



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) A4 (11) 29710
(51) A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/4995 (2006.01)
A61K 47/40 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
C07D 471/08 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ИННОВАЦИОННОМУ ПАТЕНТУ

(21) 2014/0840.1

(22) 19.06.2014

(45) 15.04.2015, бюл. №4

(72) Пралиев Калдыбай Джайлович; Исакова Тыныштык Кадыровна; Малмакова Айгуль Ергбосыновна; Ибраева Сымбат Сериковна; Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна; Сейлханов Тулеген Муратович

(73) Акционерное общество "Институт химических наук им. А.Б. Бектурова"

(56) М.Д.Машковский, Лекарственные средства, М., Медицина, 1986, т.2, с.169-170

(54) **КОМПЛЕКС 3-(3-ЭТОКСИПРОПИЛ)-7-[2-(ПИПЕРАЗИН-1-ИЛ)ЭТИЛ]-3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОНАНА С β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ, ОБЛАДАЮЩИЙ МИЕЛОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ**

(57) Изобретение относится к области фармакологически активных веществ, конкретно к

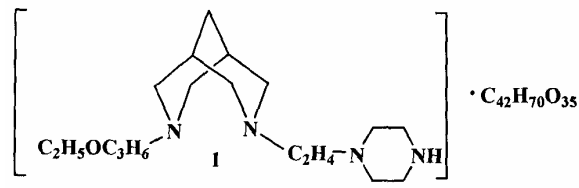
комплексу 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином (β -ЦД), обладающему миелостимулирующей активностью.

Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином предложено получать взаимодействием 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с эквимолярным количеством β -циклодекстрина.

Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином проявил себя как высокоактивное соединение, превышающее по активности эталонный препарат левамизол, к тому же он оказался менее токсичным в сравнении с ним.

(19) KZ (13) A4 (11) 29710

Изобретение относится к области фармакологически активных веществ, конкретно к комплексу 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином (β -ЦД)



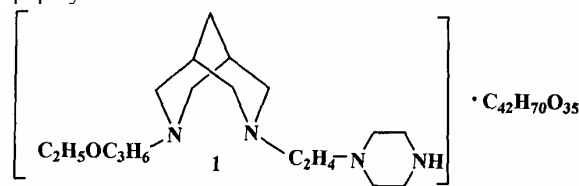
обладающему миелостимулирующей активностью.

Из используемых в настоящее время в качестве миелостимулирующих средств наиболее близким по применению к заявляемому средству является левамизол /М.Д.Машковский, Лекарственные средства, М., Медицина, 1986, т.2, с.169-170/. Недостатком применяемого препарата является его высокая токсичность.

Структурным аналогом заявленного соединения является оксалат 3-(2-этоксиэтил)-7-(2-морфолиноэтил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана, обладающий антибактериальным и местноанестезирующим действием (Предпатент РК №11198, бюл. №2, 2002).

Задача изобретения состоит в расширении ассортимента миелостимулирующих лекарственных средств. Технический результат изобретения - повышение активности и снижение токсичности.

Технический результат достигается комплексом 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином формулы 1:



обладающим миелостимулирующей активностью.

Для получения комплекса 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином (I) β -циклодекстрин и 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана

берутся в эквимольном соотношении. Полученный комплекс представляет собой аморфный порошок, плавящийся выше 240°C с разложением.

Пример 1

Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином (I). Для получения комплекса включения смешивают растворы 1,0 г (0,0031 моль) 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана (II) в 15 мл этилового спирта и 3,5 г (0,00309 моль) β -циклодекстрина в 50 мл дистиллированной воды. Смесь помещают в сушильный шкаф, выпаривают этанол и воду при 50-55°C. Получают 3,9 г (86,7% от теор.) комплекса включения 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином (II) в виде белого порошка, плавящегося с разложением выше 240°C.

Найдено, %: С 49,38; Н 7,27. $C_{60}H_{106}N_4O_{36}$.

Вычислено, %: С 49,21; Н 7,19.

Исследование биологической активности.

Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином под лабораторным шифром БИВ-82 изучен на миелостимулирующее действие и острую токсичность. Данные сопоставлялись с показателями левамизола. Результаты исследования представлены в таблицах 1,2.

