

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 123288

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

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

Зареєстровано в Державному реєстрі України винаходів 10.03.2021.

Генеральний директор
Державного підприємства
«Український інститут
інтелектуальної власності»

А.В. Кудін





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123288** (13) **C2**
(51) МПК
C07D 239/80 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: a 2019 03593</p> <p>(22) Дата подання заявки: 08.04.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 11.03.2021</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 12.10.2020, Бюл.№ 19</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 10.03.2021, Бюл.№ 10</p>	<p>(72) Винахідник(и):</p> <p>(73) Володілець (володільці): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2016/023826 A1, 18.02.2016 WO 2011/048150 A1, 28.04.2011 Mohamed-Kamal Ibrahim, Ashraf A. Abd-Elrahman, Rezk R.A. Ayyad. Design and synthesis of some novel 2-(3-methyl-2-oxoquinoxalin-1(2H)-yl)-N-(4-(substituted)phenyl)acetamide derivatives for biological evaluation as anticonvulsant agents. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University (2013) 51, 101–111 Тюренокв И. Н., Озеров А. А, Солодунова Е. А., Арчакова Ю. В., Шматова Е. Н., Сампиева К. Т. Синтез и анксиоседативные, антидепрессивные свойства анилидов α-[4-оксохиназолин-3(4H)-ил]карбоновых кислот. Химико-фармацевтический журнал. 2013. Том 47. №5 UA 95531 C2; 10.08.2011</p>
--	---

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

(57) Реферат:

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

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості.

В основу патенту на винахід 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.

UA 123288 C2

Патент на винахід належить до фармацевтичної хімії та медицини.

Як прототип за протисудомною дією вибрано відомий засіб - вальпроат натрію.

5 Вальпроат (VPA) у вигляді вальпроєвої кислоти та її відповідних натрієвих солей використовується для лікування епілепсій, біполярних розладів та деяких інших психічних захворювань, мігрені [10].

10 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

15 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, відповідальній за формування пам'яті і орієнтування в просторі [4, 7, 8, 13].
Однак, лікування VPA чинить і безпосередній негативний вплив на організм хворого на

20 епілепсію, причому чим вище доза препарату, то більше виявляється порушень. Найчастіші прояви побічної дії - збільшення маси тіла, метаболічні ускладнення, зменшення тривалості нічного сну, панкреатит, гостра печінкова недостатність, коагулопатії, реакції гіперчутливості, енцефалопатія, емоційні розлади, депресія, порушення функціонування ендокринної та репродуктивної систем. Останнє особливо виразно виявляється у жінок, у яких спостерігається

25 синдром полікістозу яєчників, порушення фармакокінетики пероральних контрацептивів, порушення менструального циклу [9].

Крім того, VPA ускладнює процес імплантації ембріона на початкових стадіях вагітності, знижуючи експресію необхідних для цього білків (ламініну, колагену-IV та віментину) [12].

30 І саме VPA є найнебезпечнішим препаратом для вагітних жінок, оскільки легко проникає через плацентарний бар'єр і викликає значну кількість необоротних змін зародка [11].

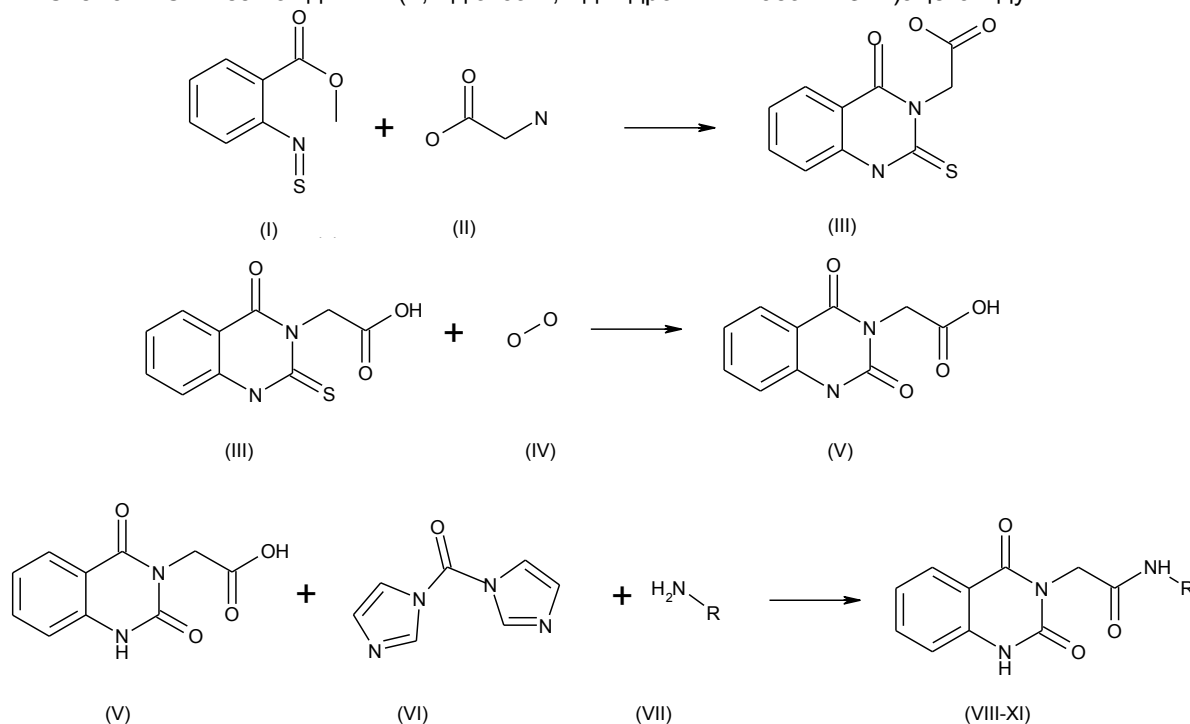
В основу патенту на винахід поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з протисудомною дією.

