



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108689** (13) **C2**
(51) МПК

C07D 249/08 (2006.01)
C07D 249/12 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2013 10454**
(22) Дата подання заявки: **27.08.2013**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.05.2015**
(41) Публікація відомостей про заяву: **10.02.2014, Бюл.№ 3**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.05.2015, Бюл.№ 10**

(72) Винахідник(и):
Щербак Марина Олексіївна (UA),
Каплаушенко Андрій Григорович (UA),
Лук'яничук Віктор Дмитрович (UA)

(73) Власник(и):
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Щербак Марина Олексіївна,
вул. Республіканська, 185, кв. 81, м. Запоріжжя, 69067 (UA),
Каплаушенко Андрій Григорович,
вул. Зернова, 30, кв. 6, м. Запоріжжя, 69121 (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
STN International, File REGISTRY; RN 1351507-10-2 (21.12.2011)
PubChem CID 13976777 (08.02.2007)
UA 80686 U; 10.06.2013
UA 43771 U; 25.08.2009
US 5 498 720 A, 12.03.1996
WO 2005/097758 A1; 20.10.2005
WO 2013/063458 A2; 02.05.2013
Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 1998. - Том 2. - с.95-96
Противозапальна активність 5-R1-4-R2-1, 2, 4-триазол-3-тіонів та їх S-похідних; А.Г. Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, О.О. Свінтозельський, Б.А. Самура; Запорізький державний медичний університет, Національний фармацевтичний університет, Харків; Медична хімія (2008), 10 (4), сторінка 59-64
Syntesis of [(4,5-Disubstituted-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio]alkanoic Acids and Their Analogues as Possible Antiinflammatory Agents/ Kuangsen Sung, An-Rong Lee// Journal of Heterocyclic Chemistry. - 1992. - Vol.29. - № 5. - P. 1101-1109

(54) ЗАСТОСУВАННЯ 2-(4-АМІНО-5-(4-НІТРОФЕНІЛ)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ ЯК АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАСОБУ

(57) Реферат:

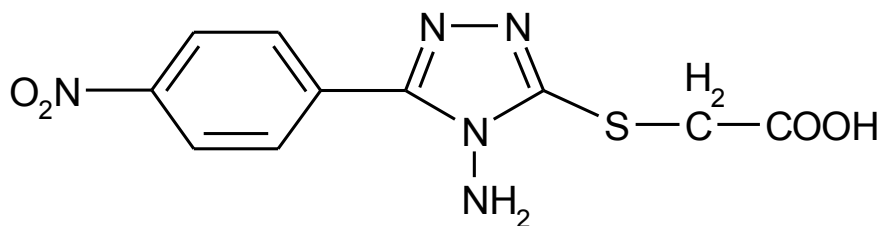
UA 108689 C2

Об'єкт винаходу: застосування 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти як антиоксидантного засобу.

Галузь застосування: фармація, медицина та ветеринарія.

Суть винаходу: 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу аміногрупу, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу містить нітрофенільний радикал, а також має в своєму складі карбоксильну групу та двовалентний атом сірки.

Технічний результат: здатність пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення, висока розчинність, стійкість при зберіганні, нескладна методика отримання, доступність реактивів для синтезу.

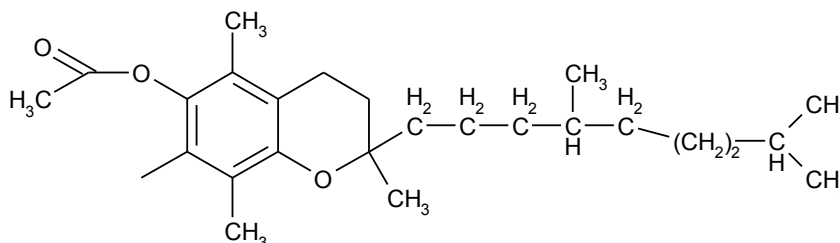


Винахід стосується фармації, медицини та ветеринарії та може бути використаний у створенні нових біологічно активних сполук, а також оригінальних лікарських засобів у ряді похідних 1,2,4-триазолу, і застосований у промисловості для збільшення термінів зберігання різноманітних речовин, які окиснюються, та в медичній практиці для лікування ВРО-зумовленої патології (ішемічна хвороба серця, цукровий діабет, ожиріння, тощо).

Основними показаннями до застосування антиоксидантів є надмірно активовані процеси вільнорадикального окислення, які супроводжують різну патологію. Найактивнішими антиоксидантами є вітаміни А, С, Е, селен, рутин, кверцетин. Але за останні декілька десятиліть вміст вітамінів та мікроелементів у продуктах знизився, а застосування вітамінів може призвести до їх кумуляції в тканинах організму (вітаміни А і Е), що викликає діарею. Слід зазначити, що для отримання вираженого антиоксидантного ефекту необхідне довготривале застосування вищевказаних засобів в кількостях, які перевищують середні терапевтичні дози, що приводить до гіпервітамінозу, а також викликає алергічні реакції.

