою 5,0 мг/кг та етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, V - застосування акситинібу дозою 5,0 мг/кг та сполуки Les-2658 дозою 25,0 мг/кг, VI - застосування акситинібу дозою 5,0 мг/кг та сполуки Les-2658 дозою 50,0 мг/кг; по осі ординат - число відтворених УРАУ (*- $P < 0,05$ порівняно до показника в групі контролю; #- $P < 0,05$ - порівняно до показника в групі кіндлінгових щурів (критерій "z" порівняння двох пропорцій).

Антиконвульсантну активність заявленої сполуки етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату та препарату порівняння сибазон вивчали відповідно до методичних рекомендацій з доклінічного вивчення лікарських засобів ДФЦ МОЗ України [4] у експерименті на моделі коразол-індукованих судом. Дослід проводили на 30 білих статевозрілих нелінійних мишах обох статей масою 18-25 г, котрі утримувались в стандартних умовах і були поділені на 3 групи: перша група - контрольна патологія, тваринам моделювали судомний стан шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення пентилентетразолу (коразолу) ("Sigma-Aldrich", США) дозою 90 мг/кг; друга група отримувала внутрішньоочеревинно розчин референс-препарату сибазон ("Здоров'я народу", Україна) дозою 10 мг/кг + коразол дозою 90 мг/кг; третій групі піддослідних тварин одноразово внутрішньоочеревинно вводили досліджувані сполуки у вигляді емульсії в твіну-80 дозою 50 мг/кг + коразол дозою 90 мг/кг. Досліджувані сполуки та референс-препарат вводили за 30 хв. до введення коразолу. Оцінку протисудомного ефекту здійснювали на основі тривалості латентного періоду розвитку судом, тривалості фази тоніко-клонічних судом, характеру судом та летальності. Перебіг судомного стану оцінювали за шкалою Геральда [5]. Достовірність результатів досліджень визначали з використанням статистичного методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та точного критерію Фішера для чотиріпольної таблиці. Узагальнені результати дослідження наведені в Табл. 1.

Таблиця 1

Вплив етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату та сибазону на перебіг судом, викликаних введенням коразолу у мишей ($M \pm m$, $n=10$)

Група	Тривалість латентного періоду, хв.	Тривалість судом, хв.	Летальність, абс. од., (%)	Характер судом, бали
Коразол (контроль)	4.3 ± 0.3	6.1 ± 0.8	10(100)	3.9
Сибазон	$8.6 \pm 0.2^*$	$0.5 \pm 0.1^*$	0*	0.2*
Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетат	$6.9 \pm 0.9^*$	$1.1 \pm 0.1^*$	2 (20)*	1.2*

Примітка: результат статистично вірогідний порівняно з контрольною групою ($P < 0.05$)

Згідно з результатами (Табл. 1) скринінгу протисудомної активності, етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату з достовірною вірогідністю ($P < 0.05$) збільшує тривалість латентного періоду відносно контрольної групи тварин на 60.5 %, спричинює відсутність візуально фіксованих судомних проявів, забезпечує повне виживання піддослідних тварин в експерименті та скорочення періоду тривалості судом до такого рівня, який демонструє референс-препарат. При введенні етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату практично відсутня судомна активність (характер судом 1.2 балів за шкалою Геральда). Аналіз отриманих даних свідчить про високу протисудомну активність етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату в умовах експерименту на моделі коразол-індукованих судом.