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

35 Винахід пояснюється 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).

35 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. Отриманий розчин додають при перемішуванні до теплого розчину 19,2 м (0,1 моль) метилового

естеру 2-ізоціанатобензойної кислоти в 200 мл ізопропанолу. Розчин кип'яють 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'яють при перемішуванні в 200 мл ацетону. Після охолодження осад відфільтровують і промивають 2 рази 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 (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) карбонілдімідазол. Суміш кип'яють 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'яють ще 2 години, контролюючи перебіг реакції за допомогою ТШХ (елюент-етилацетат-гексан 1: 2). Після охолодження розбавляють 500 мл води. 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-хіназолін-3-іл)-N-пропіл ацетамід (VIII).

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

брутто-формула: C₁₃H₁₅N₃O₃,

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 D₆): 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,

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,

брутто-формула: C₁₆H₁₃N₃O₃,

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,

брутто-формула: C₁₇H₁₃N₃O₃Cl₂,

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,

брутто-формула: C₁₉H₁₉N₃O₃,

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 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 внутрішньошлунково 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-Уїтні 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) свідчить, що всі 4 досліджувані сполуки спричинили статистично значущий протисудомний ефект за критерієм інтегрального захисного показника - зменшення летальності порівняно з контролем, їх можна вважати високоефективними 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 рази ($p < 0,05$) 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

Вплив досліджуваних субстанцій на перебіг пентилентетразолових (коразолових) судом у мишей (M±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: # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$.

35 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 умовно-терапевтичну 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.

5 При вивченні гострої токсичності середньосмертельну дозу (LD₅₀) 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, гіперсаливація, 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.

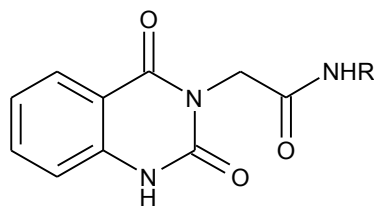
Отже, сполука X належить до V класу токсичності за класифікацією Hodge та Sterner [3, 6] - практично нетоксичні речовини (LD₅₀ > 5000 мг/кг).

Джерела інформації:

- 15 1. Головенко М.Я. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів: Метод, рекоменд. / М.Я.Головенко, Л.О. і Громов. - К.: Авіценна, 2003.-26 с, 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.
- 20 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.
3. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О. В. Стефанов. - К.: Авіцена, 2001.-528 с.
- 25 4. Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. Ради та автор передмови В.П. Черних.-3-те вид., переробл. і доповн. - К.: "МОРИОН", 2016.-1952 с
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
- 30 7. Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology / Katzung B.G., Masters S.B., Trevor A.J. 12 ed. 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.
- 35 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.
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, Granborg TK, Sorensen MJ, Schendel D and oth.] // JAMA, 2013. - № 309 (16). - P. 1696-1703. i
- 40 12. The effect of valproic acid and oxcarbazepine on the distribution of adhesion molecules in embryo implantation / [Seren S.G., Erdogan D., Cos.kun Z.K., Cansu A.] //Toxicology, 2012. - № 292.-P.71-77.
- 45 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, Zelling C, Loscher W.] // Neuropharmacology, 2011.-№.61-P. 1033-1047.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

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



де R=Pr, Ph, Bn(2,5-ди-Cl), PhPr.

