



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **82191** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C07D 473/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 01306**
(22) Дата подання заявки: **04.02.2013**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.07.2013**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.07.2013, Бюл.№ 14**

(72) Винахідник(и):
Дячков Михайло Вікторович (UA),
Шкода Олександр Станіславович (UA),
Александрова Катерина В'ячеславівна (UA),
Бєленічев Ігор Федорович (UA),
Носач Світлана Григорівна (UA)
(73) Власник(и):
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Дячков Михайло Вікторович,
вул. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Шкода Олександр Станіславович,
вул. Уральська, 61, кв. 237, м. Запоріжжя, 69071 (UA),
Александрова Катерина В'ячеславівна,
вул. Українська, 8, кв. 100, м. Запоріжжя, 69095 (UA),
Бєленічев Ігор Федорович,
пр. Ювілейний, 26, кв. 54, м. Запоріжжя, 69096 (UA),
Носач Світлана Григорівна,
вул. Тараса Бульби, 16, м. Запоріжжя, 69000 (UA)

(54) ВОДОРОЗЧИННІ СОЛІ 3-БЕНЗИЛ(ФЕНІЛ)-8-ГІДРОКСИМЕТИЛКСАНТИНІВ, ЯКІ ВІЯВЛЯЮТЬ АНТИОКСИДАНТНУ ДІЮ

(57) Реферат:

Водорозчинні солі 3-бензил(феніл)-8-гідроксиметилксантинів, які виявляють антиоксидантну дію.

UA 82191 U

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

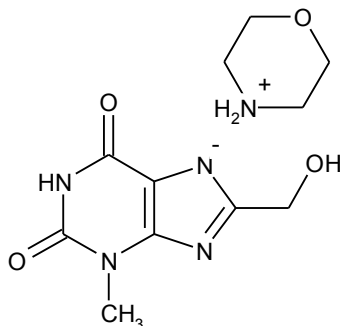
В процесі метаболізму клітин серед інших продуктів утворюються й вільні радикали. Їх утворення є необхідною ланкою багатьох важливих процесів, що відбуваються в клітинах. Вільнорадикальне окислення (ВРО) бере участь у транспорті електронів в дихальному ланцюзі, синтезі простагландинів і лейкотрієнів, диференціюванні та проліферації клітин, метаболізмі токсичних продуктів та ін. До процесів ВРО відносять активацію вільних форм кисню (ініціацію), утворення вільних радикалів органічних та неорганічних сполук, утворення перекисів ліпідів й інших сполук. Ініціюючою ланкою є утворення активних форм кисню (АФК): синглетного кисню, супероксидрадикалу, перекису водню (H_2O_2).

Проте, при гіперпродукції АФК біоенергетичними та нейрохімічними системами нейрону синглетний кисень та H_2O_2 під впливом іонів феруму (II) можуть трансформуватися в дуже агресивний гідроксильний радикал (ОН). Останній активно вступає в реакції з білками, нуклеїновими кислотами та фосfolіпідами. В результаті утворюються активні радикали, які взаємодіють з аміногрупами білків, фосfolіпідів, РНК, ДНК з утворенням "поперечних" зшивок, що різко обмежує конформаційну рухливість зазначених молекул та призводить до зниження активності ферментів, рецепторів, каналотворюючих білків та порушення їх синтезу. Це руйнує молекулярну основу клітин та приводить до їх загибелі.

Отже, створення антиоксидантних сполук, які є інгібіторами ВРО та АФК (ключових ланок в патогенезі багатьох захворювань) є актуальним для сучасної медицини та фармакології.

Найближчим аналогом за структурою сполук, що заявляються, може служити морфолін-4-ій 3-метил-8-гідроксиметилксантин-7-ід (Синтез аммонієвих солей в ряду некоторых метилированных ксантинов / Д.В. Свентух, Б.А. Прийменко, И.Б. Самура [и др.] // Запорожский медицинский журнал - 2005. - № 5 (32). - С. 162-164):

