



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **79781** (13) **C2**
(51) **МПК (2006)**

C07D 311/08 (2007.01)

A61K 31/37 (2007.01)

A61P 29/00

A61K 31/245 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) 5,6-БЕНЗО-2-(4-АМІНОКАРБОНІЛФЕНІЛ)ІМІНОКУМАРИН-3-КАРБОКСАМІД, ЯКИЙ ПРОЯВЛЯЄ АНАЛЬГЕТИЧНУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНУ ДІЮ

1

2

(21) 20041109600

(22) 22.11.2004

(24) 25.07.2007

(46) 25.07.2007, Бюл. №11, 2007р.

(72) Черних Валентин Петрович, Русанова Світлана Володимирівна, Яковлева Лариса Василівна, Шаповал Ольга Миколаївна, Коваленко Сергій Миколайович

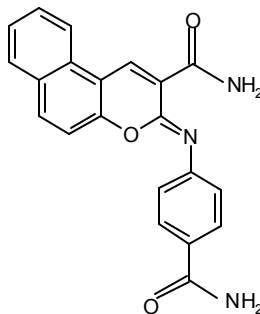
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(56) Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т.1. Харьков:Торсинг, 1997. С.172

US3920704, 18 November 1975

UA 97063381(Похідні кумарину та спосіб їх одержання), 26 лютого 1999

(57) 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід загальної формули:



який проявляє анальгетичну, протизапальну та гепатопротекторну дію.

Винахід відноситься до медицини та фармації, а саме до нових біологічно активних хімічних сполук, похідних з ряду 2-(N-арил)імінокумарин-3-карбоксамідів, які можуть бути використані при створенні лікарських засобів з групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) для лікування патологічних станів, які супроводжуються запаленням, лихоманкою та/або больовим синдромом.

Відомо, що застосування препаратів групи НПЗЗ, особливо тривале, часто супроводжується розвитком таких побічних ефектів, як гастротоксичність, гепатотоксичність, нефротоксичність тощо. Тому в Україні залишається гострою проблема забезпечення населення препаратами цієї групи: номенклатура сучасних вітчизняних НПЗЗ представлена в основному генеричними препаратами і не відповідає потребам охорони здоров'я, а сучасні імпортовані лікарські засоби є дорогими та малодоступними для широкого кола населення. Таким чином, актуальним є пошук нових вітчизняних ви-

сокоєфективних малотоксичних препаратів із властивостями НПЗЗ.

На цей час в медичній практиці невідомі похідні 2-(N-арил)імінокумарин-3-карбоксамідів, які застосовуються як НПЗЗ.

Аналогів заявленій речовині за хімічною структурою немає. Аналогом за фармакологічною дією заявленої сполуки є препарат вольтарен [Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т.1. - Изд. 13-е, новое. — Харьков: Торсинг, 1997. - С.172], який вважається за найефективніший та найбезпечніший з групи НПЗЗ-неселективних інгібіторів ЦОГ-1/ЦОГ-2. Вольтарен є похідним фенілоцтової кислоти і має хімічну назву натрієва сіль 2-[(2,6-дихлорфеніл)-аміно]-фенілоцтової кислоти, як і всі НПЗЗ виявляє анальгетичні та протизапальні властивості і призначається для лікування гострого ревматизму, ревматоїдного артриту, анкілозуючого спондилоартриту (хвороби Бехтерева), артозів, спонділоартрозів. До недоліків вольтарену

(13) **C2**

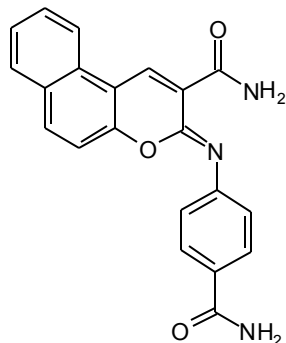
(11) **79781**

(19) **UA**

можна віднести гастротоксичну, гепатотоксичну та нефротоксичну дію.

Завданням виходу є створення нової хімічної сполуки з вираженими анальгетичними, проти-запальними та гепатопротекторними властивостями без характерних для НПЗЗ побічних ефектів.

