



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62302 (13) U

(51) МПК

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

G09B 23/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОЛУКА З АНТИГІПОКСИЧНОЮ Й АНТИОКСИДАНТНОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) u201100590

(22) 19.01.2011

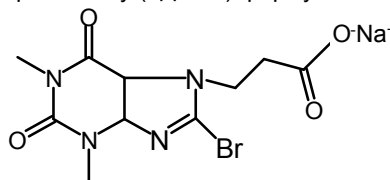
(24) 25.08.2011

(46) 25.08.2011, Бюл. № 16, 2011 р.

(72) КОРОБКО ДМИТРО БОРИСОВИЧ, БЕЛЕНІЧЕВ ІГОР ФЕДОРОВИЧ, САВЧУК САМВЕЛ ОЛЕКСІЙОВИЧ, ОЛІЙНИК ОЛЕКСАНДР ВАЛЕНТИНОВИЧ, ОВСЄЄНКО КАТЕРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА

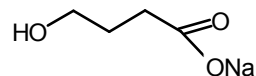
(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

(57) Сполука з антигіпоксичною та антиоксидантною дією на основі натрієвої солі 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1H-пурин-7(6H)-іл)пропаноату (КД-234) формули



Корисна модель стосується органічної і фармацевтичної хімії, зокрема перетворень органічних сполук гетероциклічної будови, і може бути використана у фармацевтичній галузі, наприклад, для одержання нових біологічно активних речовин, у тому числі в вигляді лікарського засобу з антигіпоксичною й антиоксидантною дією.

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

або
 $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-\text{COONa}$

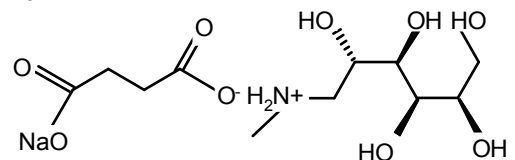
Систематизовані назви: натрію 4-гідроксибутаноат, натрієва сіль γ -оксимасляної кислоти.

Антигіпоксична дія натрію оксидутирату обумовлена його позитивним впливом на біоенергетику клітин, що сприяє більш економному використанню кисню крові та покращенню його утилізації.

Недоліком відомої субстанції є недостатня фармакологічна активність, що випливає із високої ймовірності індукції в організмі несприятливих для нього побічних ефектів (седативної і центральної міорелаксанта дії), через що використання великих доз останньої призводить до стану наркозу. Щодо обліку і зберігання, вказана сполука нале-

жить до групи психотропних речовин, обіг яких обмежено і стосовно яких допускаються виключення деяких заходів контролю. До того ж, прийом натрію оксидутирату протягом тижня і довше призводить до виникнення психічної залежності, в силу чого його використовують наркозалежні люди під назвою "рідкий екстазі". З наведених позицій, застосування натрію оксидутирату в терапевтичній практиці як антигіпоксанта є обмеженим.

Відомий препарат з антигіпоксичною дією у вигляді плазмозамінного та дезінтоксикаційного водного розчину, що містить N-(1-дезоксі-D-глюцитол-1-іл)-N-метиламонію натрію сукцинату 0,015 г (15,0 мг), натрію хлориду 0,006 г (6,0 мг), калію хлориду 0,0003 г (0,3 мг), магнію хлориду 0,00012 г (0,12 мг) на 1 мл. Структурна формула основної діючої речовини



яка є дизаміщеною сіллю янтарної (бурштинової) кислоти. Остання є продуктом 5-ої та субстратом 6-ої реакції в циклі Кребса, а отже, це метаболіт людського організму. Описаний лікарський засіб під назвою "Реамберин" є збалансованим полііонним розчином, який виявляє дезінтоксикаційну, антигіпоксичну, антиоксидантну, кардіопро-

(13) U

(11) 62302

(19) UA

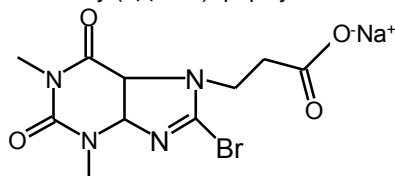
текторну, гепатопротекторну, нефропротекторну та діуретичну дію, в силу чого застосовується для терапії при гіпоксичних станах різного походження (ранній післяопераційний період, наркоз, гостра дихальна чи серцева недостатність) [2,3]. З лікувальною метою його використовують при шоці, захворюваннях печінки (токсичні гепатити, холестази, вірусні гепатити), інтоксикаціях різного походження (ендогенна інтоксикація чи отруєння ксенобіотиками).