Пример 2

Токсичность препарата

Для исследования острой токсичности группам животных (по 6-8 в каждой) вводили перорально исследуемое соединение в различных дозах и наблюдали за животными в течение 5 суток. У мышей регистрировали внешние признаки интоксикации, продолжительность токсического действия и время гибели животных. Для количественной оценки острой токсичности рассчитывали показатель LD_{50} (доза, вызвавшая гибель 50% исследуемых животных). Данные показатели сопоставлялись с аналогичными показателями левамизола. О степени токсичности препарата судили по показателю LD_{50} в опытной и контрольной группах животных.

Таблица 1

Показатели LD_{50} БИВ-82 и левамизола

Соединение	LD_{50} (мг/кг)
БИВ-82	667,8
левамизол	200,0

Как следует из таблицы 1, токсическая доза препарата БИВ-82 составила 667,8 мг/кг, что в 3,34 раза ниже токсичности левамизола, используемого в качестве стандарта.

Пример 3

Изучение миелостимулирующей активности

В исследовании использовали здоровых половозрелых животных - лабораторных крыс обоего пола, 10-15 недельного возраста, массой тела 210-280 г. Разброс в группах по исходной массе тела

не превышал $\pm 10\%$. Животные были получены одновременно из одного питомника - биологической клиники факультета биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби. До и в период эксперимента контрольные и опытные животные содержались в одинаковых стандартных условиях, на стандартном рационе, по 6 особей в клетке. Все виды экспериментов проводились с соблюдением хронобиологических принципов работы. Забор крови проводили из орбитальной вены крыс,

наркотизированных слабым эфирным наркозом в 09.00 часов утра. Анализ крови проводили на гематологическом анализаторе для лабораторных животных «Abacusjuniorvet» (пр-во Diatron, Дания).

Иммуносупрессию вызывали внутримышечным введением цитостатика циклофосфида натрия в дозе 30 мг/кг веса животного. Опытным группам животных соединения вводили в дозе 10 мг/мл (растворитель физиологический раствор), внутримышечно в объеме 0,5 мл ежедневно в течение 3 дней, спустя три дня после последнего введения определяли количество клеток в периферической крови. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили физиологический раствор. Препаратом сравнения являлся левамизол и пантогематоген (М.Д. Машковский, Лекарственные средства, М., Медицина, 1986, т.2, с.169-170).

Уже на 1-ые сутки после введения циклофосфида натрия регистрировалась тяжелая иммуно- и гемодепрессия с поражением как лейкоцитарных клеток, так и красных кровяных клеток. За контроль по уровню поражения кроветворных пулов был взят 3-й день после введения иммунодепрессанта. Проведя анализ гемограммы крови, было выявлено, что в большей степени пострадал лейкоцитарный пул. Общий лейкоцитарный показатель с уровня интактных животных $(9,15 \pm 1,36) \cdot 10^9/L$ крови упал до $(2,37 \pm 0,16) \cdot 10^9/L$ в 3,86 раза ($P \leq 0,05$). В лейкограмме снизились абсолютные и относительные значения агранулоцитарных и гранулоцитарных лейкоцитов. Среди агранулоцитов относительные значения лимфоцитов со значения $(5,46 \pm 0,18) \cdot 10^9/L$ крови упали в 3,41 раза до значения $(1,60 \pm 0,2) \cdot 10^9/L$, тогда как относительные значения со значения интактных животных $(68,03 \pm 12,3)\%$ крови упали лишь в 1,44 раза до $(47,2 \pm 1,8)\%$ крови. Критическое падение показателей наблюдалось во всех субпопуляциях крови. Снижение абсолютных значений гемограммы

наблюдалось более чем в 2 и 3 раза, а относительные значения уменьшались менее интенсивно, в 1,5 раза. Например, абсолютные значения моноцитарно-эозинофильных клеток со значения $(0,5 \pm 0,02) \cdot 10^9/L$ крови снизилось до значения $(0,12 \pm 0,10) \cdot 10^9/L$ крови, т.е. в 4,17 раза ($p \leq 0,05$), тогда как относительное значение $(6,28 \pm 1,24)\%$ упало лишь до $(4,9 \pm 1,3)\%$, что составило лишь 1,28-кратную разницу в значениях. Абсолютный показатель гранулоцитарных клеток со значения $(3,64 \pm 1,22) \cdot 10^9/L$ упал до $(0,65 \pm 0,3) \cdot 10^9/L$, т.е. в 5,6 раза ($p \leq 0,01$). А относительное значение гранулоцитов со значения $(40,0 \pm 8,36)\%$ упало в 1,53 раза, достигнув значения $(26,18 \pm 4,5)\%$. То, что абсолютные значения снижаются значительно, чем относительные, можно объяснить тем, что абсолютные значения более зависимы от значения общего лейкоцитарного показателя, который интенсивно снижался во время иммунодепрессивной интоксикации организма животных.

