



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **90180** (13) **U**  
(51) МПК (2014.01)  
**C07D 473/00**

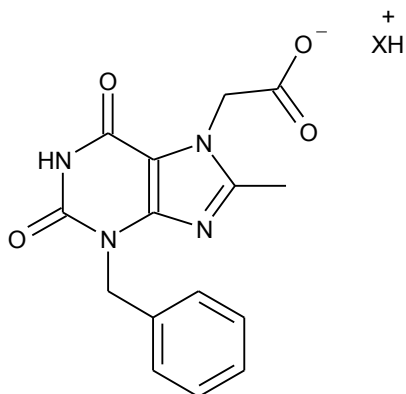
## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2014 00047</b>	(72) Винахідник(и): <b>Левіч Сергій Вадимович (UA), Шкода Олександр Станіславович (UA), Александрова Катерина Вячеславівна (UA), Бєленічев Ігор Федорович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>08.01.2014</b>	(73) Власник(и): <b>ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA), Левіч Сергій Вадимович, вул. Автозаводська, 6-а, кв. 30, м. Запоріжжя, 69118 (UA), Шкода Олександр Станіславович, вул. Уральська, 61, кв. 237, м. Запоріжжя, 69071 (UA), Александрова Катерина Вячеславівна, вул. Українська, 8, кв. 100, м. Запоріжжя, 69095 (UA), Бєленічев Ігор Федорович, пр. Ювілейний, 26, кв. 54, м. Запоріжжя, 69096 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>12.05.2014</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.05.2014, Бюл.№ 9</b>	

## (54) 3-БЕНЗИЛ-8-МЕТИЛКСАНТИНІЛ-7-АЦЕТАТИ, ЯКІ ВІЯВЛЯЮТЬ ЕНДОТЕЛІОПРОТЕКТИВНУ ДІЮ

### (57) Реферат:

3-Бензил-8-метилксантиніл-7-ацетати формули:



де X = піперазин; N,N-диметилбензиламін,  
які виявляють ендотеліопротективну дію.

UA 90180 U



Корисна модель належить до біологічно активних сполук і може бути використана у фармації та медицині.

Серцево-судинні захворювання широко розповсюджені і посідають перше місце серед причин інвалідизації та смертності населення. У їх патогенезі провідна роль відводиться  
 5 ендотеліальній дисфункції (ЕД) [Жлоба А.А. Роль АДМА в качестве эндогенного ингибитора eNOS и одного из медиаторов развития вазомоторной эндотелиальной дисфункции Текст. / А.А. Жлоба // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2007. - Т. 6, № 3. С. 4-14].

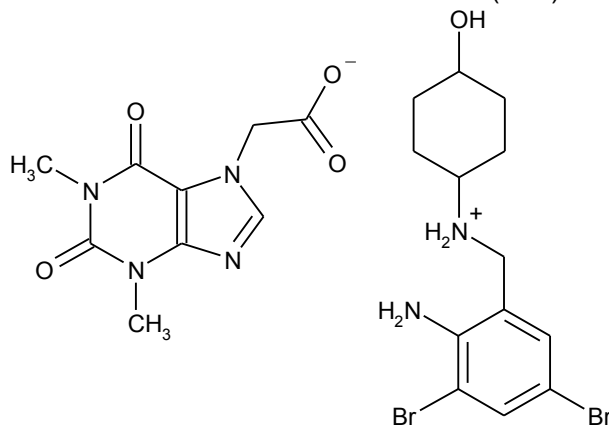
ЕД розглядається як предиктор артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, хронічної  
 10 серцевої недостатності, а також як патогенетичний компонент органних ушкоджень при цукровому діабеті [Белоусов Ю.Б. Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии: методы коррекции. Текст. / Ю.Б. Белоусов, Ж.Н. Намсараев // Фарматека. 2004. - № 6. - С. 62-72].

