



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **91275** (13) **U**  
(51) МПК  
**C07C 43/23** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

|   |   |
|---|---|
| <b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2014 01244</b>                                     | <b>(72)</b> Винахідник(и):<br><b>Алексєєва Олена Олександрівна (UA),<br/>Нестеркіна Марія Володимирівна (UA),<br/>Кравченко Ірина Анатоліївна (UA)</b>  |
| <b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>10.02.2014</b>                                |   |
| <b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.06.2014</b>     | <b>(73)</b> Власник(и):<br><b>ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В.<br/>БОГАТСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ<br/>АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,<br/>Люстдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080<br/>(UA),<br/>ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ<br/>УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА,<br/>вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082 (UA)</b> |
| <b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.06.2014, Бюл.№ 12</b> |   |

**(54) КОМПЛЕКСИ  $\gamma$ -АМІНОМАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ З ПОХІДНИМИ КАЛІКС[4]АРЕНУ, ЯКІ МАЮТЬ ПРОТИСУДОМНУ ТА СЕДАТИВНУ АКТИВНІСТЬ**

**(57) Реферат:**

Комплекси  $\gamma$ -аміномасляної кислоти з похідними калікс[4]арену, які мають протисудомну та седативну активність.

**UA 91275 U**



Корисна модель належить до фармацевтичної хімії, а саме до синтезу супрамолекулярних комплексів гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) з похідними калікс[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. Зокрема, відомо отримання комплексів сульфокаліксаренів з амінокислотами лізином та аргініном (див. Douteau-Guével N. Binding of dipeptides and tripeptides containing lysine or arginine by p-sulfonatocalixarenes in water: NMR and microcalorimetric studies /N. Douteau-Guével, F. Perret, A.W. Coleman, J-P. Morel, N. Morel-Desrosiers //J. Chem. Soc, Perkin Trans. - 2002. - № 2. - P. 524-532). Окрім цього, з метою підвищення розчинності лікарських речовин отримані водні системи, що містять комплекси макроциклів з карбамазепіном, фуросемідом та ніклозамідом (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, 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, 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 найближчий аналог нами розглядається спосіб отримання водної системи, що містить супрамолекулярні каліксаренові наноконтейнери, здатні утворювати комплекси типу "гість-господар" з молекулами амінокислот (див. пат. RU № 2362761, МПК C07 C 43/23, опубл. 27.07.2009). Авторами запропонована методика отримання систем, утворених поліоксєтильованими калікс[4]аренами 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  $\gamma$ -аміномасляною кислотою (яка водночас є лікарською речовиною ноотропної дії).

Найближчий аналог та корисна модель, що заявляється, мають такі спільні ознаки:

- у складі містять похідні калікс[4]арену як наноконтейнери для солюбілізації активних інгредієнтів (молекул гостей);
- як молекули гостей використовують амінокислоти.

