



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68899** (13) **U**

(51) МПК (2012.01)

A61P 11/00

A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

G09B 23/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 13326	(72) Винахідник(и): Коробко Дмитро Борисович (UA), Олійник Олександр Валентинович (UA), Цетнар Діана Олегівна (UA), Коробко Наталя Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 14.11.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2012, Бюл.№ 7	(73) Власник(и): ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46000 (UA)

(54) РЕЧОВИНА З АНТИГІПОКСИЧНИМИ ТА АНТИОКСИДАНТНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ, ЩО МОЖЕ БУТИ ВИКОРИСТАНА В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ

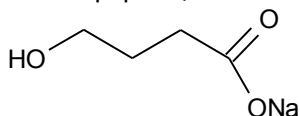
(57) Реферат:

Речовина з антигіпоксичними та антиоксидантними властивостями - амонійна сіль бензил-3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропаноату (ТД-22).

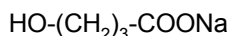
UA 68899 U

Корисна модель належить до органічної та медичної хімії, зокрема структурних перетворень сполук гетероциклічної будови з метою одержання оригінальних біологічно активних речовин, у тому числі в вигляді лікарського засобу з антигіпоксичною й антиоксидантною дією, і може бути використана в медичній практиці й фармацевтичній галузі, наприклад, у комплексній терапії

Відома сполука з антигіпоксичною дією, наприклад, натрію оксибутират [1]. Хімічна формула активного фармацевтичного інгредієнту:



або



Систематизовані назви: натрію 4-гідроксибутаноат, натрійна сіль γ -оксимасляної кислоти.

Антигіпоксична дія натрію оксибутирату обумовлена його позитивним впливом на біоенергетику клітин, що сприяє більш економному використанню кисню крові та покращенню його утилізації.

Недоліком відомої субстанції є висока ймовірність індукції в організмі пацієнта несприятливих побічних ефектів (седативної і центральної міорелаксантиї дії), через що використання великих доз натрію оксибутирату призводить до стану наркозу. З огляду вимог щодо обліку і зберігання, вказана сполука належить до групи психотропних речовин з усіма наступними, стосовно порядку контролю, наслідками. До того ж, прийом натрію оксибутирату протягом тижня і більше призводить до виникнення звикання, через що під назвою "рідкий екстазі" його використовують при наркотичній залежності. З наведених позицій, застосування натрію оксибутирату в терапевтичній практиці як антигіпоксиканту є обмеженим.

Відомий також препарат "Цитофлавін", що є збалансованим комплексом двох метаболітів (кислота бурштинова, рибоксин) та двох ко-ферментів-вітамінів - нікотинаміду й рибофлавіну мононуклеотиду [2].

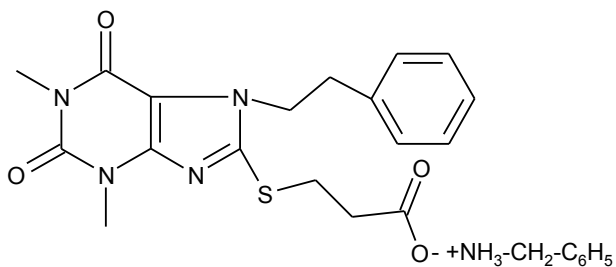
Цитофлавін проявляє антигіпоксичну і антиоксидантну дію, позитивно впливає на процеси енергоутворення в клітині, зменшує продукцію вільних радикалів і відновлює активність ферментів антиоксидантного захисту. Цей лікарський засіб покращує коронарний та мозковий кровообіг, в силу чого застосовується для лікування хворих із гострим порушенням мозкового кровообігу; дисциркуляторною енцефалопатією I-II ступеня і наслідками порушень мозкового кровообігу; токсичною і гіпоксичною енцефалопатією при отруєннях, ендотоксикозах, після наркозного пригнічення свідомості [3].

Недолік відомого препарату полягає в недостатній ефективності від застосування, що впливає з високого ризику розвитку алергічних реакцій, гіперемії шкіри, гіркоти та сухості в ротовій порожнині. При його тривалому прийомі можуть спостерігатися транзиторна гіпоглікемія, гіперурикемія, загострення подагри, а також болі й дискомфорт в епігастральній ділянці, утруднення дихання, головний біль тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити речовину з вищою, ніж у відомих, ефективністю, спрямованою на можливість забезпечення терапевтичного впливу на стан кисневого обміну та перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), реалізація якого при проведенні комплексної терапії при гострому респіраторному дистрес-синдромі не супроводжувалася б розвитком несприятливих побічних реакцій, зокрема, у вигляді надмірної гідратації тканин.