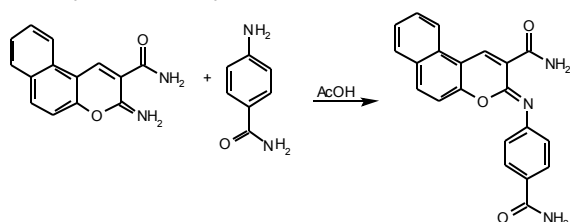
Поставлене завдання вирішується шляхом синтезу 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду загальної формули:



який виявляє виражену анальгетичну, проти-запальну та гепатопротекторну дію.

У джерелах інформації відомостей про аналогічну заявленому 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду речовину не знайдено.

Заявлену сполуку 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід одержують за наступною схемою:



5,6-Бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід отримують шляхом взаємодії відповідного 2-імінокумарин-3-карбоксаміду з 4-амінобензамідом у середовищі льодяної оцтової кислоти при нетривалому нагріванні. Осад відфільтровують, промивають етанолом, сушать і перекристалізують з диметилформаміду. Вихід речовини складає 88%.

Кількісний та якісний склад заявленої хімічної речовини визначений за допомогою елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектрофотометрії та ^1H ЯМР-спектроскопії.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

Для отримання 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду 0,86г (0,005моль) 5,6-бензо-2-імінокумарин-3-карбоксаміду розчиняють при незначному нагріванні у льодяній оцтовій кислоті, до одержаного розчину додають 1,42г (0,005моль) 4-амінобензаміду. Осад утворюється миттєво. Одержаний осад відфільтровують, ретельно промивають етанолом, сушать і перекристалізують з диметилформаміду. Речовина є жовтим кристалічним порошком, не розчиняється у воді, погано розчиняється при нагріванні в етанолі та 2-

пропанолі, добре розчиняється у диметилформаміді (ДМФА) та диметилсульфоксиді (ДМСО). Кількісний вихід сполуки складає 1,57г (88%). Кількісний та якісний склад заявленої хімічної речовини визначений за допомогою елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектрофотометрії та ^1H ЯМР-спектроскопії.

Приклад 2

Анальгетичну дію 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду в порівнянні з вольтареном вивчали на моделі оцтово-кислих корчів у щурів, яка дозволяє опосередковано оцінити вплив речовин на синтез та визволення медіаторів болю: брадікініну, серотоніну, гістаміну, простагландинів.

Оцінку периферичної анальгетичної дії нової хімічної сполуки та препарату порівняння вольтарену проводили на білих щурах масою 180-200г. по 5 тварин у групі. Корчі викликали внутрішньо-очеревним введенням 0,7% розчину оцтової кислоти з розрахунку 1,0мл на 100г маси тварини через 30хв. після внутрішньошлункового введення досліджуваних речовин. З метою визначення ED_{50} на цій моделі заявлену сполуку та вольтарен вводили перорально у дозах 1,0, 5,0 та 10,0мг/кг. Контрольна група тварин одержувала еквівалентну кількість розчинника. Уведення алогогену викликало розвиток корчів. Підрахунок кількості "корчів" починали через 15хв після введення оцтової кислоти та проводили протягом 15 хвилин. Анальгетичну активність нової сполуки та препарату порівняння оцінювали за їх здатністю зменшувати кількість корчів у дослідній групі щурів у порівнянні з контрольною і виражали у %. Величини ED_{50} та їх довірчі інтервали розраховували з використанням метода найменших квадратів. Результати експерименту наведені у таблиці 1.

Результати проведеного дослідження свідчать про те, що 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід виявляє виражену анальгетичну дію, його $\text{ED}_{50}=0,58\text{мг/кг}$ та переважає ED_{50} препарату порівняння вольтарену, яка дорівнює 5мг/кг, у 8,6 рази. Враховуючи вищевикладене, можна зробити припущення про пригнічення новим похідним 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамідом медіаторів болю, таких як гістамін, серотонін, брадікінін та простагландини.

Таким чином, одержані дані свідчать про значну анальгетичну дію 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду, яка переважає анальгетичний ефект препарату порівняння вольтарену.