Важливим маркером ендотеліальної дисфункції, що призводить до серйозних розладів  
 15 судинно-тромбоцитарного гомеостазу, є гіпергомоцистеїнемія [Vanhoutte P.M. Arginine and arginase: endothelial no synthase double crossed? Text. / P.M. Vanhoutte // Circulation Research. 2008. - Vol. 102, № 8. - P. 866-868], яка є результатом порушення метаболізму гомоцистеїну. Ця амінокислота є проміжним продуктом перетворення метіоніну у цистеїн.

Навіть при початковій дисфункції ендотелію концентрація гомоцистеїну плазми може  
 20 досягати досить високого рівня, що може привести до цілого ряду несприятливих біологічних ефектів, які можуть мати значення у розвитку як системних судинних, так і локальних змін. Серед них - пошкодження ендотелію та ендотеліальна дисфункція, збільшення проліферації клітин гладкої мускулатури судин, стрес ендоплазматичного ретикулуму, який призводить до порушення біосинтезу холестеролу, триацилгліцеридів та викликає апоптоз ендотеліальних клітин [Способы экспериментального моделирования эндотелиальной дисфункции / М.В.  
 25 Корокин, Е.Б. Артюшкова, М.В. Покровский [и др.] // Аллергология и иммунология. - 2008. - Т.9 (3) - 327 с].

У зв'язку з вищезазначеним, актуальною проблемою сучасної медицини є створення нових високоєфективних ендотеліопротекторів, здатних до зниження гіпергомоцистеїнемії.

Найближчим аналогом за структурою сполук, що заявляються, може служити N-(2-аміно-3,5-  
 30 дибромобензил)-4-гідроксициклогексиламоній теофілініл-7-ацетат (Solid-State Chemistry of Ambroxol Theophylline-7-Acetate/ A. Foppoli, L. Zema, A. Gazzaniga, M. R. Caira, L. R. Nassimbeni, E. Borkum, R. Bettini, F. Giordano // J. Pharm. Sci. - 2007. - V. 96 (№ 5). - P. 1139-1146).

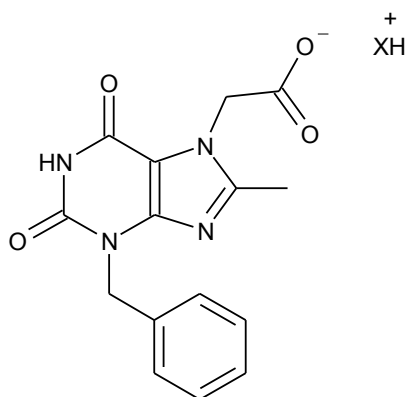


Сполуки, що заявляються, відрізняються від найближчого аналогу наявністю метильного  
 35 замісника в положенні 8 та відсутністю його в положенні 1, замісником в положенні 3 та природою солеутворюючих основ. У найближчого аналогу ендотеліопротективна активність не вивчалась.

На відміну від N-ацетилцистеїну, сполуки, що заявляються, виявляють сильнішу  
 ендотеліопротективну дію за впливом на показники гіпергомоцистеїнемії.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нових препаратів-  
 40 ендотеліопротекторів, які після поглиблених фармакологічних досліджень можуть бути використані в медичній практиці.