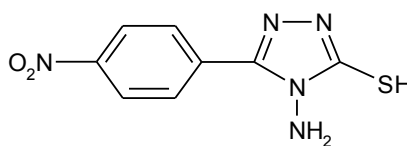
Синтетичні антиоксиданти з одразу декількома антиокислювальними центрами в одній молекулі, у порівнянні з вітамінами і флаваноїдами, мають у два, три, чотири рази сильніший антиоксидантний ефект. Антиоксидантні властивості таких речовин набагато сильніші. У природі подібних аналогів просто не існує.

Найбільш близьким аналогом речовини, що заявляється, по фармакологічному ефекту є токоферолу ацетат (вітамін Е), що має високу антиоксидантну активність [Машковський М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 1998. - Т. 2. - 592 с. (С. 95-96)], він широко застосовується в медичній практиці і має формулу:



Дана речовина хоча і має антиоксидантну дію, однак її величина недостатньо висока. Крім того, даний препарат обмежено застосовують для лікування осіб, хворих на тяжкий кардіосклероз чи інфаркт міокарду.

Прототипом для речовини, що заявляється, є 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіон, що виявляє антиоксидантну активність [Пат. України № 80686; Заявл. 10.12.2012; Опубл. 10.06.2013, Бюл. № 11] і має формулу:



Суттєві ознаки прототипу і винаходу, що збігаються, є такі:

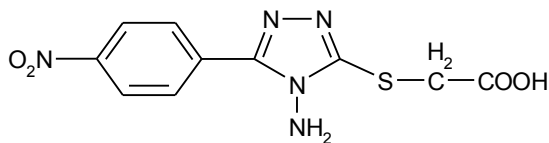
- наявність в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу нітрофенільного радикалу;
- наявність аміногрупи при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу;
- молекули даних речовин містять у складі двовалентний атом сірки;
- молекули даних речовин містять атоми вуглецю, що мають ступінь окиснення -3, -2 і -1.

Але прототип у порівнянні зі сполукою, що заявляється, менш активно пригнічує процеси вільнорадикального окиснення. Таким чином, прототип відповідно має менші показники антиоксидантної активності. Крім того, прототип менш розчинний у воді, потребує зберігання в особливих умовах (темному місці, через наявність вільної сульфгідрильної групи), здатний до розкладання.

В основу винаходу поставлено задачу створення нових біологічно активних сполук, що можуть знайти своє застосування як оригінальні лікарські засоби в ряду 1,2,4-триазолу і проявляють антиоксидантну активність, значно вищу за показники вже відомих антиоксидантних препаратів.

Поставлена задача вирішується тим, що 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатна кислота містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу аміногрупу, в положенні 5 ядра

1,2,4-триазолу містить нітрофенільний радикал, а також має в своєму складі карбоксильну групу та двовалентний атом сірки і має формулу:



5

Сполуку, що заявляється, отримують взаємодією 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіону з кислотою монохлороцтовою у середовищі диметилформаміду та з додаванням еквімолекулярної кількості натрію гідроксиду при температурі 100-105 °С.

Приклад

10 В літрову колбу, обладнану змішувачем, холодильником, термометром завантажують 23,7 г (0,1 моль) 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіону, 50 мл диметилформаміду, нагрівають до розчинення. В другій колбі розчиняють 9,45 г (0,1 моль) монохлороцтової кислоти у 20 мл диметилформаміду і переносять у першу, додають розчин 4 г (0,1 моль) натрію гідроксиду у 10 мл води. Суміш при постійному перемішуванні нагрівають до 100 °С, витримують 5 годин (при 15 100-105 °С), охолоджують. Осад відфільтровують, фільтрат упарюють. Вихід складає 25,7 г (87 % в розрахунку на 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіон). Коричнева кристалічна речовина з Тпл. 126-128 °С мало розчинна у воді, розчинна в органічних розчинниках. Для аналізу сполуку перекристалізовано із суміші диметилформамід-вода 5:1.

Знайдено, %: С - 40,74, Н - 3,09, N-23,68, S-10,85. C₁₀H₉N₅O₄S.

20 Вираховано, %: С - 40,68, Н - 3,07, N-23,72, S-10,86.

В ІЧ-спектрі сполуки, що заявляється, наявні смуги поглинання C-S-групи при 664 см⁻¹, симетричної NO₂-групи при 1370 см⁻¹, асиметричної NO₂-групи при 1505 см⁻¹, ароматичної групи при 1600 см⁻¹, смуги коливання NH₂-групи при 3560 см⁻¹, а при 1697 см⁻¹ наявна смуга поглинання, що характерна для аліфатичних кислот, які містять групу -CH₂-COOH.