Дослідження протисудомного ефекту етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідип-3-іл]ацетату в умовах хронічної епілептизації мозку проводили з

використанням моделі коразол-індукованого кіндлінгу, яка відтворюється шляхом повторного застосування коразолу в підпороговій дозі, адекватно відтворює ознаки клінічних форм захв.орювання та дозволяє вивчати особливості різних за патогенезом форм епілептичного синдрому [6]. Експериментальне дослідження виконано в умовах гострого експерименту на 60 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-250 г, що утримувались за стандартних умов. Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат застосовували в двох дозах - 50,0 та 100,0 мг/кг, внутрішньоочередово за 30 хв. до введення коразолу. Кіндлінг відтворювали шляхом однократних щодобових введень субконвульсивної дози коразолу (30,0 мг/кг, внутрішньоочередово) протягом трьох тижнів [6]. Для спостережень використовували щурів, у яких три останні ін'єкції викликали генералізовані клоніко-тонічні судомні напади. Тяжкість судом оцінювали за п'ятибальною шкалою [6]. Виразність протисудомних впливів тестованих сполук порівнювали з ефектами лікарського препарату діазепам ("Гедеон Ріхтер", Угорщина), який вводили внутрішньоочередово, виходячи із розрахунку 0,05; 0,5 та 1,5 мг/кг, внутрішньоочередово за 30 хв. до застосування коразолу. Визначали число тварин з генералізованими судомними реакціями. Тваринам контрольної групи замість препаратів вводили аналогічний об'єм 0,9 % розчину NaCl.

Оцінку результатів досліджень проводили з використанням статистичних критеріїв - ANOVA+Newmann-Keuls, а також точного критерію Фішера для чотиріпольної таблиці. Узагальнені результати дослідження наведені в Табл. 2.

Таблиця 2

Динаміка показників коразол-провокованих кіндлінгових судом при використанні етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату та діазепаму

Дні	Коразол (контроль)		Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат				Діазепам					
	30,0 мг/кг		50,0 мг/кг		100,0 мг/кг		0,05 мг/кг		0,5 мг/кг		1,5 мг/кг	
	Тривалість латентного періоду (секунди), важкість судом (бали)											
1	260	0.3	270	0.2	280	0.1	250	0.3	290	0.1	300	0.1
3	170	0.6	230	0.5	270	0.3	230	0.4	270*	0.3*	260*	0.3*
5	140	1.1	220	0.7	240	0.6	160	1.2	230*	0.6	240*	0.5
7	120	1.4	160	1.4	180	1.0	130	1.6	190*	1.2	210*	0.9
9	110	2.2	150*	1.7	160*	1.5	120	2.3	160*	1.6	190*	1.1*
11	110	2.7	140*	1.8	150*	1.6	120	2.6	150*	2.1*	170*	1.3*
13	100	3.3	130*	2.2	150*	2.0	110	3.3	150*	2.5	160*	1.6*
15	100	3.6	120*	2.7	140*	2.3	110	3.7	140*	2.9*	160*	1.9*
17	90	4.1	120*	2.9*	140*	2.6*	110	3.9	140*	3.0*	160*	2.2*
19	80	4.3	120*	3.1*	140*	2.6*	100	4.1	130*	3.4*	160*	2.2*
21	80	4.5	110*	3.8	130*	2.7*	100	4.4	130*	3.6*	160*	2.5*

Примітка: результат статистично вірогідний порівняно з контрольною групою ($P < 0.05$)

Застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочередово супроводжувалось збільшенням латентного періоду перших судом після 9 застосувань епілептогену - на 25,4 % ($P < 0,05$) (Табл. 2). У більшій дозі (100,0 мг/кг, внутрішньоочередово) препарат викликав подовження латентності появи судом вже після третього застосування епілептогену, що становило 34,6 % у порівнянні до показника у групі контролю ($P < 0,05$). Достовірні відмінності в групах, порівняно до досліджуваного показника в контролі, зберігались до кінця спостереження, і після 21-го дня застосування коразолу збільшення латентності становило 22,2 % та 31,2 % ($P < 0,05$) відповідно. Важкість судом у групі із застосуванням етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочередово була достовірно меншою, у порівнянні до такої ж у контрольній групі після 11 застосувань епілептогену, - на 23,0 % ($P < 0,05$) (Табл. 2). У цей період часу в 2 щурів із 9 спостерігались клонічні судоми передніх кінцівок (три бали), у решти щурів тяжкість їх не перевищувала 2 бали. На тлі застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 100,0 мг/кг, внутрішньоочередово тяжкість судом вже після 9 застосувань епілептогену була меншою, у порівнянні до такої в контролі, на 30,9 %

