

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 137806

ПОХІДНІ 2-(2,4-ДИОКСО-1,4-ДИГІДРО-2Н-ХІНАЗОЛІН-3-ІЛ)-
АЦЕТАМІДУ, ЩО МАЮТЬ ПРОТИСУДОМНУ ДІЮ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 11.11.2019.

Заступник Міністра розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України

Д.О. Романович



(11) 137806

(19) UA

(51) МПК (2019.01)
C07C 235/00
C12P 37/00
A61P 25/08 (2006.01)

(21) Номер заявки: **u 2019 03594**
(22) Дата подання заявки: **08.04.2019**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **11.11.2019**
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **11.11.2019, Бюл. № 21**

(72) Винахідники:
Ель Кайал Вассім, LB,
Залевський Сергій
Вікторович, UA,
Абу Шарк Амжад Ібрагім, UA,
Штриголь Сергій Юрійович,
UA,
Бур'ян Ганна Олександрівна,
UA,
Цивунін Вадим
Володимирович, UA,
Георгіянц Вікторія Акопівна,
UA,
Коваленко Сергій
Миколайович, UA

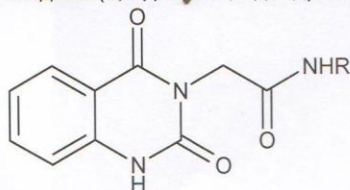
(73) Власник:
НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків,
61002, UA

(54) Назва корисної моделі:

ПОХІДНІ 2-(2,4-ДІОКСО-1,4-ДИГІДРО-2Н-ХІНАЗОЛІН-3-ІЛ)-АЦЕТАМІДУ, ЩО МАЮТЬ
ПРОТИСУДОМНУ ДІЮ

(57) Формула корисної моделі:

Похідні 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду, що виявляють протисудомну активність:



де R=Pr, Ph, Bn(2,5-диCl), PhPr.

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії та медицини.
 Як найближчий аналог обрано відомий засіб - вальпроат натрію.
 Вальпроат (VPA) у вигляді вальпроєвої кислоти та її відповідних натрієвих солей використовується для лікування епілепсій, біполярних розладів та деяких інших психічних захворювань, мігрені [10].

5 Антиепілептична дія VPA пов'язана з підвищенням гальмівної активності гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) через збільшення її синтезу і зменшення деградації шляхом інгібування ГАМК-трансферази та підвищення вмісту тормозного медіатора - ГАМК - у нейронах головного мозку. VPA зменшує збудливість та судомну готовність моторних зон головного мозку. Відомо, що в зоні судомного вогнища нейрони пошкоджуються, але при введенні VPA до нападу або відразу після нього частка загиблих клітин набагато знижується, і постачання клітин поживними речовинами посилюється. Зокрема, така дія спостерігається в гіпокампі - частині мозку, відповідальної за формування пам'яті і орієнтування в просторі [4, 7, 8, 13].

10 Однак лікування VPA чинить і безпосередній негативний вплив на організм хворого на епілепсію, причому що вище доза препарату, то більше виявляється порушень. Найчастіші прояви побічної дії - збільшення маси тіла, метаболічні ускладнення, зменшення тривалості нічного сну, панкреатит, гостра печінкова недостатність, коагулопатія, реакції гіперчутливості, енцефалопатія, емоційні розлади, депресія, порушення функціонування ендокринної та репродуктивної систем. Останнє особливо виразно виявляється у жінок, у яких спостерігається синдром полікістозу яєчників, порушення фармакокінетики пероральних контрацептивів, порушення менструального циклу [9].