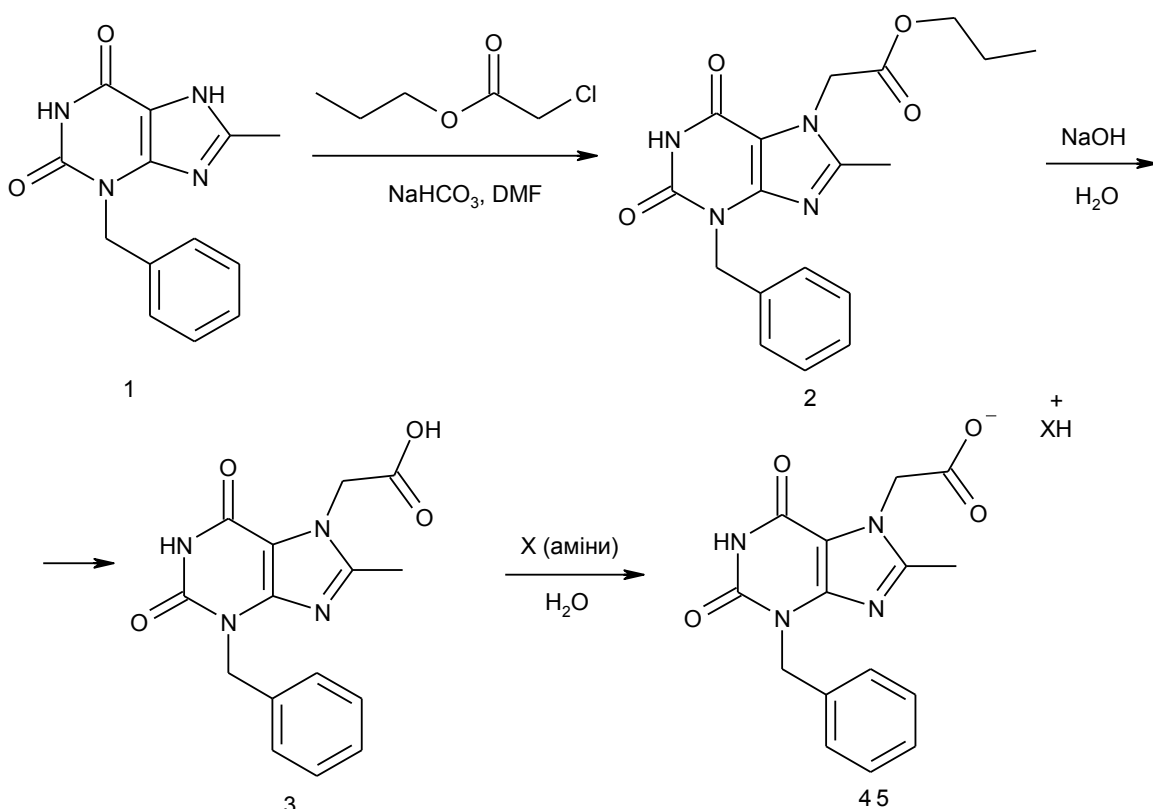
Поставлена задача вирішується синтезом піперазинів та N, N-диметилбензиламоній 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетатами:



X=піперазин;N,N-диметилбензиламін

Одержують сполуки, що заявляються, стадійним синтезом, який складається з наступних етапів (схема 1)

Схема 1



X=піперазин;N,N-диметилбензиламін

5

Приклад 1. Етап 1. Синтез 3-бензил-8-метилксантину (1).

0,1 моль 5,6-діаміно-1-бензил-2,4(1H, 3H) піримідиндіону розчиняють у 60 мл оцтової кислоти та кип'ятять протягом 3 год. Розчин охолоджують та виливають у воду. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою та сушать при 80 °С. Потім додають 200 мл 1 н розчину  $\text{NaOH}$  та кип'ятять 2,5 год. Розчин фільтрують в гарячому вигляді, розчином  $\text{H}_2\text{SO}_4$  показник рН доводять до 4,0. Осад, що утворився, відфільтровують та сушать при 100 °С. Вихід 81 %. Т.пл. >300 °С.  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$ . Знайдено, %: С, 60,63; Н, 5,02; N, 21,56. Розраховано, %: С, 60,93; Н, 4,72; N, 21,86. ПМР-спектр (δ-шкала, м.ч., розчинник  $\text{DMSO-d}_6$ ): 13,48 (1H, с,  $\text{N}^7\text{H}$ ), 11,12 (1H, с,  $\text{N}^1\text{H}$ ), 7,39-7,12 (5H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5,09 (2H, с,  $\text{N}^3\text{-CH}_2$ ), 2,35 (3H, с,  $\text{C}^8\text{-CH}_3$ ).