($P < 0,05$). В цей період часу у половини щурів (4 з 8) реєструвались клонічні судоми м'язів тулуба (2 бали), а у решти - судомні здригання окремих груп м'язів. Достовірні відмінності між основними групами та контролем зберігались до кінця спостереження, і після завершення кіндлінгу (21-е введення коразолу) відмінності у порівнянні до контролю складали відповідно 24,4 % та 36,0 %. Причому в групі щурів із застосуванням препарату етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно у 4 із 9 щурів спостерігались генералізовані клоніко-тонічні напади, в той час як на тлі застосування вдвічі більшої дози препарату тільки в одного щура із 8 виникав генералізований судомний напад.

Визначення параметрів гострої токсичності сполуки проводили внутрішньоочеревним введенням досліджуваної сполуки безпородним білим мишам-самцям (вага 18-22 г), які знаходились на звичайному раціоні харчування (речовини суспендували у дистильованій воді з додаванням твіну-80). Значення параметру LD_{50} етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату є $534 \pm 69,0$ мг/кг. Розрахунки LD_{50} здійснювали за методом Літчфілда та Уілкоксона [7]. Отже, сполука відноситься до малотоксичних, згідно з класифікацією К.К. Сидорова [8].

Вивчення впливу етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату на показники навчання та процеси пам'яті проводили в тесті умовнорефлекторного активного уникнення (УРАУ) та проведення порівняльної оцінки з ефектами леветирацетаму (ЛВР) - протисудомного препарату, який не пригнічує когнітивну функцію [9], а також діазепаму, який викликає гальмівний вплив на формування активного уникнення в інтактних щурів [10]. Експериментальне дослідження виконано в умовах гострого експерименту на щурах-самцях (кількість 90) лінії Вістар масою 180-250 г, що утримувались за стандартних умов, на моделі УРАУ шляхом подразнення електричним струмом на електродній підлозі. Сполуку застосовували в двох дозах - 50,0 та 100,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно за 30 хв. до проведення УРАУ. Перед формуванням УРАУ всіх щурів попередньо тестували щодо визначення їх здатності до навчання [11]. Безумовне аверсивне подразнення шкіри лап експериментальних тварин електричним струмом проводили після попереднього ізолюваного впливу умовного подразника, як такий використовували звук фоностимулятора ("DX-системи", Харків) тривалістю 4 с. Для електричного подразнення використовували електричний струм частотою 50 Гц, силою від 0,5 до 1,0 мА. При індивідуальному визначенні сили струму орієнтувались на виникнення вокалізації та відсмикування кінцівок з відповідним руховим патерном. Інтервал між поданням умовного подразника та електрошкірним подразненням складав 2 с; максимальна тривалість кожного електрошкірного подразнення складала 4 с; інтервал між послідовними умовнорефлекторними подразниками складав 20 с. Умовний рефлекс вважався завершеним, коли експериментальна тварина переходила в суміжний відсік камери протягом 6 с після подання умовно-рефлекторного подразника. У кожного щура УРАУ виробляли протягом чотирьох днів шляхом подання 30 поєднань умовного та безумовного подразників щодобово. За критерій низької здатності до навчання було обрано неспроможність демонструвати більше 10 (із 30) виконань УРАУ, що була визначена у 20 % щурів, яких вибраковували та не використовували в подальших спостереженнях. В якості інформативних показників динаміки формування УРАУ у щурів визначали число уникнень, а також латентний період уникнення [12]. Крім того, в групах щурів також визначали збереження навички УРАУ, що здійснювали через 5 днів після останнього сеансу навчання. ЛВР (УСВ, Бельгія), вводили внутрішньоочеревинно в дозах 15,0 та 50,0 мг/кг за 30 хв. до тестування. Діазепам ("Здоров'я народу", ХФП, ВАТ, м. Харків, Україна) вводили внутрішньоочеревинно в дозах 0,1 та 0,5 мг/кг за 30 хв. до тестування. Щурам групи контролю за тих же умов застосовували розчин твіну-80. Достовірність результатів досліджень визначали з використанням статистичного методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та критерію Newman-Keuls.

Застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг супроводжувалось зростанням числа відтворених УРАУ в першу добу навчання, і число відтворених реакцій перевищувало на 14,4 % показник в групі контролю ($P < 0,05$), а дозою 100,0 мг/кг аналогічний показник на другу добу достовірно ($P < 0,05$) перевищував значення в групі контролю на 15,4 % (Фіг. 1), спостерігалось скорочення динаміки латентного періоду виникнення УРАУ, і наприкінці спостереження (4-а доба) його тривалість була на 16,6 % меншою ($98,1 \pm 5,7$ с), у порівнянні до такої в групі контролю ($P < 0,05$) (Фіг. 1). В той же час за умови застосування у дозі 100,0 мг/кг латентний період УРАУ був меншим, у порівнянні до групи контролю, в усі дні навчання, і його скорочення на першу та четверту доби складало 20,0 % ($P < 0,05$) та 24,1 % ($P < 0,05$) відповідно (Фіг. 2).

При дослідженні відтворення навички УРАУ (показників числа відтворених УРАУ та латентного періоду УРАУ) після п'ятидобової перерви було встановлено, що в групі щурів, яким вводили етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат дозою 100,0 мг/кг, латентний період виникнення УРАУ був меншим, у порівнянні до такого в групі контролю, на 24,2 % ($P<0,01$) (Табл. 3).

Таблиця 3

Показники числа відтворених УРАУ та динаміки латентного періоду їх виникнення після п'ятидобової перерви

Група	Число щурів в групі	Число відтворених УРАУ	Латентний період УРАУ
Контроль	10	19,3±1,5	129,6±8,9
Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат (50,0 мг/кг)	11	23,7±1,8	105,8±7,7
Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат (100,0 мг/кг)	12	21,7±1,4	98,2±6,5**
Леветирацетам (15,0 мг/кг)	9	23,5±1,3	108,4±5,5
Леветирацетам (50,0 мг/кг)	9	24,2±1,5*	103,5±6,0*
Діазепам (0,1 мг/кг)	10	20,9±1,5	110,7±8,3
Діазепам (0,5 мг/кг)	9	18,6±0,9	132,8±10,7

Примітка: * - $P<0,05$, ** - $P<0,01$ порівняно до показника в групі контролю (тест ANOVA + критерій Newman-Keuls)

Плавальний тест за методикою [13] дозволяє провести оцінку функціонального стану систем реалізації рухових програм, а також ефективності їх корекції на основі поточної аферентації. Дослідження плавальної поведінки кіндлінгових щурів при дії етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату, специфічного інгібітора тирозин-кінази акситинібу та ефективність сумісного застосування з акситинібом проводили за методом [13]. Басейн для вивчення плавальної поведінки представляв собою скляний циліндр висотою 45 см та діаметром 30 см, який був наповнений на дві третини водою при температурі 37 °С. Спостерігали характер плавання щурів протягом 6 хв. після їх розміщення в центрі басейну. По завершенні плавального тесту визначали здатність щурів до перемикавання на активно-адаптивні форми поведінки, для чого визначали інтенсивність зовнішнього подразника, який викликав у щурів цілеспрямований завершений поведінковий акт. З цією метою в басейн з водою опускали мотузку діаметром 1 см, яку було фіксовано на Г-подібному кронштейні висотою 65 см і якої було достатньо для втечі щура з води шляхом підйому по мотузці. Інтенсивність подразнення визначали за ступенем контакту з мотузкою. Застосовували наступну шкалу: 0 балів - щур здійснював підйом по мотузці після візуального контакту з мотузкою; 1 бал - те саме після контакту з мотузкою кінчиком морди; 2 бали - те саме після контакту кінчиком морди та передніми кінцівками; 3 бали - те саме після контакту з мотузкою всіма чотирма кінцівками; 4 бали - після контакту з мотузкою всіма кінцівками щур не здійснював підйому по мотузці. Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат застосовували в трьох дозах - 25,0; 50,0 та 100,0 мг/кг, внутрішньоочередово за 30 хв. до введення ПТЗ. Акситиніб ("Sigma Aldrich", США) використовували в дозах 5,0; 10,0 та 20,0 мг/кг, внутрішньошлунково, за 60 хв. до спостереження. Щурам групи контролю застосовували внутрішньоочередовинне та внутрішньошлункове введення 0,9 % фізіологічного розчину NaCl. Оцінку результатів досліджень проводили з використанням загальноприйнятих в медико-біологічних дослідженнях статистичних критеріїв - ANOVA+Newmann-Keuls, а також критерію "z" порівняння двох пропорцій.