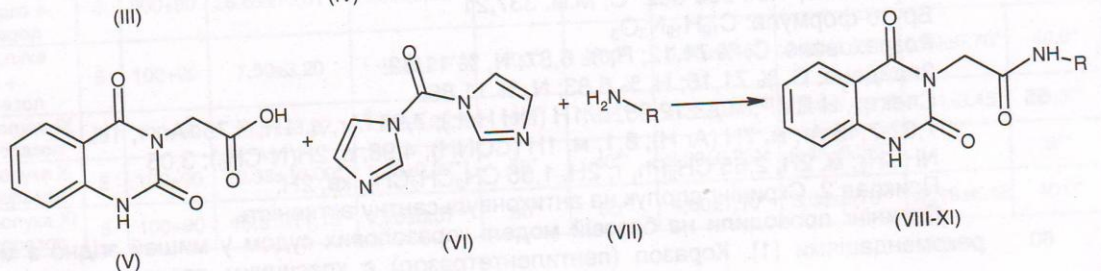
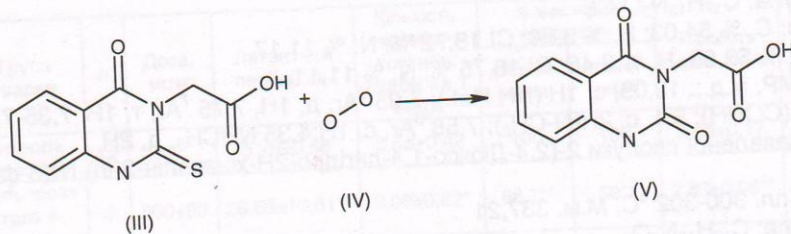
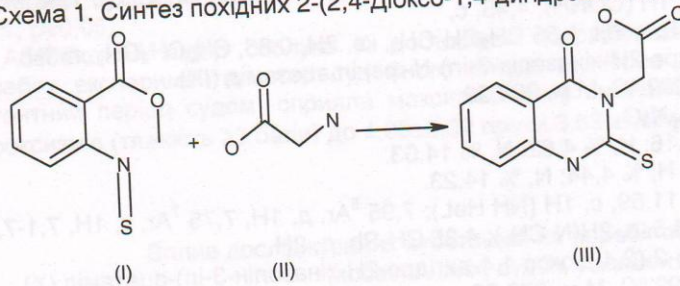
15 Крім того, VPA ускладнює процес імплантації ембріона на початкових стадіях вагітності, знижуючи експресію необхідних для цього білків (ламініну, колагену-IV та віментину) [12].
 І саме VPA є найнебезпечнішим препаратом для вагітних жінок, оскільки легко проникає через плацентарний бар'єр і викликає значну кількість необоротних змін зародка [11].

20 В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з протисудомною дією.

Задача вирішується тим, що як нові біологічно активні сполуки запропоновано похідні 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду.

30 Корисна модель ілюструється такими прикладами:

Сполуки, що заявляються, були одержані за схемою 1.
 Схема 1. Синтез похідних 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду.



де R=Pr (VIII), Ph(IX), Bn(2,5-диCl)(X), PhPr (XI).

Приклад 1. Одержання заявлених сполук - похідних 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-N-пропіл ацетаміду (загальна методика).

В суміші 150 мл води і 14 мл (0,1 моль) триетиламіну розчиняють 7,5 г (0,1 моль) гліцину.
5 Отриманий розчин додають при перемішуванні до теплого розчину 19,2 м (0,1 моль) метилового естеру 2-ізотіоціанатобензойної кислоти в 200 мл ізопропанолу. Розчин кип'ятять протягом 30 хвилин і підкисляють соляною кислотою (10-12,5мл) до pH=2. Залишають на 12 годин при кімнатній температурі. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою і кип'ятять при перемішуванні в 200 мл ацетону. Після охолодження осад відфільтровують і промивають 2 рази
10 по 20 мл ацетону.

До розчину 12 г (0,3 моль) NaOH в 400 мл води при 50 °С і перемішуванні додають 3-феніл-2-тіоксохіназолін-4-он (25,4 г, 0,1 моль). Потім при інтенсивному перемішуванні при 50 °С обережно (по краплях або невеликими порціями 5 мл) додають перекис водню (35мл 50 % (1 моль), розбавлений 1: 1 водою), з такою швидкістю, щоб температура не перевищувала 70 °С
15 (при більшій температурі реакція перебігає дуже бурхливо, а також починає розкладатись перекис водню). Реакційну суміш перемішують при 70 °С протягом 30 хвилин. Після охолодження до кімнатної температури додають 9 мл оцтової кислоти. Отриманий осад фільтрують, промивають 100 мл води, перекристалізують із суміші 50 мл ДМФА і 200 мл етанолу.

До суспензії (0,1 моль) карбонової кислоти в 200 мл безводного діоксану додають (0,12 моль) карбонілдіімідазол. Суміш кип'ятять протягом 2-4 годин, контролюючи перебіг реакції за допомогою ТШХ (елюент - етилацетат-гексан 1: 2). Після завершення реакції додають (0,12 моль) відповідного аміну та кип'ятять ще 2 години, контролюючи перебіг реакції за допомогою ТШХ (елюент - етилацетат-гексан 1: 2). Після охолодження розбавляють 500 мл води.
25 Наступного дня відфільтровують осад, що випав, промивають 50 мл ізопропанолу і перекристалізують (за необхідності) із суміші 50 мл ДМФА та 200 ізопропанолу.

2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолш-3-іл)-N-пропіл ацетамід (VIII).