При вирішенні технічного завдання до уваги було взято те, що одним із перспективних напрямків одержання сполуки з антигіпоксичною та антиоксидантною дією слід розглядати направлену зміну хімічної структури вихідного 1,3-диметилксантину, зокрема, шляхом сполучення в молекулі нового похідного 1,3-диметилксантину двох фармакофорних угруповань - арилалкільного радикалу і хімічного зв'язку іонного характеру.

Поставлену задачу вирішують тим, що як речовину з антигіпоксичною та антиоксидантною дією застосовують амонійну сіль бензил-3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропаноату (ТД-22) формули:



Вказану речовину одержують нагріванням 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропанової кислоти і 10 %-го надлишку фенолметанаміну в етанолі 96 % з наступним використанням ацетону, а 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропанову кислоту синтезують алкілюванням 8-меркапто-1,3-диметил-7-фенетил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діону кислотою 3-хлоропропіоновою за присутності відповідного надлишку 1 моль/л розчину натрій гідроксиду. В свою чергу, 8-меркапто-1,3-диметил-7-фенетил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діон одержують шляхом взаємодії 8-бромо-1,3-диметил-7-фенетил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діону в середовищі диметилформаміду з потрібним надлишком динатрій сульфід у нагрітій воді. Синтезована сполука (ТД-22) - білий кристалічний порошок, розчинний у воді та малорозчинний в етанолі 96 % і нерозчинний в ацетоні з $T_{\text{плвл.}}$ 144÷446 °С.

Для доведення складу й структури проміжних речовин і цільового продукту реакції (ТД-22) використовують відомі фізико-хімічні методи, зокрема ІЧ- та ЯМР ¹Н-спектроскопію, елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Приклад 1.

З метою одержання речовини з антигіпоксичними і антиоксидантними властивостями, що може бути використана в комплексній терапії гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС), на першій стадії синтезували 8-меркапто-7-фенетил-1,3-диметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діон. Для цього суміш 7,26 г (0,02 моль) 8-бромо-7-фенетил-1,3-диметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діону та 14,41 г (0,06 моль) динатрій сульфід у нагрітій воді в 30 мл диметилформаміду нагрівали в круглодонній колбі ємністю 250 мл із зворотним холодильником протягом 6 годин. Вміст колби в гарячому вигляді виливали в 150 мл води очищеної, після інтенсивного перемішування скляною паличкою суміш фільтрували, охолоджували до кімнатної температури, після чого додаванням 0,1 моль/л розчину кислоти сульфатної доводили рН середовища до рівня від 1,0 до 2,0 включно з утворенням жовтого осаду, який відфільтровували і висушували. Для аналізу одержаний продукт попередньо перекристалізовували з діоксану.

Вихід 87,87 %; $T_{\text{плвл.}}$ = 268÷270 °С.

Знайдено, %: N 17,58. C₁₅H₁₆SN₄O₂.

Вирахувано, %: N 17,71.

ТШХ, R_f (система розчинників), 0,79±0,02 (ацетон - бензен, 35:65); ІЧ-спектр, ν, см⁻¹: 3010, 1700, 1660, 690.

Далі здійснювали синтез 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропанової кислоти. Для цього до 3,16 г (0,01 моль) 8-меркапто-7-фенетил-1,3-диметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-діону в 22 мл 1 моль/л розчину натрій гідроксиду додавали 1,08 г (0,01 моль) кислоти 3-хлоропропіонової та нагрівали суміш в круглодонній колбі ємністю 100 мл із зворотним холодильником під контролем рН до нейтрального середовища і потім ще впродовж 15 хвилин. Далі, вміст колби в гарячому вигляді фільтрували, охолоджували, а об'єм фільтрату доводили водою очищеною до 100 мл, після чого внесенням 0,1 моль/л розчину кислоти хлоридної доводили значення рН до 3,0 з утворенням білого кристалічного осаду, який відфільтровували і висушували. Для аналізу одержаний продукт попередньо перекристалізовували із суміші етанол 96 % - діоксан, 1:4. Вихід - 69,50 %; $T_{\text{плвл.}}$ = 201÷203 °С.

