



УКРАЇНА

(19) UA (11) 71883 (13) A

(51) 7 C07D215/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) НАТРІЄВА СІЛЬ В-(6-ЕТОКСИ-2-МЕТИЛХІНОЛІН-4-ІЛТІО)-А-ОКСИПРОПІОНОВОЇ КИСЛОТИ, ЩО МАЄ АНТИОКСИДАНТНУ ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) 20031213394

(22) 31.12.2003

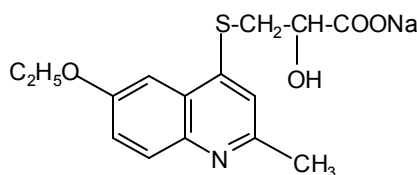
(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Омелянчик Людмила Олександрівна, Бражко
Олександр Анатолійович, Беленічев Ігор Федорович,
Завгородній Михайло Петрович

(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Натрієва сіль β-(6-етокси-2-метилхінолін-4-ілтїо)-α-оксипропіонової кислоти формули:



що має антиоксидантну та гепатопротекторну активність.

Винахід відноситься до галузі синтезу біологічно активних хімічних сполук, а саме до синтезу солей 3-(4-тіохінолін)-пропанової кислоти.

Відомий структурний аналог заявленого рішення — ацетилцистеїн, що проявляє антиоксидантну активність (Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х томах.-М.: Медицина, 1988.-Т. 2.-П-е изд. стер.- 576 с.).

Спільними з заявленим рішенням ознаками є: наявність залишку 3-меркапто-2-амінопропанової кислоти.

Причиною, що перешкоджає підвищенню антиоксидантної активності, є наявність атому водню в меркаптогрупі ацетилцистеїну та гідрофільність сполуки.

Сполука відрізняється від структурного аналога наявністю 4-хінолільного радикалу. Ця відзнака призводить до підвищення антиоксидантної дії та появи гепатопротекторної активності.

Прототипом рішення є натрієва сіль S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну, що має виражену антиоксидантну та протипухлинну дію (Бражко О.А., Омелянчик Л.О., Федоряк Д.М.// Пошук антиоксидантів серед похідних S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну // Біополімери і клітина.-К., 2003.-Т. 19.-№ 4.-С. 374-377.).

Вона за антиоксидантною та гепатопротекторною дією поступається натрієвій солі

β-(6-етокси-2-метилхінолін-4-ілтїо)-α-оксипропіонової кислоти. Причиною, що перешкоджає підвищенню антиоксидантної та гепатопротекторної активності, є наявність аміногрупи в 2-му положенні цистеїну.

Ознаками, спільними з прототипом, є наявність поєднання залишку 3-меркапто-2-амінопропанової кислоти (L-цистеїну) з 4-хінолільним радикалом.

Недоліком прототипу є низька гепатопротекторна активність завдяки наявності в α-положенні аміногрупи.

В основу винаходу поставлено задачу створити натрієву сіль

β-(6-етокси-2-метилхінолін-4-ілтїо)-α-оксипропіонової кислоти, що

має виражену антиоксидантну та гепатопротекторну активність шляхом поєднання 4-хінолільного радикалу з залишком 3-меркапто-2-амінопропанової кислоти, та заміною його аміногрупи на оксигрупу в α-положенні, що дозволяє розширити арсенал біологічно активних сполук та значно підвищити антиоксидантну та гепатопротекторну дію.

Суттєвими ознаками рішення є: залишок 3-меркапто-2-амінопропанової кислоти, що містить в α-положенні оксигрупу (ОН) та наявність 4-хінолільного радикалу.

(13) A

(11) 71883

(19) UA

Ознаки, відмінні від прототипу: заміна аміногрупи залишку 3-меркапто-2-амінопропанової кислоти на оксигрупу.

Це призводить до значного підвищення антиоксидантної та гепатопротекторної активності.

На Фіг. 1 зображено структурну формулу ацетилцистеїну, що проявляє антиоксидантну активність.

На Фіг. 2 зображено структурну формулу натрієвої солі S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл) -L-цистеїну, що має виражену антиоксидантну та протиішемічну дію.

На Фіг. 3 зображено структурну формулу натрієвої солі

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти, що має виражену антиоксидантну та гепатопротекторну активність.

