

IXTIROGA
PATENT
ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI ADLIYA VAZIRLIGI HUZURIDAGI
INTELLEKTUAL MULK AGENTLIGI
АГЕНТСТВО ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ МИНИСТЕРСТВЕ ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

№ IAP 06753

Ushbu patent O'zbekiston Respublikasining
"Ixtirolar, foydali modellar va sanoat namunalari
to'g'risida"gi Qonuniga asosan quyidagi ixtiroga
berildi:

Настоящий патент выдан на основании Закона
Республики Узбекистан «Об изобретениях,
полезных моделях и промышленных образцах»,
на следующее изобретение:

Kardioprotektor vosita
Кардиопротекторное средство

Talabnoma kelib tushgan sana: **22.06.2020**
Дата поступления заявки:

Talabnoma raqami: **IAP 2020 0267**
Номер заявки:

Ustuvorlik sanasi: **22.06.2020**
Дата приоритета:

Patent egasi (egarlari): **O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi akademik S.Yu.Yunusov nomli**
Патентообладатель(и): **O'simlik moddalari kimyosi instituti, UZ**
Институт химии растительных веществ им. академик С.Ю. Юнусова Академии
наук Республики Узбекистан, UZ
M.Ulug'bek nomidagi O'zbekiston milliy universiteti huzuridagi Biofizika va
biokimyo instituti, UZ
Институт биофизики и биохимии при Национальном университете
Узбекистана имени Мирзо Улугбека, UZ

Ixtiro muallif(lar)i: **Usmanov Pulat Bekmuratovich, Jurakulov Sherzod Niyatkabulovich, Jumaev Inoyat**
Автор(ы) изобретения: **Zulfikorovich, Rustamov Shavkat Yusubovich, Zaripov Abdusalim Abdukarimovich,**
Yesimbetov Adilbay Tlepovich, Vinogradova Valentina Ivanovna, Sagdullaev
Shamansur Shaxsaidovich, UZ
Усманов Пулат Бекмуратович, Журакулов Шерзод Нияткабулович, Жумаев
Иноят Зулфикорович, Рустамов Шавкат Юсубович, Зарипов Абдисалим
Абдукаримович, Есимбетов Адилбай Тлепович, Виноградова Валентина
Ивановна, Сагдуллаев Шамансур Шахsaidович, UZ

Patent O'zbekiston Respublikasining barcha hududida 22.06.2020 yildan
patentni kuchda saqlab turish uchun boj o'z vaqtida to'langandagina 20
yil mobaynida amal qiladi.
O'zbekiston Respublikasi ixtirolar davlat reestrda 28.02.2022 yilda
Toshkent shahrida ro'yxatdan o'tkazilgan.

Патент действует на всей территории Республики Узбекистан в
течение 20 лет с 22.06.2020 года при условии своевременной
уплаты пошлины за поддержание в действии.
Зарегистрирован в государственном реестре изобретений
Республики Узбекистан, в г. Ташкент 28.02.2022 г.

Direktor
Директор

 **Т. Абдусаттаров**



(19) O'ZBEKISTON
RESPUBLIKASI



INTELLEKTUAL
MULK
AGENTLIGI

(12) Ixtiro patentiga tavsif

(11) UZ IAP 06753

(13) C

(21) IAP 2020 0267

(22) 22.06.2020

(51) XPK⁸

A61K 217/00 (2006.01),
A61K 31/4725 (2006.01),
A61K 31/353 (2006.01),
A61P 9/04 (2006.01),
A61P 9/08 (2006.01),
A61P 9/10 (2006.01)

UZ IAP 06753

(46) 31.03.2022. Бюл., № 3

(56) 1. Инструкция по применению препарата «Флаол», ТУ 9197-010-88879112-10;

2. Zhurakulov Sh. N., Babkin V. A., Chernyak E. I., Morozov S. V., Grigorev I. A., Levkovich M. G. and Vinogradova V. I. Aminomethylation of 1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisquinolines by dihydroquercetin. Chemistry of natural compounds. 2015, T. 51, №1, PP. 57-61.

3. Бабкин, В. А., Остроухова Л. А., Малков Ю. А. Химия в интересах уст. разв. 2001, Т 9, С. 363;

4. Chan E.C., Pannangpetch P., Woodman O.L. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships. J Cardiovasc Pharmacol. 2000, Vol 35, PP.326-333.

5. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M., Yaghoubi M., Bierl C., Bolotina V.M. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase and inhibition of store-operated Ca²⁺ influx. Circ Res. 1999, Vol 5, No 84(2), PP. 210-219.

6. Bers D. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature. 2002, Vol 10, No 415(6868), PP.198-205.

7. Scholz H. Introduction: Mechanisms of positive inotropic effects. Basic Research In Cardiology.1989, Vol. 84, No 1, PP. 3-7.

(72) Usmanov Pulat Bekmuratovich, Jurakulov Sherzod Niyatkabulovich, Jumaev Inoyat Zulfikorovich, Rustamov Shavkat Yusubovich, Zaripov Abdusalim Abdukarimovich, Yesimbetov Adilbay Tlepovich, Vinogradova Valentina Ivanovna, Sagdullaev Shamansur Shaxsaidovich, UZ

Усманов Пулат Бекмуратович, Журакулов Шерзод Нияткабулович, Жумаев Иноят Зулфикорович, Рустамов Шавкат Юсубович, Зарипов Абдисалим Абдукаримович, Есимбетов Адилбай Тлепович, Виноградова Валентина Ивановна, Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович, UZ

(71) O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi akademik S.Yu.Yunusov nomli O'simlik moddalari kimyosi instituti, UZ

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, UZ

M.Ulug'bek nomidagi O'zbekiston milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti, UZ

Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека, UZ

(73) O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi akademik S.Yu.Yunusov nomli O'simlik moddalari kimyosi instituti, UZ

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, UZ

M.Ulug'bek nomidagi O'zbekiston milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti, UZ

Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека, UZ

(54) KARDIOPROTEKTOR VOSITA

КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ СРЕДСТВО

(57) *Foydalanish sohasi:* kimyo-farmatsevtika sanoati, hamda miokardning qisqaruvchanlik faolligining buzilishi bilan bog'liq yurak-qon tomir kasalliklarini profilaktika qilish va davolashda, shuningdek kardio-protektor vositalarining yangi avlodini yaratishda ratsional asos sifatida qo'llash mumkin bo'lgan kardio-protektorlik faolligiga ega bo'lgan vositani olishga tegishli. *Vazifasi:* farmakologik ta'sir ko'rsatish spektri keng bo'lgan, o'zi bilan izoxinolinli alkaloid 1-aril-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetragidroizoxinolin kon'yugati(DKV-11)ni ifodalaydigan yangi samarali kardio-protektor preparatini yaratish. *Ixtironing mohiyati:* vazodilator, antioksidant va ijobiy inotrop fa-

ollikka ega bo'lgan 2-(3,4-digidroksifenil)-6-[1-(2'-brom-4',5'-dimetoksifenil)-6,7-dimetoksi-3,4-digidroizoxinolin-2(1N)-il] metil-3,5,7-trigidroksixroman-4-on (3), DKV-11 ning aniq ifodalangan kardio-protektor ta'siri aniqlandi.

Formulaning 1 m.b., 7 ta jadval, 2 shakl.

Использование: химико-фармацевтическая промышленность, и касается получения средства, обладающего кардиопротекторной активностью, которое может быть использовано для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболе-

UZ IAP 06753

- (57) ваний, связанных с нарушениями сократительной активности миокарда, а также в качестве рациональной основы при создании нового поколения кардиопротекторных средств. **Задача:** создание нового эффективного кардиопротекторного препарата с расширенным спектром фармакологического действия, представляющего собой конъюгат (ДКВ-11) флавоноида дигидрокверцетина с изохинолиновым алкалоидом 1-арил-6,7-диме-

токси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолином.

Сущность изобретения: выявлено выраженное кардиопротекторное действие 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаван-4-она (3), ДКВ-11, обладающего вазодилаторной, антиоксидантной и положительной инотропной активностью. 1 н.п. ф-лы, 7 табл., 2 фиг.

Изобретение относится к области химико-фармацевтической промышленности и касается получения средства, обладающего кардиопротекторной активностью, который может быть использован для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с нарушениями сократительной активности миокарда, а также в качестве рациональной основы при создании нового поколения кардиопротекторных средств.

Патологии сердечно-сосудистой системы продолжают сохранять ведущие позиции в общей структуре заболеваемости и смертности во всем мире, приводя ежегодно к 17.3 млн. летальных исходов, и по прогнозам экспертов ВОЗ к 2020 г. эта цифра может достичь 25 млн [1].