За умов застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 100,0 мг/кг, внутрішньоочередовинно, плавальна поведінка щурів характеризувалась розвитком пасивних адаптивних рухових комплексів через 1,5-2,5 хв. з моменту їх розміщення в басейні з водою. Три і більше плавальних пасивно-адаптивних елементи спостерігались у 10 із 16 тварин, що достовірно вище від показника в групі щурів із кіндлінгом без лікування ($P<0,05$) і одночасно не відрізнялось від показника в групі інтактних щурів ($P>0,05$).

За умов сумісного застосування акситинібу та етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату в самостійно неефективних дозах 5,0 та 25,0 мг/кг відповідно число щурів із трьома і більше елементами пасивно-адаптивного плавання склало 6 із 9, що перевищувало показник в групі кіндлінгових щурів без лікування ($P < 0,05$) і не відрізнялось від показника в групі інтактних щурів ($P > 0,05$) (Фіг. 3, III). Подібний за виразністю результат спостерігався і за умови застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг при його комбінуванні із акситинібом дозою 5,0 мг/кг, коли досліджуваний показник склав 8 із 11 (Фіг. 3, IV). Застосування сполуки етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату дозою 50,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно супроводжувалось підвищенням здатності кіндлінгових щурів уникати басейн з водою: вдвічі, порівняно зі щурами з розвиненим кіндлінгом, зростало число щурів, які покидали басейн після контакту з мотузкою кінчиком морди та передніми кінцівками ($P < 0,05$) (Табл. 4).

Таблиця 4

Виразність уникнення басейну за різних умов застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату та акситинібу

	Число щурів в групі	Число щурів з різною виразністю в уникнення (бали)					Р порівняно до контролю (P_1) та кіндлінгу (P_2)
		0	1	2	3	4	
Інтактні(контроль)	15	-	9	5	1	-	
Кіндлінгові щури	16	1	-	2	6	7	$P < 0,001$
Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат (мг/кг, внутрішньоочеревинно)							
25,0	15	1	-	2	8	4	$P_1 < 0,001$; $P_2 > 0,05$
50,0	12	-	-	4	7	1	$P_1 < 0,001$; $P_2 = 0,023$
100,0	16	-	-	4	7	5	$P_1 > 0,05$; $P_2 < 0,01$
Акситиніб (мг/кг, внутрішньошлунково)							
5,0	11	1	-	2	5	3	$P_1 < 0,001$; $P_2 > 0,05$
10,0	10	-	1	3	5	1	$P_1 = 0,02$; $P_2 = 0,024$
20,0	10	-	2	5	-	-	$P_1 < 0,035$; $P_2 = 0,004$
Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат (мг/кг, в/очер) + акситиніб (мг/кг, внутрішньошлунково)							
25,0+5,0	9	-	1	6	2	-	$P_1 = 0,022$; $P_2 < 0,001$
50,0+5,0	11	-	5	5	1	-	$P_1 > 0,05$; $P_2 < 0,001$