Вихід 82 %, Т. пл. 312-314 °С, М.м. 261,28

Бруто-формула: $C_{13}H_{15}N_3O_3$

Розраховано: С, % 59,46; Н, % 5,65; N, % 16,03.

Знайдено: С, % 59,76; Н, % 5,79; N, % 16,08.

Спектр 1H ЯМР, δ , м.д. (ДМСО D_6): 11,45, с, 1H (NH Het); 7,9 5Ar , д, 1H, 7,63 7Ar , т, 1H, 7,18-7,2 Ar, м, 2H (Ar H); 8,1, т, 1H (CONH); 4,43, с,
35 2H(N-CH₂); 2,85 NHCH₂, т, 2H, 1,35 CH₂CH₂CH₃, кв, 2H, 0,85, CH₂CH₂CH₃, т, 3H.

2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-N-феніл ацетамід (IX).

Вихід 82 %, Тпл. 280-282 °С, М.м. 295,30

Бруто-формула: $C_{16}H_{13}N_3O_3$

Розраховано: С, % 65,16; Н, % 4,62; N, % 14,03.

Знайдено: С, % 65,08; Н, % 4,44; N, % 14,23.

Спектр 1H ЯМР, м.д.: 11,59, с, 1H (NH Het.); 7,95 5Ar , д, 1H, 7,75 7Ar , т, 1H, 7,1-7,35 Ar, м, 7H (Ar H); 8,6, т, 1H (CONH); 4,5, с, 2H(N-CH₂); 4,25 CH₂Ph, д, 2H.

N-(2,4-Дихлоробензил)-2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетамід (X).

Вихід 84 %, Тпл. 290-292 °С, М.м. 378,22

Бруто-формула: $C_{17}H_{13}N_3O_3Cl_2$

Розраховано: С, % 54,03; Н, % 3,50; Cl 18,72 %; N, % 11,17.

Знайдено: С, % 53,99; Н, % 3,46; Cl 18,75 %; N, % 11,11.

Спектр 1H ЯМР, м.д.: 13,05, с, 1H (NH Het.); 7,95 5Ar , д, 1H, 7,75 7Ar , т, 1H, 7,35-7,45 Ar, м, 3H (Ar H); 8,6, т, 1H (CONH); 5,1, с, 2H(N-CH₂); 7,58 3Ar , с, 1H; 4,35 NHCH₂, д, 2H.

Одержання заявленої сполуки 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-N-(3-фенілпропіл)-ацетамід (XI).

Вихід 86 %, Тпл. 300-302 °С, М.м. 337,21

Бруто-формула: $C_{19}H_{19}N_3O_3$

Розраховано: С, % 71,12; Н, % 6,87; N, % 11,82.

Знайдено: С, % 71,16; Н, % 6,83; N, % 11,86.

Спектр 1H ЯМР, м.д.: 12,95, с, 1H (NH Het.); 7,95 5Ar , д, 1H, 7,75 7Ar , т, 1H, 7,32-7,45 Ar, м, 7H (Ar H); 8,1, м, 1H (CONH); 4,98, с, 2H(N-CH₂); 3,05 NHCH₂, м, 2H, 2,65 CH₂Ph, т, 2H, 1,65 CH₂CH₂CH₂, кв, 2H.

Приклад 2. Скринінг сполук на антиконвульсантну активність.

Скринінг проводили на базовій моделі коразолових судом у мишей згідно з методичними рекомендаціями [1]. Коразол (пентилентетразол) є класичним проконвульсантом, дія якого
60

зумовлена пригніченням ГАМК_A-сайту бензодіазепінового рецепторного комплексу та зниженням інтенсивності ГАМК-ергічних гальмівних процесів у ЦНС.

Використано 42 білі статевозрілі нелінійні миші обох статей масою 18-25 г. Тварин утримували в умовах віварію ЦНДЛ НФаУ відповідно до санітарно-гігієнічних норм та принципів Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Мишей розподілили методом випадкового вибору на 6 груп, кожна з яких складала тварини обох статей: (1) контроль (n=12) - модель судом, індукованих коразолом (пентилентетразол, "Sigma", США) у дозі 90 мг/кг підшкірно у вигляді водного розчину [2]; (2) група референс-препарату (n=6) - вальпроат натрію ("Депакін", Sanofi-Aventis, Франція) у дозі 300 мг/кг внутрішньшлунково за 30 хв. до введення коразолу; (3-6) групи піддослідних тварин (n=5-9), яким вводили досліджувані сполуки в дозі 100 мг/кг кризь зонд у шлунок у вигляді суспензії у твіні - 80 за 30 хв. перед ін'єкцією коразолу. Спостереження тривало 60 хв. Реєстрували тривалість латентного періоду судом, кількість клінічних та тонічних пароксизмів, розраховували % тварин із клонічними та тонічними судомами, визначали тривалість судомного періоду (від першого до останнього нападу) та час життя тварин до загибелі (у мишей з летальним наслідком). Тяжкість судом оцінювали в балах за такою шкалою: 1 - здригання, 2 - манежний біг, 3 - клонічні напади, 4 - клоніко-тонічні судоми з бічним положенням, 5 - тонічна екстензія, 6 - тонічна екстензія із загибеллю тварини [5].

