



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87952** (13) **C2**

(51) **МПК (2009)**

C07D 209/04 (2009.01)

C07D 209/96 (2009.01)

C07D 311/96 (2009.01)

C07D 405/02 (2009.01)

C07D 491/20 (2009.01)

A61K 31/33

A61K 31/404 (2009.01)

A61K 31/436 (2009.01)

A61K 31/437 (2009.01)

A61K 31/438

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) **4,3'-СПІРО[(2-АМІНО-3-ЦІАНО-4,5-ДИГІДРОПІРАНО[3,2-с]ХРОМЕН-5-ОН)-5-МЕТИЛ-2'-ОКСІНДОЛ], ЯКИЙ ПРОЯВЛЯЄ АНТИГІПОКСАНТНУ АКТИВНІСТЬ**

1

(21) а200815044

(22) 26.12.2008

(24) 25.08.2009

(46) 25.08.2009, Бюл.№ 16, 2009 р.

(72) РЕДЬКІН РУСЛАН ГРИГОРОВИЧ, ЦУБАНОВА НАТАЛЯ АНАТОЛІЙВНА, ЧЕРНИХ ВАЛЕНТИН ПЕТРОВИЧ, ШЕМЧУК ЛЕОНІД АНТОНОВИЧ, БЕРЕЗНЯКОВА АЛЛА ІЛЛІВНА, РЕПЕТЄВА ОЛЕНА ВАЛЕРІЙВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(56) UA 59345 C2, 15.09.2003

UA 72540 C2, 15.03.2005

US 6 774 132 B1, 10.06.2004

EP 0 431 943 A2, 12.06.1991

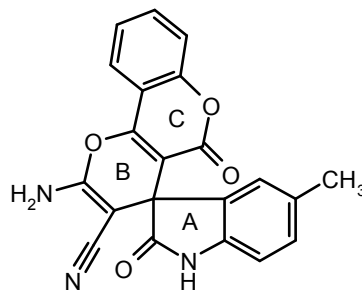
JP 56-100887, 13.08.1981

RU 2 238 272 C1, 20.10.2004

SU 502893, 15.02.1976

2

(57) 4,3'-Спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол] загальної формули:



що проявляє антигіпокснтну активність.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до синтезу нових індивідуальних сполук у ряду спіроциклічних похідних 2-оксіндолу з антигіпоксичною активністю, що є структурним аналогом епіфізарного гормону мелатоніну.

Гіпоксія (киснева недостатність) спостерігається при більшості патологічних станів організму людини [1]. Причиною гіпоксії у більшості випадків є зниження надходження кисню до мітохондрій, внаслідок чого і відбувається зниження мітохондріального окиснення, що приводить до прогресую-

чого дефіциту АТФ- універсального джерела енергії у клітині. Дефіцит енергії лежить в основі будь-якої форми гіпоксії і обумовлює якісно однотипні метаболічні та структурні зсуви у різних органах та тканинах організму [2]. Саме гіпоксія відіграє провідну роль у патогенезі таких захворювань як, ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарду, ішемічний інсульт та інші порушення функцій мозку, легень, печінки, нирок, гестози та патології плоду. В переважній більшості випадків гіпоксія не тільки ускладнює протікання, але і визначає кінець (наслідки) захворювання [3].

(13) **C2**

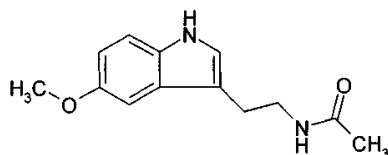
(11) **87952**

(19) **UA**

Фармакокорекція гіпоксичного стану можлива за умов поліпшення утилізації кисня клітинами організму, зменшення потреби органів та тканин у кисні, покращення енергетичних процесів та метаболізму у ішемізованих органах.

Вищезазначене свідчить про актуальність питань щодо пошуку та розробки вітчизняних ефективних лікарських засобів з антигіпоксичною дією для сучасної медицини та фармації [4].

Аналогом заявленої сполуки за хімічною структурою є мелатонін [5]:

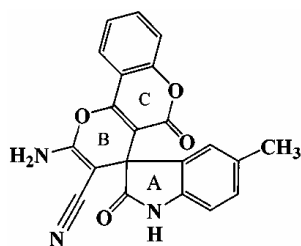


Мелатонін - нейрогормон, що регулює цикл сон-неспанння. Вважають, що екзогенний мелатонін може мати протисудомну, антидепресивну, антинеопластичну, нейропротекторну та антиоксидантну дію [5], проте антигіпоксична дія мелатоніну доказово не встановлена. Недоліками мелатоніну є залежність від циркадних ритмів (неможливість денного прийому, тільки ночний прийом), головний біль, депресія, синусова тахікардія, свербіння шкіри, диспептичні явища [7].

