



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123982** (13) **C2**

(51) МПК (2021.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 25/00

A61P 25/20 (2006.01)

C07D 311/32 (2006.01)

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

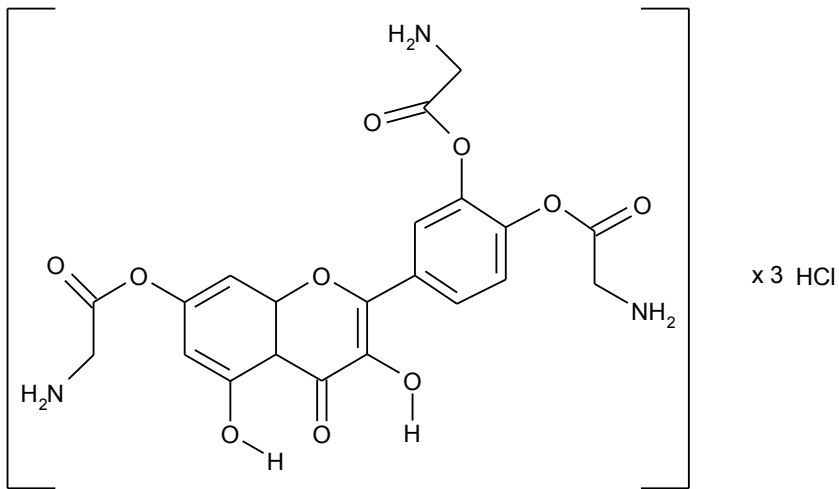
<p>(21) Номер заявки: а 2020 04239</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.07.2020</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 01.07.2021</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 26.10.2020, Бюл.№ 20</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 30.06.2021, Бюл.№ 26</p>	<p>(72) Винахідник(и): Левашова Ольга Леонідівна (UA), Колосов Максим Олександрович (UA), Штриголь Сергій Юрійович (UA), Нікішин Олександр Олександрович (UA), Коваленко Сергій Миколайович (UA), Сирова Ганна Олегівна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022 (UA), ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА, майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022 (UA)</p> <p>(74) Представник: Голданська Анна Вадимівна</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Zizkova, P., Stefek, M., Rackova, L., Prnova, M., & Horakova, L. (2017). Novel quercetin derivatives: From redox properties to promising treatment of oxidative stress related diseases. <i>Chemico-Biological Interactions</i>, 265, 36–46. doi:10.1016/j.cbi.2017.01.019 Suganthi, N., Devi, K. P., Nabavi, S. F., Braidy, N., & Nabavi, S. M. (2016). Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions. <i>Biomedicine & Pharmacotherapy</i>, 84, 892–908. doi:10.1016/j.biopha.2016.10.011 Sharma, A., Kashyap, D., Sak, K., Tuli, H. S., & Sharma, A. K. (2018). Therapeutic charm of quercetin and its derivatives: a review of research and patents. <i>Pharmaceutical Patent Analyst</i>, 7(1), 15–32. doi:10.4155/ppa-2017-0030 CN 109761945 A, 17.05.2019</p>
--	--

(54) БІОЛОГІЧНО АКТИВНА РЕЧОВИНА ТРИГЛІЦИНАТУ КВЕРЦЕТИНУ ТРИГІДРОХЛОРИД, ЩО МАЄ НЕЙРОПРОТЕКТОРНУ, ПРОТИГІПОКСИЧНУ, ПРОТИШЕМІЧНУ, СЕДАТИВНУ ДІЮ

(57) Реферат:

UA 123982 C2

Винахід належить до медицини і фармації, зокрема до нових біологічно активних речовин. Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що шляхом взаємодії N-Вос-гліцину з кверцетином отримують її водорозчинну сіль загальної формули:



яка має нейропротекторну, протигіпоксичну, протиішемічну, седативну дію.

[...]

Винахід належить до медицини і фармації, зокрема до нових біологічно активних речовин, що є основою для створення біологічно активної речовини тригліцинат кверцетину тригідрохлорид, що має нейропротекторну, протигіпоксичну, протиішемічну, седативну дію.

