



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **86772** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C07D 473/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 08688**
(22) Дата подання заявки: **10.07.2013**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.01.2014**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2014, Бюл.№ 1**

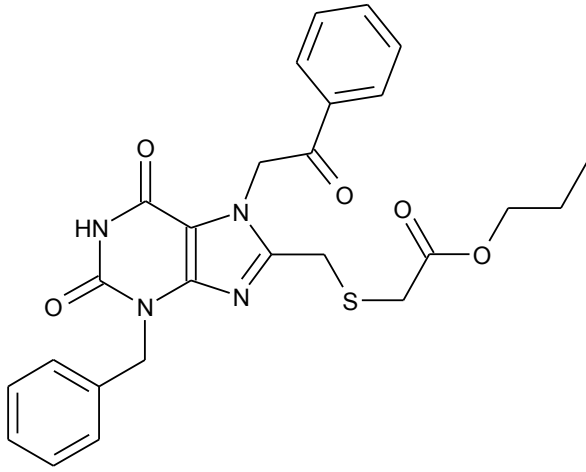
(72) Винахідник(и):
Дячков Михайло Вікторович (UA),
Шкода Олександр Станіславович (UA),
Александрова Катерина Вячеславівна (UA),
Бєленічев Ігор Федорович (UA),
Носач Світлана Григорівна (UA)
(73) Власник(и):
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Дячков Михайло Вікторович,
вул. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Шкода Олександр Станіславович,
вул. Уральська, 61, кв. 237, м. Запоріжжя, 69071 (UA),
Александрова Катерина Вячеславівна,
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) Н-ПРОПІЛОВИЙ ЕСТЕР 3-БЕНЗИЛ-7-(2-ОКСО-2-ФЕНІЛЕТИЛ)-КСАНТИНІЛ-8-МЕТИЛТІОАЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ, ЯКИЙ ВИЯВЛЯЄ АНТИОКСИДАНТНУ ДІЮ

(57) Реферат:

Н-пропіловий естер 3-бензил-7-(2-оксо-2-фенілетил)ксантиніл-8-метилтіо-ацетатної кислоти,

UA 86772 U



,

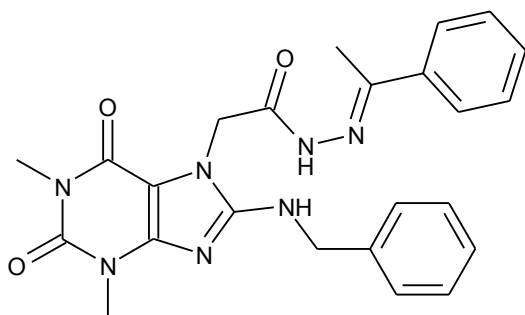
який виявляє антиоксидантну дію.

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

Одним з головних постулатів сформованої в кінці минулого століття нової галузі науки - вільнорадикальної біології та медицини - є уява про порушення балансу між дією прооксидантних факторів і ефективністю систем антиоксидантного захисту організму, що призводить до оксидативного стресу та являє собою універсальний молекулярний механізм розвитку багатьох захворювань. У перспективних дослідженнях сформульована думка, що зростання вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у плазмі крові є потужним фактором ризику виникнення серцево-судинних захворювань, який за силою та значенням можна порівняти з гіперліпідемією, артеріальною гіпертензією, надлишковою вагою тіла, палінням.

Сучасна стратегія медикаментозного лікування захворювань серцево-судинної системи не включає самостійних ланок, спрямованих безпосередньо на нейтралізацію вільних радикалів та наслідків їх дії. Найбільш широко при лікуванні серцевих захворювань застосовується комплексна терапія, в яку, зазвичай, входять діуретики, нітрати, β -адреноблокатори, блокатори кальцієвих каналів та ангіотензинперетворюючого ферменту, ліпідознижувальні препарати. Враховуючи вищезазначене, можна зробити висновок, що пошук кардіопротекторів з антиоксидантним механізмом дії є досить актуальним питанням сучасної медицини та фармації.