Примітка: застосовано критерій "z"порівняння двох пропорцій

Однак, у порівнянні до групи контролю, зберігалась достовірно більш низька здатність уникати басейн з водою ($P < 0,001$). При застосуванні вдвічі більшої дози препарату у 5 із 16 щурів визначалась здатність уникати басейн після візуального контакту з мотузкою ($P < 0,01$) при одночасній відсутності відмінностей у порівнянні до групи контролю ($P > 0,05$). Сумісне застосування етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату та акситинібу в самостійно неефективних дозах (25,0 та 5,0 мг/кг відповідно) супроводжувалось збільшенням здатності кіндлінгових щурів уникати басейн з водою, яке у 1 із 9 щурів відбувалось після візуального контакту з мотузкою ($P < 0,001$). При цьому, однак, визначалась менша здатність до уникнення у порівнянні до групи контролю ($P < 0,05$). При комбінованому застосуванні етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату та акситинібу в дозах 50,0 мг/кг та 5,0 мг/кг відповідно у 5 із 11 щурів уникнення відбувалось після візуального контакту з мотузкою, а здатність до уникнення в групі була достовірно меншою у порівнянні до кіндлінгових щурів без лікування ($P < 0,001$) та не відрізнялась від такої у групі інтактних щурів ($P > 0,05$).

В результаті експериментального дослідження встановлено, що етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат демонструє виразну протисудомну активність в умовах моделі хронічного епілептогенезу, спровокованого повторним застосуванням кіндлінгових впливів коразолу. Протисудомний ефект сполуки спостерігався як на етапі відтворення моделі кіндлінгу, так і на фоні розвинених генералізованих кіндлінгових судом. Рівень протисудомної активності етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-

3-іл]ацетату при застосуванні в дозах 100,0 та 50,0 мг/кг є еквівалентним до ефекту діазепаму в дозах від 0,05 до 1,5 мг/кг. Заявлена сполука етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат проявляє протисудомну дію при низькій токсичності та не впливає на пам'ять і загальну рухову активність тварин. При застосуванні дозою 100 мг/кг етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат демонструє позитивний вплив на стадії навчання тварин і спричиняє підвищення відтворюваності УРАУ та скорочення латентного періоду реакцій уникнення та викликає ефект, еквівалентний дії ЛВР дозою 50,0 мг/кг за показниками числа відтворених УРАУ та динаміки латентного періоду їх виникнення після п'ятидобової перерви.

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетату.

1. Синтез калієвої солі N-(тіазол-2-іл)-(2,4-тіазолідиндіон-5-іл)ацетаміду.

Суспензію 1,51 г (5,9 ммоль) N-(тіазол-2-іл)-(2,4-тіазолідиндіон-5-іл)ацетаміду в 10 мл метанолу обробляють 0,4 г (7,0 ммоль) гідроксиду калію в 6 мл метанолу. Через 2 години осад, який утворився, відфільтровують, промивають спиртом та ефіром. Вихід 93 %. Жовто-коричневий кристалічний порошок. $T_{\text{топл}}=224-225^{\circ}\text{C}$.

2. Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)стіл]тіазолідин-3-іл]ацетату. Суміш 6,0 г (0,02 ммоль) калієвої солі N-(тіазол-2-іл)-(2,4-тіазолідиндіон-5-іл)ацетаміду, 0,03 ммоль етилхлорацетату та декілька кристалів йодиду калію кип'ятять 5 годин в 40 мл етанолу. Реакційну суміш розводять водою. Продукт реакції відфільтровують, промивають водою, спиртом та ефіром. Перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:1). Вихід 70 %. Жовтий кристалічний порошок. $T_{\text{топл}}=201-202^{\circ}\text{C}$. $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$, Знайдено, %: С 42,00, Н 3,90, N 12,40; Вирахувано, %: С 41,97, Н 3,82, N 12,24. ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6), δ , м.ч.: 1.30 (т, 3Н, CH_3), 3.30 (дд, 1Н, CH_2 , $J_{\text{AM}}=17.8$ м.ч.), 4.00 (дд, 1Н, CH_2 , $J_{\text{AX}}=10.7$), 4.20 (кв, 2Н, CH_2), 4.40 (с, 2Н, CH_2), 5.50 (м, 1Н, CH , $J_{\text{MX}}=3.0$ м.ч.), 7,53 (д, 1Н, $J=2.30$ Гц,), 7,73 (д, 1Н, $J=2.30$ Гц,), 12,80 (шс, 1Н, NH).