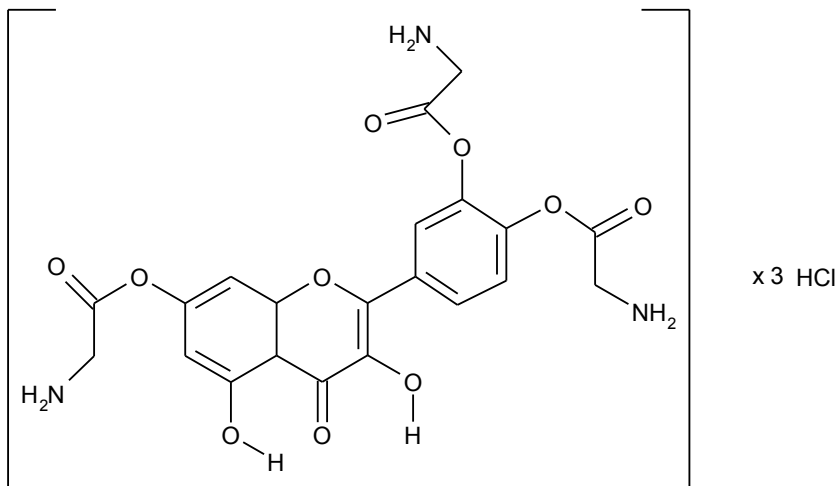
Необхідність у нейропротекторних лікарських засобах, що використовуються для лікування травматичних, дегенеративних та ішемічних уражень головного мозку, існує дотепер. Тому пошук нових біологічно активних сполук, що мають подібну дію, і створення на їх основі нових ефективних нейропротекторів є актуальним завданням.

Структурним і фармакологічним аналогом сполуки, що заявляється, є флавоноїдний аглікон - кверцетин 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон), що має капіляростабілізуючу, кардіо- та радіопротекторну, регенеративну, нейроциркуляторну дію, а також виявляє антиоксидантні, протизапальні, спазмолітичні, антиульцерогенні, діуретичні, антиатеросклеротичні властивості. Застосовується в медицині для профілактики та лікування місцевих променеви уражень після рентген- та гамма-променевої терапії; лікування пародонтозу, ерозивно-виразкових захворювань слизової оболонки ротової порожнини; гнійно-запальних захворюваннях м'яких тканин. До його недоліків слід віднести малу розчинність у воді, що знижує біодоступність лікарських засобів, до складу яких він входить, що в свою чергу призводить до зниження специфічної активності [Компендиум 2019. Лекарственные препараты. Кверцетин. Режим доступу: <http://compendium.com.ua/>].

Основним обґрунтуваннями для застосування амінокислоти гліцину (амінооцтової кислоти) є те, що препарат має антиоксидантну, нейропротективну, нейрометаболичну дію, регулює діяльність глутаматних (NMDA) рецепторів, за рахунок чого препарат здатний зменшувати виразність мозкових розладів при ішемічному інсульті та черепно-мозковій травмі; зменшувати вегето-судинні розлади (в т.ч. в клімактеричному періоді); знижувати психоемоційне напруження, агресивність, конфліктність, підвищувати соціальну адаптацію; підвищувати розумову працездатність; полегшувати засинання і нормалізувати сон; зменшувати токсичну дію алкоголю та інших лікарських засобів, що пригнічують функцію ЦНС [Регистр лекарственных средств России. 2019. Глицин. Режим доступу: <http://www.rlsnet.ru/>].

В основу винаходу поставлено задачу створення нової водорозчинної біологічно активної речовини, що має нейропротекторну, протигіпоксичну, протиішемічну, седативну дію.

Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що шляхом взаємодії N-Вос-гліцину з кверцетином отримують її водорозчинну сіль загальної формули:



яка має нейропротекторну, протигіпоксичну, протиішемічну, седативну дію.

Технічний ефект винаходу, а саме створення нової водорозчинної біологічно активної речовини тригліцинат кверцетину тригідрохлориду (ТКТ), що має нейропротекторну, протигіпоксичну, протиішемічну, седативну дію, обумовлений тим, що забезпечує більш високий рівень і більш широкий спектр специфічної активності, з одночасним спрощенням і скороченням тривалості проведення технологічного процесу, а також у створенні фармацевтичних композицій, використання якої приводить до підвищення біодоступності та розширення асортименту нейропротекторних засобів.

Синтез тригліцинату кверцетину тригідрохлориду виконують наступним чином: суспензію 1 г (0,003 моль) кверцетину (т.пл. 316 °С), 2,9 г (0,016 моль) ефіру N-Вос-гліцину (N-Вос-гліцин третбутиловий ефір., т.пл. 82-92 °С), 2,6 мл F₃N (триетиламін) або піридину та 3,6 г ДЦГК (дициклогексилкарбодімід) перемішують 4 години при кімнатній температурі в 50 мл безводному