Наиболее распространенной патологией сердца является сердечная недостаточность (СН), которая представляет собой тяжёлое осложнение практически всех заболеваний сердечно-сосудистой системы [2]. Сердечная недостаточность характеризуется заметным ослаблением сократительной активности сердечной мышцы, которая развивается в результате повреждений миокарда, возникающих при артериальной гипертензии (АГ) и ишемической болезни сердца [3]. Артериальная гипертензия (АГ), состояние при котором сердцу приходится преодолевать препятствие кровотоку для обеспечения адекватного снабжения органов и тканей, является главной причиной развития СН [4]. При этом, развитию СН способствуют повреждения функции артерий сердца, расстройство энергетического метаболизма миокарда, нарушения функции ионных каналов и ионного баланса в кардиомиоцитах [5]. Ключевым фактором, запускающим эти процессы, является ишемия/гипоксия, развивающаяся при нарушении коронарного кровообращения, которая приводит к повреждению продукции митохондриями АТФ и креатинфосфата, основных источников энергии в кардиомиоцитах [6]. Эти нарушения функции митохондрий, в свою очередь, приводят к накоплению активных форм кислорода (АФК), ацидозу цитоплазмы кардиомиоцитов и их перегрузке ионами Ca^{2+} [7]. Перегрузка кардиомиоцитов ионами Ca^{2+} является главным триггером, запускающим ряд патологических процессов, сопровождаемых серьезными повреждениями не только в электрической и сократительной активности кардиомиоцитов, но и в их структурной организации. При этом существенным повреждением подвергаются механизмы, ответственные за внутриклеточную циркуляцию ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах, которые играют ведущую роль в регуляции функциональной и сократительной активности миокарда [8]. Установлено, что происходящие при этом повреждения циркуляции Ca^{2+} в кардиомиоцитах наблюдаются при различных патологиях сердца и в основном связаны с нарушением механизмов регуляции рианодинового рецептора (RyR2) и Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикула (СР) [9]. В результате таких нарушений функции RyR2 и Ca^{2+} -АТФазы происходит неконтролируемая утечка Ca^{2+} из СР и уменьшается закачка ионов Ca^{2+} в СР, что приводит к подавлению сократительной активности миокарда и развитию СН [10].

Во многом сходные процессы запускаются гипоксией и в гладкомышечных клетках (ГМК) кровеносных сосудов, которые приводят к нарушению их тонуса и транспортной функции. В основе этих нарушений также лежит увеличение внутриклеточного уровня ионов Ca^{2+} в ГМК, сопровождаемое усилением их тонуса и развитием вазоспазма. При этом перегрузка ГМК ионами Ca^{2+} в основном связана с нарушением функции K^+ и Ca^{2+} каналов и внутриклеточных систем, участвующих в регуляции их активности [11]. Существенный вклад в развитии этих нарушений вносят АФК, уровень которых при гипоксии в ГМК резко возрастает [12]. При этом ведущую роль играют нарушения функции эндотелия кровеносных сосудов, которые вырабатывая ряд факторов, обеспечивающих контроль над сосудистым тонусом, гемостатическим балансом и Ca^{2+} -гомеостазом в ГМК [13]. Среди этих факторов особое место занимает оксид азота (NO), который обладает рядом уникальных свойств, имеющих важное значение для физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы [14]. В физиологических условиях NO играет ведущую роль в регуляции артериального давления и общей циркуляции крови, а также способствует оптимизации метаболических процессов в миокарде и его функциональной активности [15]. Вместе с тем, NO участвует в развитии атеросклеротических изменений сосудистой стенки, ремоделировании сосудов и миокарда. Поэтому, развитие большинства сердечно-сосудистых заболеваний прямо связано с нарушением функции эндотелия, которое сопровождается подавлением продукции NO, снижением уровня которого способствует дальнейшему повреждению сосудов и миокарда [16]. В связи с этим разработка способов защиты эндотелия от повреждающего действия различных экстремальных факторов, а также поиск подходов модуляции активности синтазы NO (NOS), является одним из перспективных направлений современной стратегии кардиопротекции.