Прототипом за структурою сполуки, що заявляється, може служити (8-N-бензиламінотеофілініл-7)ацетатної кислоти (1-фенілетиліден)гідрозид (Патент України 71209 МПК C07D473/00 (8-N-бензиламінотеофілініл-7)ацетатної кислоти (1-фенілетиліден)гідрозид, який виявляє антиоксидантну дію / Юрченко Д. М., Беленічев І. Ф., Александрова К. В., Романенко М. І., Бухтіярова Н. В. - № и201114381; заяв. 05.12.11; опублік. 10.07.12, Бюл. № 13)

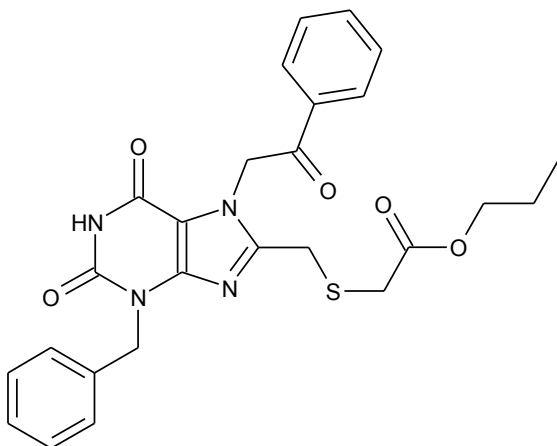


Сполука, що заявляється, відрізняється від прототипу замісниками в положеннях 1, 3, 7 та 8 ксантинової молекули. Антиоксидантна активність досліджуваної сполуки (в різних концентраціях) *in vitro* при неферментативній ініціації вільнорадикального окиснення раніше не вивчалась.

На відміну від дибунолу (еталон порівняння за біологічною активністю) сполука, що заявляється, виявляє значно сильнішу антиоксидантну активність.

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

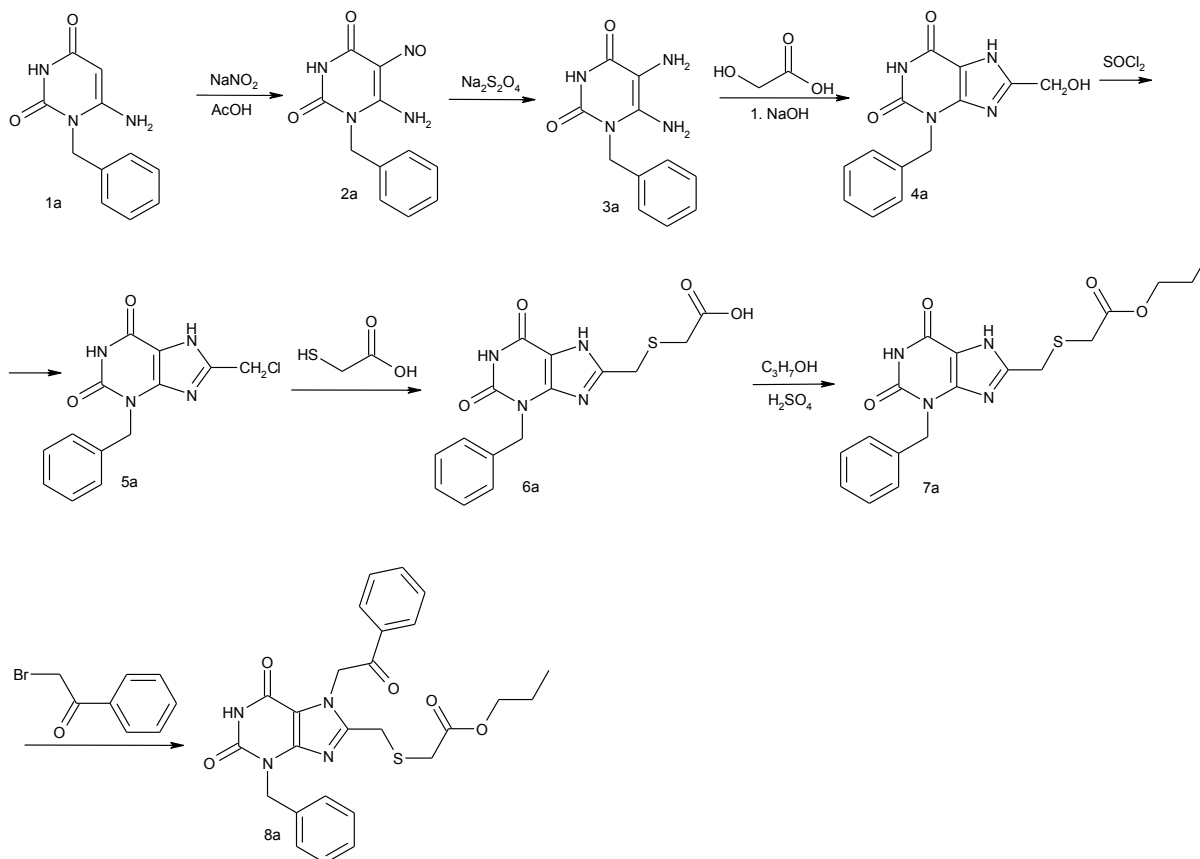
Поставлена задача вирішується тим, що синтезом *n*-пропілового естеру 3-бензил-7-(2-оксо-2-фенілетил)ксантинил-8-метилтіоацетатної кислоти.