ТГФ (тетрагідрофуран). Потім реакційну суміш фільтрують, осад промивають ТГФ (2 рази по 20 мл). Отриману речовину очищають хроматографією на силікагелі (маса силікагелю - 150-200 г, обсяг етилацетату - близько 1 л). Контроль фракцій виконують по тонкошаровій хроматографії (ТШХ) (етилацетат, пластинки Merck ALUGRAM Xtra SIL G/UV 254). Отримані 3,7 г (54 %) масла перемішують в 50 мл системи діоксан-НСІ (10 %) 24 години при кімнатній температурі. Розчинник упарюють під вакуумом на роторному випарнику при температурі не вище 30-40 °С. Отримують 2,2 г світло-жовтих кристалів речовини 3 (т.пл. 247-250 °С з розкладанням) (Схема). Проба Бейльштейна позитивна (наявність гідрохлориду). Кінцева речовина: 4-[7-(аміноацетилокси)-3,5-дигідрокси-4-оксо-4Н-хромен-2-іл]-1,2-фенілен)-біс(аміноацетат)тригідрохлорид являє собою світло-жовтий кристалічний порошок, легко розчинний у воді, мало розчинний у спирті і практично нерозчинний в ацетоні. Речовина гігроскопічна. Температура плавлення 247-250 °С (з розкладанням). (Фіг. 1).

$C_{21}H_{22}N_3O_{10} Cl_3$ М. м. 582,77; Т.пл. 247-250 °С з розкладанням.

Елементний склад

Обчислено, %: С - 43,28; Н - 3,81; N-7,21; Cl-18,25.

Отримано, %: С - 43,32; Н - 3,96; N-7,51; Cl-18,38.

Інфрачервоний спектр отриманої сполуки має характерні смуги поглинання в області 3410-3300 (вільні фенольні ОН-групи), 3060 (валентні коливання С-Н-ароматичного кільця кверцетину), 1750 (валентні коливання С = О складного ефіру), 1665 (С = О γ -піронового кільця кверцетину). 1614, 1565, 1515 (С = С, скелетні коливання ароматичної системи); 1251 (валентні коливання С = О складного ефіру) (Фіг. 2).

За даними 1H ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) (DMSO- d_6) на один залишок кверцетину доводиться три залишки гліцину. На спектрі 8.5 м.д. відповідають ОН-групі.

Ефективність речовини тригліцинат кверцетину тригідрохлориду доведена експериментальними дослідженнями.

Фармакологічну активність речовини оцінювали порівняно з вихідними речовинами кверцетином і гліцином, а також з препаратами Мексидол і Корвітин. При виконанні експерименту дотримувалися "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" [Кундієв Ю. І. Сучасні проблеми біоетики / відп. ред. Ю. І. Кундієв; НАН України, Нац. Наук. центр з медико-біотехн. проблем. - К.: Академперіодика, 2009. - 278 с.], гармонізованих з "Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експерименту або з іншого науковою метою" [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Council of European. Strasbourg. - 1986. - Vol. 51. - P. 29-34].

Лікарській засіб Корвітин, що містить як активну речовину комплекс кверцетину з полівінілпіролідом. Випускається у формі ліофілізованого порошку для приготування розчину для ін'єкцій по 0,5 г у флаконах: допоміжна речовина - натрію гідроксид. Препарат відновлює регіональний кровообіг й мікроциркуляцію. Корвітин застосовують у комплексній терапії при гострому порушенні коронарного кровообігу та інфаркті міокарда, для лікування і профілактики реперфузійного синдрому при хірургічному лікуванні хворих на облітеруючий атеросклероз черевної аорти і периферичних артерій. Можлива індивідуальна чутливість до препарату, а при швидкому внутрішньовенному введенні та в комбінації з органічними нітратами можлива невелика гіпотензія [Нормативно-директивні документи МОЗ України. Інструкція до препарату Корвітин. Режим доступу <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=8711>].

Лікарській засіб Мексидол (2-етил-6-метил-3-оксипіридин сукцинат), що застосовують для лікування енцефалопатій, черепно-мозкових травм та інших мозкових порушень у дорослих, дітей і при вагітності. Діючою речовиною Мексидола є етилметилгідроксипіридин сукцинат, який містить гетероциклічну систему 3-оксипіридину та залишок бурштинової кислоти (сукцинат). Випускається препарат у формі ін'єкційного розчину (5 %) або таблеток, що містять 125 мг діючої речовини. При застосуванні цих препаратів можливі побічні прояви у вигляді диспепсії, алергічних реакцій тканин шкіри. Протипоказання до прийому Мексидолу - гостра печінкова та ниркова недостатність [Компендиум 2019. Лекарственные препараты. Мексидол. Режим доступу: <http://compendium.com.ua/>].

Отримані дані представлено у вигляді $M \pm m$ та статистично оброблені з використанням t -критерію Стьюдента. Відмінності вважали статистично значущими за $p \leq 0,05$.