Процес одержання сполуки складається з:

- приготування розчину 6-етокси-4-хлор-2-метилхіноліну в етанолі;

- приготування розчину L-цистеїну в суміші етанол-вода (5:1);

- приготування водного розчину калію гідроксиду;

- одержання реакційної суміші і подальше її нагрівання на киплячому водяному нагрівнику;

- охолодження реакційної суміші і збирання осаду, промивання його водою, сушку;

- приготування розчину S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну в 10-12%-ній соляній кислоті при температурі 0-5°C;

- приготування однонормального водного розчину нітриту натрію;

- одержання реакційної суміші і подальше збирання осаду, промивання його водою, сушку, кристалізацію з етанолу;

- приготування розчину β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти у

суміші метанол-вода (10:1) при 40-45°C, додаючи водний розчин NaOH з 5-6%-ним надлишком;

- нагрівання реакційної суміші на киплячому водяному нагрівнику;

- охолодження суміші з подальшим упарюванням розчинника і додавання у суміш ацетону та діетилового ефіру (3:1) до появи осаду;

- збирання осаду, промивання його діетиловим ефіром,

кристалізації з метанолу. Приклад одержання сполуки:

- готують розчин 6-етокси-4-хлор-2-метилхіноліну, додаючи 2,20г (0,01 мол) в 40 мл етанолу;

- готують розчин L-цистеїну, додаючи 1,21г (0,01 мол) в суміш етанол-вода (5:1);

- готують водний розчин калію гідроксиду (розчиняють 0,56г (0,01 мол) в 10 мл води);

- реакційну суміш нагрівають на киплячому водяному нагрівнику протягом 90-100 хвилин;

- розчин охолоджують, для чого його виливають у чашку для упарювання, після чого розчинник випаровують при 40-50°C, осад збирають, промивають на фільтрі водою, сушать.

Вихід S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну - 2,95г (95%);

готують розчин S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну, для чого беруть 3,05г (0,01 мол) цієї сполуки і розчиняють в 20мл 10% -ної соляної кислоти при температурі 0-5°C;

готують однонормальний водний розчин нітриту натрію для чого додають 0,69г (0,01мол) нітриту натрію в 5мл води;

одержують реакційну суміш, після закінчення виділення азоту в реакційну суміш додають 10%-ний розчин натрію гідрокарбонату до pH 6,5-7,0, збирають осад, промивають його водою, сушать, кристалізують з етанолу;

Вихід

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти - 2,81г

(85%). готують розчин

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти, роз-

чиняючи 3,03г (0,01 мол) у 50мл суміші метанол-вода (10:1) при 40-45°C;

готують розчин гідроксиду натрію (NaOH), для цього розчиняють 0,45г NaOH (0,01 мол) у 5мл води;

одержують реакційну суміш, яку нагрівають на киплячому водяному нагрівнику протягом 10-15 хвилин;

реакційну суміш виливають у чашку для упарювання і наполовину розчинник випарюють на водяній бані при температурі 50°C -60°C і після цього виливають у суміш ацетону та діетилового ефіру (3:1);

- отриманий осад - натрієва сіль β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти

відфільтровують, промивають ефіром, сушать при кімнатній температурі та кристалізують з метанолу.

Вихід натрієвої солі

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти - 2,74 г

(77%).

Знайдено: C 57,3; H 51,1; N 4,5; O 15,3; S 10,1.

Вирахувано: C 57,4; H 51,0; N 4,4; O 15,3; S 10,2.

Індивідуальність сполуки контролювалась і підтверджена методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" у системі розчинників: бутанол-оцтова кислота-вода (2:1:5). Значення Rf-100 :60.

Хімічну структуру натрієвої солі

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти

доведено за допомогою інфрачервоної (14) та спектроскопії парамагнітного резонансу (ПМР).

У ІЧ- спектрі натрієвої солі

β - (6 - етоксис - 2 - метилхінолін 4 - ілтіо) - α - оксипропіонової кислоти

з'являється дві інтенсивні смуги поглинання в області 1640 cm^{-1} і 1380 cm^{-1} , які відповідають антисиметричним і симетричним коливанням карбоксильної групи (COO).

В ІЧ- спектрі також фіксуються смуги, які відносяться до валентних коливань метильних і метиленових груп при довжини хвилі 2970, 2990, 1270 cm^{-1} .

В ІЧ-спектрі натрієвої солі крім смуг поглинання характерних для хінолінового ядра, фіксується виражена смуга при довжини хвилі 2800 та 3400 cm^{-1} , що підтверджує наявність оксигрупи.

В ПМР -спектрі досліджуваної сполуки є сигнали при 7,2-8,3 м.ч., що відповідає значенням хімічних зсувів, характерних для протонів ароматичного кільця хінолінового ядра. Сигнал при 2,5 м.ч. відповідає значенням хімічних зсувів, характерних для протонів метильного (CH_3) радикалу у 2-му положенні хінолінового циклу. А сигнал при 3,9 м.ч. характерний для протонів тіогрупи (S-CH_3).

