



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **137222** (13) **U**
(51) МПК
C07D 487/04 (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

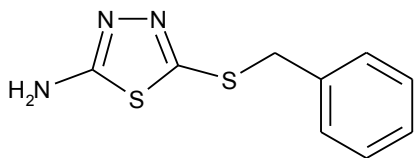
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2019 03404</p> <p>(22) Дата подання заявки: 04.04.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2019, Бюл.№ 19</p>	<p>(72) Винахідник(и): Драпак Ірина Володимирівна (UA), Зіменковський Борис Семенович (UA), Піняжко Олег Романович (UA), Перехода Ліна Олексіївна (UA), Голота Сергій Миколайович (UA), Нектегаєв Ігор Олексійович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)</p>
--	--

(54) 5-БЕНЗИЛСУЛЬФАНІЛ-1,3,4-ТІАДІАЗОЛ-2-ІЛАМІН, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ДІУРЕТИЧНУ ДІЮ

(57) Реферат:

5-Бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламін загальної формули:

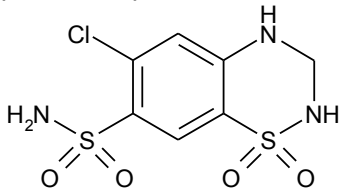


що проявляє діуретичну дію.

UA 137222 U

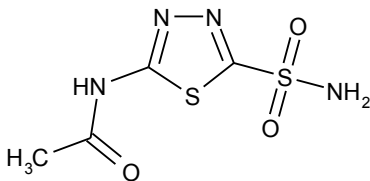
Корисна модель належить до органічної, фармацевтичної хімії та медицини, а саме до одержання біологічно активної сполуки, яка проявляє діуретичну дію та може бути використана як діуретичний лікарський засіб.

5 Як аналог за фармакологічною дією нами вибраний лікарський засіб гідрохлоротіазид - 6-хлор-3,4-дигідро-2Н-1,2,4-бензотіадіазин-7-сульфонамід-1,1-діоксид:



Гідрохлоротіазид належить до групи тіазидних діуретиків. Механізм дії препарату полягає у пригніченні реабсорбції іонів натрію та хлору, а також води, у кортикальному сегменті петлі Генле та в початковій частині дистальних канальців нирок, що призводить до збільшення виведення іонів натрію, хлору та води із організму [Brater D.C. Pharmacology of diuretics. Am J Med Sci. 2000; 319:38-50]. При застосуванні гідрохлоротіазиду найчастішими побічними ефектами є гіпокаліємія, гіпомagneмія, порушення толерантності до глюкози, а у хворих цукровим діабетом - погіршення перебігу захворювання аж до розвитку гіперосмолярної коми, підвищення рівня у крові холестерину та тригліцеридів, імпотенція, підвищення рівня сечової кислоти у крові [Радченко О.М. Побічні ефекти діуретичної терапії та шляхи їх подолання. Рациональная фармакотерапия. 2016. - 3 (40). - 5-10].

Як найближчий аналог за фармакологічною дією та хімічною структурою нами вибраний лікарський засіб ацетозоламід - N-[5-(аміносульфоніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]ацетамід:

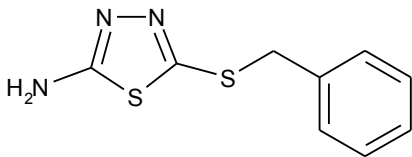


Механізм дії ацетозоламідум зумовлений вибірково пригніченням карбоангідрази - ферменту, що каталізує оборотну реакцію гідратації діоксиду карбону і подальшу дисоціацію карбонатної кислоти. Діуретичний ефект зумовлений пригніченням активності карбоангідрази у нирках (головним чином у проксимальних ниркових канальцях), що викликає зниження реабсорбції бікарбонату, іонів натрію і калію, підсилення діурезу, підвищення рН сечі [Brater D.C. Pharmacology of diuretics. Am J Med Sci. - 2000. - 319. - 38-50]. Однак при застосуванні ацетозоламідум спостерігаються небажані побічні ефекти: реакції гіперчутливості, включаючи анафілактичні реакції, порушення слуху/шум у вухах, порушення смакових відчуттів, депресія, сплутаність свідомості, атаксія, дезорієнтація, сонливість, порушення чутливості, периферичний параліч, анорексія, нудота, блювання, діарея, зміни показників функції печінки, метаболічний ацидоз, порушення електролітного балансу, ниркова недостатність, нефролітіаз, анемія, лейкопенія, агранулоцитоз, тромбоцитопенія, панцитопенія, гематурія, глюкозурія, поліурія [Радченко О.М. Побічні ефекти діуретичної терапії та шляхи їх подолання. Рациональная фармакотерапия. - 2016. - 3 (40). - 5-10].