Досліджували вплив на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність та вегетативний супровід емоційних реакцій у тесті відкритого поля (ВП). Тест ВП представляє собою квадратну платформу розміром 22×22×11 см (довжина×висота×ширина). підлога якої розділена на 16 однакових квадратів із 16 отворами діаметром 1,5 см в центрі кожного квадрата.

Дослідження виконували на 79 білих нелінійних мишах обох статей масою 18-21 г, яких було розділено на 10 груп (n=7-9). Перша група (n=9) була контрольною. 1 групу складали контрольні тварини, яким однократно внутрішньошлунково (в/ш) вводили 3 % крохмальний слиз (0,1 мл на 10 г маси). Досліджувані речовини вводили внутрішньоочеревинно (в/о) тваринам 2-10 груп.

5 Тваринам 2-7 груп однократно в/ш у вигляді суспензії на 3 % крохмальному слизу вводили досліджувані речовини: у 2,3 та 4 групах - кверцетин (5 мг/кг, 10 мг/кг та 15 мг/кг відповідно); у 5,6 та 7 групах - гліцин (15 мг/кг, 30 мг/кг та 45 мг/кг відповідно); у 8, 9 та 10 групах - тригліцинат кверцетину тригідрохлорид (20 мг/кг, 40 мг/кг та 60 мг/кг відповідно). Дози кверцетину та гліцину були обрані з розрахунку 1: 3, відповідно до їх еквімолярного контенту у тригліцинат кверцетині.

10 Протягом 3 хв., реєстрували кількість перетнутих квадратів (локомоторна активність), стійок та обстежених отворів (орієнтовно-дослідницька активність), фекальних болюсів, активів грумінгу та уринації (вегетативний супровід емоційних реакцій).

15 Отримані результати (табл. 1) свідчать про виразний седативний вплив тригліцинат кверцетину тригідрохлориду у дозах 40 та 60 мг/кг. Він виявляється дозо залежним зниженням суми всіх видів активності на 37 % та 42 % відповідно (p<0,05). Статистично значущо, зокрема, сполука знижує рухову активність мишей, у той час як вегетативний супровід емоційних реакцій зазнає вірогідного зменшення на тлі доз 20 та 40 мг/кг (на 63 % і 83 % відповідно, p<0,05). З'ясувалося також, що класичний стрес-протектор гліцин поступається за седативним впливом досліджуваній сполуці. Тільки в дозі 15 мг/кг він вірогідно знижує емоційну лабільність мишей на 20 78 % (p<0,05 порівняно з контролем), що корелює зі здатністю досліджуваної сполуки зменшувати прояви емоційної лабільності в еквімолярній дозі (20 мг/кг).

Таблиця 1

Порівняльний вплив кверцетину, гліцину, тригліцинату кверцетину на показники локомоторної, орієнтовно-дослідницької активності та вегетативного супроводу емоційних реакцій мишей у тесті відкритого поля