Приклад 3

Протизапальну дію нової сполуки в порівнянні з вольтареном вивчали на моделі ексудативного карагенового набряку стопи у білих щурів масою 180-200г. Набряк викликали субплантарним введенням 0,1мл 1% розчину карагенину в одну із задніх кінцівок тварин дослідних та контрольних груп через 1 годину після введення препарату порівняння вольтарену у дозі 8,0мг/кг (ED_{50} антиексудативної дії) та заявленої сполуки у дозі $\text{ED}_{50}=0,58\text{мг/кг}$ (за анальгетичною дією). Контрольна група щурів одержувала еквівалентну кількість розчинника. Про розвиток набряку судили за збі-

льшенням об'єму стопи, який вимірювали в динаміці через 1; 2; 3; 4 і 5 годин за допомогою механічного онкометра. Протизапальну дію нової сполуки та препарату порівняння виражали у % і визначали за здатністю зменшувати набряки у дослідних тварин у порівнянні з контрольними. Результати дослідження наведені у таблиці 2.

Результати проведеного дослідження свідчать про значну протизапальну дію нової сполуки у дозі 0,58мг/кг (ED_{50} за анальгетичною активністю) - $45,35 \pm 6,35$, яка за вираженістю ефекту знаходиться на рівні протизапальної дії препарату порівняння вольтарену у дозі 8мг/кг - $58,00 \pm 5,33$. Перевага 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду над вольтареном обумовлена тим, що для досягнення ефекту на рівні 50% необхідна доза нової сполуки - 0,58мг/кг, яка у 14 разів нижча за таку дозу вольтарена - 8мг/кг.

Вищезазначене дозволяє зробити припущення про пригнічення новою сполукою медіаторів запалення, які також є і медіаторами болю, таких як гістамін, серотонін, брадикинін та простагландини.

На підставі проведеного експерименту можна зробити висновок, що 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід виявляє протизапальну дію, яка перевищує дію препарату порівняння.

Приклад 4

Гепатопротекторну дію 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду вивчали на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту у мишей.

В експерименті використовували білих мишей масою 25-30г. Після попереднього 24-годинного голодування без обмеження вживання води дослідним тваринам вводили внутрішньошлунково заявлювану сполуку у дозі ED_{50} , яку визначено при вивченні анальгетичної дії, контрольним - еквівалентну кількість розчинника. Через 2 години дослідним та контрольним тваринам вводили внутрішньошлунково 50% масляний розчин тетрахлорметану з розрахунку 0,1мл на 10г. маси тіла. Ще через 2 години після введення гепатотоксину внутрішньошлунково вводили нову сполуку. Такий режим введення заявлюваної сполуки та гепатотоксину виконували ще одну добу. На третю добу враховували відсоток тварин, які вижили, та виводили їх з дослідів і визначали масу печінки, що дозволило розрахувати масовий коефіцієнт печінки (МКП). Останній характеризує її загальнотрофічний та функціональний стан. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи печінки оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) та відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки дослідних груп тварин у порівнянні з групами інтактного контролю та контрольної патології. Результати дослідження наведені у таблиці 3.

Аналіз одержаних результатів свідчить про те, що патологія печінки, яка викликана внутрішньошлунковим введенням тетрахлорметану, характеризується накопиченням кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів малонового діальдегіду (МДА), тому що його рівень у гомогенаті печінки тварин групи контрольної патології майже у 2 рази

перевищує такий групи інтактного контролю. Спостерігається виснаження антиоксидантної системи організму тварин групи контрольної патології, про що свідчить достовірне по відношенню до групи інтактного контролю зниження рівня відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки. Достовірне збільшення масового коефіцієнту печінки (МКП) в порівнянні з групою інтактного контролю свідчить про дистрофічні зміни та запальний процес у органі. Про важкий ступінь ураження печінки дозволяє судити відсоток тварин, які вижили. У групі контрольної патології він складає 62,5%.

