



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108688** (13) **C2**
(51) МПК**C07D 249/08** (2006.01)**C07D 249/12** (2006.01)**A61K 31/4196** (2006.01)**A61P 39/06** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД****(21)** Номер заявки: **а 2013 10452****(22)** Дата подання заявки: **27.08.2013****(24)** Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.05.2015****(41)** Публікація відомостей про заяву: **10.02.2014, Бюл.№ 3****(46)** Публікація відомостей про видачу патенту: **25.05.2015, Бюл.№ 10****(72)** Винахідник(и):**Самелюк Юрій Геннадійович (UA),
Каплаушенко Андрій Григорович (UA),
Лук'яничук Віктор Дмитрович (UA)****(73)** Власник(и):**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035
(UA),
Самелюк Юрій Геннадійович,
бул. Шевченка, 45, кв. 18, м. Запоріжжя,
69001 (UA),
Каплаушенко Андрій Григорович,
вул. Зернова, 30, кв. 6, м. Запоріжжя, 69121
(UA)****(56)** Перелік документів, взятих до уваги експертизою:

WO 2013/063458 A2; 02.05.2013

WO 2005/097758 A1; 20.10.2005

UA 80686 U; 10.06.2013

UA 43771 U; 25.08.2009

Машковский М.Д. Лекарственные средства.-
Х.: Торсинг, 1998.- Том 2.-с.95-96Противопальна активність 5-R1-4-R2-1, 2, 4-
тріазол-3-тіонів та їх S-похідних; А.Г.

Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш,

О.О. Свінтозельський, Б.А. Самура;

Запорізький державний медичний

університет, Національний

фармацевтичний університет, Харків;

Медична хімія (2008), 10 (4), сторінка 59-64

Synthesis and biological evaluation of thiazolo-

triazole derivatives/ Pignatello R., Mazzone S.,

Panico AM., Mazzone G., Pennisi G., Castana

R., Matera M., Blandino G.// Eur J Med Chem

(1991) 26, 929-938

Reactions with Thiazolo[3,2-b]-s-triazol-3(2H)-

ones/ By Mohamed I. Ali, A. Bayoumi Mostafa,

Adly A. Soliman// Journal f. prakt. Chemie.

Band 318, Heft 1, 1976, S. 12-18

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ 2-(5-(3,4,5-ТРИМЕТОКСИФЕНІЛ)-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНОЇ
КИСЛОТИ ЯК АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАСОБУ****(57)** Реферат:

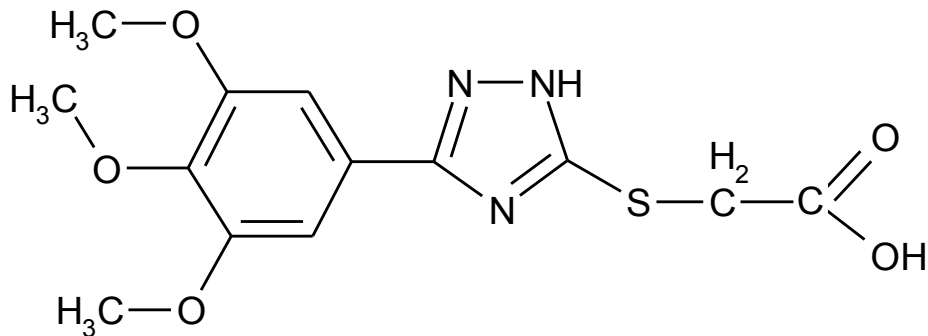
UA 108688 C2

Об'єкт винаходу: застосування 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти як антиоксидантного засобу.

Галузь застосування: фармація, медицина та ветеринарія.

Суть винаходу: 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота містить при N₂-атомі ядра 1,2,4-триазолу аміногрупу, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу містить 3,4,5-триметоксифенільний радикал, а також має в своєму складі двовалентний атом сірки.