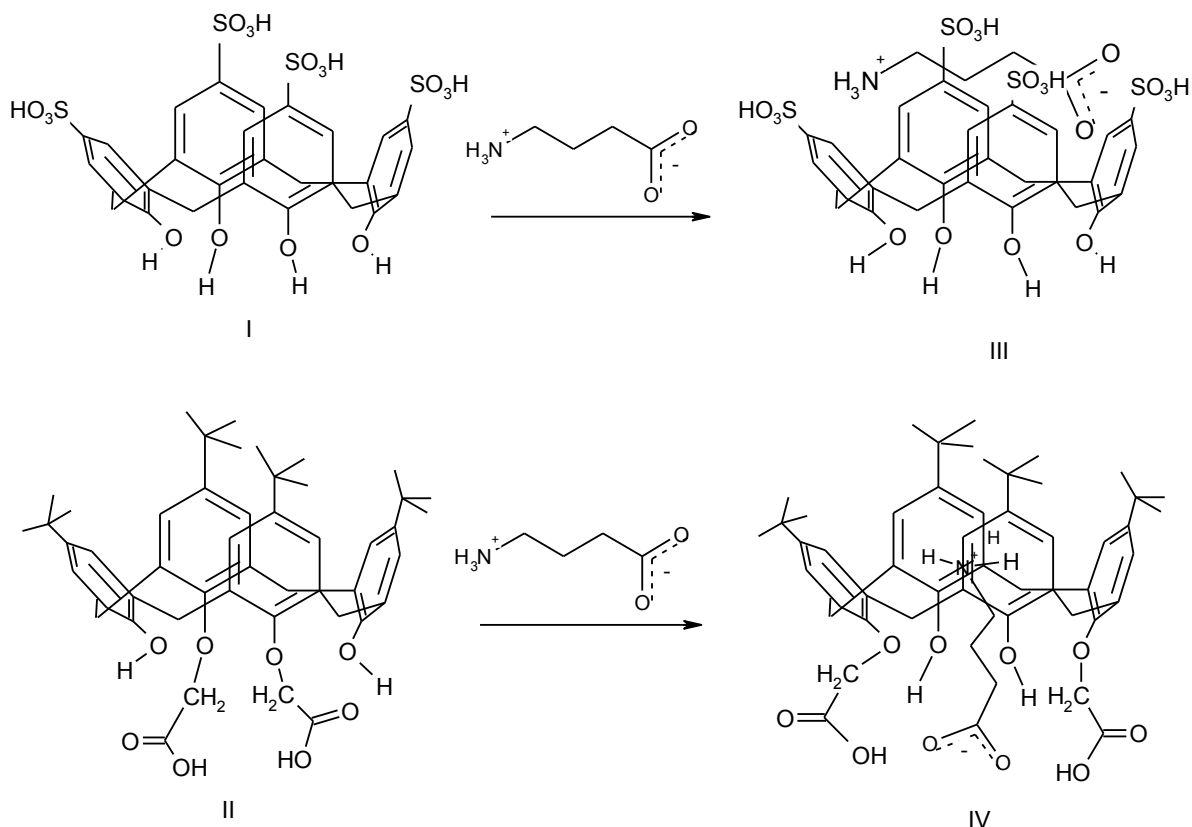
Також позитивних результатів не дав літературний пошук способів отримання комплексів ГАМК з похідними калікс[4]арену.

В основу корисної моделі поставлена задача отримання нетоксичних супрамолекулярних комплексів гамма-аміномасляної кислоти з похідними калікс[4]арену, що різняться своєю ліпофільністю, які будуть сприяти підвищенню проникності ГАМК до головного мозку.

Технічний результат запропонованої корисної моделі полягає у пролонгованості та посиленні біологічної активності ГАМК за рахунок підвищення біодоступності амінокислоти, що, в свою чергу, реалізується при застосуванні молекул-транспортів, роль яких виконують сполуки I і II, 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 похідними калікс[4]арену та отримання на їхній основі комплексів із необхідними властивостями.

Похідні калікс[4]арену I та II отримували описаними раніше способами (див. Shinkai S. New syntheses of calixarene-p-sulphonates and p-nitrocalixarenes /S. Shinkai, K. Araki, T. Tsubaki [et al.] //J. Chem. Soc, Perkin Trans. 1. - 1987. - № 1. - P. 2297-2299, 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).



5 Спосіб отримання супрамолекулярних комплексів включає в себе отримання розчину каліксарену у відповідному розчиннику, додавання амінокислоти, перемішування, кип'ятіння реакційної суміші (у разі необхідності) та виділення кінцевого продукту. Синтезовані супрамолекулярні комплекси охарактеризовували за допомогою методів ІЧ-, УФ-,  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

10 Приклад 1. Синтез комплексу *n*-сульфокалікс[4]арену з ГАМК (III).

В круглодонну колбу, обладнану магнітною мішалкою та зворотним холодильником, поміщали розчин сульфопохідного каліксарену (1 г, 0,0013 моль), розчиненого в мінімальній кількості бідистильованої води, додаючи розчин, що містить п'ятикратний надлишок ГАМК (0,670 г, 0,0065 моль) в  $\text{H}_2\text{O}$ . Реакційну суміш кип'ятили у розчиннику протягом 4 годин, проводячи моніторинг ходу реакції методами ТШХ та мас-спектрометрії. Після закінчення реакції розчинник випарювали до  $\frac{1}{4}$  вихідного об'єму, випавші кристали являють собою цільовий комплекс.