Одержують сполуку, що заявляється, стадійним синтезом, який складається з наступних етапів (схема 1).

Схема 1

5



Приклад 1. Етап 1. Синтез 6-аміно-1-бензил-5-нітрозо-2,4(1H,3H)піримідиндіонів (2a). До суспензії відповідного 0,46 моль 6-аміно-1-бензил-2,4(1H,3H)піримідиндіону (1a) 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 $t=70-75\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2a: Вихід 68 %. Т.пл. $189-191\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_3$. Знайдено, %: C: 51,62; N: 24,21; H: 3,51. Розраховано, %: C: 51,92; N: 24,51; H: 3,21. 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).

Етап 2. Синтез 5,6-діаміно-1-R-2,4(1H, 3H)піримідиндіонів (3a). До суспензії 0,40 моль сполуки 2a 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 $t=70-75\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3a: Вихід 87 %. Т.пл. $225-226\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$. Знайдено, %: C: 55,01; N: 25,72; H: 4,60. Розраховано, %: C: 55,31; N: 25,42; H: 4,90. 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).

Етап 3. Синтез 3-бензил-8-гідроксиметилксантину (4a). Сплавляють 0,39 моль сполуки 3a та гідроксіетанову кислоту при $t=120\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 1 год. Сплав подрібнюють, додають 430 мл дистильованої води та нейтралізують твердим NaOH до $\text{pH} = 6,5-7,0$. Після цього додають 430 мл 2 N розчину NaOH та кип'ячать 2,5 год. Розчин фільтрують в гарячому вигляді та додають 50 % розчин H_2SO_4 до $\text{pH} = 4,0-4,5$. Охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують та сушать при $t=70-75\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4a: Вихід 70 %. Т.пл. $260-261\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3$. Знайдено, %: C: 55,51; N: 21,40; H: 3,60. Розраховано, %: C: 55,81; N: 21,70; H: 3,90.

ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 13,40 (1H, с, N^7H), 11,22 (1H, с, N^1H), 7,51-7,40 (5H, м, C_6H_5), 5,65-5,51 (1H, с, OH), 4,40 (2H, с, $\text{C}^8\text{-CH}_2$).

Етап 4. Синтез 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти (6а). До 0,33 моль сполуки 4а додають 500 мл тіоніл хлориду та кип'ятять протягом 6 год. Потім повністю відганяють тіоніл хлорид під вакуумом, а сухий залишок 3-бензил-8-хлорометилксантину (5а) сушать добу. Отриманий інтермедіат розчиняють в 300 мл тіоацетатної кислоти та кип'ятять протягом 1 год.

5 Розчин охолоджують і виливають в 3000 мл води, утворюються кристали 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти (6а). Осад, що утворився відфільтровують, промивають водою та сушать при $t=80-85$ °С.

5а: Вихід 80 %. Т.пл. >300 °С. $C_{18}H_{20}N_4O_4$. Знайдено, %: С: 53,41; N: 19,57; Н: 3,31. Розраховано, %: С: 53,71; N: 19,27; Н: 3,61.

10 ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 13,34 (1Н, с, N^7H), 11,16 (1Н, с, N^1H), 7,21-7,11 (5Н, м, C_6H_5), 5,10 (2Н, с, N^3-CH_2), 4,47 (2Н, с, C^8-CH_2).

