



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 110255

(13) C2

(51) МПК

C07C 59/54 (2006.01)

A61K 47/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21)	Номер заявки:	а 2014 01243	(56)	Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
(22)	Дата подання заявки:	10.02.2014		RU 2 362 761 C1, 27.07.2009
(24)	Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.12.2015		US 2006/0083748 A1, 20.04.2006
(41)	Публікація відомостей про заявку:	10.08.2015, Бюл.№ 15		US 2007082951 A1, 12.04.2007
(46)	Публікація відомостей про видачу патенту:	10.12.2015, Бюл.№ 23		CN 102489274 A, 13.06.2012
(72)	Винахідник(и):	Алексєєва Олена Олександрівна (UA), Нестеркіна Марія Володимирівна (UA), Кравченко Ірина Анатоліївна (UA)		Hongxia Chen. Molecular Recognition of Arginine by Supramolecular Complexation with calixarene Crown Ether Based on Surface Plasmon Resonance / Hongxia Chen, Limin Gu et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2001. - №12. – P. 2315-2324
(73)	Власник(и):	ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В. БОГАТСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, Льостдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080 (UA), ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082 (UA)		Kalchenko O.I. A comparative study of the determination of the stability constants of inclusion complexes of p-sulfonatocalix[4]arene with amino acids by RP-HPLC and ¹ H NMR / Kalchenko O.I., Florent Perret et al // The Royal Society of Chemistry, Perkin Trans. – 2001. - №2. – P. 258-263
				Douteu-Guevel N. Binding of dipeptides and tripeptides containing lysine and arginine by p-sulfonatocalixarenes in water: NMR and microcalorimetric studies / Douteu-Guevel N., Florent Perret et al. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. – 2002. - №2. – P. 524-532

(54) КОМПЛЕКС γ -АМІНОМАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ ІЗ 5,11,17,23-ТЕТРА-ТРЕТ-БУТИЛ-25,27-БІС[КАРБОКСИМЕТОКСИ]-26,28-ДИГІДРОКСИКАЛІКС[4]АРЕНОМ, ЯКИЙ МАЄ ПРОТИСУДОМНУ АКТИВНІСТЬ

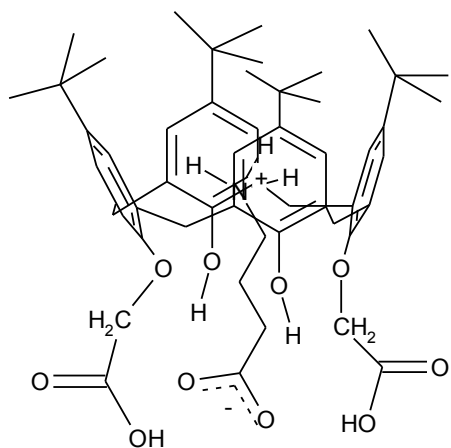
(57) Реферат:

Винахід належить до фармацевтичної хімії, а саме до синтезу та дослідженню проти судомної активності супрамолекулярного комплексу гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) з 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]ареном.

В основу поставлено задачу підвищення проникності ГАМК до головного мозку, що реалізується шляхом отримання супрамолекулярного комплексу гамма-аміномасляної кислоти з ліпофільним лігандом, яким є 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арен.

Наведено новий комплекс ГАМК з похідним калікс[4]арену формули:

UA 110255 C2



що проявляє пролонговану протисудомну активність.

Винахід належить до фармацевтичної хімії, а саме до синтезу та дослідження протисудомної активності супрамолекулярного комплексу γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) з 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену.

Відомо, що отримання комплексів лікарських речовин з макроциклічними сполуками дозволяє з однієї сторони, прогнозувати пролонгованість дії лікарських препаратів, порівняно із звичайними розчинами чи порошками, а з іншої - посилити проникність біомембран для активних інгредієнтів.

Серед молекул для контейнерування субстанцій, що використовуються для транспорту біологічно активних речовин крізь клітинні мембрани, широкого значення набули модифіковані циклодекстрини та каліксарени. Однак, циклодекстрини на відміну від каліксаренів, мають ряд недоліків, пов'язаних із складністю їх модифікації. В літературі представлені дані на підтвердження ролі похідних калікс[4]арену у трансмембранному транспорті (див. Mutihac L. Calixarene derivatives as carriers in liquid membrane transport / L. Mutihac, H.J. Buschmann, E. Diacu // Desalination. -2002. -V. 148. - P. 253-256).