15

Етап 2. Синтез n-пропілового естеру 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти (2).

До 0,01 моль сполуки 1 додають 15 мл ДМФА і 0,011 моль натрій гідрокарбонату та нагрівають протягом 15 хв. Після цього додають 0,011 моль n-пропілового естеру хлорацетатної кислоти та кип'ятять розчин протягом 2 год. Фільтрують в гарячому вигляді, фільтрат охолоджують, виливають в 50 мл води. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають

водою, сушать при 70 °C та перекристалізують із пропанолу-1. Вихід 76 %. Т.пл. 165-167 °C.  $C_{18}H_{20}N_4O_4$ . Знайдено, %: C, 60,96; H, 5,96; N, 16,02. Розраховано, %: C, 60,66; H, 5,66; N, 15,72. ПМР спектр (δ-шкала, м.ч., розчинник ДМСО- $d_6$ ): 11,19 (1H, с, N<sup>1</sup>H); 7,52-7,08 (5H, м, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 5,12 (2H, с, N<sup>7</sup>-CH<sub>2</sub>); 5,07 (2H, с, N<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>); 4,06 (2H, т, O-CH<sub>2</sub>; J=6,59 Гц); 2,34 (3H, с, C<sup>8</sup>-CH<sub>3</sub>); 1,57 (2H, м, O-C-CH<sub>2</sub>); 0,89 (3H, т, CH<sub>3</sub>; J=7,51 Гц).

Етап 3. Синтез 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти (3).

3,56 г (0,01 моль) естеру 2 розчиняють у 90 мл 0,5 н водного розчину NaOH та кип'ятять протягом 2 год. Фільтрують розчин в гарячому вигляді, фільтрат охолоджують та нейтралізують 0,1 н розчином H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> до pH = 2. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, сушать при 70 °C та переосаджують із водного розчину NaHCO<sub>3</sub>. Вихід 97 %. Т.пл. 285-6 °C.  $C_{15}H_{14}N_4O_4$ . Знайдено, %: C, 57,02; H, 4,79; N, 18,13. Розраховано, %: C, 57,32; H, 4,49; N, 17,83. ПМР спектр (δ-шкала, м.ч., розчинник ДМСО- $d_6$ ): 12,61 (1H, с, OH), 11,18 (1H, с, N<sup>1</sup>H); 7,32-7,09 (5H, м, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 5,09 (2H, с, N<sup>3</sup>-CH<sub>2</sub>); 4,99 (2H, с, N<sup>7</sup>-CH<sub>2</sub>); 2,24 (3H, с, C<sup>8</sup>-CH<sub>3</sub>).

Етап 4. Синтез водорозчинних солей 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти (4а та 4б).

До 0,5 г (1,6 ммоль) кислоти 3 додають 10 мл води та 1,6 ммоль піперазину (сполука 4а) або N, N-диметилбензиламіну (сполука 4б) та нагрівають до повного розчинення. Фільтрують розчин в гарячому вигляді, а фільтрат охолоджують, приливають ацетон, при цьому випадає осад відповідної солі. Його відфільтровують, промивають ацетоном, діетиловим етером та сушать при 80-85 °C.

Піперазиній 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетат (сполука 4а). Вихід 88,3 %. Т.пл. 243-245 °C.  $C_{19}H_{24}N_6O_4$ . Знайдено, %: C, 56,69; H, 5,74; N, 21,29. Розраховано, %: C, 56,99; H, 6,04; N, 20,99.

N, N-Диметилбензиламоній 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетат (сполука 4б). Вихід 81,1 %. Т.пл. 200-201 °C.  $C_{24}H_{27}N_5O_4$ . Знайдено, %: C, 64,43; H, 6,35; N, 15,28. Розраховано, %: C, 64,13; H, 6,05; N, 15,58.