Під впливом 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксаміду спостерігається зростання відсотку тварин, які вижили (100%), відновлювання активності антиоксидантної системи до рівня інтактного контролю, інгібування процесів ПОЛ - достовірно знижується в порівнянні з групою контрольної патології вміст МДА у гомогенаті печінки у 1,5 рази, та відсутність зміни ВКП - цей показник знаходиться на рівні контрольної патології. Вищезазначені результати свідчать про виражену гепатопротекторну дію заявленої сполуки.

Таким чином, результати проведеного експерименту показали, що 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід виявляє виражену гепатопротекторну дію.

Приклад 5

Гостру токсичність заявленої сполуки вивчали з використанням стандартних загальноприйнятих методів на білих мишах масою 18-20г при одноразовому внутрішньошлунковому введенні сполуки у декількох дозах у діапазоні від 1000 до 15000мг/кг з метою знаходження середньосмертельної дози (LD_{50}).

Результати проведеного дослідження показали, що згідно з загальноприйнятою класифікацією токсичності речовин 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід належить до класу відносно нешкідливих ($LD_{50} > 15000$ мг/кг), тому що його LD_{50} при внутрішньошлунковому введенні знаходиться далеко за межами 15000мг/кг.

Таким чином, заявлено нову хімічну сполуку - 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)імінокумарин-3-карбоксамід, що виявляє виражену анальгетичну, протизапальну та гепатопротекторну дію і є нетоксичним. За анальгетичною дією заявлена сполука виявляє ефект на рівні $ED_{50} = 0,58$ мг/кг та переважає анальгетичну дію препарату порівняння вольтарену за $ED_{50} = 5$ мг/кг у 8,6 рази. Нова сполука у дозі 0,58мг/кг (ED_{50} за анальгетичною дією) виявляє протизапальні властивості на рівні протизапальної активності препарату порівняння вольтарену, але переважає її у 14 разів за значенням дози, необхідної для досягнення протизапального ефекту на рівні 50%. Заявлена сполука виявляє виражену гепатопротекторну дію, що кардинально відрізняє її від існуючих НПЗЗ, для яких є характерною гепатотоксичність. На відміну від сучасних НПЗЗ, які відносяться до класу помірно- ($50 < LD_{50} < 500$ мг/кг) та малотоксичних ($500 < LD_{50} < 5000$ мг/кг) речовин, заявлена сполука належить до класу відносно нешкідливих ($LD_{50} > 15000$ мг/кг) речовин.

Отже 5,6-бензо-2-(4-амінокарбонілфеніл)іміно-
кумарин-3-карбоксамід є перспективним для ство-

рення на його основі нових лікарських засобів з
групи НПЗЗ.

Таблиця 1

Вивчення анальгетичної дії нової сполуки та препарату порівняння

№ п/п	Назва речовини	Доза, мг/кг	Анальгетична дія, %	ЕД ₅₀ , МГ/КГ
1	Нова сполука	1,0	85,66±3,94	0,58 (0,32-1,02)
		5,0	44,02±7,33	
		10,0	24,34±13,85	
2	Вольтарен	1,0	14,1±2,46	5,00 (3,00-8,00)
		5,0	42,2±3,21	
		10,0	70,4±8,06	

Таблиця 2

Вивчення протизапальної дії заявленої сполуки та препарату порівняння

№ п/п	Назва речовини	Доза, мг/кг	Протизапальна дія, % (середня за 5 годин)
1	Нова сполука	0,58	45,35±6,35
2	Вольтарен	8,00	58,00±5,33

Таблиця 3

Характеристика гепатопротекторної дії нової сполуки

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кіль-ть тварин у групі	% тварин, які вижили	Масовий коеф.-т печінки	G-SH, мг%	МДА, мкмоль/г
1	2	3	4	5	6	7
Інтактний контроль	-	7	100	6,69±0,22	101,59±3,97	46,58±7,84
Контрольна патологія	-	7	62,5	8,12±0,82*	64,27±8,23*	83,59±13,02*
Нова сполука	1,0	7	100	7,58±0,28*	83,31±8,40	58,46±7,79**

Примітка:

* - відхилення показника достовірне по відношенню до групи інтактного контролю ($P \leq 0,05$);

** - відхилення показника достовірне по відношенню до групи контрольної патології ($P \leq 0,05$).