



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51062 (13) A

(51) 6 C07D473/04, C07D473/06, A61K31/52

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ**(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ 8-АМІНОМЕТИЛЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ КСАНТИНУ, ЩО МАЮТЬ АНТИАНАФІЛАКТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ВПЛИВАЮТЬ НА СЕЧОВИВІДНУ ФУНКЦІЮ НИРОК**

1

2

(21) 2001128949

(22) 24 12 2001

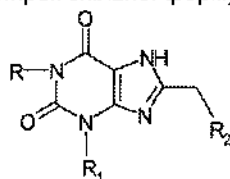
(24) 15 11 2002

(46) 15 11 2002, Бюл. №11, 2002 р.

(72) Федулова Ірина Валеріївна, Шевцов Євген Сергійович, Гладкова Людмила Валер'янівна

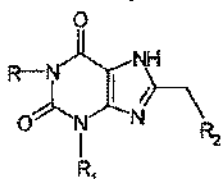
(73) Федулова Ірина Валеріївна

(57) Спосіб отримання 8-амінометилзаміщених похідних ксантину, що мають антианафілактичну активність та впливають на сечовивідну функцію нирок спільної формули

де R, R₁, - H, алкіл (C₁-C₁₈), що може бути з лінійним або розгалуженим ланцюгом без замісника

або з яким-небудь замісником (наприклад ароматичні радикали, у яких можуть бути різноманітні замісники в орто-, мета-, пара- положеннях, гетероциклічні радикали з різноманітними замісниками в циклі, будь-яка одна або декілька функціональних груп або їх похідні, галогени, R₂ - будь-який вторинний циклічний або ациклічний амін), що полягає в нагріванні 1,3-заміщених ксантинів із формальдегідом або параформом і вторинними амінами в спиртовому розчині в автоклаві з наступним охолодженням, фільтруванням осаду і випаровуванням фільтрату, який відрізняється тим, що похідні ксантину, формальдегід (параформ) і амін беруть у співвідношенні 1:2:2 (якщо як вихідну сполуку беруть 1,3-дизаміщені похідні ксантину) або 1:4:4 (якщо як вихідну сполуку беруть 1- або 3-монозаміщені похідні ксантину), як розчинник беруть ізопропанол, реакційну суміш нагрівають в автоклаві при 120°C

Винахід відноситься до медицини, а саме до способу отримання 8-амінометилзаміщених похідних ксантину спільної формули



де R, R₁, - H, алкіл (C₁-C₁₈), що може бути з лінійним або розгалуженим ланцюгом без замісника або з яким-небудь замісником (наприклад ароматичні радикали, у яких можуть бути різноманітні замісники в орто-, мета-, пара- положеннях, гетероциклічні радикали з різноманітними замісниками в циклі, будь-яка одна або декілька функціональних груп або їх похідні, галогени, R₂ - будь-який вторинний циклічний або ациклічний амін

У літературі був виявлений єдиний аналогічний спосіб одержання 8-амінометилксантинів за допомогою реакції Манніха [5]. Даний спосіб полягає в тривалому нагріванні теофіліну з формаль-

дегідом або параформом і вторинними амінами в етанолі на водяній бані з наступним охолодженням при кімнатній температурі і фільтруванням осаду, що випав. Спільними ознаками для аналога і засобу, що заявляється, являються 1) у якості вихідної сполуки використовують похідні ксантину, 2) реакцію Манніха проводять нагріванням похідних ксантину з формальдегідом або параформом і вторинними амінами в спиртовому розчині. До недоліків аналога можна віднести 1) похідні ксантину, формальдегід (параформ) і амін беруть у співвідношенні - 1:1:1, 2) у якості розчинника беруть етанол, 3) нагрівання реакційної суміші здійснюють у колбі з хоподильником на водяній бані, 4) нагрівання реакційної суміші здійснюють тривалий час, іноді більш двох діб.

Метою даного винаходу є - пошук нових високоефективних та менш токсичних протиалергічних лікарських засобів.