Окрім цього, з метою підвищення розчинності лікарських речовин отримано водні системи, що містять комплекси макроциклів з карбамазепіном (див. Panchal J.G. Preparation and physicochemical characterization of carbamazepine (CBMZ): para-sulfonated calix[n]arene inclusion complexes / J.G. Panchal, R.V. Patel, S.K. Menon // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. -2010. -V. 67. -P. 201-208), фуросемідом (див. Yang W. Aqueous solubilization of furosemide by supramolecular complexation with 4-sulphonic calix[n]arenes / W. Yang, M. M. de Villiers // J. Pharm. Pharmacol. - 2004. -V. 56, № 6. -P. 703-708) та ніклозамідом (див. Yang W. Effect of 4-sulphonato-calix[n]Arenes and cyclodextrins on the solubilization of niclosamide, a poorly water soluble anthelmintic / W. Yang, M. M. de Villiers // The AAPS Journal. -2005. -V. 7, № 1. -P. 241-248).

Як прототип та аналог нами розглядається водна система, що містить супрамолекулярні каліксаренові наноконтейнери, здатні утворювати комплекси типу "гість-хазяїн" з молекулами амінокислот (див. пат. RU № 2362761, МПК C07C43/23, опубл. 27.07.2009). Авторами запропонована методика отримання систем, утворених калікс[4]аренами із поліоксietильованими замісниками при їх змішуванні з водою. Після додавання до утвореної наносистеми активних інгредієнтів (анальгін, стрептоцид, амінокислоти) відбувається їх солюбілізація. Серед основних недоліків способу-аналога варто зазначити наступні: отримана наносистема являє собою водний розчин, що значно ускладнює розрахунок необхідної концентрації комплексів для проведення фармакологічних досліджень. Відсутні дані щодо комплексоутворення похідних калікс[4]арену з γ -аміномасляною кислотою (яка водночас є лікарською речовиною ноотропної дії).

Також позитивних результатів не дав літературний пошук способів отримання комплексів ГАМК з похідними калікс[4]арену.

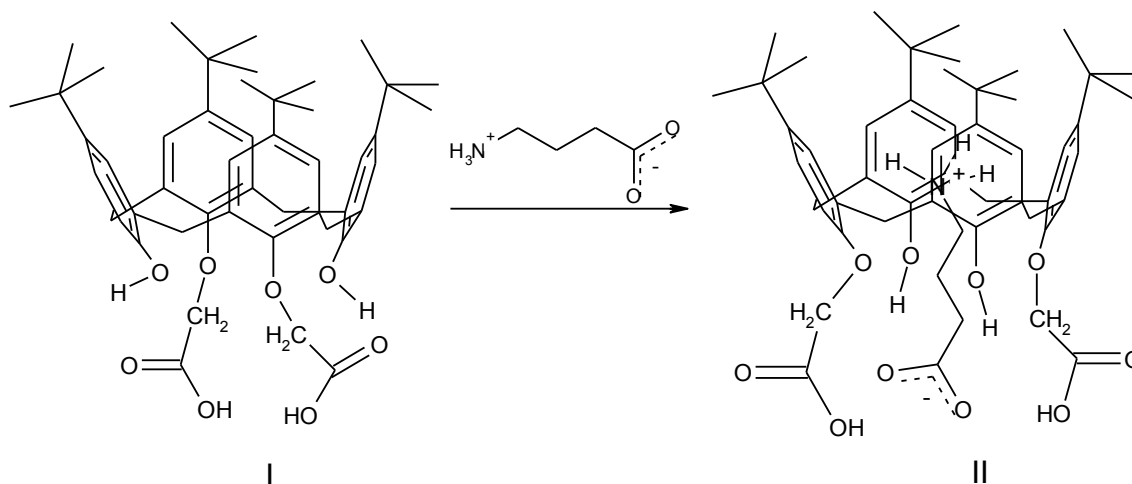
В основу винаходу поставлено задачу підвищення проникності ГАМК до головного мозку, що реалізується шляхом отримання комплексу γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) з 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену.

Технічний результат запропонованого винаходу полягає у пролонгованості та посиленні біологічної активності ГАМК за рахунок підвищення біодоступності амінокислоти, що, в свою чергу, реалізується при застосуванні молекул-транспортера, роль яких виконують сполука I, які є молекулярною платформою для транспорту біологічно-активних речовин крізь бар'єри організму.

У відповідності з вищевказаними обставинами, рішення поставленої задачі полягає у вивченні взаємодії ГАМК з похідним калікс[4]арену та отримання на його основі комплексу із необхідною активністю.

Похідне калікс[4]арену I отримували описаними раніше способами (див. Gutsche C. Conformational isomers of the ethers and esters of calix[4]arenes / C. Gutsche, B. Dhawan, J. Levine [et al.] // Tetrahedron. -1983. -V. 39, № 3. -P. 409-426).

Синтезований макроцикл охарактеризований за допомогою методів ІЧ-, УФ-, ^1H ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.



Спосіб отримання супрамолекулярних комплексів включає в себе отримання розчину каліксарену у відповідному розчиннику, додавання амінокислоти, перемішування та виділення кінцевого продукту.