25 Кількісне визначення сполуки, що заявляється, проводили спектрофотометричним методом. Методика проведення експерименту: 2,50 мл 1 % (або 1,00 мл 2,5 %) розчину 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти вміщують в мірну колбу на 100,0 мл, доводять водою дистильованою до позначки, перемішують. 2,00 мл одержаного розчину вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять водою дистильованою до позначки, 30 перемішують. Вимірюють оптичну густину при 275 нм на фоні компенсаційного розчину (води дистильованої). Визначення проводять методом стандарту. Як розчин порівняння використовували 2,00 мл 0,025 % розчину морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-ацетату. Розрахунок відсоткового вмісту проводять за формулою:

$$C_{\%} = \frac{A \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 25}{A_0 \cdot p \cdot 2 \cdot l},$$

35

де

A - оптична густина досліджуваного розчину,

A₀ - оптична густина розчину порівняння,

C₀ - концентрація розчину порівняння (0,002 г/100 мл),

p - наважка, мл,

40

l - товщина шару, см.

Розчинність сполуки, що заявляється, проводили згідно ДФУ п. 1.4. Згідно з даною класифікацією 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатна кислота належить до легкорозчинних, а 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіон - до розчинних.

45 Дослідження антиоксидантної активності сполуки, що заявляється, проводили in vitro методом неферментативного ініціювання вільнорадикального окислення, яку оцінювали за концентрацією ТБК-реактивів (ТБК - тіобарбітурова кислота).

Реактиви та їх приготування:

а) суспензія яєчних ліпопротеїдів - до 1 яєчного жовтка додають 1 л фосфатного буферного розчину з рН 7,4 (визначають за допомогою рН-метру);

50 б) 20 % розчин трихлоретанової кислоти - 20 г трихлоретанової кислоти розчиняють в 80 г води очищеної;

в) 0,8 % розчин тіобарбітурової кислоти - 800 мг тіобарбітурової кислоти поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять до мітки водою очищеною.

г) 10 % розчин ферум (II) сульфату - 10 г ферум (II) сульфату розчиняють в 90 мл води очищеної.

Хід проведення експерименту.

До 4 мл суспензії яєчних ліпопротеїдів додають 0,5 мл розчину сполук 1-9 в димексиді в концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 1 мл 10 % розчину ферум (II) сульфату. Суміш перемішують і витримують 1 годину при 37 °С в термостаті. До 1 мл суміші додають 1 мл 20 % розчину трихлоретанової кислоти і обертають в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Надосадну рідину змішують з 1 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти і поміщають на 1 годину в парову баню, після чого додають 4 мл бутанолу-1 і обертають в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Відбирають 2 мл верхнього бутанольного шару і вимірюють його оптичну густину при довжині хвилі 532 нм.

Контрольну пробу готували аналогічно, але без додавання досліджуваних сполук. В якості препарату порівняння використовували токоферолу ацетат, що вводили в аналогічних дозах.

Антиоксидантну активність розраховували за формулою:

$$AOA = \frac{E_{\text{контроль}} - E_{\text{дослід}}}{E_{\text{контроль}}} \cdot 100\%$$

де АОА - антиоксидантна активність, %

$E_{\text{контроль}}$ - оптична густина контрольного розчину;

$E_{\text{дослід}}$ - оптична густина розчину, що містив досліджувані сполуки (або токоферолу ацетат).

Результати антиоксидантної активності наведені в табл. 1.

Таблиця 1

№ з/п	Речовина	E	АОА, %
1	Контроль	0,110	-
2	2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетатна кислота (сполука 1)	0,014	95,1
3	5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіон (прототип)	0,012	89,1
4	Токоферолу ацетат (вітамін Е)	0,023	79,0

20

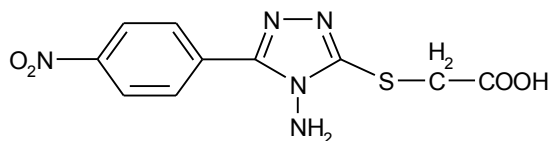
З результатів дослідження видно, що 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетатна кислота має більші показники антиоксидантної активності, а отже більш активно пригнічує процеси вільнорадикального окиснення. Крім того, сполука, що заявляється, легко розчинна у воді, на відміну від прототипу, та не потребує особливих умов зберігання. На основі цих результатів сполука, що заявляється, може бути рекомендована як винахід.

25

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетатної кислоти формули

30



як антиоксидантного засобу.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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