Технічний результат: здатність пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення, помірна розчинність та стійкість при зберіганні, нескладна методика отримання, забезпечується доступність реактивів для синтезу.



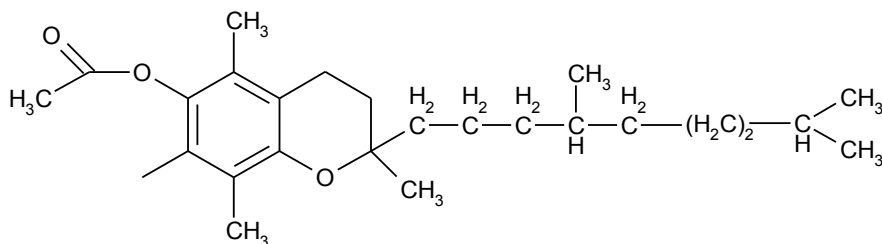
Відомо що похідні 1,2,4-триазолу мають високі показники антиоксидантної активності та використовуються у виробництві біологічно активних сполук, а також оригінальних лікарських засобів. Похідні триазолу з антиоксидантною активністю також можуть застосовуватись у промисловості для збільшення термінів зберігання різноманітних речовин, що легко піддаються процесам окиснення.

Даний винахід може знайти застосування в медичній та ветеринарній практиці для лікування ВРО-зумовленої патології (ішемічна хвороба серця, цукровий діабет, ожиріння, тощо).

Надлишкова активація процесів ланцюгового вільно радикального окислення ліпідів може призвести до накопичення в тканинах таких продуктів, як ліпоперекиси, радикали жирних кислот, кетони, альдегіди, кетокислот, що, в свою чергу, пошкоджує і збільшує проникність клітинних мембран, модифікує структурні білки, ферменти, біологічно активні речовини. Відбувається активація процесів апоптозу - або за рахунок прямого ушкодження клітинних білків, або за рахунок зміни характеру транскрипції певних генів. Нарешті, вільні радикали можуть грати роль сигнальних молекул, безпосередньо стимулюють вихід кальцію з депо. Надлишкова активація реакцій вільно радикального окислення представляє типовий патологічний процес, що зустрічається при самих різних захворюваннях і ушкоджуючих впливах на організм. Препаратами, що обмежують активність процесів вільно радикального окислення, є антиоксиданти.

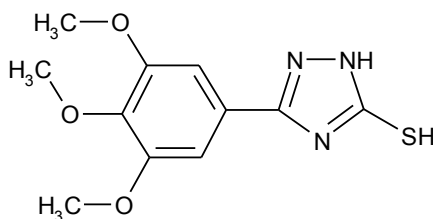
На даний момент відомо багато антиоксидантів природного походження, але їх тривале застосування можуть викликати різноманітні побічні реакції, пов'язані з гіпервітамінозом.

Найбільш близьким аналогом речовин, що заявляються, по фармакологічному ефекту є токоферолу ацетат (вітамін Е), що має високу антиоксидантну активність [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 1998. - Т. 2. - 592 с. (С. 95-96)], він широко застосовується в медичній практиці і має формулу:



Дана речовина хоча і має антиоксидантну дію, однак її величина недостатньо висока. Крім того, даний препарат обмежено застосовують для лікування осіб, хворих на тяжкий кардіосклероз чи інфаркт міокарду.

Прототипом для речовини, що заявляється, є 5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіону, що виявляє антиоксидантну активність (Пат. України №80686; Заявл. 10.12.2012; Опубл. 10.06.2013, Бюл. № 11) і має формулу:



Суттєві ознаки прототипу і корисної моделі, що збігаються, є такі:

наявність в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу 3,4,5-триметоксифенільного радикалу;

наявність аміногрупи при N₂-атомі ядра 1,2,4-триазолу;

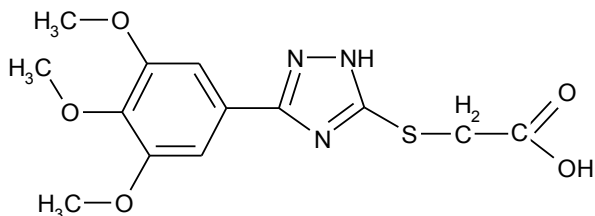
молекули даних речовин містять у складі двовалентний атом сірки;

молекули даних речовин містять атоми вуглецю, що мають ступінь окиснення -3, -2 і -1.