20 Комплекс III. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 1.85 м (2H,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.26 т (2H,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.96 т (2H,  $\text{CH}_2\text{-COOH}$ ), 7.36 м (4H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.49 (4H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.40 (4H, OH). ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 2995 ( $\nu_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+)$ ), 2200 ( $\delta_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+) + \tau(\text{NH}_3^+)$ ), 1659 ( $\delta_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+)$ ), 1573 ( $\nu_{\text{ас}}(\text{COO}^-)$ ), 1542 ( $\delta_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+)$ ), 1384 ( $\nu_{\text{с}}(\text{COO}^-)$ ), 1304 ( $\delta(\text{CH}_2)$ ), 1029 ( $\rho(\text{NH}_3^+)$ ), 780 ( $\omega(\text{COO}^-)$ ).

Приклад 2. Синтез комплексу ди(карбоксиметокси)-*n*-трет-бутил-калікс[4]арену з ГАМК (IV).

25 В конічну поліпропіленову колбу, обладнану магнітною мішалкою, поміщали розчин 0,764 г (0,001 моль) каліксарену в 15 мл безводного  $\text{CHCl}_3$ , до якого при перемішуванні додавали 0,103 г (0,001 моль) ГАМК. Реакцію проводили протягом 70 годин, аналізуючи відібрані проби методом ТШХ та мас-спектрометрії. Після закінчення реакції утворений комплекс (не розчинний у хлороформі) відфільтровували та промивали гарячим гептаном. Отриманий осад перекристалізовували із  $\text{CH}_3\text{CN}$ , відфільтровували гарячий розчин, фільтрат залишали у прохолодному місці для утворення кристалів.

30 Комплекс IV. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , 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,  $\text{ArCH}_2\text{Ar}$ , J 13.24 Гц), 3.90 д (4H,  $\text{ArCH}_2\text{Ar}$ , J 12.97 Гц), 4.35 с (4H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 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 ( $\text{M}^+$ ). ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 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.

35 Запропонована корисна модель відрізняється від найближчого аналога як лігандами, так і активним компонентом, що приймають участь у процесі комплексоутворення. Ще однією

перевагою є те, що синтезовані супрамолекулярні комплекси похідних калікс[4]арену з  $\gamma$ -аміномасляною кислотою, виділені у твердому стані.

Були проведені фармакологічні дослідження синтезованих комплексів. Для проведення фармакологічних тестів в роботі використовувались безпородні миші-самці масою 18-22 г.

Протисудомний ефект оцінювали методом визначення мінімальних ефективних доз коразолу, які викликають клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ) у експериментальних тварин при його внутрішньовенній інфузії. Групам тварин перорально вводили водний розчин ГАМК у дозі 1 г/кг, синтезований комплекс IV в еквімолярних співвідношеннях відносно ГАМК, а також похідне калікс[4]арену II. 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.

Було показано, що комплекс дикарбокси-похідного каліксарену з ГАМК IV проявляє пролонговану протисудомну активність через 24 години після перорального введення, на відміну від вихідної сполуки (див. табл. 1).

Таблиця 1

Протисудомна активність комплексу IV та вихідних сполук при пероральному введенні

| Сполука  | Мінімальна ефективна доза коразолу (МЕД), % від контролю |                   |                        |                   |
|----------|--|-------------------|------------------------|-------------------|
|          | 3 год. після введення                                    |                   | 24 год. після введення |                   |
|          | ДКТС   | ДТЕ               | ДКТС                   | ДТЕ               |
| Контроль | 100,0 $\pm$ 8,66   | 100,0 $\pm$ 8,66  | 100,0 $\pm$ 8,66       | 100,0 $\pm$ 8,66  |
| IV       | 173,9 $\pm$ 5,77   | 176,9 $\pm$ 5,77  | 217,4 $\pm$ 10,41      | 215,4 $\pm$ 7,64  |
| II       | 130,4 $\pm$ 5,77   | 130,8 $\pm$ 2,89  | 101,37 $\pm$ 3,33      | 111,54 $\pm$ 8,66 |
| ГАМК     | 152,2 $\pm$ 7,64   | 150,0 $\pm$ 7,64  | 105,8 $\pm$ 6,01       | 106,41 $\pm$ 1,67 |
| III      | 169,6 $\pm$ 7,64   | 174,4 $\pm$ 13,02 | 175,4 $\pm$ 1,67       | 161,5 $\pm$ 2,89  |