6а: Вихід 70 %. Т.пл. 237 °С. $C_{14}H_{12}N_4O_4S$. Знайдено, %: С, 50,51; Н, 3,67; N, 16,77; S, 9,76. Розраховано, %: С, 50,21; Н, 3,37; N, 17,07; S, 9,46.

15 ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): N^7H - 13,492; N^1H - 11,184; OH - 12,670; Ph - 7,532-7,358; C^8-CH_2 - 3,850; S- CH_2 - 3,422

Етап 5. Синтез н-пропілового естеру 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти (7а). До 0,01 моль сполуки 6а додають 100 мл н-пропілового спирту та 5 мл сульфатної кислоти. Розчин кип'ятять протягом 18 год., охолоджують та виливають в 300 мл води. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою та сушать при $t=80-85$ °С. Для аналізу отримані речовини перекристалізують із н-пропілового спирту.

20 7а: Вихід 82 %. Т.пл. 211-2 °С. $C_{18}H_{20}N_4O_4S$. Знайдено, %: С, 55,63; Н, 5,17; N, 14,41; S, 8,28. Розраховано, %: С, 55,33; Н, 5,47; N, 14,71; S, 8,58.

25 ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 13,48 (1Н, с, N^7H), 11,17 (1Н, с, N^1H), 7,35-7,26 (5Н, м, C_6H_5), 5,09 (2Н, с, N^3-CH_2), 3,99 (2Н, т, O- CH_2), 3,85 (2Н, с, C^8-CH_2), 3,48 (2Н, с, S- CH_2), 1,58 (2Н, м, O-C- CH_2), 0,88 (3Н, т, CH_3)

Етап 6. Синтез н-пропілового естеру 3-бензил-7-(2-оксо-2-фенілетил)ксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти (8а), сполуки, що заявляється.

30 До 3,88 г (0,01 моль) н-пропілового естеру 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти (7а) в 20 мл ДМФА додають 0,92 г (0,011 моль) натрій гідрокарбонату та нагрівають до повного розчинення. Після цього додають 2,2 г (0,011 моль) бромацетофенону та кип'ятять протягом 2 год. Фільтрують розчин в гарячому вигляді, а фільтрат охолоджують та виливають в 50 мл води. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, сушать при $t=70$ °С, перекристалізують із етанолу.

35 8а: Вихід 86 %. Т.пл. 140-142 °С. $C_{26}H_{26}N_4O_5S$. Знайдено, %: С: 61,35; N: 11,36; H: 5,47; S: 6,63. Розраховано, %: С: 61,65; N: 11,06; H: 5,17; S: 6,33.

ПМР спектр (δ -шкала, м.ч., розчинник ДМСО- d_6): 11,18 (1Н, с, N^1H), 8,02-7,08 (10Н, м, C_6H_5), 5,92 (2Н, с, N^7-CH_2), 5,09 (2Н, с, N^3-CH_2), 3,91 (2Н, т, O- CH_2), 3,82 (2Н, с, S- CH_2), 3,46 (2Н, с, C^8-CH_2), 1,52 (2Н, м, -O-C- CH_2), 0,89 (3Н, т, - CH_3).

40 Приклад 2. Метод оцінки антиоксидантної активності (АОА) на основі інгібування накопичення кінцевих молекулярних продуктів вільно-радикального окиснення (Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у досліджах *in vitro* /Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. [та ін.] // Метод. реком. - Київ: ДФЦ МОЗ України, 2002. - 26 с.). Як субстрат використовували суспензію яєчних ліпопротеїнів. Робоча кількість ліпопротеїнів, приготованих із розрахунку: ліпопротеїни: 0,15 М $KCl=1:1$, розводять в 10 раз 0,04 М фосфатним буфером до рН = 7,4. До 4 мл суспензії додавали 1 мл розчину речовини, що досліджується (в концентраціях 10^{-3} моль/л, 10^{-5} моль/л та 10^{-7} моль/л) в об'ємі 0,5 мл та 1,0 мл 0,025 М розчину $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (розчин готують *ex tempore*; ферум (II) сульфат повинен бути свіжокристалізованим зі спирту). Суміш інкубували 30 хв при температурі 37 °С. Реакцію зупиняли розчином 0,5 мл 20 % трихлороцтової кислоти (ТХО), що містить 250 мг/100 мл трилону Б для зв'язування іонів феруму (II) та зупинки ВРО. Після центрифугування при 2000 об/хв протягом 15 хв відбирали надосадкову рідину, вносили у пробірку з 1 мл 0,8 % тіобарбітурової кислоти та розміщували на 30 хв на киплячій водяній бані.

