



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106123** (13) **C2**
(51) МПК
C07D 257/06 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2012 11990	(72) Винахідник(и): Демченко Анатолій Михайлович (UA), Смольський Олександр Сергійович (UA), Суховерх Володимир Володимирович (UA), Гриневич Олександр Йосипович (UA)
(22) Дата подання заявки: 18.10.2012	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА НАУКОВА УСТАНОВА "ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР ІННОВАЦІЙНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ", вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151 (UA), ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2014	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2004/009547 A1; 29.01.2004 WO 2004/009547 A1; 29.01.2004 US 2003069245 A; 10.04.2003 Modulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity by 1,5-substituted 1H-tetrazoles/ Scott P. Webster, Margaret Binnie, Kirsty M.M. McConnell et al. // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. – 2010. - vol. 20. - № 11. - P. 3265-3271 Машковский М.Д. Лекарственные средства/ М.Д. Машковский -Минск «Беларусь», 1988.-2 т.- 28-29, 398-399 с.
(41) Публікація відомостей про заяву: 25.04.2014, Бюл.№ 8	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2014, Бюл.№ 14	

(54) **ПОХІДНІ 1-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4-ГІДРОКСИФЕНІЛ)-2-(1-АРИЛ-1Н-ТЕТРАЗОЛ-5-ІЛСУЛЬФАНИЛ)ЕТАНОНУ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ**

(57) Реферат:

Похідні 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфоніл)етанону, що проявляють антиоксидантні властивості.

Винахід належить до галузі медицини, а саме до фармакологічно активних речовин, що проявляють антиоксидантні властивості, конкретно до похідних тетразолу, що містять фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенолу.

Антиоксидантну активність (АОА) синтезованих сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм NO in vitro, що утворює натрію нітропрусид при автоокисненні за дії світла люмінесцентного джерела потужністю 40 Вт. Як речовину-порівняння використовували загальноприйняті антиоксиданти - іонол, мексидол та кверцетин.

Ефективність гальмування утворення активних форм NO визначали за інгібуванням окиснення аскорбінової кислоти шляхом реєстрації зміни оптичної густини розчину при 265 нм на спектрофотометрі "СФ-26".

Антиоксидантну активність виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбату.

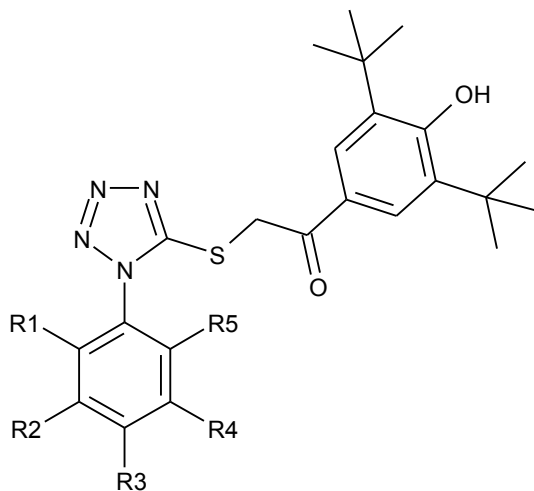
UA 106123 C2

Досліди показали, що зазначені сполуки мають виражену антиоксидантну активність, яка значно перевищує аналоги (мексидол, кверцетин та іонол) і тому можуть мати практичний інтерес для створення нових лікарських засобів протекторної дії.

Винахід належить до галузі медицини, а саме до фармакологічно активних речовин, що проявляють антиоксидантні властивості, конкретно до похідних тетразолу, що містять фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенолу.

Сполуки 1 а-і загальної формули:

5



де а) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H$, б) $R_2=R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=CH_3$, в) $R_1=R_3=R_4=R_5=H$, $R_2=CH_3$, г) $R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=R_2=CH_3$, е) $R_1=R_4=R_5=H$, $R_2=R_3=CH_3$, ф) $R_2=R_3=R_5=H$, $R_1=R_4=CH_3$, г) $R_2=R_3=R_4=H$, $R_1=R_5=CH_3$, ж) $R_2=R_4=R_5=H$, $R_1=R_3=CH_3$, з) $R_1=R_3=R_5=H$, $R_2=R_4=CH_3$, и) $R_2=R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=OCH_3$, к) $R_1=R_3=R_4=R_5=H$, $R_2=OCH_3$, л) $R_1=R_2=R_4=R_5=H$, $R_3=OCH_3$.