№ групи	Група (сполука), доза, n	Показники								Сума всіх видів активності
		Кількість квадратів	Орієнтовно-дослідницька активність			Вегетативний супровід емоційних реакцій				
			Стойки	Отвори	Сума	Болюси	Уринації	Грумінг	Сума	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Контроль	55,56±3,69	12,11±2,04	29,89±6,91	42,0±6,68	0,89±0,37	0,00±0,00	5,56±1,57	6,44±1,66	104,00±8,87
2	Кверцетин, 5 мг/кг, n=8	22,25±5,03* (-60 %)	3,0±0,97 (-75,2 %)	24,61±4,89 (-17,6 %)	27,63±5,01 (-34,2 %)	0,125±0,13	0,00±0,00	1,5±0,81	1,63±0,78* (-74,7 %)	51,5±9,50* (-50,5 %)
3	Кверцетин, 10 мг/кг, n=8	38,75±3,48* (-30,3 %)	10,88±2,55 (-10,2 %)	29,0±5,61 (-3,0 %)	39,88±5,62 (-5,0 %)	0,13±0,13	0,13±0,13	2,13±0,62	2,38±0,64* (-63,0 %)	81,00±7,68 (-22,1 %)
4	Кверцетин, 15 мг/кг, n=8	32,63±5,59* (-41,3 %)	6,63±1,84 (-45,3 %)	28,13 ±4,88 (-5,9 %)	34,63 ±5,33 (-17,5 %)	0,38±0,4	0,00±0,00	1,38±0,57	1,75±0,66* (-72,8 %)	69,13±9,50* (-33,5 %)
5	Гліцин, 15 мг/кг, n=7	47,14±7,18 (-15,2 %)	7,71±2,93 (-36,3 %)	29,29±4,93 (-2,0 %)	41,29±6,38 (-1,7 %)	0,29±0,20	0,14±0,15	1,00±0,41	1,43±0,57* (-77,8 %)	89,86±12,59 (-13,1 %)
6	Гліцин, 30 мг/кг, n=7	46,7±6,56 (-15,9 %)	13,7±1,82 (±13,1 %)	27,71±4,94 (-7,3 %)	41,43±5,26 (-1,4 %)	0,29±0,20	0,00±0,00	2,86±0,8	3,0±0,75 (-53,4 %)	91,14±11,76 (-12,7 %)
7	Гліцин, 45 мг/кг, n=8	46,13±3,75 (-17,0 %)	11,38±3,16 (-6,0 %)	26,75±3,39 (-10,5 %)	38,13±0,56 (-9,2 %)	0,63±0,2	0,00±0,00	2,75±0,66	3,25±0,56 (-49,5 %)	87,5±7,29 (-15,9 %)
8	ТКТ, 20 мг/кг, n=8	49,25±8,53^ (-11,4 %)	8,88±3,0 (-26,7 %)	32,38 ±5,23 (± 8,3 %)	41,00±6,39 (-2,4 %)	0,13±0,13	0,13±0,13	2,0±0,64	2,25±0,72* (-62,5 %)	92,5±14,43^ (-11,1 %)
9	ТКТ, 40 мг/кг, n=8	36,3±4,86* (-34,7 %)	5,38±1,10# (-55,6 %)	26,8±2,61 (-10,4 %)	32,13±2,86# (-23,5 %)	0,13±0,13	0,13±0,13	0,88±0,43	1,13±0,43* (-82,5 %)	65,75±7,54*# (-36,8 %)
10	ТКТ, 60 мг/кг, n=8	32,13±6,16* (-42,2 %)	6,25±2,40# (-48,4 %)	19,5±4,03 (-34,8 %)	25,75±5,31 (-38,7 %)	0,75±0,39	0,00±0,00	2,13±1,17	2,88±1,04 (-55,3 %)	60,75±10,54* (-41,6 %)

Примітка. * - статистично значущі відмінності з групою контролю (p≤0,05);

- статистично значущі відмінності між досліджуваною сполукою у еквімолярних дозах (p≤0,05);

^ - статистично значущі відмінності між групою кверцетину та досліджуваною сполукою в еквімолярних дозах (p≤0,05);

у дужках - зміни відносно групи контролю.

25 Седативна дія досліджуваної сполуки реалізується за рахунок наявності в її структурі кверцетину. В еквімолярних дозах кверцетин знижує рухову активність (на 30-60 %, p<0,05 з

контролем) та вегетативний супровід емоційних реакцій мишей (на 63 %-75 %, $p < 0,05$ з контролем), виявляючи, таким чином, депримуєчий ефект. Таким чином, у діапазоні доз 20 мг/кг - 40 мг/кг - 60 мг/кг спостерігається статистично значуще зниження показників рухової активності мишей на 37 %. 65 % та 59 % відповідно ($p < 0,05$ щодо контролю), а сума показників емоційної лабільності знижується відповідно на 83 %. 88 % та 94 % ($p < 0,05$ з контролем), що вказує на седативну властивість досліджуваної сполуки.

Гіпоксія відіграє ключову роль в патогенезі церебральної ішемії, а здатність лікарських препаратів перешкоджати гіпоксичному ураженню демонструє їх високий нейропротекторний потенціал.

Антигіпоксичну активність перевіряли у тесті нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією. Дослідження виконували на 88 білих нелінійних мишах обох статей масою 18-21 г, яких було розділено на 12 груп (n=5-14). Перша група була контрольною. Досліджувані речовини вводили в/о тваринам 2-12 груп.

Тварини 1 групи (n=11) служили контролем. їм однократно в/ш вводили 3 % крохмальний слиз (0,1 мл на 10 г маси). Тваринам 2 та 3 груп (n=7) однократно в/ш у вигляді суспензії на 3 % крохмальному слизу вводили препарати порівняння Мексидол та Корвітин (100 мг/кг); тваринам 4-6 груп - кверцетин (5 мг/кг, 10 мг/кг та 15 мг/кг відповідно); тваринам 7-9 груп - гліцин (15 мг/кг, 30 мг/кг та 45 мг/кг відповідно); тваринам 10,11 та 12 груп - тригліцинат кверцетину тригідрохлорид (20 мг/кг, 40 мг/кг та 60 мг/кг відповідно). Через 30 хв., після введення піддослідних тварин вміщували до гермокамери об'ємом 200 см та загвинчували кришку. Реєстрували час життя мишей у гермокамері. Результати дослідження наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вплив тригліцинату кверцетину, кверцетину, гліцину, мексидолу та корвітину на час життя мишей за нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією

Група	№ групи	Доза, кількість тварин	Час життя мишей в гермокамері, с	% змін до контролю
Контроль	1	(n=11)	1699,2±70,9	-
Мексидол	2	100 мг/кг (n=7)	1784,3±78,9	+ 5 %
Корвітин	3	100 мг/кг (n=7)	1703,6±95,1	+ 0,3 %
Кверцетин	4	5 мг/кг (n=7)	1651,4±123,3	- 2,8 %
	5	10 мг/кг (n=6)	2252,5±203,6*	+ 32,6 %
	6	15 мг/кг (n=6)	2094,2±311,4	+ 23,2 %
Гліцин	7	15 мг/кг (n=6)	2061,67±115,9*	+ 21,3 %
	8	30 мг/кг (n=5)	2183,8±240,4	+ 28,5 %
	9	45 мг/кг (n=5)	2634,8±537,9	+ 55,1 %
Тригліцинат кверцетину тригідрохлорид	10	20 мг/кг (n=7)	1753,1±71,1	+ 3,2 %
	11	40 мг/кг (n=7)	1823,3±203,2	+ 7,3 %
	12	60 мг/кг (n=14)	2424,2±162,0*	+ 42,7 %

Примітка. * - статистично значущі відмінності з групою контролю ($p \leq 0,05$).

Як видно з таблиці 2, максимальний статистично значущий антигіпоксичний ефект чинить досліджувана фармакологічна сполука у дозі 60 мг/кг. Вона підвищує час життя мишей у гермокамері на 43 % порівняно з контролем ($p < 0,05$). В менших дозах (20 та 40 мг/кг) досліджувана сполука не впливає на означений показник.

Антиішемічну активність при експериментальному гострому порушенні мозкового кровообігу (ГПМК) моделювали шляхом незворотної білатеральної каротидної оклюзії (БКО) із використанням тіопенталу натрію (60 мг/кг) [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. докт. мед. наук А. Н. Миронова. - Часть первая. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.; Manual of Stroke Models in Rats / Edited by Yanling Wang-Fisher. - London. New York: CRC Press. 2009. - 332 p.].

Експериментальне дослідження по було проведено на 55 лабораторних тваринах - білих щурах обох статей лінії WAG середньою вагою 180-210 г. Після розтину шкіри та фасцій препарували сонні артерії та накладали провізорні лігатури, які зав'язували відразу після виходу тварини з наркозу. Рану ушивали. Реєстрували виживаність щурів, що були поділені на такі групи: 1 контрольна патологія (n=31), мексидол 100 мг/кг (n=10), корвітин (n=7), тригліцинат кверцетину тригідрохлорид 60 мг/кг (n=7). Усі препарати вводили у лікувальному режимі:

вперше через 5 хв., після виходу тварини з наркозу, надалі - кожного дня протягом 4 діб. Протягом усього періоду спостереження реєстрували неврологічний дефіцит (НД) за шкалою McGraw Stroke Index [McGraw C. P. Effect of methylprednisolone on experimental cerebral infarction in the Mongolia ngerbil / C. P. McGraw, D. F. Fleming Jr., J. H. Spruil // Stroke. - 1974. - Vol. 5. - P. 444-446].

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента та кутового перетворення Фішера - φ при урахуванні результатів в альтернативній формі (виживаність/летальність).

Модельне ГПМК у групі контрольної патології призвело до високої (77,4 %) летальності тварин та виразного НД, що прогресував протягом 4 діб постоклюзійного періоду. За результатами дослідження (табл. 3) виявлена потужна антиішемічна активність тригліцинат кверцетину у дозі 60 мг/кг. При її використанні виживаність щурів протягом усього періоду спостереження становила 71,4 % (p<0,05). Уже через 2 доби НД у тварин групи досліджуваної фармакологічної сполуки статистично значущо знижувався більш ніж у 4 рази порівняно з групою тригліцинат кверцетину тригідрохлорид. У подальшому бал НД у групі не зростає більш за 0,7, що клінічно означає лише наявність такого симптому як загальна слабкість. Препарат порівняння Мексидол забезпечував виживаність щурів у гострому періоді модельної церебральної ішемії на рівні 40 %, що співпадає з даними, наявними у літературі щодо активності цього референтного препарату. Корвітин продемонстрував високу нейропротекторну активність, забезпечивши виживаність протягом 4 діб постоклюзійного періоду на рівні 57 %, а також редукував НД. На тлі його використання за 4 доби НД зменшився більше ніж у 3 рази. Протягом першої доби та на кінець спостереження Корвітин формував до менш виразний НД, ніж у групі тригліцинат кверцетину тригідрохлорид. Тобто, за показниками виживаності тварин та редукції НД у гострому періоді церебральної ішемії досліджувана сполука (3,5-дигідрокси-7,3',4'-тригліцинат-кверцетин тригідрохлорид) виявляла виразну нейропротекторну дію. що перевершує активність Мексидолу і Корвітину.