Недоліком відомого препарату є недостатній рівень фармакологічної активності через високий рівень ризику формування при його застосуванні гіпергідратації, що виникає внаслідок збільшення об'єму циркулюючої крові. В силу наведеного, застосування реамберину протипоказане при декомпенсованій серцевій недостатності, набряку головного мозку, тромбоемболії легеневої артерії.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити сполуку з антигіпоксичною й антиоксидантною дією шляхом зміни хімічної структури 1,3-диметилксантину, позитивні фармакологічні ефекти якої не супроводжувалися б в організмі розвитком несприятливих побічних реакцій, наприклад, у вигляді гідратації тканин.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги те, що одним із оптимальних шляхів синтезу речовини з антигіпоксичною й антиоксидантною дією є забезпечення нового похідного 1,3-диметилксантину хімічним зв'язком іонного характеру.

Поставлену задачу вирішують тим, що як сполуку з антигіпоксичною та антиоксидантною дією застосовують натрієву сіль 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)пропаноату (КД-234) формули



Вказану сполуку одержують нагріванням еквімолярних кількостей 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)пропаної кислоти і натрію гідрогенкарбонату в етанолі 96 % з наступним використанням ацетону, а 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)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 (КД-234) - білий кристалічний порошок, розчинний у воді та малорозчинний в етанолі 96 % і нерозчинний в ацетоні з $T_{\text{плвл.}} = 278 \div 279^\circ\text{C}$.

Для доведення складу і структури проміжної речовини та цільового продукту реакції (КД-234) використовують відомі фізико-хімічні методи, зокрема ЯМР ^1H -спектроскопію та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявлених.

Приклад 1.3 метою одержання сполуки з антигіпоксичними і антиоксидантними властивостями

на першій стадії синтезували 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)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-бромпропіонової та 8,40 г (0,1 моль) натрію гідрогенкарбонату в 40 мл диметилформаміду (ДМФА) нагрівали в круглодонній колбі ємністю 250 мл із зворотним холодильником протягом 3 годин. Далі суміш в гарячому вигляді фільтрували, охолоджували, а об'єм фільтрату доводили водою очищеною до 200 мл, після чого внесенням 0,1 моль/л розчину кислоти хлоридної доводили рН до рівня від 3,0 до 4,0 включно з утворенням білого з кремуватим відтінком осаду, який відфільтровували і висушували. Для аналізу одержаний продукт попередньо перекристалізовували із суміші ДМФА-вода в співвідношенні 2:1. Вихід 60 %. $T_{\text{плвл.}} = 248 \div 249^\circ\text{C}$.

Знайдено, %: N17,01. $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{BrN}_4\text{O}_4$.

Вирахувано, %: N16,92.

ТШХ, R_f (система розчинників), $0,59 \pm 0,03$ (бутанол-кислота ацетатна-вода, 4:1:2), ЯМР ^1H , δ , м. ч.: 2,71 (т, 2Н, $-\text{CH}_2-\text{OH}_2-$); 3,23 (с, 3Н, $\text{N}-\text{CH}_3$); 3,38 (с, 3Н, $\text{N}-\text{CH}_3$); 4,06 (т, 2Н, N_7-CH_2-); 12,25 (с, 1Н, $-\text{COOH}$).

Далі здійснювали синтез натрієвої солі 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)пропаноату (КД-234). Для цього до суспензії 0,99 г (0,003 моль) 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)пропаної кислоти в 10 мл етанолу 96 % в круглодонній колбі ємністю 50 мл додали 0,25 г (0,003 моль) натрію гідрогенкарбонату і нагрівали на водяному нагрівнику 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, а отриману суміш інтенсивно зтирали скляною паличкою. Утворену білу кристалічну речовину відфільтрували, промили ацетоном і висушили. Для здійснення аналізу одержану субстанцію перекристалізували із етанолу 96 %. Вихід 87 %. $T_{\text{плвл.}} = 278 \div 279^\circ\text{C}$.