Структурні аналоги сполук 1 а-і, які проявляють антиоксидантні властивості, невідомі (літературний опис відсутній).

В основі розвитку патологічних процесів організму знаходиться оксидативний стрес, який виникає внаслідок зміщення окисно-відновного гомеостазу в бік прооксидантної компоненти. Характерною ознакою цих процесів може бути інтенсифікація реакцій пероксидного окиснення ліпідів, яке, як відомо [2], є одним з найбільш загальних механізмів пошкодження клітинних структур. В організмах тварин у цих умовах активуються компенсаторно-адаптивні реакції, що забезпечують зниження рівня продуктів вільно-радикального окиснення речовин та підтримання їх вмісту в нормі [1].

Не зважаючи на велику кількість препаратів з антиоксидантними властивостями, актуальним залишається пошук нових сполук, що відповідали б критеріям ефективності, безпечності та потенційній селективності, адже препарати цієї групи часто використовуються в комбінованому лікуванні.

Задачею є пошук нових сполук, яким притаманна антиоксидантна активність. Зазначена задача вирішується синтезом похідних тетразолу, що містять фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенолу.

Як аналоги за фізіологічною активністю використовували мексидол (етилметилгідроксипіридину сукцинат) [8], кверцетин [5] та іюнол [4].

Мексидол (етилметилгідроксипіридину сукцинат) є широко застосовуваним інгібітором вільно-радикальних процесів та використовується у клінічній практиці як антигіпоксичний, стрес-протекторний, ноотропний, протиепілептичний та анксиолітичний препарат [8].

Нами встановлено, що на моделі автоокиснення аскорбату в умовах підвищеного вмісту нітроген (II) оксиду мексидол не проявляє антиоксидантну активність, а навпаки - проявляє прооксидантний ефект.

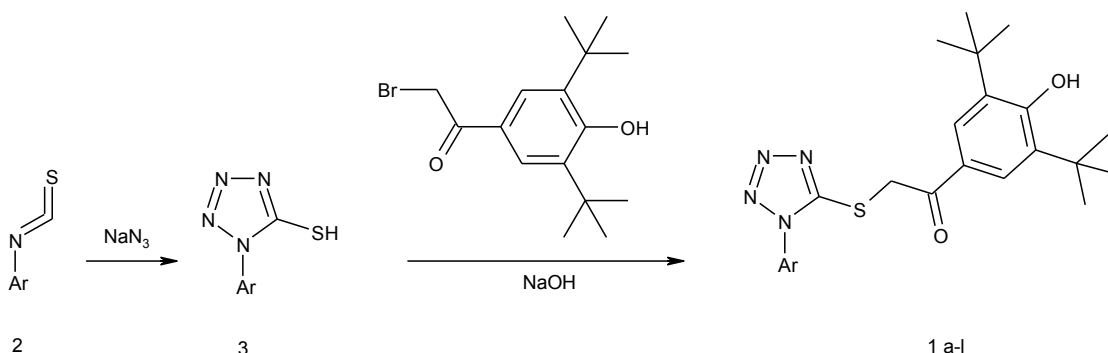
Кверцетин - флавонол, що проявляє протинабрякову, спазмолітичну, антигістамінну, протизапальну, антиоксидантну, діуретичну дії [5]. Входить до групи "вітаміну Р". Отже - це речовина рослинного походження і хімічний синтез її дуже дорогий.

