

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме до гетериламідів сукцинової кислоти і може бути використаний в якості біологічно активної субстанції з антигіпоксичною, протизапальною та діуретичною активністю.

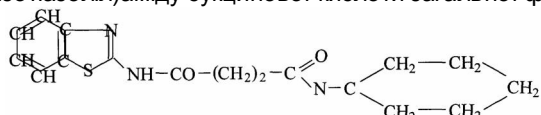
Найближчим аналогом за структурою та дією до заявленої сполуки є мексідол [Кузнецов Н.А., Родоман Г.В., Лаберко Л.А., Игнатенко С.Н., Коротаев А.Л., Мальгина Н.В., Сумеди И.Р. Методические рекомендации по применению препарата мексидол в комплексном лечении больных с острым панкреатитом. - М.: Росс. гос.мед.универс. - 2003. - С.5-8]. За хімічною структурою мексідол є похідним 3-оксипіридину, має сіль янтарної кислоти (сукцинат) та відноситься до групи синтетичних антигіпоксантів. Мексідол має широкий спектр фармакологічної активності (антигіпоксичну, антиоксидантну, протишемічну та ін.) й ефективний при різних видах гіпоксії.

Завдяки широкому спектру фармакологічних ефектів мексідол впливає на основні ланки патогенезу різних захворювань, пов'язаних із процесами вільно-радикального окислення і киснезалежними патологічними станами, тому його застосовують при гострих порушеннях мозкового кровообігу, дисциркуляторній енцефалопатії, вегетососудинній дистонії, атеросклеротичних порушеннях функцій мозку, при інших станах, які супроводжуються гіпоксією тканини [Лукьянова Л. Д., Атабаева Р.Е., Шепелева С.Ю. Биознергетические механизмы 3-оксипиридина мексидола // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1993. - Т.115, №3. - С.259-260].

До недоліків відомого засобу можна віднести появу у деяких хворих нудоти та сухості у роті, його протипоказаннями є порушення функцій печінки та нирок, а також наявність в анамнезі алергії до піридоксину [Машковский В.Д. Лекарственные средства: В 2т. Т.2. - 14-е изд. перераб. испр. и доп. - М.:ООО «Издательство Новая Волна», 2002. - С.186-187.].

Завданням винаходу є одержання нового нетоксичного засобу з антигіпоксичною, протизапальною і діуретичною активністю та здатністю нормалізації енергетичного обміну.

Поставлене завдання вирішується шляхом одержання нової індивідуальної сполуки циклогексиламід 2-(1,3-бензотіазоліл)аміду сукцинової кислоти загальної формули



яка проявляє антигіпоксичну, протизапальну і діуретичну активність та нормалізує енергетичний обмін.

Заявлену сполуку одержують шляхом взаємодії (0,01моль) N-2(1,3-бензотіазоліл) сукциніміду і (0,01моль, 98г) циклогексиламіну та 30мл ацетону, суміш кип'ятять 30 хвилин зі зворотним холодильником. Осад, який випадає, фільтрують та сушать. Вихід 262,3г, 79% кристалізують із оцтової кислоти. Тпл. 196-198°. Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. Антигіпоксичну активність заявленої сполуки з умовною назвою „тіазоліламідетан" досліджували при моделюванні гострої гіпоксичної гіпоксії, яку відтворювали, розміщуючи тварин у гермокамері обсягом 250мл, та оцінювали за тривалістю життя тварин. Досліди проводили на білих нелінійних мишах-самцях масою 20±2г. Тіазоліламідетан і препарат порівняння мексідол вводили у вигляді водяного розчину чи тонкодисперсної водяної суспензії, стабілізованої твіном-80 внутрішньочеревно однократно в дозі, еквімолярній дозі мексідолу (ЕД<sub>50</sub> мексідолу=100мг/кг чи 392,1мкмоль/кг) за 30 хвилин до початку експерименту. Кожну досліджувану речовину вивчали на шести тваринах. Контрольні тварини аналогічним шляхом одержували ізотонічний розчин натрію хлориду і твін-80. Результати експерименту наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення антигіпоксичної активності тіазоліламідетану у порівнянні з мексідолом

| Предмет дослідження | Доза, мкмоль/кг внутрішньочеревно | Тривалість життя тварин, що загинули в умовах гіпоксичної гіпоксії |               |
|---------------------|-----------------------------------|--|---------------|
|                     |                                   | хв. (M ± m)  | % до контролю |
| Тіазоліламідетан    | 392,1                             | 97,01 ± 2,03   | 264,7         |
| Мексідол            | 392,1                             | 91,20 ± 1,30   | 242,8         |
| Контроль            | —                                 | 26,6 ± 1,21  | —             |

Отримані дані свідчать про те, що антигіпоксична активність тіазоліламідетану складає 264,7% по відношенню до контролю та перевершує препарат порівняння на 21,9%.

