



УКРАЇНА

(19) UA (11) 59792 (13) U

(51) МПК

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОЛУКА З АНТИОКСИДАНТНОЮ І АНТИГІПОКСИЧНОЮ ДІЄЮ

1

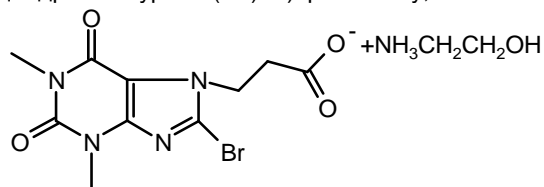
2

(21) u201015129

(22) 15.12.2010

(24) 25.05.2011

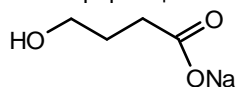
(46) 25.05.2011, Бюл. № 10, 2011 р.

(72) КОРОБКО ДМИТРО БОРИСОВИЧ, ОЛІЙНИК  
ОЛЕКСАНДР ВАЛЕНТИНОВИЧ, ПОСОХОВА КА-  
ТЕРИНА АНДРІЙВНА, ОВСЄЄНКО КАТЕРИНА  
ОЛЕКСАНДРІВНА, МАРУЩАК МАРІЯ ІВАНІВНА(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО(57) Сполука, що являє собою амонійну сіль 2-  
оксіетил 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-  
дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропаноату,

і проявляє антиоксидантну й антигіпоксичну дію.

Корисна модель стосується синтезу органічних сполук гетероциклічної будови та фармацевтичної галузі, зокрема, одержання і застосування нових біологічно активних речовин, у тому числі в формі лікарського засобу з антиоксидантною та антигіпоксичною дією.

Відома сполука з антигіпоксичною дією, наприклад, натрію оксibuтират [1]. Хімічна формула активного фармацевтичного інгредієнту:



або

HO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-COONa.

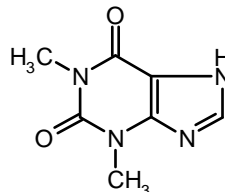
Систематизовані назви: натрію 4-гідроксибутират, натрієва сіль γ-оксимасляної кислоти.

Антигіпоксична дія натрію оксibuтирату обумовлена його позитивним впливом на біоенергетику клітин, що сприяє більш економічному використанню циркулюючого в крові кисню та поліпшенню його утилізації. Натрію оксibuтират підвищує стійкість організму до кисневої недостатності.

Недоліком відомої субстанції є здатність індукувати в організмі значні побічні ефекти, а саме у вигляді проявів седативної і центральної міорелаксанта дії, через що використання великих доз призводить до стану наркозу. Натрію оксibuтират застосовується в анестезіологічній практиці як

неінгаляційний засіб для наркозу. Щодо обліку і зберігання, вказана сполука відноситься до групи психотропних речовин, обіг яких обмежено і стосовно яких допускаються виключення деяких заходів контролю. До того ж, прийом натрію оксibuтирату протягом тижня і довше призводить до виникнення психічної залежності, в силу чого його використовують наркомани під назвою «рідкий екстазі», а тому застосування натрію оксibuтирату, як антигіпоксанта, є обмеженим.

Відома також сполука формули



яка є похідною пурину, алкалоїду гетероциклічної будови рослинного походження. Систематичні назви: 1,3-диметилксантин, 1,3-диметил-1Н-пурин-2,6 (3Н,7Н)-діон. Ця речовина є субстанцією лікарської речовини - теофіліну, проявляє кардіотонічні та діуретичні властивості, в силу чого застосовується для лікування хворих на бронхіальну астму і хронічне обструктивне захворювання легень, особливо при застійних явищах серцевого й ниркового походження [2].

(13) U

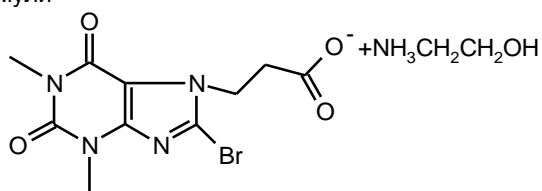
(11) 59792

(19) UA

Недоліком відомої сполуки слід визнати можливий розвиток при її застосуванні резистентних до лікування аритмій, які нерідко призводять до смертельних наслідків. До того ж, призначення теофіліну протипоказане при гіперфункції щитовидної залози, гострому інфаркті міокарду, судомних станах.

В основу корисної моделі поставлено завдання створити сполуку з антиоксидантною і антигіпоксичною дією шляхом синтезу відповідного похідного 1,3-диметилксантину, який би забезпечував терапевтичний ефект при одночасному зменшенні ймовірності розвитку побічних негативних явищ.

Поставлена задача вирішується застосуванням сполуки на основі синтезованої амонійної солі 2-оксіетил 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропаноату (КД-235) формули



яка проявляє антиоксидантну й антигіпоксичну активність.