Циклофосфамид вызывал изменения в значениях эритроцитарных и тромбоцитарных клеток, но более, чем 2-х кратного снижения не было зарегистрировано. Уровень эритроцитарных клеток $(6,5 \pm 1,56) \cdot 10^{12}/L$ крови достиг значения $(4,93 \pm 1,3) \cdot 10^{12}/L$ крови, т.е. снижение наблюдалось в 1,32 раза. Уровень гемоглобина упал в 1,55 раза. У интактных животных он составлял $140,7 \pm 16,7$ г/L крови. И после интоксикации упал до $90,75 \pm 12,0$ г/L крови. Но гематокритное значение с $(39,8 \pm 6,3)\%$ упало в 1,88 раза ($P \leq 0,05$) раза, достигнув значения $(21,21 \pm 7,79)\%$.

Критическое снижение наблюдалось в тромбоцитарных показателях. Уровень интактных животных составлял $(660,25 \pm 10^9)/L$ крови и при искусственно вызванном иммунодепрессивном синдроме составил $(70,5 \pm 43,2) \cdot 10^9/L$ крови, что составило более 9,36-кратное снижение ($P \leq 0,01$) Вызвав искусственный иммунодепрессивный синдром животным вводили соединение БИВ-82.

Таблица

Гемограмма крови до и после введения БИВ-82

Показатели	Интактные животные	Миелодепрессия (3-и сут)	БИВ-82	Контрольные животные	Левамизол
WBC, $\cdot 10^9/L$	9,1±2,51	2,37±0,16	4,96±0,03	2,79±0,93	4,15±1,2
LYM, $\cdot 10^9/L$	5,46±1,1	1,6±0,2	2,07±0,05	1,5±0,9	2,6±0,8
MID, $\cdot 10^9/L$	0,5±0,0	0,123±0,1025	0,31±0,27	0,115±0,095	0,245±0,17
GRA, $\cdot 10^9/L$	3,64±0,90	0,645±0,3	2,567±0,166	1,125±0,13	1,29±0,14
LY, %	68,0±0,7	47,2±1,8	41,77±0,76	50,65±14,65	62,03±3,93
MI, %	6,28±0,4	4,9±1,3	8,93±2,6	6,0±5,3	5,28±2,4
GR, %	40,0±1,4	26,182±4,5	51,53±2,53	43,35±9,3	32,68±4,6
RBC, $\cdot 10^{12}/L$	6,5±1,2	4,933±0,5	4,63±-0,03	5,67±0,1	4,69±1,36
HGB, г/л	140,7±1,9	90,75±12,00	82,33±0,33	96±1	86±22
HCT	39,8±1,5	21,213±7,79	25,37±-0,23	28,095±0,835	24,7±2,7
MCV	55,0±1,3	52,75±1,25	54,67±0,66	50,0±0	52,5±1,5
MCH	1,09±3,6	17,45±1,15	17,7±0,2	17,0±0,3	18,45±0,55
MCHC	350,6±2,8	347,25±3,0	320±1	342,5±6,5	349,25±4
RDWC	14,0±0,8	13,68±0,5	14,83±0,33	13,55±0,22	12,7±0,4
PLT $\cdot 10^9/L$	660±122	70,5±43	546,3±-4,7	447±51	318,25±99

Показатели	Интактные животные	Миелодепрессия (3-и сут)	БИВ-82	Контрольные животные	Левамизол
PCT, г/л	0,44±0,021	0,05±0,03	0,353±0,007	0,315±0,035	0,21±0,06
MPV	7,9±0,8	5,275±2,0	6,47±0,04	7,1±0,0	6,625±0,3
PDWC	46,0±0,8	23,1±8,6	30,2±0,0	32,35±1,3	30,95±0,25