Приклад 1.

Синтез комплексу ГАМК з 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену (II).

В конічну поліпропіленову колбу, обладнану магнітною мішалкою, поміщали розчин 1 ммоль каліксарену I в 15 мл безводного CHCl_3 , до якого при перемішуванні додавали 1 ммоль ГАМК. Реакцію проводили протягом 70 год., аналізуючи відібрані проби методом ТШХ та мас-спектрометрії. Після закінчення реакції утворений комплекс (нерозчинний у хлороформі) відфільтровували та промивали гарячим гептаном. Отриманий осад перекристалізовували із CH_3CN , відфільтровували гарячий розчин, фільтрат залишали у прохолодному місці для утворення кристалів.

Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д: 0.84 с [18H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$], 0.92 с [18H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$], 3.15 д (4H, ARCH_2AR , J 13.24 Гц), 3.90 д (4H, ArCH_2Ar , J 12.97 Гц), 4.35 с (4H, CH_2CO), 6.77 с (10H, $\text{H}_{\text{аром.}}$), 5.44 уш.с (3H, OH), 1.07 т (2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.89 д (2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ -), 3.38 д (2H, $\text{CH}_2\text{-COOH}$). Мас-спектр, m/z: 868 (M^+). ІЧ-спектр, ν , см^{-1} : 3401 ($\nu(\text{OH})$), 3049 ($\nu(\text{C}_{\text{аром.}}\text{-H})$), 2962-2896 ($\nu(\text{C-H})$), 1744 ($\nu(\text{C=O})$). УФ-спектр, нм: 280, 286.

Запропонований винахід "Комплекс γ -аміномасляної кислоти з 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]ареном" відрізняється від прототипу як природою ліганду, так і активним компонентом, які приймають участь у процесі комплексоутворення. Ще однією перевагою є те, що синтезований комплекс похідного калікс[4]арену з γ -аміномасляною кислотою виділено у твердому стані.

Було також проведено фармакологічні дослідження синтезованого комплексу. Для проведення фармакологічних тестів в роботі використовувались безпородні миші-самці масою 18-22 г.

Приклад 2.

Протисудомна активність сполуки II.

Протисудомний ефект оцінювали методом визначення мінімальних ефективних доз коразолу, які викликають клоніко-тонічні судоби (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ) у експериментальних тварин при його внутрішньовенній інфузії (див. табл.). Групам тварин перорально вводили водний розчин ГАМК у дозі 1 г/кг, синтезований комплекс II в еквімолярному співвідношенні відносно ГАМК, а також похідне калікс[4]арену I. Через відповідні проміжки часу (3 і 24 годин) оцінювали протисудомну активність ГАМК, вільного каліксарену та його комплексу з амінокислотою за збільшенням мінімальних ефективних доз коразолу (МЕД), порівняно з контрольною групою. Протисудомна активність комплексу II та вихідних сполук при пероральному введенні приведені в табл.

Було показано, що комплекс дикарбокси-похідного каліксарену з ГАМК II проявляє пролонговану протисудомну активність через 24 години після перорального введення, на відміну від вихідних сполук (див. табл.).

Таблиця

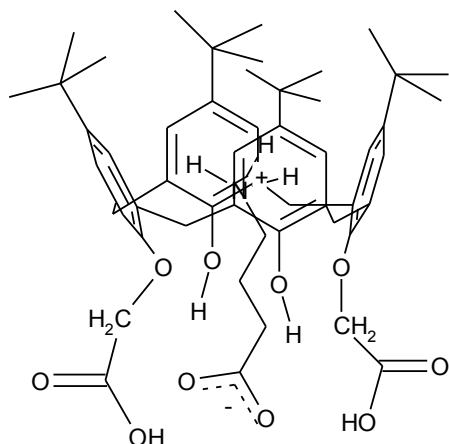
Сполука	Мінімальна ефективна доза коразолу (МЕД), % від контролю			
	3 год. після введення		24 год. після введення	
	ДКТС	ДТЕ	ДКТС	ДТЕ
Контроль	100,0±8,66	100,0±8,6	100,0±8,6	100,0±8,6
II	173,9±5,7*	176,9±5,7*	217,4±10,4*	215,4±7,6*
I	130,4±5,7*	130,8±2,9*	101,37±3,3	111,54±8,6
ГАМК	152,2±7,6*	150,0±7,6*	105,8±6,0	106,41±1,7

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

- 5 Було показано, що комплекс дикарбокси-похідного каліксарену з ГАМК II проявляє пролонговану протисудомну активність через 24 год. після перорального введення, на відміну від вихідних сполук (див. табл.).

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 10 Комплекс γ -аміномасляної кислоти із 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]ареном формули



як сполука, що має пролонговану протисудомну активність.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601