Современная стратегия лечения СН основывается на вышеописанных представлениях о патофизиологических механизмах её развития, и, в основном, направлена на повышение сократительной активности миокарда, улучшение кровообращения миокарда, коррекцию нарушений энергетических процессов в миокарде и защиту клеточных структур от окислительного стресса [17]. К настоящему времени разработан целый арсенал лекарственных средств, обладающих кардиопротекторными свойствами, которые широко используются во всем мире при лечении СН. Большую группу этих лекарств составляют инотропные препараты, известными представителями которых являются сердечные гликозиды [18]. Одним из широко используемых представителей этой группы является дигоксин, обладающий выраженным положительным инотропным эффектом, который, увеличивая силу сокращений миокарда, обеспечивает усиление сердечного выброса [19]. При лечении СН также широко используются β -1-адреномиметики, допаминергические средства, ингибиторы фосфодиэстеразы и сенситизаторы кальция [17]. β -1-Адреномиметик добутамин, увеличивая частоту сердечных сокращений и ударный объем сердца, способствует снижению.

периферического сосудистого сопротивления и улучшению снабжения миокарда кислородом [20]. Агонист допаминовых рецепторов – допамин через активацию α - и β -адренорецепторов и усиление выделения норадреналина, обеспечивает увеличение силы сокращения сердца и сердечного выброса. Вместе с тем допамин, обеспечивая перераспределение общего сосудистого и периферического сопротивления, способствует стабилизации системного артериального давления [21]. В последние годы при лечении СН широко используются ингибиторы фосфодиэстеразы-5, которые обеспечивают увеличение силы сокращения сердца без стимуляции адренорецепторов и без повышения потребности в кислороде [22]. Этот эффект ингибиторов фосфодиэстеразы-5, обеспечивается благодаря увеличению уровня цАМФ и усилению поступления Ca^{2+} в кардиомиоциты, потенцирующих сократительную активность миокарда. Положительный инотропный эффект сенситизатора кальция, левосимендана, обеспечивается благодаря увеличению чувствительности сократительных белков кардиомиоцитов к кальцию [23]. В результате такого действия левосимендана снижается нагрузка объемом и сопротивлением, что способствует усилению сократительной активности миокарда без нарушения диастолического расслабления. Важное место в ряду препаратов первого ряда для терапии СН отводится блокаторам β -адренорецепторов, которые ограничивая выделение норадреналина и подавляя силу сердечных сокращений, снижают токсическое действие норадреналина и улучшают функцию сердца. В частности, карведилол, обладающий антиаритмическим, гипотензивным и антиоксидантным свойствами, снижая частоту сердечных сокращений и преднагрузку на сердце, проявляет выраженное кардиопротекторное действие [24]. В последние три десятилетия в лечении СН одно из главных мест занимают ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), которые, тормозя активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, блокируют активность ангиотензина II [25]. Благодаря такому действию ингибиторы АПФ обеспечивают снижение общего периферического сопротивления и артериального давления, что способствует улучшению кровотока, снижению систолической дисфункции миокарда и его электрической нестабильности [26].

При наличии симптомов нарушения водно-солевого обмена комплексная терапия СН включает использование диуретиков, которые, увеличивая диурез, обеспечивают снижение объема циркулирующей крови и способствуют улучшению работы ослабленного и патологически измененного миокарда в результате уменьшения объема циркулирующей крови [27]. При комплексной терапии СН с диастолической дисфункцией левого желудочка, обусловленной его гипертрофией, дополнительно с ингибиторами АПФ, диуретиками и дигоксином широко используются блокаторы Ca^{2+} каналов L-типа [28]. Благодаря отрицательному инотропному и хронотропному действию блокаторы Ca^{2+} каналов обеспечивают активное расслабление миокарда, улучшают диастолическое наполнение левого желудочка и, ограничивая Ca^{2+} -перегрузку, способствуют усилению загрузки Ca^{2+} -в СН [29].

В последние годы при лечении СН особое внимание уделяется кардиопротекторным средствам метаболического типа, таким как триметазидин – антиишемический модулятор метаболизма кардиомиоцитов, который, уменьшая ишемические повреждения миокарда, улучшает сократительную функцию сердца [30]. Этот эффект триметазидина обеспечивается благодаря ингибированию ацетил-СоА-С-ацилтрансферазы и усилению окисления глюкозы и блокады окисления жирных кислот, что способствует улучшению энергетического метаболизма, уменьшению ацидоза и накопления Ca^{2+} , а также нормализации сократительной активности миокарда [31].