Таблиця 3

Порівняльний вплив тригліцинату кверцетину тригідрохлориду, мексидолу, корвітину на виживаність щурів та неврологічний дефіцит щурів у гострому періоді церебральної ішемії

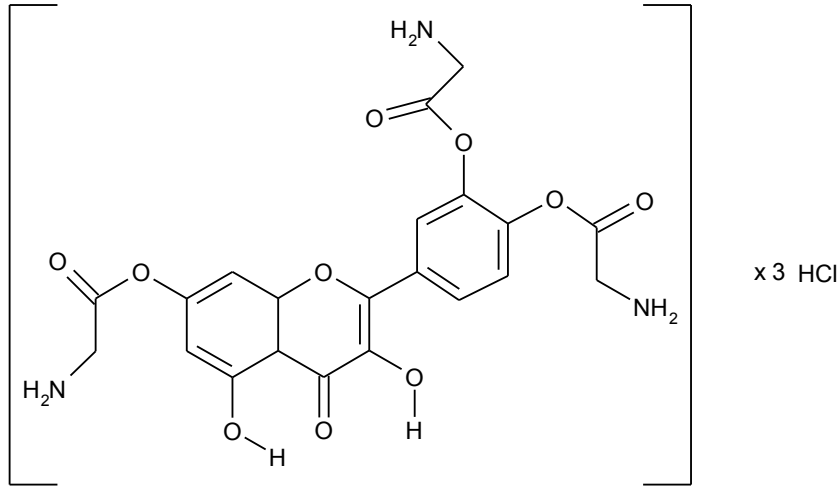
Група, препарат, n	НД (бали) та виживаність тварин у динаміці			
	24 год.	48 год.	72 год.	96 год.
Церебральна ішемія + 0,9 % NaCl в/о, n=31	3,67±1,06 (n=11) [35,5]	2,14±0,9 (n=9) [29]	2,29±0,76 (n=8) [25,8]	2,64±1,19 (n=7) [22,6]
Церебральна ішемія + мексидол 100 мг/кг в/о, n=10	(n=6) [60]	(n=5) [50]	(n=5) [50]	(n=4) [40]
Церебральна ішемія + корвітин 150 мг/кг, в/о, n=7	3,21±1,9 (n=5) [71,4*]	3,4±1,04 (n=5) [71,4*]	2,7±2,0 (n=4) [57,1]	1,38±0,27 (n=4) [57,1*]
Церебральна ішемія + тригліцинат кверцетину тригідрохлорид, 60 мг/кг, в/о, n=7	3,57±2,3 (n=5) [71,4*]	0,5±0,0* (n=5) [71,4*]	0,5±0,0* (n=5) [71,4*]	0,7±0,14* (n=5) [71,4*]

Примітки* - статистично значущі відмінності з групою КП (p<0,05);
у круглих дужках - кількість щурів, що вижили на кожну добу спостереження;
у квадратних - відсоток.