Приклад 2. Етап 1. Для моделювання гіпергомоцистеїнемії до інкубаційного середовища (гомогенізований тканин мозку щурів) у токсичній концентрації (100-500 мкмоль) вносили ферум (II) динітрозолюний комплекс з цистеїном (DNIC) (Halliwell B. Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases / B. Halliwell, O. Auroma-St. Lucia, London: OICA Int., 1999.-352 p.). Після внесення до інкубаційного середовища ініціюючих агентів зразки інкубували протягом 60 хв. при температурі 37 °C. Паралельно з інтактною і контрольною пробою ставили пробу з додаванням ініціюючих агентів і досліджуваних сполук (у концентраціях 10<sup>-3</sup> моль/л, 10<sup>-6</sup> моль/л та 10<sup>-9</sup> моль/л) або еталону порівняння (N-ацетилцистеїну). Про активність сполук, що заявляються, судили за зниженням концентрації у пробах маркера ендотеліальної дисфункції - гомоцистеїну, концентрацію якого визначали ензиматичним методом з використанням набору "LaChema".

Зв'язаний чи димеризований гомоцистеїн відновлюють до вільного гомоцистеїну, який реагує з серином, в результаті чого утворюється L-цистатіонін. Реакція каталізується цистіонін-β-синтазою (Ц-β-С). L-цистіонін, в свою чергу, розщеплюється з утворенням гомоцистеїну, пірувату та амоніаку. Реакція каталізується цистатіонін-β-ліазою. Піруват, під дією лактатдегідрогенази перетворюється на лактат, коферментом реакції є NADH. Співвідношення NADH до NAD<sup>+</sup> прямо пропорційно концентрації гомоцистеїну, розрахунок якого здійснюють за калібровочною кривою (мкг/г білку).

Результати проведених досліджень наведені в таблиці

Таблиця

Вплив досліджуваних сполук in vitro на показники гіпергомоцистеїнемії (M±m)

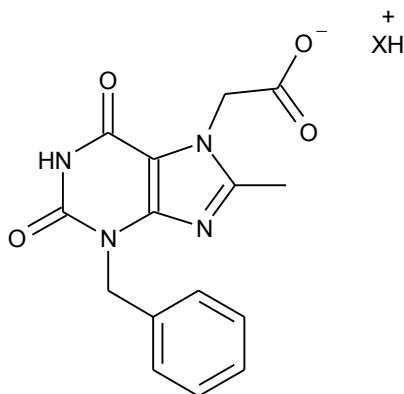
Сполука	10 <sup>-3</sup> моль/л		10 <sup>-6</sup> моль/л		10 <sup>-9</sup> моль/л	
	гомоцистеїн, мкг/г	%	гомоцистеїн, мкг/г	%	гомоцистеїн, мкг/г	%
Піперазин-1-ій 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетат	11,86±0,11	63,7	8,34±0,19	74,5	14,68±0,11	55,1
N, N-Диметилбензиламоній 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетат	16,4±0,187	49,8	13,72±0,09	58,1	14,52±0,18	55,7
N-ацетилцистеїн	17,0±0,26	48,0	22,8±0,40	30,3	22,3±0,37	31,8
Контроль	32,70±0,24		32,70±0,24		32,70±0,24	
Інтакт	7,22±0,24		7,22±0,24		7,22±0,24	

Визначення ендотеліопротекторної активності показало, що синтезовані 3-бензил-8-метилксантиніл-7-ацетати у всіх досліджуваних концентраціях знижують гіпергомоцистеїнемію та за силою дії перевищують еталон порівняння N-ацетилцистеїн.

Таким чином, наведені вище дані свідчать про те, що після поглиблених фармакологічних досліджень сполуки, що заявляються, можуть бути використані як ендотеліопротективні засоби в медичній практиці.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

3-Бензил-8-метилксантиніл-7-ацетати формули:



де X = піперазин; N,N-диметилбензиламін, які виявляють ендотеліопротективну дію.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябко

---

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

---

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