Знайдено, %: N 14,51. C₁₈H₂₀SN₄O₄.

Вирахувано, %: N 14,42.

ТШХ, R_f (система розчинників), 0,63±0,03 (кислота формиатна - вода, 1:4), ЯМР ¹Н, δ, м. ч.: 7,20 (м, 5Н, -C₆H₅); 4,34 (т, 2Н, N₇-CH₂); 3,50 (с, 3Н, N-CH₃); 3,35 (т, 2Н, -CH₂-CH₂COOH); 3,31 (с, 3Н, N-CH₃); 3,02 (т, 2Н, -CH₂-CH₂-C₆H₅); 2,63 (т, 2Н, -CH₂-CH₂-COOH).

Наступним етапом був синтез амонійної солі бензил 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропаноату (ТД-22). Для цього до суспензії 0,89 г (0,0023 моль) 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропанової кислоти в 10 мл етанолу 96 % в круглодонній колбі ємністю 50 мл додали 0,27 г (0,0025 моль) фенолметанаміну і нагрівали на водяному нагрівнику до утворення прозорого розчину. Вміст

колби кількісно перенесли у фарфорову чашку та випарили на дві третини від початкового об'єму. Залишок після охолодження змішали із 15-20-кратним надлишком ацетону, а отриману суміш інтенсивно зтирали скляною паличкою. Утворену білу кристалічну речовину відфільтрували, промили ацетоном і висушили. Для здійснення аналізу одержану субстанцію

5 перекристалізували із етанолу 96 %. Вихід 69,30 %. $T_{\text{плав.}} = 144 \div 146^{\circ}\text{C}$.

Знайдено, %: N 14,01. $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{SN}_5\text{O}_4$.

Вирахувано, %: N 14,13.

Приклад 2.

10 Визначення антигіпоксичної й антиоксидантної активності амонійної солі бензил 3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-ілтіо)пропаноату (ТД-22) здійснювали наступним чином. Порівняльний аналіз антигіпоксичної дії натрію оксибутирату, цитофлавіну та сполуки ТД-22 здійснено на моделі ГРДС на лабораторних тваринах, зокрема, білих щурах [4]. Дослідження проведено на 80 середньочутливих до гіпоксії статевозрілих

15 Попередньо забезпечили можливість здійснення штучної вентиляції легень (ШВЛ) кожної з експериментальних тварин через трахеостому з використанням апарату ШВЛ "Бриз". При цьому дихальний об'єм встановили на рівні 3 мл при частоті дихання 100 раз за хвилину, для чого під кетаміновим наркозом у трахею вставили інтубаційну трубку. Далі, кожному із 20 щурів упродовж 4 днів вводили внутрішньоочеревинно натрію оксибутират у дозі 10 мг/кг маси тіла, іншим 20 щурам - цитофлавін внутрішньоочеревинно в дозі 0,2 мл/кг, нарешті, третій групі з 20 щурів вводили досліджувану сполуку ТД-22 у дозі 5 мг/кг. На 4 день у кожній лабораторній тварини (усіх груп щурів) моделювали ГРДС, для чого в трахею вводили 0,1 моль/л розчин кислоти хлоридної в дозі 0,5 мл/кг, після чого проводили лікувальну ШВЛ протягом 2-х годин. У всіх тварин визначали ступінь насичення гемоглобіну киснем артеріальної крові (SaCO_2)

25 пульсоксиметром "Ютас", а також венозної крові (SvCO_2) - за допомогою оксиметра "Unistat". Частоту серцевих скорочень реєстрували за допомогою електрокардіографа. Визначали величину споживання кисню організмом тварин - VO_2 та обчислювали показник доставки кисню до тканин - DO_2 , обраховували рівні легеневої (РЛГ) і циркуляторної (РЦГ) гіпоксії й інтегрального показника кисневої недостатності (ІПКН) за методом В. В. Гнатіва, визначали

30 величину внутрішньолегеневого шунтування крові [5-8]. Висновок про стан ПОЛ та системи антиоксидантного захисту робили за вмістом малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), триєнових кон'югатів (ТК), сульфгідрильних груп (SH-груп), супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах і активності каталази за загальноприйнятими методиками. Результати досліджень наведено в таблиці.