В ПМР -спектрі з'являється синглет в області 4,1-4,4 м.ч., що характерно для значення хімічних зсувів протонів етоксигрупи (OC_2H_5) в 6-му положенні хінолінового циклу.

Мультиплет в області 4,8 м.ч. відповідає хімічним зсувам протонів оксигрупи.

Натрієва сіль

β – (6 – етокси – 2 – метилхінолін 4 – ілтіо) –

– α – оксипропіонової кислоти

білою кристалічною речовиною з температурою плавлення (розкладанням) 189°C, розчинна в воді, спиртах, погано розчинна в диметилформаміді, діоксані, нерозчинна в ацетоні, ефірі.

Летальна доза (LD_{50}) визначалась на білих безпородних мишах вагою 18-25 г за методом Кербера при внутрішньочеревинному введенні досліджуваної сполуки. LD_{50} - для натрієвої солі

β – (6 – етокси – 2 – метилхінолін 4 – ілтіо) – скла-
– α – оксипропіонової кислоти
дає 1013 \pm 53,7 мг/кг.

Вивчення антиоксидантної та гепатопротекторної активності сполуки в дослідях *in vitro* було проведено на моделі експериментального нітрозуючого стресу.

Індукцію монооксиду азоту (NO) здійснювали опромінюванням водних розчинів нітропрусиду натрію (10 мМ) і аскорбінової кислоти (40 мМ) світлом від джерела потужністю 300 Вт із довжиною хвилі 425 нм. Опромінення проводили протягом 30 хв. при 20°C у 10 мм кварцовій кюветі; досліджувану речовину - натрієву сіль

β – (6 – етокси – 2 – метилхінолін 4 – ілтіо) –

– α – оксипропіонової кислоти

дали перед опромінюванням цієї суміші. Вплив запропонованої сполуки на утворення NO - радикала тестували за ступенем гальмування окислення аскорбінової кислоти, вимірюючи оптичну густину при 265 нм. Антиоксидантну активність (АОА) виражали у відсотках інгібування окислення аскорбату.

Рівень зниження малонового діальдегіду (МДА) при введенні запропонованої сполуки значно перевищує рівень зниження МДА (на 28%), який викликає препарат порівняння - ацетилцистеїн (АЦЦ). Рівень зростання активності глутатіонредуктази (ГР) при дії даної сполуки на 88% перевершував дію АЦЦ.

Таблиця

Показники антиоксидантної системи печінки щурів з експериментальним нітрозуючим стресом

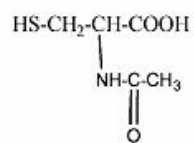
№ п/п	Сполуки	МДА, мкмол/г тканини	% змін	ГР, мкмол/г тканини	% змін
1.	Інтакт	0,42 \pm 0,01		16,8 \pm 0,7	
2.	Контроль	1,84 \pm 0,02		4,2 \pm 0,5	
3.	Натрієва сіль β -(6-етокси-2 метилхінолін-4-ілтіо)- α -оксипропіонової кислоти	0,53 \pm 0,01* ^О	92,25	18,0 \pm 0,6* ^О	109,52
4.	Ацетилцистеїн	0,92 \pm 0,02*	64,78	6,8 \pm 0,2	20,63

Примітка: *- $P < 0,05$ по відношенню до контролю. ^О $P < 0,05$ по відношенню до АЦЦ

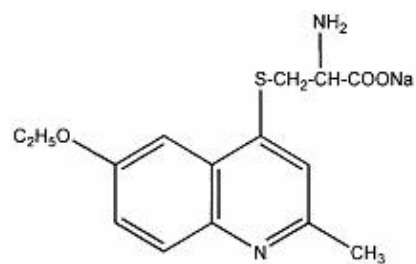
Дані, наведені в таблиці, свідчать, що запропонована сполука проявляє антиоксидантну та гепатопротекторну активність і перевершує за силою фармакологічної дії препарат порівняння ацетилцистеїн (АЦЦ).

Дана сполука - натрієва сіль β – (6 – етокси – 2 – метилхінолін 4 – ілтіо) – має – α – оксипропіонової кислоти

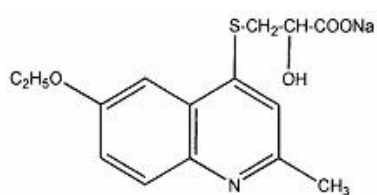
виражену антиоксидантну та гепатопротекторну активність і може бути використана в медичній практиці як антиоксидантний і гепатопротекторний засіб.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3