Для статистичної обробки використано програму "STATISTICA 8.0" for Windows. Статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за параметричним t-критерієм Стьюдента за нормального розподілу та непараметричним U-критерієм Манна-Вітні за його відсутності. Кількісні дані наведено як середня та її стандартна помилка, а у випадку обліку результатів в альтернативній формі (летальність) - як % спостережуваного ефекту в групі. В останньому випадку для визначення статистичної значущості використовували кутове перетворення Фішера. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Аналіз результатів (Таблиця 1) свідчить, що всі 4 досліджувані сполуки спричинили статистично значущий протисудомний ефект за критерієм інтегрального захисного показника - зменшення летальності порівняно з контролем. Їх можна вважати вискоєфективними антиконвульсантами. Це абсолютний лідер сполука X, яка забезпечила повний захисний ефект (летальність 0 % проти 91,7 % у контролі, $p < 0,01$) та не поступалась еталонному антиконвульсантаму препарату вальпроату натрію за жодним показником позитивного впливу на перебіг судом, а також сполуки IX (летальність 33,3 %, $p < 0,05$), VIII та XI (летальність по 40 %, $p < 0,05$).

Абсолютний лідер сполука X достовірно покращувала всі без виключення показники перебігу експериментального судомного синдрому. Вона у 3,5 разу ($p < 0,05$) подовжувала латентний період судом, сприяла максимальному зменшенню кількості клонічних і тонічних пароксизмів (тяжкість ≥ 3 бали) до $1,00 \pm 0,32$ проти $3,58 \pm 0,42$ у контролі ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Вплив досліджуваних субстанцій на перебіг пентилентетразолових (кооазолових) судом у мишей ($M \pm m$)

Група тварин	n	Доза, мг/кг	Латентний період, хв.	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	% мишей із судомами		Тяжкість судом, бали	Тривалість судомного періоду, хв.	Час життя тварин до загибелі, хв.	Летальність, %
					клонічними	тонічними				
Контроль (коразол)	12	90	5,79±0,58	3,58±0,42	100	100	5,83±0,17	12,00±1,34	17,45±1,85	91,7
Вальпроат натрію + коразол	6	300+90	26,65±10,61**	2,00±0,82*	66,7**	50**	2,83±0,98**	7,64±3,62	20,90	16,7**
Сполука VIII + коразол	5	100+90	7,50±3,20	1,40±0,24**	100*	100*	5,00±0,45*	2,20±1,26**	6,89±0,70*	40,0*
Сполука IX + коразол	9	100+90	10,57±3,32	1,22±0,22**	100**	55,5**	4,22±0,46**	1,24±1,06**	7,14±3,45*	33,3**
Сполука X + коразол	5	100+90	20,38±10,00*	1,00±0,32**	80*	40**	2,80±0,73**	0,45±0,38**	-	0**
Сполука XI + коразол	5	100+90	15,51±11,13	1,20±0,37**	80*	80*	4,00±1,10*	3,05±2,76**	12,16±6,42	40,0*

Примітки. Статистично значущі відмінності:

1. З показниками контролю: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$;

2. З показниками групи вальпроату натрію: # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$.

5 Приклад 3. Визначення гострої токсичності сполуки-лідера.

Для визначення гострої токсичності за експрес-методом Т.В. Пастушенко [2] сполуку-лідера (сполука X) вводили внутрішньошлунково мишам (по 3 тварини на кожну дозу) в широкому діапазоні доз (1000, 3000, 5000 мг/кг, що перевищують умовнотерапевтичну дозу відповідно у 10, 30 та 50 разів) однократно у вигляді суспензії з твіном-80. Об'єм суспензії становив 40 мл/кг, що відповідає 0,8 мл на мишу масою 20 г. За тваринами спостерігали протягом 14 діб, оцінюючи їх загальний стан і виживаність через 30 хв, 1 год., 3 год., 6 год., 12 год., 24 год., 7 діб та 14 діб.