Вказана сполука одержується нагріванням еквімолярних кількостей 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропаної кислоти і 2-аміноетанолу в етанолі 96 % з наступним використанням ацетону, а 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропанову кислоту синтезують алкілюванням 8-бромо-1,3-диметил-1Н-пурин-2,6 (3Н,7Н)-діону кислотою 3-бромпропіоною в середовищі диметилформаміду за присутності подвійного надлишку натрію гідрогенкарбонату. Синтезована сполука - білий кристалічний порошок, розчинний у воді та малорозчинний в етанолі 96 % і нерозчинний в ацетоні з  $T_{\text{плавл}} 235 \div 236^\circ\text{C}$ .

Для доказу складу і структури проміжної речовини та цільового продукту реакції (КД-235) були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема, ЯМР  $^1\text{H}$ -спектроскопія та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленим.

Визначення антиоксидантної й антигіпоксичної активності амонійної солі 2-оксіетил 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропаноату (КД-235) здійснювали наступним чином. Порівняльний аналіз антигіпоксичної дії натрію оксидутирату, теофіліну та сполуки КД-235 здійснено на моделі гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) на щурах [3]. Дослідження

були проведені на 80 статевозрілих білих щурах, масою  $200 \pm 15$  г. Для «чистоти» експерименту тварини були умовно поділені за рівнем чутливості до гіпоксії. Оскільки в популяції було виявлено найбільше середньочутливих до гіпоксії щурів, то подальші дослідження виконувались саме на них.

Попередньо лабораторну тварину переводили на штучну вентиляцію легень (ШВЛ) через трахеостому, користуючись апаратом ШВЛ «Бриз». При цьому дихальний об'єм встановлювали на рівні 3 мл при частоті дихання 100 на хвилину, для чого під кетаміновим наркозом виділяли трахею та вводили інтубаційну трубку. Надалі, кожному із 20 щурів упродовж 4 днів вводили внутрішньоочеревинно натрію оксидутират у дозі 10 мг/кг, 20 щурам - теофілін внутрішньоочеревинно в дозі 1 мг/кг, та ще 20 щурам - сполуку КД-235 у дозі 5 мг/кг. На 4 день у кожній лабораторній тварині (в усіх групах щурів) моделювали ГРДС, для чого в трахею вводили 0,1 моль/л розчин кислоти хлоридної в дозі 0,5 мл/кг, після чого проводили лікувальну ШВЛ протягом 2-х годин. У кожній тварині визначали ступінь насичення гемоглобіну киснем артеріальної крові за допомогою пульсоксиметра «Ютас» та венозної - за допомогою оксиметра «Unistat». Частоту серцевих скорочень реєстрували за допомогою електрокардіографа. Визначали величину споживання кисню тваринами -  $\text{VO}_2$  і обчислювали показник доставки кисню до тканин -  $\text{DO}_2$ , обраховували ступінь легеневої гіпоксії (СЛГ), ступінь циркуляторної гіпоксії (СЦГ) та інтегрального показника кисневої недостатності (ІПКН) за методом В. В. Гнатіва, визначали величину внутрішньо легеневого шунтування крові [4-7]. Про стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та системи антиоксидантного захисту судили за вмістом малонового діальдегіду (МДА), діє-нових кон'югатів (ДК), триє-нових кон'югатів (ТК), сульфгідрильних груп (SH-груп), супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах і активності каталази за загальноприйнятими методами.

Результати виконаних досліджень наведені в таблиці.

Із наведених у таблиці даних видно, що ініціація ГРДС у щурів призводить до достовірних змін більшості показників й, перш за все, сатурації венозної крові, як найінформативнішого при дослідженні гіпоксії [8]. Так, на фоні ГРДС цей показник, порівняно з інтактними тваринами, зменшується в 1,86 рази. Споживання кисню щурами на фоні ГРДС зросло в 1,45 рази ( $P < 0,001$ ), а ІПКН збільшився на 11,8 %. Внутрішньолегеневий шунт при ГРДС збільшився у 2,38 рази порівняно з інтактними тваринами ( $P < 0,001$ ).