GRA - гранулоцитарный показатель
 LY - относительный лимфоцитарный показатель
 MI - относительный моноцитарно-эозинофильный показатель
 GR - относительный гранулоцитарный показатель
 RBC - общий эритроцитарный показатель
 HGB - гемоглобин
 HCT - гематокрит
 MCV - средний объем эритроцитов
 MCH - среднее содержание гемоглобина
 MCHC - средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах
 RDWC - широта распределения эритроцитов
 PLT - тромбоцитарный показатель
 PCT - количество тромбоцитов
 MPV - средний объем тромбоцитов
 PDWC - широта распределения тромбоцитов

При проведении сравнительного анализа показателей лейкограммы и гемограммы крови в группе введения соединения БИВ-82 и препарата сравнения левамизола можно отметить, что показатели в группе введения соединения БИВ-82 были выше. Общий лейкоцитарный показатель отличался на 0,81 значения $(4,96 \pm 0,03) \cdot 10^9/L$ крови против $(4,15 \pm 1,2) \cdot 10^9/L$ крови, абсолютные значения лимфоцитов $(2,07 \pm 0,05) \cdot 10^9/L$ против $(2,6 \pm 0,84) \cdot 10^9/L$, гранулоцитов $(2,57 \pm 0,17) \cdot 10^9/L$ против $(1,29 \pm 0,14) \cdot 10^9/L$. Также отличались и относительные значения в показателях субпопуляций лейкоцитов. Соединение БИВ-82 обладает стимулирующим действием по отношению к лейкопозу на уровне левамизола.

Показатели крови животных, получавших соединение БИВ-82. В первую очередь следует отметить, что уровень лейкоцитарных клеток вырос до $(4,96 \pm 0,03) \cdot 10^9/L$ крови, против значения контрольных животных $(2,79 \pm 0,65) \cdot 10^9/L$ крови, т.е. наблюдалась 1,78-кратная разница. Следует отметить, что соединение БИВ-82 значимо стимулировало деление гранулоцитов, чем агранулоцитов. Слабо стимулировало пролиферативную активность лимфоцитарных клеток. После проведенного лечения соединением абсолютное значение лимфоцитов составило $(2,07 \pm 0,05) \cdot 10^9/L$ крови против контрольного значения $(1,55 \pm 0,25) \cdot 10^9/L$ крови, т.е. в 1,34 раза превосходило контрольное значение. А

относительные значения лимфоцитов в группе введения соединения БИВ-82 даже в 1,93 раза были меньше контрольных $(26,27 \pm 2,28)\%$ против $(41,77 \pm 0,76)\%$.

Уровень гранулоцитарных лейкоцитов, как абсолютные, так и относительные значения выросли в группе введения соединения БИВ-82.

Абсолютное значение гранулоцитов в группе введения соединения БИВ-82 составило $(51,53 \pm 2,53) \cdot 10^9/L$ против контрольного значения $(43,35 \pm 9,3) \cdot 10^9/L$ крови, т.е. в 1,19 раза ($p \leq 0,01$) превышая контроль. Относительное значение в группе введения соединения БИВ-82 также превосходило контрольные значения в 2,27 раза.

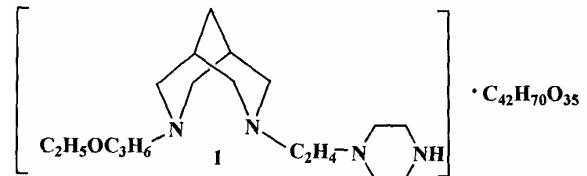
Значимых отличий в значениях эритроцитарных клеток не было зарегистрировано, ни в общем эритроцитарном показателе, ни в гемоглобине, гематокрите и т.д. Следует отметить изменения в уровне тромбоцитарных клеток, так против контрольного показателя $(447,0 \pm 51,0) \cdot 10^9/L$ крови в группе введения БИВ-82 он составил $(546,33 \pm 47,7) \cdot 10^9/L$ крови.

В результате проведенных исследований установлено, что БИВ-82 в сериях опытов по изучению миелостимулирующего действия проявил себя как высокоактивное соединение, превышающее активность эталонных препаратов по ряду показателей. Кроме того, он оказался малотоксичным в сравнении с эталонным препаратом.

Описанное вещество синтезируется на основе доступного химического сырья.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-[2-(пиперазин-1-ил)этил]-3,7-дизабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином формулы I:



обладающий миелостимулирующей активностью.