10 При вивченні гострої токсичності середньосмертельну дозу (LD_{50}) сполуки X встановити не вдалося, оскільки введення будь-якої досліджуваної дози (у т.ч. максимальної дози 5000 мг/кг) не супроводжувалося загибеллю тварин протягом 14 діб. Оцінка загального стану тварин не виявила проявів інтоксикації, як-от бічне положення, блефароптоз, гіперсалівація, діарея тощо. Крім того, зберігалися нормальна координація рухів та тонус скелетних м'язів. При введенні досліджуваної сполуки у дозах 3000 та 5000 мг/кг через 30 хв та 1 год. виявлено тимчасове зменшення рухової активності мишей, що було обумовлено перевантаженням об'ємом уведеного розчину сполуки X.,

20 Отже, сполука X належить до V класу токсичності за класифікацією Hodge та Sterner [3, 6] - практично нетоксичні речовини ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Джерела інформації:

1. Головенко М.Я. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів: Метод, рекомендації /М.Я.Головенко, Л.О. Громов. - К.: Авіценна, 2003. - 26 с, 25 Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая /Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильева [и др.] - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.,

2. Пастушенко Т.В. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ /Т.В. Пастушенко, П.Б. Маруший, А.А. Жуков //Гигиена и санитария. - 1985. - № 6. - С. 46-49. 30

3. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О.В. Стефанов. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.

4. Фармацевтична енциклопедія /Голова ред. Ради та автор передмови В.П. Черних. - 3-тє вид., переробл. і доповн. - К.: "МОПІОН", 2016. - 1952 с

35 5. Штрыголь С.Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах: Монография /С.Ю. Штрыголь. - Х.: Авіста-ВЛТ. - 2007. - С 360.

6. Hodge H.C. Tabulation of toxicity classes /H.C. Hodge, L.H. Sterner //Am. Industr. Hyg. Ass. Quart. - 1943. - Vol. 10, № 4. - P. 93

7. Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology /Katzung B.G., Masters S.B., Trevor A.J. 12 ed. 40 New York: McGraw Hill Lange, 2012. - 1229 p.

8. Kwan SY. The role of intravenous valproate in convulsive status epilepticus in the future //Acta Neurol. Taiwan, 2010. - № 19(2). - P.78-81.

9. Molecular and Therapeutic Potential and Toxicity of Valproic Acid /[Chateau-vieux S., Morceau F., Dicato M., Diederich M.] //Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010. - № 3. - P. 1-18.

45 10. Patsalos P.N. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs by use of saliva /Patsalos P.N., Berry D.J. //Ther. Drug Monit, 2013. - № 35(1). - P.4-29.

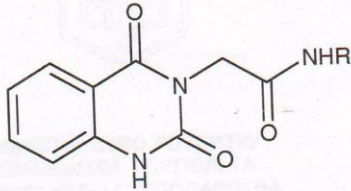
11. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism /[Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ, Schendel D and oth.] //JAMA, 2013. - № 309 (16). - P. 1696-1703.

50 12. The effect of valproic acid and oxcarbazepine on the distribution of adhesion molecules in embryo implantation / [Seren S.G., Erdoğan D., Coskun Z.K., Cansu A.] //Toxicology, 2012. - № 292. - P.71-77.

55 13. Therapeutic window of opportunity for the neuroprotective effect of valproate versus the competitive AMPA receptor antagonist NS1209 following status epilepticus in rats / [Langer M., Brandt C, Zellinger C, Löscher W.] //Neuropharmacology, 2011.- №.61-P.1033-1047.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Похідні 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду, що виявляють протисудомну активність:



5 де R=Pr, Ph, Bn(2,5-диCl), PhPr.

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки	UA 137806 U	(72) Автор(и)	Л. Ціхановська
(22) Дата подання заявки	08.09.2013	(73) Заявник(и)	ДП "Український інститут інтелектуальної власності"
(24) Дата опублікування	15.02.2014	(74) Адреса місця виконання роботи	вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601
(30) Пріоритет(и)		(75) Адреса місця вчинення роботи	вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601
(51) Міжнародний класифікаційний код	C07D 253/00	(76) Адреса місця вчинення роботи	вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601
	C12P 3/702		
	A61P 25/00 (2006.01)		

Короткий опис: Похідні 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду, що виявляють протисудомну активність.

Детальний опис: Похідні 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2Н-хіназолін-3-іл)-ацетаміду, що виявляють протисудомну активність. Різними варіантами R можуть бути: Pr, Ph, Bn(2,5-диCl), PhPr.



Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська
 Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
 вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна
 ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601