У основу винаходу поставлена задача удосконалити одержання 8-амінометилзаміщених похідних ксантину, вивчити їхню токсичність, антианафілактичну активність і вплив на сечовивідну

(13) A

(11) 51062

(19) UA

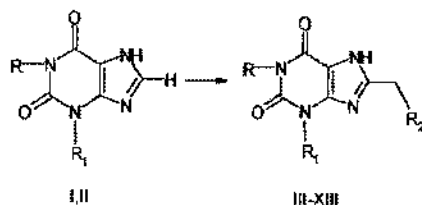
функцію нирок. Поставлена задача вирішується тим, що в спосіб, який полягає в нагріванні 1,3-заміщених ксантинів із формальдегідом або параформом і вторинними амінами в спиртовому розчині в автоклаві з наступним охолодженням, фільтруванням осаду, що випав, і випарюванням фільтрату, новим є те, що 1) похідні ксантину, формальдегід (параформ) і амін беруть у співвідношенні 1 : 2 : 2 (якщо в якості вихідної сполуки беруть 1,3-дизаміщені похідні ксантину) або 1 : 4 : 4 (якщо в якості вихідної сполуки беруть 1- або 3-монозаміщені похідні ксантину), 2) замість етанолу беруть ізопропанол, 3) реакційну суміш нагрівають в автоклаві, 4) автоклав нагрівають у термостаті при 120°C. Це дає такі переваги: 1) збільшення в два (чотири) рази кількості параформу та аміну приводить до зростання виходу продукту реакції, 2) заміна етанолу на ізопропанол збільшує вихід продукту реакції, тому що етанол легко окислюється і утворює альдегід, який теж може вступати в реакцію Манніха, 3) нагрівання реакційної суміші в автоклаві збільшує безпеку експерименту, відміння необхідності постійного спостереження за реакцією, усуває можливість випару реагентів, 4) підвищення температури реакційного середовища приводить до скорочення часу проведення реакції і збільшенню виходу продукту.

Крім того, у 8-амінометилзаміщених ксантинів виявлені фармакологічні властивості. Дані сполуки відносяться до групи менш токсичних речовин, впливають на сечовивідну функцію нирок і виявляють антианафілактичну активність.

Спосіб одержання 8-амінометилзаміщених ксантинів здійснюється таким чином:

Приклад 1. Покладийний синтез сполук, що описуються

Схема



А. Синтез 8-амінометилзаміщених похідних теофіліну (III-IX).

Суміш 1,8г (0,01моль) теофіліну (I), 2,0мл (0,02моль) 38% водяного розчину формальдегіду або 0,6г (0,02моль) параформу, 0,02моль відповідного аміну - піперидину (II), морфоліну (IV), N-метилпіперазину (V), N-(2-гідроксиетил)-піперазину (VI), N-бензилпіперазину (VII), диметиламіну (VIII), N-метилбензиламіну (IX), 2мл ізопропанолу поміщають у лабораторний автоклав і нагрівають при 120°C протягом 24 годин. Реакційну суміш охолоджують, осад фільтрують, промивають ацетоном, сушать. Фільтрат випарюють до суха, осад промивають ацетоном і приєднують до основного продукту. Кристалізують з ізопропанолу (III, VIII, IX) або діоксану (IV-VII).

Б. Синтез 8-амінометилзаміщених похідних ксантину (X-XIII).

Суміш 1,7г (0,01моль) ксантину (II), 4,0мл (0,04моль) 38% водяного розчину формальдегіду

або 1,2г (0,04моль) параформу, 0,04моль відповідного аміну - морфоліну (X), N-метилпіперазину (XI), диметиламіну (XII), дибензиламіну (XIII), 4мл ізопропанолу поміщають у лабораторний автоклав і нагрівають при 120°C протягом 24 годин. Реакційну суміш охолоджують, осад фільтрують, промивають ацетоном, сушать. Фільтрат випарюють до суха, осад промивають ацетоном і приєднують до основного продукту. Кристалізують з ДМФА (X, XI), діоксану (XII, XIII).