Однако, несмотря на достигнутые в последние десятилетия значительные успехи в профилактике и лечении СН, проблема эффективной и полноценной терапии этого заболевания еще далека от своего решения. Во многом это предопределяется тем, что большинство лекарств, используемых при терапии СН, наряду с выраженной эффективностью обладают рядом серьезных побочных эффектов, которые значительно ограничивают их эффективность и возможность их широкого применения в клинической практике. В частности, характерным побочным эффектом сердечных гликозидов является нарушение электролитного обмена и развитие гипокалиемии и гиперкальциемии, что способствует расстройству сердечного ритма и развитию брадикардии и фибрилляции желудочков [32]. β -1-Адреномиметик добутамин, наряду с усилением работы сердца и повышением потребления миокардом кислорода, также, обладает проаритмическим действием, что усугубляет коронарную недостаточность [33]. Побочный эффект допамина заключается в нарушении проводимости сердца, аритмиях предсердий и желудочков, вазоконстрикции, сопровождаемой артериальной гипертензией, что ограничивает его применение при серьезных повреждениях функции левого желудочка [34].

Наиболее выраженным побочным эффектом ингибиторов фосфодиэстеразы-5 является снижение артериального давления, обусловленное увеличением уровня с GMP в гладкомышечных клетках, которое сопровождается нарушением коронарного кровотока [35]. Побочными эффектами левосимендана являются артериальная гипотензия, нарушения сердечного ритма, включая тахикардию желудочков и фибрилляцию предсердий [36]. Главным побочным эффектом блокаторов β -адренорецепторов является отрицательный инотропный эффект, который сопровождается снижением частоты сердечных сокращений, замедлением проводимости, удлинением рефрактерного периода и развитием выраженной брадикардии [37]. Побочные эффекты, связанные с применением иАПФ, в первую очередь обусловлены снижением продукции ангиотензина и секреции альдостерона, что способствует развитию гиперкалиемии, сопровождаемой артериальной гипотензией и нарушением сердечной проводимости [38].

Характерным побочным эффектом диуретиков является активация ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатно-адреналовой систем, сопровождаемой нарушением электролитного баланса и

развитием нарушений ритма сердца [39]. Побочным эффектом блокаторов Ca^{2+} каналов является их вазодилаторная активность, благодаря которой развивается артериальная гипотензия и брадикардия, сопровождаемая снижением нагнетательной функции сердца [40].

В отличие от других препаратов, триметазидин обладает умеренными и хорошо переносимыми побочными эффектами, однако, его применение противопоказано больным с болезнью Паркинсона, у которых он может усугублять нарушения двигательной функции [31].

С учетом вышеизложенного создание новых эффективных и малотоксичных кардиопротекторных средств, является одной из актуальных задач современной фармакологии и кардиологии. По данным ВОЗ наиболее перспективным источником для создания эффективных кардиопротекторных средств являются биологически активные соединения (БАС) растительного происхождения. Это обусловлено тем, что большинство растительных БАС обладают широким спектром терапевтического действия и структурой близкой с метаболитами организма, что обеспечивает возможность комплексной терапии, с минимальным риском возникновения побочных эффектов [41]. В этом плане особый интерес представляют полифенольные соединения такие как флавоноиды, которые, благодаря их уникальным фармакологическим свойствам, широко используются при терапии сердечно-сосудистых патологий. В последние годы одним из подходов рационального создания новых кардиопротекторных препаратов является молекулярная гибридизация, основанная на сочетании соединений с различными фармакологическими активностями в одной молекуле [42].

Более близким аналогом является «Флаол» [43], его латинское название Dihydroquercetin (ДГК) [43].

Препарат представляет собой флавоноид дигидрокверцетин нативной формы, получаемый из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы даурской (*Larix Dahurica* Nurcz.). ДГК- Мелкокристаллический порошок светло-кремового цвета без запаха.