Експериментальні дані, які отримані при подальшому дослідженні тіазоліламідетану на різних видах гострих і хронічних видів гіпоксії, дозволили встановити, що його антигіпоксична активність обумовлена здатністю стабілізувати клітинні мембрани, поліпшувати доставку кисню тканинам та зменшувати чутливість тканин до його недостатку, оптимізувати тканинне дихання в умовах кисневого дефіциту, нейтралізувати продукти метаболічного ацидозу, посилювати гемоглобіноутворення і збільшувати кількість еритроцитів.

Приклад 2. Протизапальну активність встановлювали шляхом дослідження антиексудативного та анальгетичного ефектів тіазоліламідетану.

Антиексудативний ефект вивчали на моделі гострого карагенінового запалення, субплантарним введенням в одну з лапок миші 0,05мл 1% розчину карагеніну. Тіазоліламідетан та препарат порівняння вольтарен вводили у шлунок однократно у вигляді водного розчину або тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, за одну годину до моделювання запалення в дозах, еквімолярних ефективній дозі препарату порівняння - вольтарену (ЕД<sub>50</sub>=8мг/кг або 26мкмоль/кг). Контрольна група тварин отримувала розчин натрію хлориду і твін-80 у відповідних дозах. Ефект кожної речовини, яку досліджували, вивчали на шести тваринах. Антиексудативну дію речовини оцінювали по здатності інгібувати розвиток набряку лапок у мишей до моменту максимального його

прояву у тварин (через 3 години після введення карагеніну). Антиексудативний ефект досліджуваних субстанцій розраховували у відсотках стосовно контролю за формулою:

$$A = 100\% - \frac{(V_{oe} - V_{ze})}{V_{oh} - V_{zk}} \times 100$$

де A - антиексудативна дія, %;

$V_{oe}$  - об'єм набряклої лапки в експерименті;

$V_{ze}$  - об'єм здорової лапки в експерименті;

$V_{oh}$  - об'єм набряклої лапки в контролі;

$V_{zk}$  - об'єм здорової лапки в контролі.

У всіх експериментах об'єм лапок визначали в % до контролю.

Анальгетичний ефект досліджували на експериментальній моделі "гарячої пластини", що дозволяє оцінювати здатність досліджуваних речовин підвищувати поріг больової чутливості в порівнянні з контролем. Досліди проводили на білих нелінійних мишах масою  $20 \pm 2$  г. Заявлену сполуку та препарат порівняння анальгін вводили перорально за одну годину до експерименту в дозах, еквімолярних ефективній дозі анальгін (ЕД<sub>50</sub>=55мг/кг або 156мкмоль/кг). В якості подразника використовували укріплену в ультратермостаті металеву пластину з  $t=54,6^{\circ}\text{C}$ , на яку розміщували тварину та спостерігали за її поведінкою (облизування лапок, виплигування, писк). Обчислювали час відповідної реакції в сек. Визначення змін початкового порогу больової чутливості експериментальних тварин (по шість тварин) порівнювали з контролем та виражали в % за формулою:

$$AA = \frac{\Delta T_e - \Delta T_k}{\Delta T_k} \times 100\%$$

де AA - анальгетична активність, %;

$\Delta T_o$  - різниця в латентному періоді відповідної реакції в групі експериментальних тварин "до" і "після" уведення потенційних ненаркотичних анальгетиків;

$\Delta T_k$  - різниця в латентному періоді відповідної реакції в групі експериментальних тварин "до" і "після" уведення подразника.

Показники протизапальної активності тіазоліамідетану наведені у таблицях 2 і 3.