Знайдено, %: N15,72. $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{BrN}_4\text{ONa}$.

Вирахувано, %: N15,87.

ТШХ, R_f (система розчинників), $0,60 \pm 0,02$ (хлороформ-етанол 96 %, 9:1).

Приклад 2. Визначення антигіпоксичної й антиоксидантної активності натрієвої солі 3-(8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідро-1Н-пурин-7(6Н)-і)пропаноату (КД-234) здійснювали наступним чином. Порівняльний аналіз антигіпоксичної дії натрію оксибутирату, реамберину та сполуки КД-234 здійснено на моделі гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) на щурах [4]. Дослідження проведені на 80 середньочутливих до гіпоксії статевозрілих білих щурах, масою 200 ± 15 г.

Попередньо кожну лабораторну тварину забезпечували можливістю здійснення штучної вентиляції легень (ШВЛ) через трахеостому із використанням апарату ШВЛ "Бриз". При цьому дихальний об'єм встановлювали на рівні 3 мл при частоті дихання 100 на хвилину, для чого під кета-

міновим наркозом у трахею вставили інтубаційну трубку. Далі, кожному із 20 щурів упродовж 4 днів вводили внутрішньочеревинно натрію оксидутират у дозі 10 мг/кг, іншим 20 щурам - реамберин внутрішньочеревинно в дозі 10 мл/кг, нарешті, третій групі з 20 щурів вводили досліджувану сполуку КД-234 у дозі 5 мг/кг. На 4 день у кожній лабораторній тварини (усіх груп 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 всіх тварин визначали ступінь насичення гемоглобіну киснем артеріальної крові пульсоксиметром "Ютас", а також венозної крові - за допомогою оксиметра "Unistat". Частоту серцевих скорочень реєстрували за допомогою електрокардіографа. Визначали

величину споживання кисню організмом тварин - VO_2 та обчислювали показник доставки кисню до тканин - DO_2 , обраховували рівні легеневої (РЛГ) і циркуляторної (РЦГ) гіпоксії й інтегрального показника кисневої недостатності (ІПKN) за методом В.В. Гнатіва, визначали величину внутрішньогенового шунтування крові [5-8]. Висновок про стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та системи антиоксидантного захисту робили за вмістом малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), триєнових кон'югатів (ТК), сульфгідрильних груп (SH-груп), супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах і активності каталази за загальноприйнятими методиками. Результати досліджень наведено в таблиці.

Таблиця

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

Визначувані показники	Здорові щури середньочутливі	ГРДС, 30 хв -2 год. після ініціації	ГРДС, натрію оксидутират 10 мг/кг, 2 год. після ініціації	ГРДС, реамберин, 10 мл/кг, 2 год. після ініціації	ГРДС, КД-234, 5 мг/кг, 2 год. після ініціації
SaO_2 , %	97,0±1,5	70,0±1,4	76,5±1,4	78,2±0,8	84,5±1,2
SvO_2 , %	60,0±1,6	32,2±2,0	45,2±2,2	42,1±0,4	55,5±2,2**
ХО, мл	71,0±3,6	86,0±4,8	82,0±3,6	84,0±2,6	84,2±3,9
ЧСС, уд./хв.	355,5±26,4	430,5±32,6	420,8±42,2	432,4±26,4	420,6±22,8
DO_2 , мл/хв./100 г	9,28±1,64	7,11±0,65	7,66±0,55	7,69±0,41	7,98±0,66
VO_2 , мл/хв./100 г	1,87±0,10	2,72±0,18	1,95±0,12	2,15±0,11	1,92±0,1**
VO_2/DO_2 , %	20,15±0,11	38,26±0,42	25,46±0,11	27,96±0,55	24,06±1,34**
Шунтування, мл/хв.	6,5±0,5	15,5±0,4	10,8±0,4	10,4±0,6	10,5±0,5* **
РЛГ, %	0,0±0,0	29,2±1,4	22,4±0,2	20,2±0,2	19,5±1,3*
РЦГ, %	0,0±0,0	-17,4±1,2	18,3±0,1	-17,1±0,6	-18,3±1,4*
ІПKN, %	0,0±0,0	11,8±1,0	4,1±0,3	3,1±0,2	1,2±0,6* **
Каталаза, мкат/л	0,98±0,05	0,256±0,05*	0,384±0,05*	0,396±0,04* **	0,58±0,04* **
СОД, ум. од. /мг	0,060±0,003	0,686±0,012*	0,564±0,020*	0,602±0,008*	0,264±0,010*
МДА, мкмоль/л	0,089±0,005	9,96±0,212*	6,535±0,045* **	6,927±0,042* **	3,97±0,022*
ДК, мкмоль/л	0,124±0,005	1,045±0,054*	0,522±0,026* **	0,765±0,036*	0,390±0,022* **
ТК, мкмоль/л	0,117±0,005	1,050±0,051*	0,665±0,052* **	0,870±0,044* **	0,392±0,020* **
SH групи, мкмоль/л	0,49±0,02	1,48±0,04*	0,55±0,03* **	0,65±0,03* **	0,66±0,03* **