Таблиця

Стан кисневого обміну, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту в щурів на фоні експериментального ГРДС

Визначувані показники	Здорові щурі середньочутливі	ГРДС, 30 хв. -2 год після ініціації	ГРДС, натрію оксидутират 10 мг/кг, 2 год після ініціації	ГРДС, теофілін, 1 мг/кг, 2 год після ініціації	ГРДС, КД-235, 5 мг/кг, 2 год після ініціації
SaO <sub>2</sub> , %	97,0±1,5	70,0±1,4	76,5±1,4	78,2±0,8	78,2±1,4
SvO <sub>2</sub> , %	60,0±1,6	32,2±2,0	45,2±2,2	42,1±0,4	51,1±2,2
ХО, мл	71,0±3,6	86,0±4,8	82,0±3,6	84,0±2,6	84,2±0,56
ЧСС, уд/хв.	355,5±26,4	430,5±32,6	420,8±42,2	432,4±26,4	416,6±36,4
DO <sub>2</sub> , мл/хв/100г	9,28±1,64	7,11±0,65	7,66±0,55	7,69±0,41	7,81±0,51
VO <sub>2</sub> , мл/хв/100г	1,87±0,10	2,72±0,18	1,95±0,12	2,15±0,11	1,90±0,10
VO <sub>2</sub> / DO <sub>2</sub> , %	20,15±0,11	38,26±0,42	25,46±0,11	27,96±0,55	24,36±0,21
Шунтування, мл/хв.	6,5±0,5	15,5±0,4	10,8±0,4	10,4±0,6	10,2±0,8
СЛГ, %	0,0±0,0	29,2±1,4	22,4±0,2	20,2±0,2	20,4±1,4
СЦГ, %	0,0±0,0	-17,4±1,2	-18,3±0,1	-17,1±0,6	-17,1±0,9
ІПКН, %	0,0±0,0	11,8±1,0	4,1±0,3	3,1±0,2	3,3±0,2
Каталаза, мкат/л	0,98±0,05	0,256±0,05*	0,384±0,05***	0,396±0,04***	0,420±0,04***
СОД, ум од /мг	0,060±0,003	0,686±0,012*	0,564±0,020*	0,602±0,008*	0,524±0,012*
МДА, мкмоль/л	0,089±0,005	9,96±0,212*	6,535±0,045***	6,927±0,042***	6,752±0,042***
ДК, мкмоль/л	0,124±0,005	1,045±0,054*	0,522±0,026***	0,765±0,036*	0,520±0,042*
ТК, мкмоль/л	0,117±0,005	1,050±0,051*	0,665±0,052***	0,870±0,044*	0,819±0,034***
SH групи, мкмоль/л	0,49±0,02	1,48±0,04*	0,55±0,03***	0,65±0,03***	0,61±0,03***

Примітка: \* - P < 0,001 по відношенню до інтактних тварин

\*\* - P < 0,001 відносно контрольних (нелікованих) щурів

Натрію оксидутират, теофілін та сполука КД-235 індукували терапевтичний вплив на стан кисневого обміну в усіх дослідних групах тварин (див. таблицю). В результаті, в усіх групах тварин мало місце зростання насичення гемоглобіну венозної крові: на фоні натрію оксидутирату в 1,4 рази (P < 0,001), теофіліну - в 1,31 рази, сполуки КД-235 - в 1,58 рази (P < 0,001). Споживання кисню VO<sub>2</sub> на фоні лікування натрію оксидутиратом зменшувалося в 1,39 рази (P < 0,001), теофіліном - в 1,26 рази, КД-235 - в 1,43 рази (P < 0,001).

Зміни показників ПОЛ корелювали зі змінами показників, які характеризують обмін кисню. Так, вміст малонового діальдегіду при експериментальному ГРДС перевищував нормальні показники в 11,19 рази (P < 0,001). Спостерігалось зростання вмісту дієнових кон'югатів в 8,42 рази (P < 0,001). Застосування натрію оксидутирату, теофіліну та сполуки КД-235 викликало зниження рівнів МДА та ДК відповідно в 2,0 (P < 0,001), 1,44 (P < 0,001), 1,48 рази (P < 0,001) та 1,95 (P < 0,001), 1,33 та 1,38 рази (P < 0,001) відповідно.

Ініціація ГРДС викликала різні за спрямованістю зміни ферментів антиоксидантної системи захисту: каталази та супероксиддисмутази. Якщо активність каталази на фоні ГРДС зменшувалась в

3,83 рази (P < 0,001), то активність супероксиддисмутази навпаки зростала в 11,4 рази (P < 0,001). Корекція натрію оксидутиратом, теофіліном та сполукою КД-235 достовірно (P < 0,001) збільшувала активність каталази та зменшувала активність супероксиддисмутази.

Отримані позитивні результати вказують на зменшення гіпоксії внаслідок антигіпоксичного ефекту досліджуваних речовин за рахунок зменшення активності ПОЛ при ГРДС. До того ж, наведені результати зміни активності досліджуваних ферментів засвідчують пряму антиоксидантну дію натрію оксидутирату, теофіліну та сполуки КД-235.

Позитивні зміни досліджуваних показників біохімічного аналізу крові та обміну кисню відповідали даним спостереження за загальним станом щурів: усі неліковані тварини протягом 2 годин ШВЛ загинули, тоді як під впливом вищевказаних речовин усі тварини залишились живими.