25

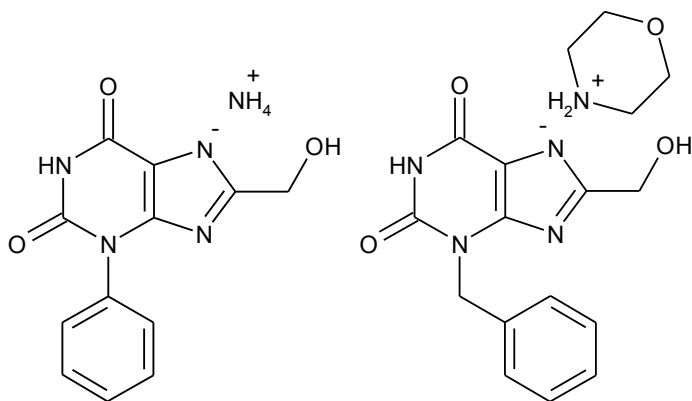


Сполуки, що заявляються, відрізняються від найближчого аналога замісником в положенні 3 ксантинової молекули, а одна з них ще й природою солеутворюючої основи. Біологічна активність найближчого аналога не визначалась.

На відміну від дибунолу (еталон порівняння за біологічною активністю) сполуки, що заявляються, виявляють значно сильнішу антиоксидантну дію.

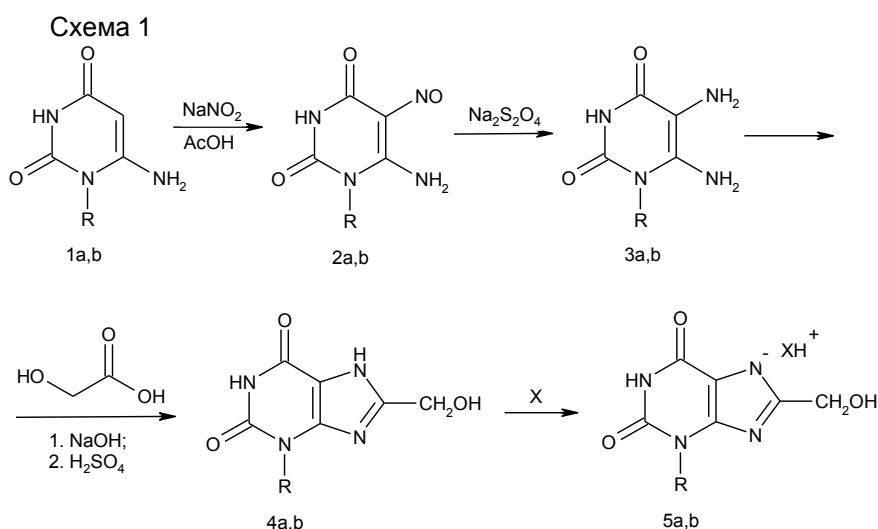
В основу корисної моделі поставлена задача створення нових малотоксичних препаратів антиоксидантної дії, які після поглиблених фармакологічних досліджень можуть бути використані в медичній практиці.

Поставлена задача вирішується синтезом водорозчинних солей 3-бензил(феніл)ксантинів (амоній 3-феніл-8-гідроксиметилксантин-7-иду та морфолін-4-ій 3-бензил-8-гідроксиметилксантин-7-иду):



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

5



Приклад 1. Етап 1. Синтез 6-аміно-1-R-5-нітросо-2,4(1H,3H)піримідиндіонів (2a,b). До суспензії відповідного 0,46 моль 6-аміно-1-R-2,4(1H,3H)-піримідиндіону (1a,b) в 2500 мл води при інтенсивному перемішуванні додають 32 г (0,46 моль) натрій нітриту та потім повільно 90 мл льодяної оцтової кислоти. Суміш перемішують до переходу білого кольору суспензії в малиновий. Осад відфільтровують, промивають водою та сушать при $t=70-75$ °С.

2a: Вихід 68 %. Т.пл. 189-191 °С. $C_{10}H_9N_4O_3$. Знайдено, %: С: 51,62; N: 24,21; H: 3,51. Розраховано, %: С: 51,73; N: 24,13; H: 3,47. ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 10,69 (1H, с, N^1H), 7,64-7,29 (5H, м, C_6H_5), 4,72 (2H, с, NH_2).

2b: Вихід 92 %. Т.пл. 237-238 °С. $C_{11}H_{10}N_4O_3$. Знайдено, %: С: 53,69; N: 22,72; H: 4,05. Розраховано, %: С: 53,66; N: 22,75; H: 4,09. ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 10,70 (1H, с, N^1H), 7,42-7,15 (5H, м, C_6H_5), 5,21 (2H, с, N^3H-CH_2), 4,70 (2H, с, NH_2).