В ході проведених досліджень було виявлено, що прототип, у порівнянні зі сполукою, що заявляється, менш активно пригнічує процеси вільно радикального окиснення. Таким чином, прототип відповідно має менші показники антиоксидантної активності. Крім того, прототип, на відміну від заявленої сполуки потребує зберігання в особливих умовах (темному місці, через наявність вільної сульфгідрильної групи), здатний до розкладання.

В основу винаходу поставлено задачу створення нових біологічно активних сполук, що можуть знайти своє застосування як оригінальні лікарські засоби в ряду 1,2,4-триазолу і проявляють антиоксидантну активність, значно вищу за показники вже відомих антиоксидантних препаратів.

5 Поставлена задача вирішується тим, що 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота містить при N₂-атомі ядра 1,2,4-триазолу аміногрупу, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу 3,4,5-триметоксифенільний радикал, а також має в своєму складі двовалентний атом сірки і має формулу:



10

Сполуку, що заявляється, отримують взаємодією 5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіону з кислотою монохлороцтовою у середовищі диметилформаміду та з додаванням еквімолекулярної кількості натрію гідроксиду при температурі 120-125 °С.

15 Приклад

В тригорлу круглодонну колбу на 250 мл, обладнану змішувачем, холодильником, термометром завантажують 26,7 г (0,1 моль) 5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіону, 50 мл диметилформаміду, нагрівають до розчинення. В другій колбі розчиняють 9,45 г (0,1 моль) монохлороцтової кислоти у 20 мл диметилформаміду і переносять у першу, додають розчин 4 г (0,1 моль) натрію гідроксиду у 10 мл води. Суміш при постійному перемішуванні нагрівають до 100 °С, витримують 5 годин (при 100-105 °С), охолоджують. Осад відфільтровують, фільтрат упарюють. Вихід складає 24,9 г (93,2 % в розрахунку на 5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіон). Жовта аморфна речовина з Тпл. 150-153 °С мало розчинна у воді, розчинна в органічних розчинниках. Для аналізу сполуку перекристалізовано із суміші диметилформамід-вода 5:1.

25

Знайдено, %: С - 47,20, Н - 4,73, N-12,43, S-9,35. C₁₃H₁₅N₃O₅S.

Вирахувано, %: С - 47,99, Н - 4,65, N-12,92, S-9,86.

В ІЧ-спектрі ацетатної кислоти наявні смуги поглинання -C=N - групи при 1598 см⁻¹, смуги поглинання ароматичного кільця при 1605 см⁻¹, CH₂-COOH-групи при 1760 см⁻¹ і ОН-груп при 3503 (869) см⁻¹.

30

Кількісне визначення сполуки, що заявляється, проводили спектрофотометричним методом. Методика проведення експерименту: 2,50 мл 1 % (або 1,00 мл 2,5 %) розчину 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти вміщують в мірну колбу на 100,0 мл, доводять водою дистильованою до позначки, перемішують. 2,00 мл одержаного розчину вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять водою дистильованою до позначки, перемішують. Вимірюють оптичну густину при 275 нм на фоні компенсаційного розчину (води дистильованої). Визначення проводять методом стандарту. Як розчин порівняння використовували 2,00 мл 0,025 % розчину морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-ацетату. Розрахунок відсоткового вмісту проводять за формулою:

35

40

$$C_{\%} = \frac{A \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 25}{A_0 \cdot p \cdot 2 \cdot l},$$

де

A - оптична густина досліджуваного розчину,

A₀ - оптична густина розчину порівняння,

C₀ - концентрація розчину порівняння, який спектрофотометрують (0,002 г/100 мл),

45

p - наважка, мл,

l - товщина шару, см.