Таблиця 2

Вивчення антиексудативного ефекту тіазоліамідетану у порівнянні з вольтареном

| Досліджувана сполука | Доза, мкмоль/кг | Приріст об'єму лапки через 3 години, мм ( $M \pm m$ ) | Пригнічення запального набряку, % від контролю (A) |
|----------------------|-----------------|---|--|
| Вольтарен            | 26,0            | $0,21 \pm 0,064$                                      | 51,1   |
| Тіазоліамідетан      | 26,0            | $0,198 \pm 0,06$                                      | 53,8   |

Примітки: результати, які отримані в контролі прийняті за 100%.

Таблиця 3

Вивчення анальгетичного ефекту тіазоліамідетану у порівнянні з анальгіном

| Досліджувана сполука | Доза, мкмоль/кг | Больовий поріг, сек ( $M \pm m$ ) | Анальгетична дія (AA), % |
|----------------------|-----------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Тіазоліамідетан      | 156,0           | $7,28 \pm 0,22^*$                 | 20,8                     |
| Контроль             | —               | $5,86 \pm 0,24$                   | —                        |
| Анальгін             | 156,0           | $8,68 \pm 0,28^*$                 | 48,0                     |

Примітки:

1. результати, які отримані в контролі прийняті за 100%;
2. \*  $p < 0,05$  по відношенню до контролю.

Як показали дослідження, тіазоліамідетан володіє вираженою антиексудативною дією на рівні вольтарену, та помірною анальгетичною дією, яка дорівнює 50% активності анальгін. Отримані дані дозволяють зробити висновок про високу протизапальну активність заявленої сполуки.

Приклад 3. Діуретичну активність заявленої сполуки визначали за методом Берхіна Є.Б. Дослідження проводили на білих нелінійних пацюках-самцях масою  $190 \pm 30$  г у порівнянні з фуросемідом. Досліджувані речовини вводили одноразово внутрішньошлунково у вигляді водяного розчину чи тонкодисперсної водяної суспензії, стабілізованої твіном-80, у дозах, еквімолярних дозі фуросеміду (ЕД<sub>50</sub>=40мг/кг чи 120мкмоль/кг) на фоні водяного навантаження (25мл/кг). Отримані результати порівнювали з даними контрольної групи тварин. Показником інтенсивності сечовиділення була кількість сечі, яка виділена тваринами за 2 і 4 години. Кількість сечі, виділеної контрольною групою тварин, приймали за 100%. Контрольній групі тварин у тім же обсязі вводили ізотонічний розчин натрію хлориду і твіну-80. Кожну дозу досліджували на шести тваринах. Результати діуретичної активності тіазоліамідетану наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Діуретична активність тіазоліламідетану у порівнянні з фуросемідом

| Досліджувана сполука | Доза, мкмоль/кг | Діурез           |               |                  |               |
|----------------------|-----------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
|                      |                 | через 2г         |               | через 4г         |               |
|                      |                 | мл ( $M \pm m$ ) | % до контролю | мл ( $M \pm m$ ) | % до контролю |
| Тіазоліламідетан     | 120,0           | $6,9 \pm 0,3$    | 388,3         | $12,7 \pm 0,2$   | 383,8         |
| Контроль             | —               | $1,8 \pm 0,2$    | 100,0         | $3,3 \pm 0,1$    | 100           |
| Фуросемід            | 120,0           | $6,9 \pm 0,1$    | 390,3         | $12,8 \pm 0,4$   | 394,1         |

Як видно з таблиці 4, тіазоліламідетан володіє вираженою діуретичною активністю на рівні препарату порівняння і через дві і через чотири години.

Приклад 4. Здатність нормалізувати енергетичний обмін тіазоліламідетану досліджували при моделюванні гіпобаричної гіпоксії та оцінювали за показниками вмісту глікогену, глюкози, лактату, креатинфосфату та АТФ в тканинах, заморожених у рідкому азоті відразу після спуску тварин з висоти. Експерименти проведені на білих щурах-самцях масою 160-180г (по 10 тварин у кожній групі). Дослідним групам мексідол і тіазоліламідетан вводили внутрішньоочеревинно за 30 хвилин до моделювання даного виду гіпоксії в  $DE_{50}$  100мг/кг і 18,6мг/кг маси тіла відповідно. Ці дози забезпечували максимальне виживання щурів при критичній гіпоксії. Контрольним тваринам вводили в рівному обсязі 0,9% розчин NaCl. Умови досліді відповідали розрідженій атмосфері на різній висоті: при визначенні виживання тварин - 10000м, при вивченні метаболізму органів - 8000м, імітація швидкості піднімання - 50м/с, тривалість експозиції - 30 хвилин. Результати експерименту наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Вплив тіазоліламідетану на енергетичний обмін в серці пацюків у порівнянні з мексідолом