Фізико-хімічні властивості отриманих сполук надані в таблиці 1. ПМР-спектри зняті на спектрометрі «Bruker» Ac-200 (200,13МГц), розчинник ДМСО, внутрішній стандарт TMC (таблиця 2).

Приклад 2. Біологічна активність 8-амінометилзаміщених похідних ксантину.

А. Вивчення гострої токсичності синтезованих сполук.

Гостру токсичність (LD_{50}) синтезованих сполук і еталона порівняння теофіліну ("ICN") визначали по методу Прозоровського В.Б. [3] у дослідах на безпородних щурах масою 180 - 200г. Сполуки вводяться внутрішньочеревно у виді водяного розчину або тонкої водяної суспензії, стабілізованої твіном-80. Спостереження за тваринами проводять протягом 14 діб після однократного введення речовини. О токсичній дії сполук судять по стану тварин та їх виживанню.

Результати проведених досліджень надані в таблиці 3.

Відповідно до класифікації К.К. Сидорова [4] теофілін і речовина VII (при внутрішньочеревному введенні) відносяться до групи менш токсичних речовин, речовини IV, V, VI - до групи практично нетоксичних речовин. Причому теофілін у 5 - 12 разів більш токсичен, ніж досліджувані сполуки.

Б. Вивчення антианафілактичної активності синтезованих сполук.

Антианафілактичну або протиалергічну активність сполук IV, V, VI, VII вивчали на морських свинках. Для відтворення алергічних реакцій анафілактичного типу тварин сенсibilізують яєчним білком [2]. Тваринам внутрішньочеревно вводять яєчний білок по 0,5мл три рази з проміжками між ін'єкціями в 3 дні. Для відтворення анафілактичного шоку на 21 день від моменту останньої ін'єкції тваринам внутрішньочеревно вводять вирішуючу дозу яєчного білка (5мл на 300г ваги тварини). У контрольних тварин розвивається анафілактичний шок затяжної форми і вони гинуть протягом часу. Для експерименту були відібрані 7 груп тварин масою тіла 250 - 300г, по 10 свинок у кожній групі. Одна група - позитивний контроль, тобто "неліковані" сенсibilізовані морські свинки. Друга група тварин - негативний контроль, інтактні морські свинки, яким вводять воду. Іншим чотирьом групам тварин вводять досліджувану речовину в дозі 30мг/кг за 30 хвилин до введення вирішуючої дози яєчного білка. У якості препарату порівняння використовують субстанцію теофіліну в дозі 30мг/кг. Інтенсивність анафілактичного шоку оцінювали по 4-х бальній системі: 1 бал - короточасне почухування носа, "скуповдження" шерсті, 2 бала - чітко виражені часті почухування, напівсонний стан, гіпотермія, скуповдження шерсті, 3 бала - бічне положення тварини, задишка, гіпотермія, скупов-

дженість шерсті, 4 бала - бічне положення тварини, гіпотермія, спазм дихальних шляхів, конвульсивні стрибки, судороги, тварина гине

Оцінювання результатів проводили диференціальним способом урахування, підраховуючи анафілактичний індекс по розподілу тварин у % до їхнього загального числа

$$\text{анафілактичний індекс} = (a + 2b + 3c + 4d)/100,$$

де a, b, c, d - кількість тварин у % до їхнього загального числа, що виявили прояви анафілактичного шоку інтенсивністю відповідно 1, 2, 3 і 4 бала

Ефект дії досліджуваної сполуки і препарату порівняння розраховували по формулі

$$\text{ефект} = (\Delta_k - \Delta_d)/\Delta_k \cdot 100\%,$$

де Δ_k і Δ_d - різниця між показниками в контрольній і дослідній групах відносно інтактних тварин

Результати проведених досліджень надані в таблиці 4. З даних, приведених у таблиці 4, очевидно, що у нелікованих тварин інтенсивність анафілактичного шоку досягає 100%. Теофілін виявляє анафілактичну активність ефективністю 32,5%. Вивчені 8-амінометилзаміщені ксантини (IV, V, VI, VII) виявляють антианафілактичну активність ефективністю від 12,5% до 100%