Найбільш близьким за структурою до об'єкту винаходу є іюнол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) або харчова добавка Е321 [4]. Антиоксидантні властивості препарату пов'язані з його здатністю захоплювати вільно-радикальні молекули різного походження з утворенням стабільного фенокисильного радикалу, що обриває ланцюг окиснювальних перетворень. Системне введення препарату може бути використане в комплексній терапії гострого інфаркту міокарду, оскільки він попереджає надлишкову продукцію NO, яка активується стресом. Знижує ризик розвитку лівошлуночкової серцевої недостатності і порушень серцевого ритму.

Нормалізує концентрацію фібриногену в крові, відновлює фібринолітичну активність крові, зменшує агрегацію формених елементів крові. Однократний прийом іонолу в гострій фазі процесу покращує функціональні показники роботи серця; тривалий прийом - стимулює роботу, але без достовірного поліпшення скоротливої здатності міокарду. Систематичні вживання іонолу (особливо у високих дозах) інколи можуть супроводжувати парадоксальні ефекти, коли його антиоксидантна дія трансформується в протилежну - прооксидантну, з призупиненням ферментної антиоксидантної системи мітохондрій, збільшенням утворення кисневих радикалів, зниженням функціонування ланцюга перенесення електронів в мікросомах. Такі порушення можуть бути пов'язані з дією продуктів окиснювальної модифікації іонолу в організмі і взаємодією препарату з ендогенними антиоксидантними системами з пошкодженням їх захисних функцій.

В основу винаходу поставлена задача: створити нові хімічні сполуки, які мають виражену антиоксидантну активність, що забезпечується використанням нових похідних тетразолу, які містять фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенолу (а саме: похідних 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл)етанону) і за рахунок цього розширити арсенал нових антиоксидантних препаратів.

Об'єкт винаходу отримували за загальною схемою: конденсацією ароматичних ізотіоціанатів 2 з натрію азидом в етанолі одержували відповідні 1-арил-5-меркаптотетразоли 3. Подальше алкілювання 3 α -бром-2,6-ди-трет-бутил-4-гідроксіацетофеноном проводили при нагріванні еквімолярних кількостей реагентів в етанолі в присутності натрію гідроксиду.



Антиоксидантну активність (AOA) синтезованих сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм NO *in vitro* за методом [7], який заснований на здатності натрію нітропрусиду до автоокиснення за дії світла з утворенням NO [3].

Індукцію NO викликали дією на проби з натрію нітропрусидом світла з люмінесцентного джерела потужністю 40 Вт. Опромінення проводили протягом 60 хв при 20 °С. Інкубаційна суміш містила 4 мл 0,001 % розчину натрію нітроприсида, 0,5 мл 0,01 % розчину аскорбінової кислоти та 0,5 мл розчину досліджуваних речовини (розчинники - ДМСО та етанол) із кінцевим значеннями титру у загальній інкубаційній суміші 0,03 мг/мл. Як речовину-порівняння використовували загальноприйнятий антиоксидант - іюнол (1-[3,5-ди(трет-бутил)-4-гідроксифеніл]толуол), мексидол та кверцетин.

Ефективність гальмування утворення активних форм NO визначали за інгібуванням окиснення аскорбінової кислоти шляхом реєстрації зміни оптичної густини розчину при 265 нм на спектрофотометрі "СФ-26". Антиоксидантну активність виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбату. Паралельно проводили контрольну пробу, що не містила розчинів препаратів. При цьому оптичну густину розчинів вимірювали до та після інкубації.

Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента [6].

Приклади конкретного виконання

Приклад 1

Загальна методика синтезу похідних 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл)етанону

До 0,002 моль відповідного 1-арил-5-меркаптотетразолу 3, розчиненого в 10 мл етилового спирту, додають спиртовий розчин натрію гідроксиду з 10 % надлишком та 0,002 моль α -бром-2,6-ди-трет-бутил-4-гідроксіацетофенону. Реакційну суміш нагрівають протягом десяти хвилин, після чого охолоджують. Після охолодження суміш підкиснюють до слабокислої реакції. Осад, що випав, відфільтровують.

Вихід речовин, їх температури топлення, дані елементного аналізу та ПМР-спектроскопії наведені в табл. 1, 2.

Таблиця 1

Структура, дані елементного аналізу, температура плавлення похідних 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл)етанону.