50 Після охолодження забарвлений комплекс виділяли додаванням до проби 4 мл бутанолу-1, струшували та центрифугували 15 хв при 2000 об/хв. Ретельно відбирали верхній шар дозатором та спектрофотометрично при $\lambda=532$ нм проти бутанолу-1 визначали оптичну щільність. Як етанол порівняння використовували дибунол. Антиоксидантну активність (в відсотках) обчислювали за формулою: $AOA = (C_k - C_0 / C_k) \times 100$ %, де:

C_k - концентрація МДА в контрольних пробах;

C_0 - концентрація МДА в досліджуваних пробах;

60 Результати дослідження наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Антиоксидантна активність досліджуваної сполуки (в різних концентраціях) in vitro при неферментативній ініціації вільнорадикального окислення ($M \pm m$)

Сполука	10^{-3} моль/л		10^{-5} моль/л		10^{-7} моль/л	
	МДА, ммоль/г суспензії	АОА, %	МДА, ммоль/г суспензії	АОА, %	МДА, ммоль/г суспензії	АОА, %
Сполука, що заявляється	0,147±0,001	48,24	0,164±0,001	42,25	0,195±0,001	31,34
Інтакт	0,082±0,004	-	0,082±0,004	-	0,082±0,004	-
Контроль	0,284±0,001 ^Δ	-	0,284±0,001 ^Δ	-	0,284±0,001 ^Δ	-
Дибунол	0,22±0,03*	13,40	0,185±0,02*	27,10	0,199±0,018*	21,60

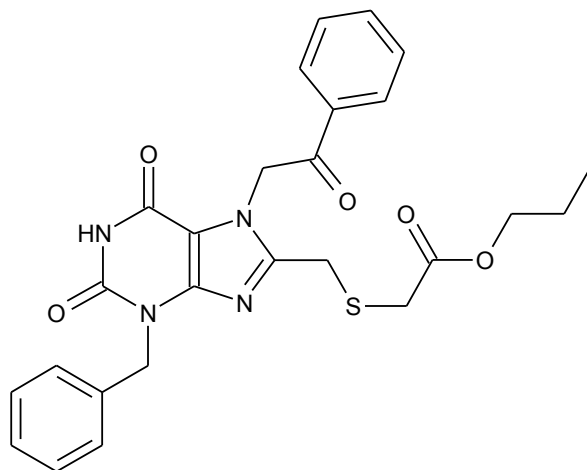
Примітки: ^Δ - р 0,05 по відношенню до інтакту; * - р 0,05 по відношенню до контролю

Дослідження АОА по інгібуванню накопичення кінцевих молекулярних продуктів вільнорадикального окислення, показало, що сполука, яка заявляється (8a), виявляє високу антиоксидантну активність та за силою перевершує активність дибунолу. Сила АОА н-пропілового естеру 3-бензил-7-(2-оксо-2-фенілетил)ксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти знаходиться в прямій залежності від концентрації та виявляє максимум в концентрації 10^{-3} моль/л, де перевищує еталон порівняння на 34,84 %, в концентрації 10^{-5} моль/л перевищує дибунол на 15,15 %, а в концентрації 10^{-7} моль/л на 9,74 %.

Таким чином, наведені вище дані свідчать про те, що сполука, яка заявляється, має більш високу активність у порівнянні з еталонним препаратом та після поглиблених фармакологічних досліджень може бути використана в якості антиоксидантного засобу в комплексній терапії захворювань серцево-судинної системи.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Н-пропіловий естер 3-бензил-7-(2-оксо-2-фенілетил)ксантиніл-8-метилтіо-ацетатної кислоти,



який виявляє антиоксидантну дію.

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