В якості аналога за фармакологічною дією обрано мексидол - анкісмілічний препарат з вираженим антигіпоксичним ефектом [6]. Головним недоліком мексидолу є нудота, сухість слизової оболонки, алергічні реакції та неможливість призначення хворим з супутніми гострими захворюваннями печінки та нирок [7].

В основу винаходу поставлено завдання створення нової хімічної сполуки, що проявляє високу антигіпоксичну активність при низькій токсичності і може бути використана як діюча речовина у складі фармацевтичних препаратів різних лікарських форм: таблеток, капсул, розчинів для перорального застосування, м'яких лікарських засобів тощо.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу індивідуальної хімічної сполуки 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] загальної формули:



(I)

яка проявляє антигіпоксичну активність.

Сполука (I), що заявляється, синтезована одnoreакторним методом, заснованим на трикомпонентній конденсації 5-метилізатину з малондиніт-

рилом та 4-гідроксикумарином в умовах основного каталізу.

4,3'-Спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] - це біла дрібнокристалічна речовина, добре розчинна у диметилформаміді (ДМФА), диметилсульфоксиді (ДМСО), розчинна в етанолі, практично не розчинна у воді та гексані. Будова сполуки підтверджена за допомогою елементного аналізу, ЯМР ^1H , мас-спектрометрії. Винахід ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1

Наважку 161,0г (1моль) 5-метилізатину розчинили у 700,0мл 96% етанолу і додали 66,0г (1моль) малондинітрилу, 162,0г (1моль) 4-гідроксикумарину, заздалегідь розчиненого у 300,0мл етанолу, та 65мл (0,5моль) триетаноламіну. Реакційну суміш перемішали, нагріли та кип'ятили протягом 1год. Потім залишили при $+5^\circ\text{C}$ до випадання осаду продукту. Кристалічний осад, що утворився, кристалізували із суміші ДМФА: етанол (2:1). Отриманий дрібнокристалічний осад послідовно промили киплячим n-гексаном та етанолом, висушили.

Вихід 31г (85%). $T_{\text{пл.}} > 300^\circ\text{C}$ (з розкладанням).

Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6), 2.15 с (3H, 5-CH $_3$), 6.70 д (1H $_{\text{аром.}}$), 7.0 м (2H $_{\text{аром.}}$), 7.40 м (2H $_{\text{аром.}}$), 7.53 с (2H, NH $_2$, D $_2$ O мінлив.), 7.70 т (1H $_{\text{аром.}}$), 7.95 т (1H $_{\text{аром.}}$), 10.55 с (1H, NH, D $_2$ O мінлив.).

Мас-спектр, m/z (I $_{\text{віднош.}}$ %): 371 [M $^+$].

Знайдено, %: C, 68.17; H, 3.58; N, 11.67. Вирахувано, %: C, 67.92; H, 3.53; N, 11.32. C $_{21}$ H $_{13}$ N $_3$ O $_4$ M.m.=371.35.

Приклад 2

Визначення антигіпоксичної активності заявленої сполуки (I) проводили на моделі гострої нормобаричної гіпоксії на білих мишах - самцях масою 18-22г.

Гостру нормобаричну гіпоксію, викликали поміщенням тварин у герметичну камеру обсягом 200мл [8].

Препарат порівняння за антигіпоксичною дією - мексидол, виробництва ЗАТ «Мир-фарм», Росія, вводили мишам - самцям перорально одноразово в умовно-терапевтичній дозі 42мг/кг, що відповідає середньодобовій дозі 500мг мексидолу для людини.

Виходячи з того, що, заявлена сполука (I) є структурними аналогом мелатоніну, другим референс-препаратом був обраний віта-мелатонін, виробництва ЗАТ «Київський вітамінний завод», України, який вводили дослідним тваринам перорально одноразово в умовно-терапевтичній дозі 0,50мг/кг, що відповідає середньодобовій дозі 6мг віта-мелатоніну для людини.

Заявлену сполуку (I) вводили у дозі аналогічній віта-мелатоніну 0,50мг/кг. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

Результати вивчення антигіпоксичної активності заявленої сполуки (I) та препаратів порівняння мексидолу та віта мелатоніну наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вивчення антигіпоксичної активності сполуки (I) та референс-препаратів мексидолу та віта мелатоніну на моделі гострої нормоборичної гіпоксії у мишей (n=6)

Група, (шифр сполуки)	Доза, мг/кг	Тривалість життя тварин,	
		сек. (M±m)	%, до контролю
Контрольна патологія	-	1813,33±180,33	-
Мексидол	42	4732,67±410,32*	161,06
Віта-мелатонін	0,50	3793,50±210,14*	109,21
Сполука (I)	0,50	5005,50±332,30*/**	176,06

Примітки:

1.* - відхилення показника достовірно по відношенню до контрольної патології, P<0,005;

2.** - відхилення показника достовірно по відношенню до препарату порівняння віта мелатоніну P<0,005.