Розчинність сполуки, що заявляється, проводили згідно ДФУ п. 1.4. Згідно з даною класифікацією 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота належить до помірно розчинних, а 5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіон до мало розчинних.

Дослідження антиоксидантної активності сполуки, що заявляється, проводили *in vitro* методом неферментативного ініціювання вільно радикального окислення, яку оцінювали за концентрацією ТБК-реактивів (ТБК - тіобарбітурова кислота).

Реактиви та їх приготування:

- 5 а) суспензія яєчних ліпопротеїдів - до 1 яєчного жовтка додають 1 л фосфатного буферного розчину з рН 7,4 (визначають за допомогою рН-метра);
 б) 20 % розчин трихлоретанової кислоти - 20 г трихлоретанової кислоти розчиняють в 80 г води очищеної;
 10 в) 0,8 % розчин тіобарбітурової кислоти - 800 мг тіобарбітурової кислоти поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять до мітки водою очищеною.
 г) 10 % розчин ферум (II) сульфату - 10 г ферум (II) сульфату розчиняють в 90 мл води очищеної.

Хід проведення експерименту.

- 15 До 4 мл суспензії яєчних ліпопротеїдів додають 0,5 мл розчину сполуки в димексиді в концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 1 мл 10 % розчину ферум (II) сульфату. Суміш перемішують і витримують 1 годину при 37 °С в термостаті. До 1 мл суміші додають 1 мл 20 % розчину трихлоретанової кислоти і обертають в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Надосадну рідину змішують з 1 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти і поміщають на 1 годину в парову баню,
 20 після чого додають 4 мл бутанолу-1 і обертають в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Відбирають 2 мл верхнього бутанольного шару і вимірюють його оптичну густину при довжині хвилі 532 нм.

Контрольну пробу готували аналогічно, але без додавання досліджуваних сполук. Як препарат порівняння використовували токоферолу ацетат, що вводили в аналогічних дозах.

Антиоксидантну активність розраховували за формулою:

$$AOA = \frac{E_{\text{контроль}} - E_{\text{дослід}}}{E_{\text{контроль}}} \cdot 100\%,$$

- 25 де АОА - антиоксидантна активність, %

$E_{\text{контроль}}$ - оптична густина контрольного розчину;

$E_{\text{дослід}}$ - оптична густина розчину, що містив досліджувані сполуки (або токоферолу ацетат).

Результати антиоксидантної активності наведені в табл.

Таблиця

№ з/н	Речовина	E	АОА, %
1	Контроль	0,110	-
2	2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота (сполука 1)	0,014	95,4
3	5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіону (прототип)	0,012	89,1
4	Токоферолу ацетат (вітамін Е)	0,023	79,0

30

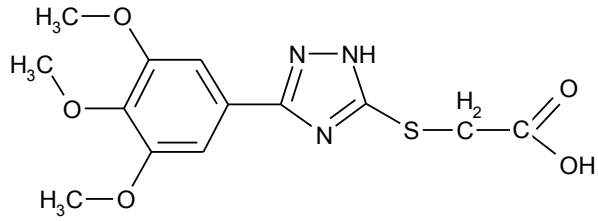
Дослідження показали, що прототип, у порівнянні зі сполукою, що заявляється, менш активно пригнічує процеси вільнорадикального окиснення, а отже має менші показники антиоксидантної активності. Окрім цього, на відміну від заявленої сполуки прототип потребує зберігання в особливих умовах (темному місці, через наявність вільної сульфгідрильної групи) та здатний до розкладання. На основі проведених досліджень та вищенаведених результатів можна зробити висновок, що 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота може бути рекомендована як винахід.

35

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

40

Застосування 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти формули



як антиоксидантного засобу.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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