Сполука	R	Т топл., °C	Вихід, %	Емпірична формула	Знайдено, %		Вирахувано, %	
					N	S	N	S
1a	-	173-175	72	C ₂₃ H ₃₀ N ₄ O ₂ S	13,02	7,50	13,13	7,52
1b	2-Me	136-138	76	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₂ S	12,82	7,33	12,74	7,28
1c	3-Me	138-140	90	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₂ S	12,86	7,27	12,77	7,13
1d	2,3-Me	154-156	85	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,42	7,10	12,32	7,05
1e	3,4-Me	153-154	74	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,50	7,16	12,38	7,08
1f	2,5-Me	135-137	88	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,50	7,15	12,38	7,08
1g	2,6-Me	115-117	82	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,46	7,13	12,38	7,08
1h	2,4-Me	134-135	95	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,22	7,11	12,38	7,08
1i	3,5-Me	153-155	85	C ₂₅ H ₃₄ N ₄ O ₂ S	12,53	7,19	12,38	7,08
1j	2-OMe	135-137	86	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₃ S	12,51	7,02	12,32	7,05
1k	3-OMe	144-146	87	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₃ S	12,29	7,15	12,32	7,05
1l	4-OMe	230-232	98	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₃ S	12,37	7,20	12,32	7,05

- 5 Спектри ЯМР ¹H синтезованих сполук записано на приладі Bruker-300, робоча частота 300 МГц, розчинник DMSO-d₆, внутрішній стандарт-TMC (табл. 2).

Таблиця 2

Спектри ЯМР ¹H похідних 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл)етанону

Сполука	Хімічні зсуви, δ, м.ч. (DMSO-d ₆)
1a	1,42 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 5,14 (с,2H,CH ₂), 7,69 (м,5H,Ph), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,97(с,1H,OH).
1b	1,42 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,08 (с,3H,CH ₃), 5,11 (с,2H,CH ₂), 7,48-7,61 (м,4H, аром. H), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,96 (с,1H,OH).
1c	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,46 (с,3H,CH ₃), 5,12 (с,2H,CH ₂), 7,47-7,59 (м,4H, аром. H), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,95 (с,1H,OH).
1d	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,07 (с,3H,CH ₃), 2,43 (с,3H,CH ₃), 5,12 (с,2H,CH ₂), 7,43-7,58 (м,3H, аром. H), 7,81 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,94 (с,1H,OH).
1e	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,35 (с,6H,2CH ₃), 5,10 (с,2H,CH ₂), 7,36-7,44 (м,3H, аром. H), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,94 (с,1H,OH).
1f	1,45 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,06 (с,3H,CH ₃), 2,41 (с,3H,CH ₃), 5,06 (с,2H,CH ₂), 7,24-7,40 (м,3H, аром. H), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,84 (с,1H,OH).
1g	1,44 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 1,99 (с,6H,2CH ₃), 5,14 (с,2H,CH ₂), 7,36-7,51(м,3H, аром. H), 7,80 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,94 (с,1H,OH).
1h	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,05 (с,3H,CH ₃), 2,42 (с,3H,CH ₃), 5,09 (с,2H,CH ₂), 7,27-7,36 (м,3H, аром. H), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,94 (с,1H,OH).
1i	1,44 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 2,42 (с,6H,2CH ₃), 5,10 (с,2H,CH ₂), 7,27-7,29 (м,3H, аром. H), 7,80 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,92 (с,1H,OH).
1j	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 3,85 (с,3H,OCH ₃), 5,06 (с,2H,CH ₂), 7,18-7,69 (м,4H, аром. H), 7,78 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,93 (с,1H OH).
1k	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 3,87 (с,3H,OCH ₃), 5,12 (с,2H,CH ₂), 7,21-7,62 (м,4H, аром. H), 7,80 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,95 (с,1H,OH).
1l	1,43 (с,18H,2C(CH ₃) ₃), 3,89 (с,3H,OCH ₃), 5,07 (с,2H,CH ₂), 7,17 та 7,59 (д-д,4H,C ₆ H ₄ -пара), 7,79 (с,2H,C ₆ H ₂), 7,84 (с,1H,OH).