В. Вивчення впливу синтезованих речовин на

сечовивідну функцію нирок

Вплив синтезованих речовин на сечовивідну функцію нирок досліджувався на білих безпородних щурах-самцях масою 200 - 250г по методу Є. Б. Берхіна [1]. Щурам контрольної групи вводять в шлунок воду в кількості 5мл на 100г ваги тварини. Сполуки вводять внутрішньочеревно (доза - 30мг/кг) безпосередньо перед введенням водного навантаження. Кількість сечі вимірюється через 4 години. Еталонами порівняння служили теофілін (доза - 30мг/кг) і фуросемід (доза - 10мг/кг). Статистичну обробку даних, отриманих при виконанні фармакологічних досліджень, проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень наведені в таблиці 5.

Дослідження показали, що вивчені сполуки, за винятком сполуки VII, збільшують сечовиділення. Причому, їхня діуретична активність перевищує активність теофіліну на 21 - 25%.

Таким чином, вивчені 8-амінометилзаміщені ксантини володіють антианафілактичною активністю і впливають на сечовивідну функцію нирок. Вони більш активні і значно менше токсичні ніж еталон порівняння теофілін. Тому ці сполуки можуть знайти застосування у фармації в якості нових лікарських препаратів.

Таблиця 1

Характеристики синтезованих сполук

Сполука	R	R ₁	R ₂	Вихід %	Т пл, °С	Знайдено, %			Брутто-формула	Розраховано, %		
						C	H	N		C	H	N
III	CH ₃	CH ₃	піперидино	70	205 - 207	56,23	7,04	25,23	C ₁₃ H ₁₉ N ₅ O ₂	56,30	6,91	25,25
IV	CH ₃	CH ₃	морфоліно	85	240 - 241	51,59	6,28	25,01	C ₁₂ H ₁₇ N ₅ O ₃	51,61	6,14	25,07
V	CH ₃	CH ₃	4-метилпіперазиніл-1	87	255 - 257	53,37	7,12	28,67	C ₁₃ H ₂₀ N ₆ O ₂	53,41	6,90	28,75
VI	CH ₃	CH ₃	4-(2-гідроксизтил-1)-піперазиніл-1	90	216 - 219	52,10	6,83	26,01	C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₃	52,16	6,88	26,07
VII	CH ₃	CH ₃	4-бензилпіперазиніл-1	76	213 - 216	61,88	6,79	22,72	C ₁₉ H ₂₄ N ₆ O ₂	61,94	6,57	22,81
VIII	CH ₃	CH ₃	N,N-диметиламіно	73	189 - 190	50,54	6,51	29,49	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₂	50,62	6,37	29,52
IX	CH ₃	CH ₃	N-метил-N-бензиламіно	65	191 - 192	61,25	6,36	22,30	C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₂	61,33	6,11	22,35
X	H	CH ₃	морфоліно	75	294 - 296	49,76	5,91	26,33	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃	49,81	5,70	26,40
XI	H	CH ₃	4-метилпіперазиніл-1	82	258 - 259	51,72	6,77	30,19	C ₁₂ H ₁₆ N ₆ O ₂	51,79	6,52	30,20
XII	H	CH ₃	N,N-диметиламіно	78	237 - 238	48,53	5,81	31,28	C ₉ H ₁₃ N ₅ O ₂	48,42	5,87	31,37
XIII	H	CH ₃	N,N-добензиламіно	62	226 - 227	67,12	5,88	18,56	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₂	67,18	5,64	18,65