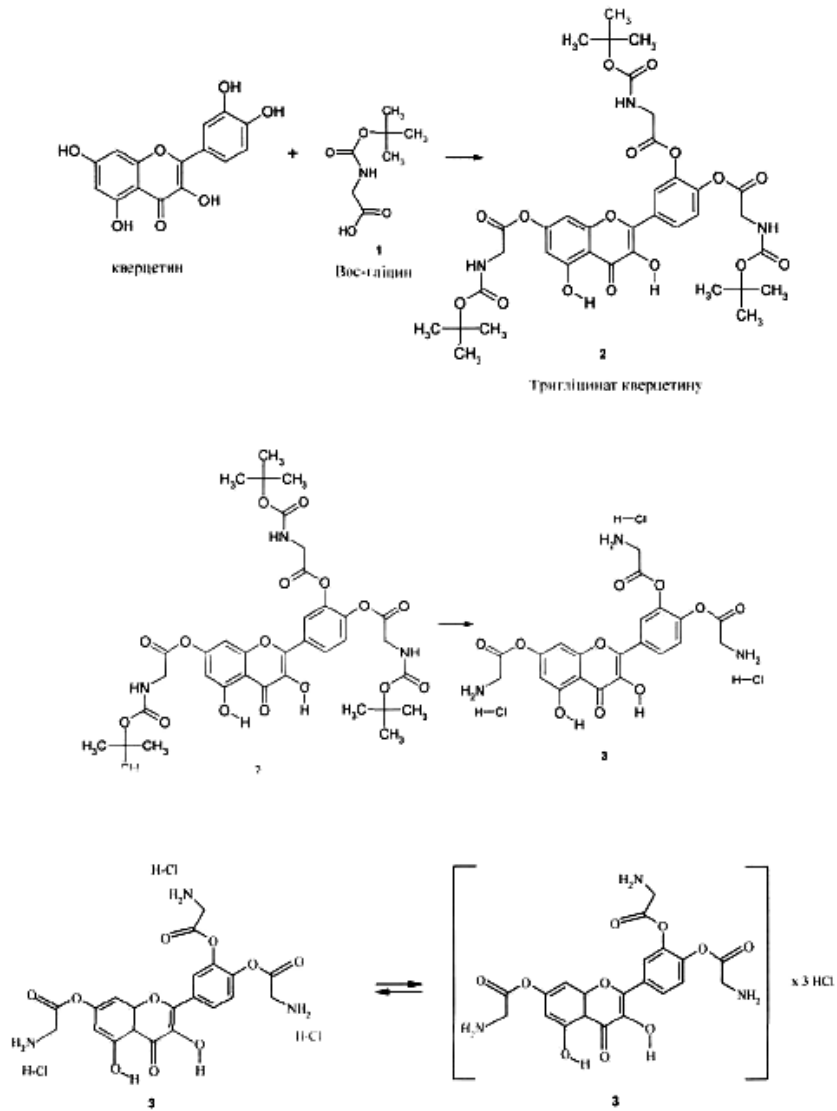
Таким чином, результати дослідження є експериментальним обґрунтуванням доцільності створення на основі тригліцинату кверцетину тригідрохлориду нового лікарського засобу нейропротекторної, протигіпоксичної та протиішемічної дії.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

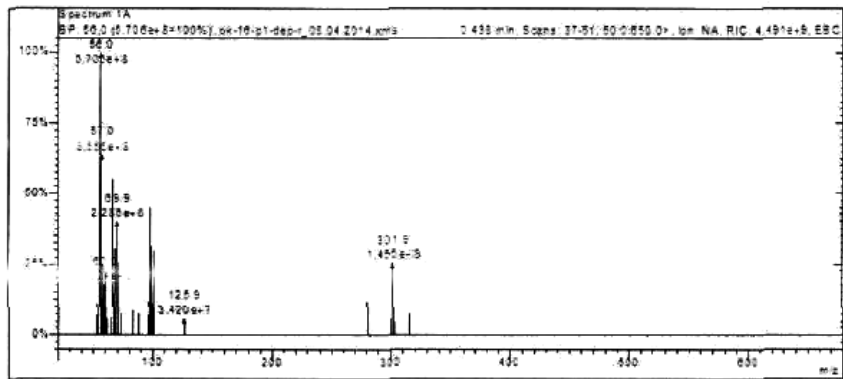
Тригліцинату кверцетину тригідрохлорид (4-[7-(аміноацетилокси)-3,5-дигідроксі-4-оксо-4Н-хромен-2-іл]-1,2-фенілен)біс(аміноацетат)тригідрохлорид загальної формули:



що має нейропротекторну, протишемічну, протигіпоксичну, седативну дію.



Фиг. 1



Spectrum from ...gc-ms\unsorted\dek-16-p1-dep-r_08_04_2014.ms
 Scan No 44 Time 0.438 minutes
 15 points averaged Background corrected (E)
 Comment 0.438 min Scans 37-51 50.0-650.0> Ion NA RIC 4.635e+9
 Pair Count 30 MW 0 Formula None
 CAS No None Acquired Range 50.0 - 650.0 m/z

Method Description: EI
 Scan 1 Channel Description: 50.0-650.0> EIDet 1700.WI.Q1 Cal.ST 0.010
 Scan Information: cp = 7.3 mTorr
 Precursor Mass Range: 50.0 - 650.0 m/z

Ion	Int Norm	Ion	Int Norm	Ion	Int Norm
53.0	4.011e-7	70	66.9	3.129e+8	548
53.9	6.234e-7	109	67.9	8.313e+7	146
56.0	5.706e-8	999	68.9	1.740e+8	306
57.0	3.636e-8	640	69.9	2.286e+8	400
58.0	7.359e-7	129	70.9	1.462e+8	256
58.9	5.17e-8	246	71.9	4.777e+7	78
60.0	5.17e-8	7	72.9	5.17e+7	22
60.9	1.266e+8	125	80.0	4.405e+7	77
62.0	3.431e-7	60	85.9	5.243e+7	74
64.9	3.609e-7	63	86.9	6.520e+7	119

Фиг. 2