Джерела інформації:

1. Мамчур В.І. Сучасний погляд на фармакологію протиепілептичних засобів/ В.І. Мамчур, В.І. Опришко, О.О. Нефьодов.// Одеський медичний журнал. - 2006. - № 1. - С.85-95.

2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2 т. -М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2002. - Т. 1,2.

3. Лесик Р.Б. Синтез 3-заміщених N-(тіазол-2-іл)-(2,4-тіазолідиндіон-5-іл)ацетамідів як потенційних біологічно активних сполук// Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. Збірник наукових статей. Випуск XII. - Т. 1. - Запоріжжя, - 2004. - С. 42-46.

4. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів/ Методичні рекомендації. - Київ: Авіцена, 2001. - 527 с.

5. Gerald M.C. Acute and chronic effects of d-and l-amphetamine on seizure susceptibility in mice/ M.C. Gerald, W. H. Riffe// Eur. J. Pharmacol. - 1973. - № 21 (3). - P. 323-330.

6. Шандра А.А. Киндлинг и эпилептическая активность/ Под ред. Шандра А.А., Годлевский Л.С., Бруснецов А.И. - Одесса: Акстро Принт, 1999. - 274 с.

7. Litchfield J.J. A simplified method of evaluating dose-effect experiments/ J.J. Litchfield, F. Wilcoxon// J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1949. - Vol. 96. - P. 99-103.

8. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения/ К.К. Сидоров// Токсикология новых промышленных химических веществ. - 1973. - № 13. - С. 47-51.

9. Neurocognitive effects of brivaracetam, levetiracetam, and lorazepam/ K.J. Meador, A.Gevins, P.T. Leese et al.// Epilepsia. - 2011. - Vol. 52. - № 2. - P. 264-272.

10. The effects of flumazenil on two way active avoidance and locomotor activity in diazepam-treated rats/ T.Celik, T.Deniz, T.Uzday, H.Ayhan// European Neuropsychopharmacology. - 1999. - Vol. 9. - № 1-2. - P. 45-50.

11. Влияние буфотина и гутимины на выработку и сохранность условного рефлекса активного избегания у крыс линии Wistar/ А.А. Миронов, В.Н. Крылов, И.В. Мухина, О.П. Тихобразова// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. - 2007. - № 6. - С. 124-128.

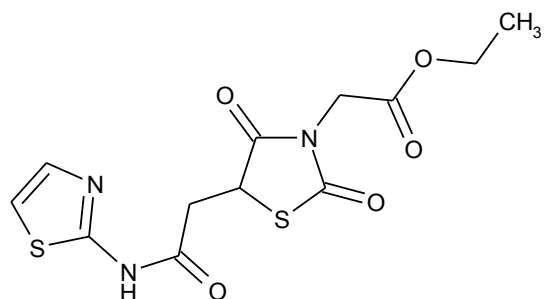
12. Выработка реакции активного избегания у крыс и морфологические изменения в гиппокампе при пентилентетразоловом киндлинге/ А.Б. Гехт, Н.В. Гуляева, М.Ю. Степаничев, Т.В. Павлова// Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2009. - N 2. - С. 213-220.

13. Vrijmoed-de Vries M.C. Differential effects of striatal injections of dopaminergic, cholinergic and GABAergic drugs upon swimming behavior of rats/ M.C.Vrijmoed-de Vries, A.R. Cools// Brain Res. - 1986. - Vol. 364. - № 1. - P. 77-90.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Етил-2-[2,4-діоксо-5-[2-оксо-2-(тіазол-2-іламіно)етил]тіазолідин-3-іл]ацетат загальної формули:



10

який має протисудомну активність.