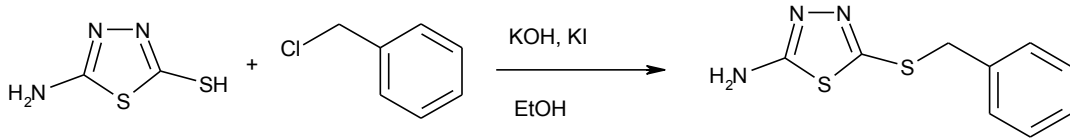
Тому, пошук нових, синтетичних, більш ефективних діуретичних засобів є надзвичайно актуальним.

В основу корисної моделі поставлено задачу пошуку нової речовини, що має високу діуретичну активність.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу нової хімічної сполуки -5-бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламіну загальної формули:



40 що проявляє діуретичну дію.
Заявлену сполуку одержують за схемою:



Синтез 5-бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламіну. До суспензії 0,004 моль 2-аміно-5-меркапто-1,3,4-тіадіазолу в 10 мл етанолу додають еквівалентну кількість KOH в 2-3 мл етанолу і до утвореного розчину калійної солі вносять 0,0044 моль бензилхлориду, декілька кристалів KI та кип'яють під зворотнім холодильником протягом 2 год. Вміст колби охолоджують, продукт реакції відфільтровують, промивають послідовно етанолом, водою, знову етанолом, висушують і перекристалізують із етанолу. Одержують світло-бежевий кристалічний порошок, нерозчинний у воді, частково розчинний у ДМФА та ДМСО. з Т. пл. 277-278 °С, вихід - 72 %.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема ПМР-спектроскопія та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Знайдено, %: N 19,03; S 28,94. C₉H₉N₃S₂.

Вирахувано, %: N 18,82; S 28,72.

ЯМР ¹H, δ, м. ч.: 4,30 с (2H, SCH₂); 7,27-7,36 м (7H, C₆H₅, NH₂).

Дослідження діуретичної дії 5-бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламіну проведено *in vivo* на білих лабораторних нелінійних щурах масою 170-190 г за методом Є.Б. Берхіна [Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек. Хим. фарм. журн. - 1977. - Т 11, № 5. - С. 3-11]. Експериментальних тварин утримували у стандартних умовах віварію, згідно з санітарно-гігієнічними нормами, на стандартному раціоні та стандартизованих за фізіологічними та біохімічними показниками. При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходилися у звичайних умовах, згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових досліджень [Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) за редакцією член-кор. АМН України О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. - 528 с. (С. 84-90)]. Експериментальні тварини були поділені на 4 групи по 6 тварин в кожній (n=6). Тварини першої групи слугували інтактним контролем і отримували розчинник - воду дистильовану. Тварини другої та третьої групи отримували стандартні діуретики - гідрохлортіазид та ацетазоламід відповідно, які вводили внутрішньошлунково в дозах 25 мг/кг. Тваринам четвертої групи вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда досліджувану речовину в дозі 50 мг/кг. Попередньо тестовану сполуку суспендували з дистильованою водою та вводили з розрахунку 10 мл/кг. Для всіх груп експериментальних тварин було проведено водне навантаження. Питну воду об'ємом 5 % від маси тіла вводили в шлунок за допомогою металевого зонда. Проби сечі у тварин збирали протягом 24 год. (сечу, зібрану за перші 20 хв., відкидали). В отриманих зразках сечі досліджували показники загального аналізу сечі, діуретичну активність та екскрецію електролітів (Na⁺, K⁺ і Cl⁻). Загальний аналіз сечі проводили з використанням тесту CITOLAB 11 (Pharmasco Ltd., Україна) та аналізатора CITOLABREADER 300 (Pharmasco Ltd., Україна). Іони натрію, калію та хлору визначали за допомогою іонселективного електродного аналізу (непрямий метод) з використанням аналізатора EASYLYTEPLUSNa/K/Cl (Medica, США). При необхідності проводили розведення проб плазми та сечі для детекції вмісту електроліту, згідно з вимірювальним діапазоном аналізатора. Діуретичну дію досліджуваних речовин оцінювали за їх здатністю змінювати сечовиділення у дослідних групах у порівнянні з групою інтактного контролю і розраховували у перерахунку на 100 г маси тіла тварин; розрахунок проводили за формулою:

$$V_{\text{відн}} = V_c / m_{\text{ТВ}} \times 100 \%,$$

де $V_{\text{відн}}$ - відносний об'єм сечі, мл/100 г;

V_c - об'єм сечі, що був виділений кожною твариною за проміжок часу, мл;

$m_{\text{ТВ}}$ - маса тіла тварини, г.

Результати проведених експериментальних досліджень діуретичної дії *in vivo*, наведені в Табл. 1.