Як видно з таблиці 1, сполука (I) має виражену антигіпоксичну активність, яка перевищує антигіпоксичну активність референс-препаратів, зокрема заявлена сполука перевищує за антигіпоксичною активністю мексидол у дозі в 84 рази меншій, ніж доза мексидолу.

Приклад 3

З метою більш повного вивчення антигіпоксичної активності заявленої сполуки (I) проводилось дослідження на моделі гострої гемічної гіпоксії на білих мишах - самцях масою 18-22г. Гостра гемічна гіпоксія, була викликана підшкірним введенням мишам - самцям нітриту натрію у дозі 225мг/кг.

Препарат порівняння за антигіпоксичною дією - мексидол, вводили дослідним тваринам мишам - самцям перорально одноразово в умовно-

терапевтичній дозі 42мг/кг, що відповідає середньодобовій дозі 500мг мексидолу для людини.

Заявлена сполука (I) є структурними аналогом мелатоніну, тому другим референс-препаратом був обраний віта-мелатонін, який вводили дослідним тваринам перорально одноразово в умовно-терапевтичній дозі 0,50мг/кг, що відповідає середньодобовій дозі 6мг віта-мелатоніну для людини.

Заявлену сполуку (I) вводили у дозі аналогічній віта-мелатоніну 0,50мг/кг. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

Результати вивчення антигіпоксичної активності заявленої сполуки 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол] та препаратів порівняння мексидолу та віта мелатоніну наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Антигіпоксична активність сполуки (I) та референс-препаратів мексидолу та віта мелатоніну на моделі гострої гемічної гіпоксії у мишей (n=6)

Група, (шифр сполуки)	Доза, мг/кг	Тривалість життя тварин,	
		сек. (M±m)	%, до контролю
Контрольна патологія	-	982,00±51,17	-
Мексидол	42	1908,50±55,23*	94,29
Віта мелатонін	0,50	1646,83±55,15*	67,62
Сполука (I)	0,50	1972,17±76,68*/**	100,81

Примітки:

1.* - відхилення показника достовірно по відношенню до контрольної патології, P<0,005;

2.** - відхилення показника достовірно по відношенню до препарату порівняння віта мелатоніну P<0,005.

Як видно з таблиці 2, сполука (I) у дозі 0,50мг/кг, має виражену антигіпоксичну активність.

Таким чином, заявлено сполуку з вираженою антигіпоксичною активністю, що підтверджено експериментально на двох типових моделях з застосуванням двох препаратів порівняння.

Заявлена сполука може знайти застосування в медичній практиці у складі фармацевтичних засобів для лікування ряду патологічних станів, що супроводжуються гіпоксією (ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарду, ішемічний інсульт, різноманітні порушення коронарного та/або мозкового кровообігу, ураження нирок, печінки, легень, у

комплексній терапії поліорганної патології різного генезу тощо).

Для синтезу заявленої сполуки використовуються однореакторний метод та доступні реактиви, дозволені у фармацевтичній практиці, нешкідливі для довкілля. Нова сполука має виражену антигіпоксичну активність, проста у технологічних дослідженнях, одержанні у промислових умовах, стійка, що збільшує термін її зберігання. Перелічені фактори дозволяють рекомендувати заявлену сполуку для розробки високоефективних лікарських засобів.

Джерела інформації

1. Самойленко В.В. Ишемическая болезнь сердца / М.: Миклош, 2006. - С. 14-17.
2. Kolar F., Ostadal B. Molecular mechanisms of cardiac protection by adaptation to chronic hypoxia // *Physiol. Res.* - 2004. - Vol. 53, Suppl. 1. - P. 3-13.
3. Бобров В.О., Кулішов С.К. Адаптація ішемічні та реперфузійні синдроми у хворих ішемічною хворобою серця: механізми, діагностика, обґрунтування терапії / Полтава: Дивосвіт, 2004. - 240с.
4. Шляхто Е.В., Галагудза М.М., Нифонтов Е.М. Метаболизм миокарда при хронической сердечной недостаточности и современные возможности метаболической терапии / *Журн. Сердечн. недостаточность.* - 2005. - Т.6, №4. - С. 148-155.
5. Rodrigues C, Mayo J., Sainz R. Regulation of antioxidant enzymes a significant role for melatonin // *J. Pineal Res.* - 2004. - Vol. 36. - P. 1-9.
6. Антигипоксанти в лечении острого коронарного синдрома / В. Симоненко, А. Фисун, А. Складар, А. Михайлов // *Врач.* - 2001. - №4. - С. 28-31.
7. Компендиум 2007 - Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: Морион, 2007. - С. 138, С. 856.
8. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. - М.: ВЦН БАН. - 2000. - 352с.