Етап 2. Синтез 5,6-діаміно-1-R-2,4(1H,3H)піримідиндіонів (3a,b). До суспензії 0,40 моль сполуки 2a чи 2b відповідно в 1000 мл води при інтенсивному перемішуванні додають натрій дитіоніт до переходу малинового кольору суспензії в жовто-зелений. Осад відфільтровують, промивають водою та сушать при $t=70-75$ °С.

3a: Вихід 87 %. Т.пл. 225-226 °С. $C_{10}H_{10}N_4O_2$. Знайдено, %: С: 55,01; N: 25,72; H: 4,60. Розраховано, %: С: 55,04; N: 25,68; H: 4,62. ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 10,85 (1H, с, N^1H), 7,67-7,24 (5H, м, C_6H_5), 5,37 (4H, с, NH_2).

3b: Вихід 95 %. Т.пл. 232-233 °С. $C_{11}H_{12}N_4O_2$. Знайдено, %: С: 56,87; N: 24,14; H: 5,28. Розраховано, %: С: 56,89; N: 24,12; H: 5,21. ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 10,89 (1H, с, N^1H), 7,36-7,16 (5H, м, C_6H_5), 6,05 (2H, с, N^3H-CH_2), 5,37 (4H, с, NH_2).

Етап 5. Синтез 3-R-8-гідроксиметилксантинів (4a,b). Сплавляють 0,39 моль сполуки 3a чи 3b відповідно та 0,58 моль гідроксіетанової кислоти при $t=120$ °С протягом 1 год. Сплав подрібнюють, додають 430 мл дистильованої води та нейтралізують твердим NaOH до $pH=6,5$ -

7,0. Після цього додають 430 мл 2N розчину NaOH та кип'яють 2,5 год. Розчин фільтрують в гарячому вигляді та додають 50 % розчин H₂SO₄ до pH 4,0-4,5. Охолоджують. Осад, що утворився відфільтровують та сушать при t=70-75 °C.

4a: Вихід 70 %. Т.пл. 260-261 °C. C₁₂H₁₀N₄O₃. Знайдено, %: C: 55,51; N: 21,40; H: 3,60.
5 Розраховано, %: C: 55,81; N: 21,70; H: 3,90.

ПМР спектр (δ-шкала, м.ч., розчинник ДМСО-d₆): 13,40 (1H, с, N⁷H), 11,22 (1H, с, N¹H), 7,51-7,40 (5H, м, C₆H₅), 5,65-5,51 (1H, с, OH), 4,40 (2H, с, C⁸-CH₂).

4b: Вихід 85 %. Т.пл. 23 1-232 °C. C₁₃H₁₂N₄O₃. Знайдено, %: C: 57,05; N: 20,88; H: 4,14.
10 Розраховано, %: C: 57,35; N: 20,58; H: 4,44.

ПМР спектр (δ-шкала, м.ч., розчинник ДМСО-d₆): 13,39 (1H, с, N⁷H), 11,14 (1H, с, N¹H), 7,31-7,20 (5H, м, C₆H₅), 5,61-5,46 (1H, с, OH), 5,13 (2H, с, N³-CH₂), 4,51 (2H, с, C⁸-CH₂).

Етап 6. Синтез амоній 3-феніл-8-гідроксиметилксантин-7-іду (5a) та морфолін-4-ій 3-бензил-8-гідроксиметилксантин-7-іду (7b). До 0,015 моль сполук 5a чи 5b додають 10 мл води та 0,015 моль амоніаку (для 5a) або 0,015 моль морфоліну (для 5b) відповідно, нагрівають до повного розчинення. Фільтрують розчин в гарячому вигляді, фільтрат охолоджують, висаджують ацетоном. Осад солі відфільтровують, промивають ацетоном та сушать при t=80-85 °C.

5a: Вихід 88 %. Т.пл.>300 °C. C₁₃H₁₅N₅O₃. Знайдено, %: C: 53,67; N: 24,51; H: 5,53.
15 Розраховано, %: C 53,97; N 24,21; H: 5,23.