Таблиця 2

ПМР-спектри синтезованих сполук

Сполука	Хімічні зрушення протонів, δ-шкала, м.ч						
	1NH (1H, c)	CH аром	8C-CH ₂ -N (2H, c)	1NCH ₃ (3H, c)	3NCH ₃ (3H, c)	NCH ₂	Інші
I	2	3	4	5	6	7	8
III	-	-	3,54	3,43	3,23	2,39 (4H, м)	1,49(4H, м, C-CH ₂ -C), 1,35(2H, м, C-CH ₂ -C)
IV	-	-	3,55	3,43	3,23	2,43 (4H, м)	3,58 (4H, м, CH ₂ -O)
V	-	-	3,56	3,42	3,23	2,32 (4H, м), 2,44 (4H, м)	2,14 (3H, c, CH ₃ -N)
VI	-	-	3,56	3,43	3,23	2,35 (2H, м), 2,42 (8H, м)	3,46 (2H, м, CH ₂ -O)
VII	-	7,11-7,23 (5H, м)	3,57	3,48	3,27	2,40 (8H, м)	3,43 (2H, c, CH ₂ -Ph)
VIII	-	-	3,50	3,47	3,26	-	2,23 (6H, c, CH ₃ -N)
IX	-	7,20-7,42 (5H, м)	3,66	3,45	3,24	-	3,57 (2H, c, CH ₂ -Ph), 2,12 (3H, c, CH ₃ -N)

Сполука	Хімічні зрушення протонів, δ-шкала, м ч						
	1NH (1H, с)	CH аром	8C-CH ₂ -N (2H, с)	1NCH ₃ (3H, с)	3NCH ₃ (3H, с)	NCH ₂	Інші
X	10,96	-	3,55	-	3,33	2,40 (4H, м)	3,57 (4H, м, CH ₂ -O)
XI	11,10	-	3,53	-	3,34	2,30 (4H, м), 2,41 (4H, м)	2,12 (3H, с, CH ₃ -N)
XII	10,78	-	3,50	-	3,35	-	2,18 (6H, с, CH ₃ -N)
XIII	11,00	7,20-7,47 (10H, м)	3,67	-	3,38	-	3,60 (4H, с, CH ₂ -Ph)

Таблиця 3

Гостра токсичність синтезованих сполук

	Доза мг/кг	Кількість тварин			ЛД ₅₀ мг/кг
		Загальна	Загинули	Вижили	
Теофілін (в/ч)	126	2	0	2	178(136 ÷ 230)
	158	2	0	2	
	200	2	2	0	
	250	2	2	0	
IV (в/ч)	1000	2	0	2	1410 (914 ÷ 2094)
	1260	2	0	2	
	1580	2	2	0	
	2000	2	2	0	
V (в/ч)	1260	2	0	2	1780 (1355 ÷ 2299)
	1580	2	0	2	
	2000	2	2	0	
	2500	2	2	0	
VI (в/ч)	1580	2	0	2	2240 (1438 ÷ 2854)
	2000	2	0	2	
	2500	2	2	0	
	3160	2	2	0	
VII (в/ч)	631	2	0	2	890(630-1197)
	794	2	0	2	
	1000	2	2	0	
	1260	2	2	0	

Таблиця 4

Антианафілактична активність синтезованих сполук

Сполука	Інтенсивність анафілактичного шоку (розподіл тварин у % до загального числа)				Анафілактичний індекс	Ефект, %
	1 бал	2 бали	3 бали	4 бали		
Інтактні тварини	0	0	0	0	0	-
Нелаковані тварини	0	0	0	100	4,0	-
Теофілін	0	30	70	0	2,7	32,5
IV	0	0	0	0	0	100
V	0	0	50	50	3,5	12,5
VI	0	0	0	0	0	100
VII	0	60	40	0	2,4	40

Таблиця 5

Вплив синтезованих сполук на сечовивідну функцію нирок

Сполука	Діурез в % к контролю
Контроль	100
Фуросемід	132*
Теофілін	89*

IV	114
V	110*
VI	112
VII	90

* - p < 0,05

ЛІТЕРАТУРА

1 Берхин Е Б // Хим -фармац журн -1977 - Т 11,
№ 5 - С 3 - 11

2 Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований / Под ред И В Лазарева - Л Медгиз, 1954 - 385с

3 Прозоровский В Б , Прозоровская М П , Демченко В М // Фармакол и токсикол - 1978 - Т 41, №

4 - С 497 - 502

4 Сидоров К К // Токсикология новых промышленных химических веществ -1973 -Вып 13 -С 43 - 51

5 Rida S M , Fargnaly A M , Ashour F A // Pharmazie - 1979 - V 34, № 4 - P 214 - 216

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71