Таким чином, сполука, що пропонується, проявляє виражену антиоксидантну та антигіпоксичну активність і є перспективним лікувальним засобом при захворюваннях, пов'язаних із активацією процесів перекисного окиснення ліпідів й гіпоксією.

Приклад. З метою одержання сполуки з антиоксидантними і антигіпоксичними властивостями здійснювали постадійний синтез амонійної солі 2-оксіетил 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропаноату (КД-235).

На першій стадії синтезували 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропанову кислоту. Для цього суміш 12,95 г (0,05 моль) 8-бромо-1,3-диметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діону, 7,65 г (0,05 моль) кислоти 3-бромопропіонової та 8,40 г (0,1 моль) натрій гідрогенкарбонату в 40 мл диметилформаміду (ДМФА) нагрівали у круглодонній колбі ємністю 250 мл із зворотним холодильником протягом 3 годин. Далі, в гарячому вигляді фільтрували, охолоджували і доводили об'єм фільтрату водою очищеною до 200 мл. Внесенням до отриманого розчину 0,1 моль/л розчину кислоти хлоридної доводили до рН  $\approx$  3-4 із утворенням білого з кремуватим відтінком осаду, який відфільтровували і висушували. Для аналізу його попередньо перекристалізовували із суміші ДМФА - вода в співвідношенні 2:1. Вихід 60 %.

$T_{\text{плав.}} = 248 \div 249^\circ\text{C}$ .

Знайдено, %: N 17,01.  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{BrN}_4\text{O}_4$ .

Вираховано, %: N 16,92.

ТШХ,  $R_f$  (система розчинників),  $0,59 \pm 0,03$  (бутанол - кислота ацетатна - вода, 4:1:2), ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. ч.: 2,71 (т, 2Н,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 3,23 (с, 3Н,  $\text{N}-\text{CH}_3$ ); 3,38 (с, 3Н,  $\text{N}-\text{CH}_3$ ); 4,06 (т, 2Н,  $\text{N}_7-\text{CH}_2-$ ); 12,25 (с, 1Н,  $-\text{COOH}$ ).

Синтез амонійної солі 2-оксіетил 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропанової (КД-235). До суспензії 0,99 г (0,003 моль) 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-іл)пропанової кислоти в 10 мл етанолу 96 % в круглодонній колбі ємністю 50 мл додали 0,18 г (0,003 моль) 2-аміноетанолу і нагрівали на водяному нагрівачу до утворення прозорого розчину. Вміст колби кількісно перенесли у фарфорову чашку та випарили на дві третини від початкового об'єму. Залишок після охолодження змішали із 15-20 кратним надлишком ацетону й одержану суміш інтенсивно зтирали склянкою папличкою. Утворену при цьому білу кристалічну речовину відфільтрували, промили ацетоном і вису-

шили. Для здійснення аналізу одержану субстанцію перекристалізували із етанолу 96 %. Вихід 82 %.  $T_{\text{плав.}} = 235 \div 236^\circ\text{C}$ .

Знайдено, %: N 17,74.  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{BrN}_5\text{O}_5$ .

Обчислено, %: N 17,86.

ТШХ,  $R_f$  (система розчинників).  $0,62 \pm 0,02$  (пропанол - бензен, 1:1).

Отже, синтезована сполука є похідним 1,3-диметилксантину, проявляє антиоксидантну та антигіпоксичну дію, і може бути використана для забезпечення терапевтичного ефекту при одночасному зменшенні ризику побічних негативних явищ.

Джерела інформації:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: В 2 т. Т. 1. - 14-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: ООО «Издательство Новая Волна»: Издатель СБ. Дивов, 2002. - С. 114, 115.

2. Машковский М. Д. Лекарственные средства: В 2 т. Т. 1. - 14-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: ООО «Издательство Новая Волна»: Издатель СБ. Дивов, 2002. - С. 401, 402.

3. G. Matute-Bello, Michael Matthay Pathogenesis of Acute Lung Injury: Experimental Studies. Acute Respiratory Distress Syndrome. - Boston, 2003. - P. 115-146.

4. Морман Д., Хеллер Л. Физиология сердечно-сосудистой системы. - Питер. - 2000. - 567 с.

5. Марино П. Интенсивная терапия //Пер. с англ. - М.: Гэотар Медицина, 1999. - 634 с.

6. А. с. 1673041 СССР, МКИ А61В 5/00, 10/00 Способ диагностики гипоксии //В. В. Гнатив, В. И. Лысенко (СССР). - Заявл. 16.02.88; Опубл. 30.08.91, Бюл. № 12. - 3 с.

7. Утвердидзе Г. А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения. - Тбилиси, 1988. - 30 с.

8. Марино П. Интенсивная терапия //Пер. с англ. - М.: Гэотар Медицина, 2003. - 1046 с.