| Група тварин                | ПОКАЗНИКИ            |                   |                      |                          |                      |
|-----------------------------|----------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
|                             | Глікоген, мг/г       | Глюкоза, мкмоль/г | Лактат, мкмоль/г     | Креатин-фосфат, мкмоль/г | АТФ, мкмоль/г        |
| Інтактна                    | $9,73 \pm 1,04$      | $4,03 \pm 0,45$   | $4,66 \pm 0,20$      | $5,65 \pm 0,62$          | $6,25 \pm 0,56$      |
| Гіпоксія                    | $4,04 \pm 0,69^*$    | $4,15 \pm 0,30$   | $7,58 \pm 0,73^*$    | $2,87 \pm 0,51^*$        | $4,43 \pm 0,48^*$    |
| Мексідол+гіпоксія           | $6,41 \pm 0,70^{**}$ | $4,24 \pm 0,27$   | $4,38 \pm 0,49^{**}$ | $5,04 \pm 0,15^{**}$     | $5,99 \pm 0,41^{**}$ |
| Тіазоліламідетан + гіпоксія | $6,22 \pm 0,58^{**}$ | $4,18 \pm 0,18$   | $4,34 \pm 0,42^{**}$ | $5,01 \pm 0,13^{**}$     | $5,99 \pm 0,40^{**}$ |

Примітка:  $p < 0,05$ ; \* - в порівнянні з інтактною групою;

\*\* - в порівнянні з контрольною групою (гіпоксія).

Отримані дані свідчать про те, що тіазоліламідетан як і препарат порівняння, в ефективних дозах коригував порушення метаболізму в серцевому м'язі. У захищених препаратами тварин вміст глікогену в міокарді був значно вищим, а концентрація лактату нижчою, ніж у контрольній групі. Високим виявився вміст креатинфосфату та АТФ в серці. Практично однакове підвищення концентрації глюкози в серці щурів дослідної групи в порівнянні з контрольною поряд з меншим зниженням вмісту глікогену і меншим приростом концентрації лактату свідчили про можливість активації препаратами процесу гліоконеогенезу. За рахунок вище означеної біологічної дії тіазоліламідетан і мексідол нормалізували мітохондріальне окисне фосфорилування, внаслідок чого підвищувалася резистентність серця до нестачі кисню, перешкоджався розвиток глибоких порушень енергетичного обміну та виражений ацидоз. Отже, тіазоліламідетан можна віднести до коректорів енергетичного обміну.

Додатково були досліджені показники гострої токсичності заявленої сполуки при різних шляхах введення у порівнянні з мексідолом. Останній поступається за токсичністю та ефективною дозою заявленій сполуці (середньосмертельна доза заявленої сполуки при внутрішньоочеревинному введенні пацюкам -  $1583,3(1425,8 \div 1704,8)$ мг/кг, а мексідолу  $405(367,2 \div 442,8)$ мг/кг маси тіла, при внутрішньошлунковому введенні середньосмертельную дозу дослідної сполуки пацюкам і мишам установити не вдалося, а  $LD_{50}$  мексідолу при внутрішньошлунковому введенні щурам становить  $4944,4(4697,2 \div 5191,6)$ мг/кг; такі результати дозволяють віднести нову сполуку до практично нетоксичних речовин або V класу токсичності, тоді як мексідол відноситься до малотоксичних речовин або IV класу токсичності. Ефективна доза нової сполуки є 18,6мг/кг, мексідолу 100мг/кг). Терапевтичний індекс, який характеризує широту терапевтичної дії, у циклогексиламід 2-(1,3-бензотіазоліл)аміду сукцинової кислоти в 4,09 разів більше, ніж у мексідолу.

Таким чином, циклогексиламід 2-(1,3-бензотіазоліл)аміду сукцинової кислоти володіє вираженими антигіпоксичною, протизапальною і діуретичною активностями та нормалізує енергетичний обмін при низькій токсичності. Його легко отримувати в промислових умовах. За спектром фармакологічної активності заявлена сполука може виступати в ролі потенційного антигіпоксанта.