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

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

Із наведених у таблиці даних видно, що ініціація ГРДС у щурів призводить до змін більшості показників й, перш за все, сатурації венозної крові, як найінформативнішого при дослідженні гіпоксії [6]. Так, на фоні ГРДС цей показник, порівняно з інтактними тваринами, зменшується в 1,86 раза. Споживання кисню щурами на фоні ГРДС зросло в 1,4 раза ($P < 0,001$), а ІПKN збільшився на 11,8 %. Внутрішньогеновий шунт при ГРДС збільшився у 2,4 рази порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,001$).

Натрію оксидутират, реамберин та досліджувана сполука КД-234 індукували терапевтичний

вплив на стан кисневого обміну в усіх дослідних групах тварин. В результаті, в усіх групах тварин, як видно з наведених у таблиці даних, мало місце зростання насичення гемоглобіну венозної крові. Так, на фоні введення натрію оксидутирату - в 1,4 раза ($P < 0,001$), реамберину - в 1,3 раза, сполуки КД-234 - в 1,7 раза ($P < 0,001$). Споживання кисню VO_2 на фоні лікування натрію оксидутиратом зменшувалось в 1,4 раза ($P < 0,001$), реамберином - в 1,3 раза, КД-234 - в 1,4 раза ($P < 0,001$).

Зміни показників ПОЛ корелювали зі змінами показників, які характеризують обмін кисню. Так, вміст малонового діальдегіду при експеримента-

льному ГРДС перевищував показники середньостатистичної норми в 11,2 раза ($P<0,001$). Спостерігалось зростання вмісту дієнових кон'югатів в 8,4 раза ($P<0,001$). Застосування натрію оксидутирату, реамберину та сполуки КД-234 супроводжувалося істотним зниженням рівня МДА та ДК ($P<0,001$).

Ініціація ГРДС викликала різні за спрямованістю зміни ферментів антиоксидантної системи захисту, а саме каталази та супероксиддисмутази. Так, якщо активність каталази при ГРДС зменшувалась в 3,8 раза, то активність супероксиддисмутази, навпаки, зростала в 11,4 раза ($P<0,001$). Корекція натрію оксидутиратом, реамберином та сполукою КД-234 достовірно збільшувала активність каталази та зменшувала активність супероксиддисмутази ($P<0,001$).

Таким чином, речовина, що пропонується, проявляє вищу, ніж у відомих сполук, антигіпоксичну й антиоксидантну дію і може бути використана як перспективний високоактивний лікувальний засіб при захворюваннях, пов'язаних із активацією процесів перекисного окиснення ліпідів і гіпоксією, а також для забезпечення терапевтичного ефекту при одночасному зменшенні ризику виникнення і розвитку несприятливих побічних ефектів.

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. Реамберин: реальность и перспективы: Сборник научных статей. -СПб., 2002.-160 с.

3. Реамберин в клинической практике. Исследования, проведенные в 2005-2007 годах: Практическое руководство для врачей ОРИТ /Под ред. М.Г. Романцова, А.Л. Коваленко. - СПб., 2007.-48 с.

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

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

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

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

8. Утвердзге Г.А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения. - Тбилиси, 1988.-30 с.