Таблиця 1

Відносний об'єм, показники загальноклінічного аналізу та рівнів електролітів в сечі білих щурів при внутрішньошлунковому введенні шурам досліджуваної сполуки (M±m, n=6)

Групи/Показники	Інтактний контроль	Гідрохлортіазид,	Ацетазоламід,	Сполука
V _{відн.} , мл/100 г/доба	3,47±0,53	5,32±0,59*	4,90±0,67	7,95±0,73 [#]
Питома вага	1015±5	1010±5	1010±5	1010±5
pH	6,9±0,3	7,2±0,2	8,1±0,3	8,5±0,3
Білок	N	N	N	N
Уробіліноген	N	N	N	N
Глюкоза	N	N	N	N
Білірубін	N	N	N	N
Кетони	N	N	N	N
Нітрити	N	N	N	N
Залишкова кров	N	N	N	N
Na ⁺ , ммоль/л	98,45±8,79	191,84±16,35*	203,52±29,38 [#]	179,44±14,89 [#]
K ⁺ , ммоль/л	54,12±5,03	105,27±11,41*	114,43±18,57*	91,18±8,30*
Cl ⁻ , ммоль/л	88,46±7,34	129,36±15,71*	134,58±21,60	103,25±14,91

Примітки: N - не виявлено; * - p<0,05; - p<0,001; - по відношенню до групи "інтактний контроль"

5 Заявлена сполука збільшувала добовий діурез у білих щурів, в 2,3 рази (p<0,001) в порівнянні з інтактним контролем, в порівнянні з гідрохлортіазидом - в 1,5 рази та ацетазоламідом - в 1,6 рази. При застосуванні досліджуваної сполуки основні показники загального аналізу сечі залишались на рівні здорових інтактних тварин. Однак, відмічалось зміщення рівня pH в слабколужну сторону - до 8,5 одиниць, що є характерним фармакокінетичним параметром для тіадіазольних діуретиків. Профіль іонограми сечі
10 експериментальних тварин при введенні тестованої сполуки характеризувався достовірним збільшенням виділення іонів Na⁺ (p<0,001) та K⁺ (p<0,05) та статистично недостовірним зростанням виведення іонів хлору. Рівень екскреції зазначених електролітів перевищував аналогічні показники в групі інтактного контролю, проте якісно і вигідно вирізнявся по відношенню до референс-препаратів, зокрема нижчим рівнем виведення іонів калію.

15 Гостру токсичність заявленої сполуки вивчали на білих безпородних мишах масою 20-22 г при внутрішньоочеревинному способі її введення. Для визначення гострої токсичності використовували показник середньої летальної дози LD₅₀. Розрахунок LD₅₀ проведено за методом Літчфілда та Уїлкоксона [Litchfield J.T., Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1949. - Vol. 96. - P. 99]. LD₅₀ досліджуваної
20 сполуки становить 450 мг/кг при внутрішньоочеревинному способі введення. За класифікацією Сидорова [Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парэнтеральном способе введения. Токсикология новых промышленных химических веществ. - М.: Медицина. 1973. - Вып. 13. - С. 47-51] заявлена речовина належить до IV класу токсичності - малотоксичні сполуки.

25 Гепатотоксичність заявленої сполуки досліджували шляхом оцінки біохімічних параметрів функціонального стану печінки. Для цього в плазмі крові тварин першої групи (інтактний контроль) та четвертої групи (досліджувана сполука) проводили визначення рівнів аланінамінотрансферази (АЛТ), аспаратамінотрансферази (АСТ), гама-глутамілтрансферази (γ-ГТП), загальної лужної фосфатази (ЛФ), вмісту загального білка та загально білірубину на автоматичному біохімічному аналізаторі CORMAYACCENT-200 з використанням відповідних реагентів (виробництва фірми CORMAY, Польща).

30 Аналіз отриманих результатів продемонстрував, що в зразках плазми експериментальних тварин не спостерігалось зміни активностей ферментних систем печінки та рівнів ключових метаболітів, в порівнянні до інтактних тварин, що є свідченням відсутності гепатотоксичних проявів при застосуванні досліджуваної сполуки (Табл. 2).
35

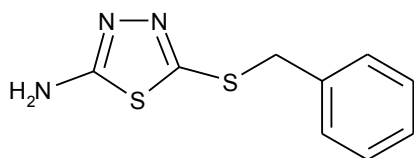
Біохімічні показники плазми крові білих щурів
при внутрішньошлунковому введенні щурам досліджуваної сполуки ($M \pm m$, $n=6$)

Групи/Показники	Інтактний контроль	Сполука
АЛТ, Од/л	71,3±8,0	72,1±4,5
АСТ, Од/л	164,5±17,3	161,8±14,7
ЛФ, Од/л	392,5±25,0	397,4±17,8
гама-ГТП, МО/л	4,0±0,5	3,9±0,3
Білірубін загальний, мг/л	5,1±1,1	5,2±0,8
Загальний білок, г/л	74,7±6,4	75,6±6,0

- 5 Таким чином, зазначені результати свідчать, що 5-бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламін проявляє діуретичну дію та є малотоксичною і негепатотоксичною сполукою. Це передбачає можливість створення на її основі нового діуретичного лікарського засобу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 5-Бензилсульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іламін загальної формули:



що проявляє діуретичну дію.

15

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

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