35

Таблиця

Стан кисневого обміну, перекисного окиснення ліпідів
та антиоксидантної системи захисту на фоні експериментального ГРДС у щурів

Показник	Інтактні тварини	ГРДС, 30 хв. - 2 год. після ініціації	ГРДС, натрію оксидутират 10 мг/кг, 2 год. після ініціації	ГРДС, цитофлавін, 0,2 мл/кг, 2 год. після ініціації	ГРДС, ТД-22, 5 мг/кг, 2 год. після ініціації
SaO ₂ , %	97,0±1,5	70,0±1,4	76,5±1,4	76,2±1,4	82,5±1,2
SvO ₂ , %	60,0±1,6	32,2±2,0	45,2±2,2	56,3±2,1	57,0±1,4
ХО, мл	71,0±3,6	86,0±4,8	82,0±3,6	84,2±0,56	83,8±2,6
ЧСС, уд/хв.	355,5±26,4	430,5±32,6	420,8±42,2	418,4±36,4	418,0±22,8
DO ₂ , мл/хв./100 г	9,28±1,64	7,11±0,65	7,66±0,55	7,64±0,31	7,92±0,42
VO ₂ , мл/хв./100 г	1,87±0,10	2,72±0,18	1,95±0,12	1,86±0,12	1,92±0,12
VO ₂ / DO ₂ , %	20,15±0,11	38,26±0,42	25,46±0,11	24,35±0,11	24,24±1,44
Шунтування, мл/хв.	6,5±0,5	15,5±0,4	10,8±0,4	10,6±0,8	10,2±0,5
РЛГ, %	0,0±0,0	29,2±1,4	22,4±0,2	22,2±1,1	15,8±1,1
РЦГ, %	0,0±0,0	-17,4±1,2	-18,3±0,1	-17,8±0,9	-17,7±1,2
ІПКН, %	0,0±0,0	11,8±1,0	4,1±0,3	4,4±0,2	-1,9±0,2
Каталаза, мкат/л	0,98±0,05	0,256±0,05*	0,384±0,05* **	0,38±0,03* **	0,32±0,02* **
СОД, ум од/мг	0,060±0,003	0,686±0,012*	0,564±0,020*	0,425±0,011*	0,536±0,010*
МДА, мкмоль/л	0,89±0,005	9,96±0,212*	6,535±0,045* **	4,630±0,036* **	5,832±0,042* **
ДК, мкмоль/л	0,124±0,005	1,045±0,054*	0,522±0,026* **	0,989±0,043* **	0,410±0,012* **
ТК, мкмоль/л	0,117±0,005	1,050±0,051*	0,665±0,052* **	0,954±0,036* **	0,434±0,018* **
SH групи, кмоль/л	0,49±0,02	1,48±0,04*	0,55±0,03* **	0,53±0,05* **	0,54±0,03* **

Примітка: * - P < 0,001 відносно інтактних тварин

** - P < 0,001 відносно контрольних (нелікованих) щурів

Із наведених у таблиці даних видно, що ініціація ГРДС у щурів призводить до змін більшості показників й, перш за все, сатурації венозної крові, як найінформативнішого при дослідженні гіпоксії [9]. Так, на фоні ГРДС цей показник, порівняно з інтактними тваринами, зменшувався в 1,9 рази. Споживання кисню щурами на фоні ГРДС зросло в 1,5 рази (P<0,001), а ІПКН збільшився на 11,8 %. Внутрішньолегеневий шунт при ГРДС збільшився у 2,4 рази порівняно з інтактними тваринами (P<0,001).

Натрію оксидутират, цитофлавін та досліджувана сполука ТД-22 забезпечили досягнення терапевтичного впливу на стан кисневого обміну в усіх дослідних групах тварин. У результаті чого, в усіх групах тварин, як видно з наведених у таблиці даних, мало місце зростання насичення гемоглобіну венозної крові. Так, на фоні введення натрію оксидутирату - в 1,4 разу (P<0,001), цитофлавіну - в 1,7 разу, сполуки ТД-22 - в 1,8 разу (P<0,001). Споживання кисню VO₂ на фоні лікування натрію оксидутиратом зменшилося в 1,4 рази (P<0,001), цитофлавіном - в 1,5 рази, ТД-22 - в 1,4 рази (P<0,001).