Седативну дію синтезованих комплексів III, IV та вихідної сполуки оцінювали методом "відкритого поля" з реєстрацією горизонтальної, вертикальної та дослідницької активностей. Відмічено, що комплекс сульфокаліксарену з амінокислотою (сполука III) демонструє більш виражену седативну активність у порівнянні з вільною ГАМК через 1 годину після перорального введення. Підтвердженням цього є зниження вертикальної та горизонтальної локомоції експериментальних тварин, що склало відповідно 39,19 % та 33,57 %, відносно контролю. Для порівняння через вказаний проміжок часу (1 годину) після перорального введення вільної амінокислоти дані показники становили 51,92 % та 41,46 % (див. табл. 2).

Таблиця 2

Седативна активність комплексів III, IV та вільної ГАМК

| Активність               | Вертикальна, % від контролю |            |             | Горизонтальна, % від контролю |            |             | Дослідницька, % від контролю |            |             |
|--------------------------|-----------------------------|------------|-------------|-------------------------------|------------|-------------|------------------------------|------------|-------------|
|                          | 1                           | 2          | 3           | 1                             | 2          | 3           | 1                            | 2          | 3           |
| Час після введення, год. |                             |            |             |                               |            |             |                              |            |             |
| ГАМК                     | 52 $\pm$ 5                  | -          | -           | 41 $\pm$ 7                    | 8 $\pm$ 3  | 4 $\pm$ 1   | 64 $\pm$ 5                   | 23 $\pm$ 7 | 38 $\pm$ 10 |
| III                      | 39 $\pm$ 5                  | 14 $\pm$ 3 | 7 $\pm$ 1   | 34 $\pm$ 4                    | 26 $\pm$ 3 | 5 $\pm$ 1   | 85 $\pm$ 11                  | 50 $\pm$ 3 | 24 $\pm$ 5  |
| IV                       | 168 $\pm$ 15                | 24 $\pm$ 8 | 38 $\pm$ 10 | 108 $\pm$ 13                  | 33 $\pm$ 7 | 39 $\pm$ 10 | 88 $\pm$ 10                  | 20 $\pm$ 6 | 35 $\pm$ 28 |

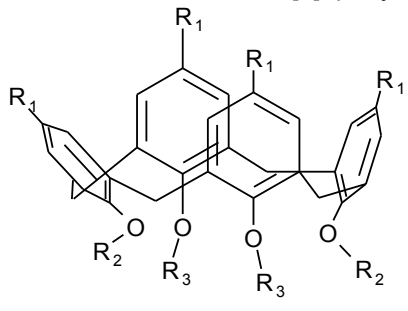
Отримані комплекси проявляють властивості ноотропних препаратів, що підтверджено фармакологічними випробуваннями із застосуванням тестів на визначення протисудомної та седативної активностей. Дані біологічних досліджень демонструють залежність фармакологічного ефекту комплексів від структури та фізико-хімічних властивостей похідних калікс[4]арену, що використовуються у якості лігандів:

1. Для синтезованого комплексу на основі гідрофільного 5,11,17,23-тетрасульфо-25,26,27,28-тетрагідроксикалікс[4]арену (I) з ГАМК відмічена виражена седативна активність.

2. Для комплексу ліпофільного 5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-біс[карбоксиметокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену (II) з ГАМК відмічена пролонгована протисудомна дія.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Комплекси  $\gamma$ -аміномасляної кислоти з похідними калікс[4]арену, що мають формулу



- 5 де I:  $R_1 = \text{SO}_3\text{H}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{H}$ ;  
 II:  $R_1 = \text{C}_4\text{H}_9$  (Bu-t),  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = -\text{CH}_2\text{COOH}$ ,  
 які мають протисудомну та седативну активність.

---

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

---

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