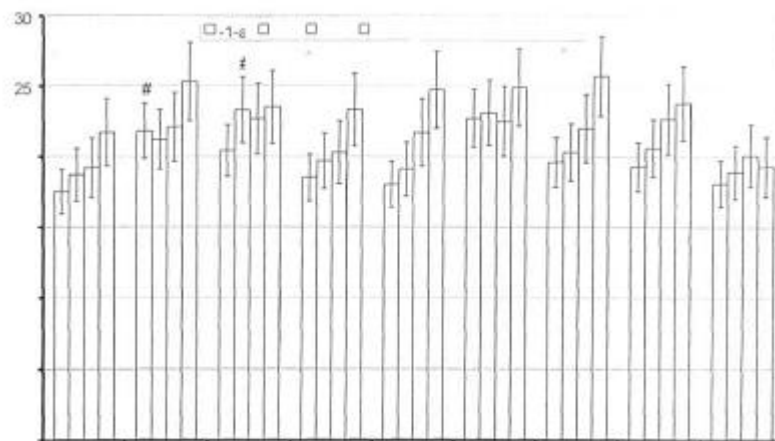


Fig. 1

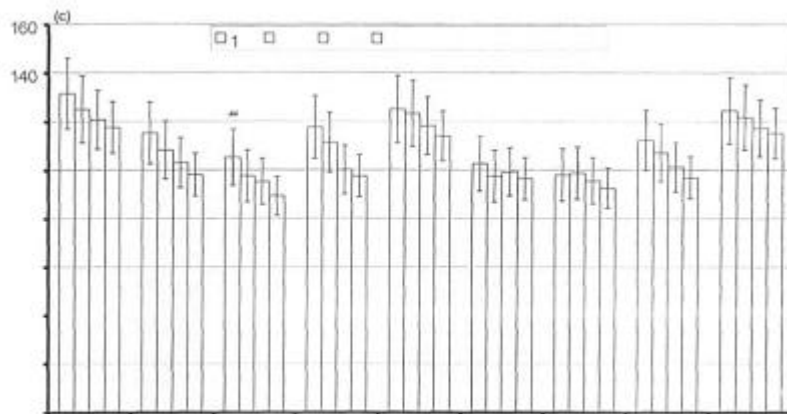


Fig. 2

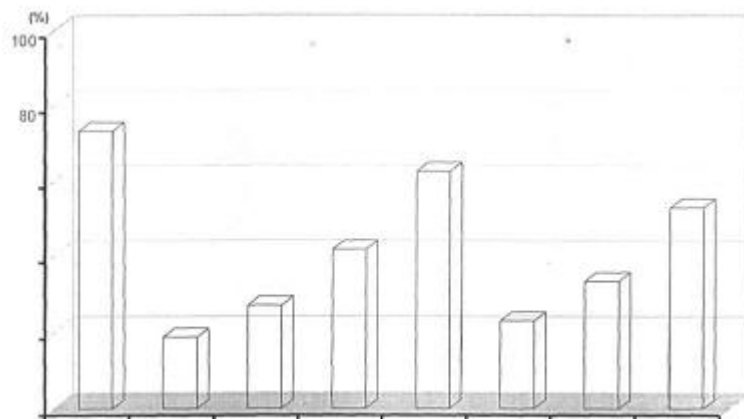


Fig. 3

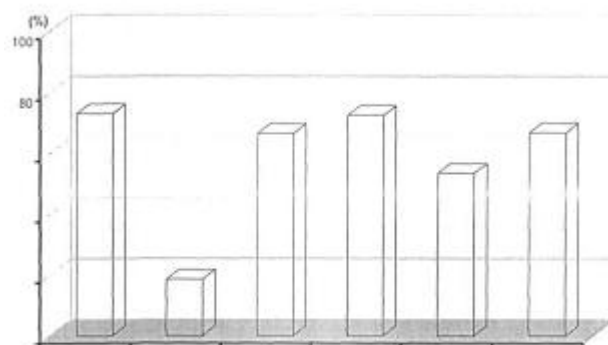


Fig. 4

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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