- 10 Приклад 2. Антиоксидантна активність похідних 1-[3,5-ди(трет-бутил)-4-гідроксифеніл]-1Н-1,2,3,4-тетразол-5-ілсульфаніл]-1-етанону

Сполука	% АОА	
	Розчинник ДМСО	Розчинник етанол
іонол	31,70	66,90
мексидол	-28,20	-43,60
кверцетин	39,20	50,30
1a	54,00	84,70
1b	87,10	74,90
1c	51,80	81,40
1d	-24,50	-10,70
1e	78,40	82,60
1f	74,10	84,90
1g	36,70	79,60
1h	69,10	87,20
1i	36,70	77,90
1j	84,90	71,30
1k	57,90	70,60
1l	92,10	75,40

Отже, сполуки 1(а-с) та 1(е-і) виявляють виражену антиоксидантну активність, яка значно перевищує аналоги (мексидол, кверцетин та іонол), і тому можуть мати практичний інтерес як

5

біднінг-блоки для створення нових лікарських засобів протекторної дії.

Джерела інформації:

1. Барабой В.А. Перекисное окисление липидов и радиация. - К.: Наук. думка, 1991. - 253 с.

2. Владимиров Ю.А., Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков - М.: Наука, 1972. - 257 с.

10

3. Губен-Вейль. // Методы органической химии. - 2-е изд., стер. - Т. 2. Методы анализа. - М.: Химия, 1967. - 1032 с.

4. Іонол - Режим доступу до журн.: <http://ru.wikipedia.org/wiki/>

5. Кверцетин - Режим доступу до журн.: <http://ru.wikipedia.org/wiki/>

6. Лакін Г.В. Біометрія. - М.: Высш. шк., 1990. - 351 с.

15

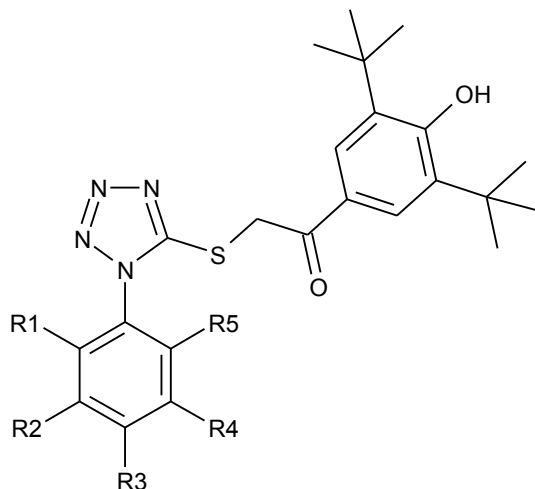
7. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідках in vitro. - Метод, реком., Київ: ДФЦ МОЗ України, 2002. - 26 с.

8. Этилметилгидроксипиридина сукцинат: инструкция и применение - Режим доступу до журн.: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_3049.htm

20

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Похідні 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-2-(1-арил-1Н-тетразол-5-ілсульфоніл)етанону загальної формули:



25

де а) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H$, б) $R_2=R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=CH_3$, в) $R_1=R_3=R_4=R_5=H$, $R_2=CH_3$, г) $R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=R_2=CH_3$, е) $R_1=R_4=R_5=H$, $R_2=R_3=CH_3$, ф) $R_2=R_3=R_5=H$, $R_1=R_4=CH_3$, г) $R_2=R_3=R_4=H$,

$R_1=R_5=CH_3$, h) $R_2=R_4=R_5=H$, $R_1=R_3=CH_3$, i) $R_1=R_3=R_5=H$, $R_2=R_4=CH_3$, j) $R_2=R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=OCH_3$,
 k) $R_1=R_3=R_4=R_5=H$, $R_2=OCH_3$, l) $R_1=R_2=R_4=R_5=H$, $R_3=OCH_3$,
 що проявляють антиоксидантні властивості.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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