5b: Вихід 80 %. Т.пл.>300 °C. C₁₆H₁₉N₅O₄. Знайдено, %: C: 55,94; N: 20,58; H: 5,25.
20 Розраховано, %: C: 55,64; N: 20,28; H: 5,55.

Приклад 2. Етап 1. Метод оцінки антиоксидантної активності (АОА) на основі інгібування накопичення кінцевих молекулярних продуктів вільно-радикального окислення (Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах in vitro / Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. [та ін.] // Метод, реком. - К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. - 26 с.). Робоча кількість суспензії ліпопротеїдів (приготовлена з розрахунку: 0,15 М KCl=1:1) розводять у 10 разів 40 мМ фосфатним буфером (pH 7,4). До 4 мл суспензії додають 1 мл розчину досліджуваних речовин та 1,0 мл 25 мМ розчину FeSO₄. Суміш інкубують 30 хв. при 35 °C. До 4 мл суміші додають 1 мл 10 % розчину трихлороацетатної кислоти та 15 хв. центрифугують при 3000 об/хв. Після центрифугування до розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) додають 1 мл надосадової рідини. Забарвлений комплекс малонового діальдегіду з ТБК вилучають додаванням н-бутанолу. Методом спектрофотометрії визначають концентрацію малонового діальдегіду, яка свідчить про інтенсивність процесів вільнорадикального окислення. Антиоксидантну активність (в відсотках) обчислюють за формулою:

$$AOA = (C_k - C_0 / C_k) \times 100 \%, \text{ де}$$

C_k - концентрація МДА в контрольних пробах;

C₀ - концентрація МДА в досліджуваних пробах;

В якості еталону порівняння використовували дибунол.

Результати дослідження наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Антиоксидантна активність досліджуваних сполук (в різних концентраціях) in vitro при неферментативній ініціації вільно-радикального окислення (M±m)

Сполука	10 ⁻³		10 ⁻⁵		10 ⁻⁷	
	МДА, ммоль/г суспензії	АОА %	МДА, ммоль/г суспензії	АОА %	МДА, ммоль/г суспензії	АОА %
амоній 3-феніл-8-гідроксиметилксантин-7-ід	0,166±0,015*	42,4	0,169±0,009*	41,3	0,181±0,008*	37,2
морфолін-4-ій 3-бензил-8-гідроксиметилксантин-7-ід	0,184±0,014*	36,1	0,174±0,019*	39,6	0,164±0,02*	43,1
інтакт	0,031±0,004	-	0,031±0,004	-	0,031±0,004	-
контроль	0,288±0,001 ^Δ	-	0,288±0,001 ^Δ	-	0,288±0,001 ^Δ	-
дибунол	0,22±0,03*	13,4	0,185±0,02*	27,1	0,199±0,018*	21,6

Примітки:

^Δ - p 0,01 по відношенню до інтакту;

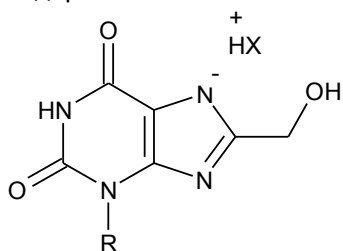
* - p 0,01 по відношенню до контролю

Дослідження АОА по інгібуванню накопичення кінцевих молекулярних продуктів вільнорадикального окислення, що було ініційовано ферум (II) сульфатом, показало, що синтезовані сполуки 5a та 5b виявляють високу антиоксидантну активність та за силою антиоксидантного ефекту перевершують активність дибунолу. Сила АОА амоній 3-феніл-8-гідроксиметилксантин-7-іду знаходиться в прямій залежності від концентрації та на 29 % перевищує еталон порівняння в концентрації 10^{-3} М. Сила АОА морфолін-4-ій 3-бензил-8-гідроксиметилксантин-7-іду виявляє максимум в концентрації 10^{-7} М, що на 21,5 % перевищує еталон порівняння.

Таким чином, наведені вище дані свідчать про те, що після поглиблених фармакологічних досліджень сполуки, що заявляються, мають більш високу активність у порівнянні з еталоном та можуть бути використані в якості антиоксидантних засобів в медичній практиці.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Водорозчинні солі 3-бензил(феніл)-8-гідроксиметилксантинів загальної формули:



R=Бензил; Феніл

X=Амоніак; Морфолін

які виявляють антиоксидантну дію.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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