Зміни показників ПОЛ корелювали зі змінами показників, які характеризують обмін кисню. Так, вміст малонового діальдегіду при експериментальному ГРДС перевищував показники середньостатистичної норми в 11,2 рази (P<0,001). Спостерігалось зростання вмісту дієнових і триєнових кон'югатів: у 8,4 рази та 9,0 рази відповідно (P<0,001). Застосування натрію оксидутирату, цитофлавіну і сполуки ТД-22 супроводжувалося істотним зниженням рівня вищевказаних показників (зниження вмісту МДА в 1,5 рази, 2,2 рази й 1,7 рази (P<0,001) відповідно; ДК - в 2,0 рази, 1,1 разу й 2,5 рази (P<0,001) відповідно; ТК - в 1,6 рази, 1,1 разу й 2,4 рази (P<0,001) відповідно). Аналогічна тенденція зберігалася й за вмістом сульфгідрильних груп.

Ініціація ГРДС викликала різні за спрямованістю зміни активності ферментів антиоксидантної системи захисту, а саме каталази та супероксиддисмутази. Так, якщо активність каталази при ГРДС зменшувалась в 3,8 рази, то активність супероксиддисмутази, навпаки, зростала в 11,4 рази (P<0,001). Корекція ГРДС натрію оксидутиратом, цитофлавіном

та сполукою ТД-22, через 2 години після ініціації, достовірно збільшувала активність каталази та зменшувала активність супероксиддисмутази ($P < 0,001$).

Таким чином, речовина, що пропонується для використання в комплексній терапії гострого респіраторного дистрес-синдрому, проявляє вищу, ніж у відомих лікарських препаратів, антигіпоксичну й антиоксидантну дію, і може бути використана як перспективний високоактивний засіб лікувальної корекції при патологіях, пов'язаних із активацією процесів перекисного окиснення ліпідів і гіпоксичними станами, а також забезпечить потрібний терапевтичний ефект при одночасному зменшенні ризику виникнення і розвитку несприятливих побічних дій.

Джерела інформації:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2 т. 14-е изд., перераб., испр. и доп. / М. Д. Машковский // М.: ООО "Издательство Новая Волна": Издатель С.Б. Дивов, 2002. - Т. 1. - С. 114, 115.

2. Афанасьев В. В. Цитофлавин в интенсивной терапии: монография / Афанасьев В. В. - СПб.: Тактик-Студио, 2005. - 36 с.

3. Цитофлавин: сборник научных статей (2006-2007). - СПб., 2008. - 168 с.

4. Matute-Bello G. Pathogenesis of Acute Lung Injury: Experimental Studies. Acute Respiratory Distress Syndrome / G. Matute-Bello, Michael Matthay // Boston.-2003.-P. 115-146.

5. Морган Д. Физиология сердечно-сосудистой системы / Д. Морган, Л. Хеллер. - Питер, 2000. - 567 с.

6. Марино П. Интенсивная терапия / П. Марино; [пер. с англ.]. - М.: Гэотар Медицина, 1999. - 634 с.

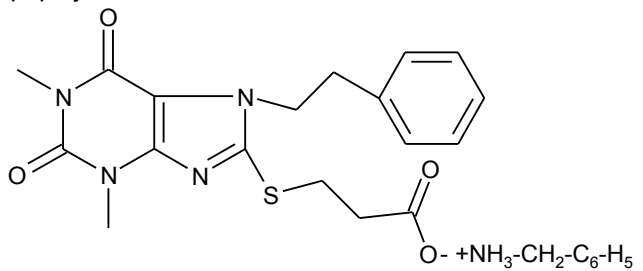
7. А. с. 1673041 СССР, МКИ А61В 5/00, 10/00 Способ диагностики гипоксии / В. В. Гнатив, В. И. Лысенко (СССР). - Заявл. 16.02.88; опубл. 30.08.91, Бюл. № 12.

8. Утвердидзе Г. А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения / Г. А. Утвердидзе. - Тбилиси, 1988. - 30 с.

9. Марино П. Интенсивная терапия / П. Марино; [пер. с англ.]. - М.: Гэотар Медицина, 2003. - 1046 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Речовина з антигіпоксичними та антиоксидантними властивостями - амонійна сіль бензил-3-(1,3-диметил-2,6-діоксо-7-фенетил-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-ілтіо)пропаноату (ТД-22) формули



Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

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