Фармакологические свойства: препарат обладает мощным антиоксидантным действием, реактивирующим сульфгидрильные соединения и витамин С, а также глутатион и токоферолы; препятствуя повреждающему действию свободных радикалов, тормозит процессы перекисного окисления липидов клеточных мембран и липопротеидов сыворотки крови, улучшает внутритканевое дыхание; тормозит действие гиалуронидазы - фермента, нарушающего целостность сосудистой стенки; оказывает капилляропротективное действие, уменьшает проницаемость и ломкость капилляров, улучшает микроциркуляцию крови; препарат способен связываться с бензодиазепиновыми рецепторами в головном мозге, обуславливая седативный, гипотензивный и обезболивающий эффект; нейтрализует канцерогенные для ЖКТ нитрозамины. Обладает антиоксидантным действием, защищая печень от гепатотропных ядов, таких, как тетрациклин, тетрахлорметан, этиловый спирт.

Препарат обладает широким спектром действия: укрепляет стенки сосудов (в т.ч. капилляров), тормозит преждевременное старение клеток и развитие различных заболеваний. Улучшает коронарный кровоток, улучшает микроциркуляцию крови, способствует нормализации возбудимости и проводимости сердечной мышцы; нормализует уровень холестерина и триглицеридов в крови. Ингибируя агрегацию тромбоцитов, препятствует развитию атеросклероза, уменьшает риск возникновения инсульта и инфаркта. При этом наличие антиоксидантных, капилляропротекторных свойств сочетается с противовоспалительным, гепатопротекторным и диуретическим действием; обладает радиопротекторной активностью, уменьшает неблагоприятное воздействие на организм химио- и радиотерапии; тормозит развитие дистрофических и склеротических процессов в глазах, повышает остроту зрения; благоприятно влияет на кожные покровы, нормализует синтез коллагена, эластина в коже, способствует сохранению упругости кожных покровов; при длительном приеме предупреждает обострение хронических заболеваний органов дыхания и возникновения ОРВИ, оказывает противовирусное действие, способствует поддержанию функций иммунной системы. Выраженный седативный и антистрессовый эффект способствует расслаблению гладкой мускулатуры бронхов, расширению их просвета и устранению отека; обладает гастропротекторной активностью: стимулирует процессы регенерации слизистой оболочки желудка, предотвращает развитие и способствует заживлению язвы желудка и двенадцатиперстной кишки; повышает устойчивость тканей организма к повреждающему воздействию избыточного содержания сахара в крови, снижает вероятность заболевания диабетом, а также облегчает течение развившихся его форм; оказывает выраженную профилактику основных признаков старения, препятствуя возникновению рака, сердечнососудистых заболеваний, болезней мозга.

Конъюгат (ДКВ-11) проявил более эффективное кардиопротекторное действие по выраженности существенно превосходящее близкого аналога таксифолина, который проявляет свои эффекты при более высоких концентрациях и обладает аллергенным свойством по сравнению с ДКВ-11.

Задачей настоящего изобретения - создание нового эффективного кардиопротекторного препарата с расширенным спектром фармакологического действия, представляющего собой конъюгат (ДКВ-11) флавоноида дигидрокверцетина с изохинолиновым алкалоидом 1-арил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолином.

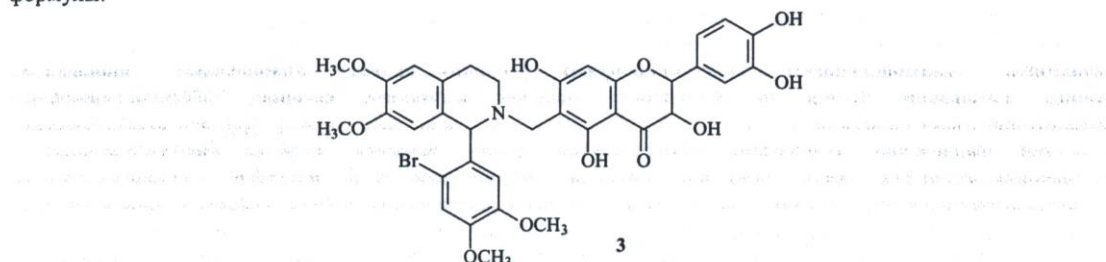
Новизной данного изобретения является разработка нового класса кардиопротекторного препарата, обладающего комплексным механизмом действия, которое обеспечивается благодаря синергетическому эффекту входящих в состав конъюгата компонентов, обладающих вазодилаторным, антиоксидантным и положительным инотропным свойствами.

Преимуществом данного изобретения является то, что при решении поставленной задачи использованы мало токсичные компоненты, полученные из растительного сырья (наименование растений) и

обладающие выраженным вазодилаторным, инотропным и антиоксидантным действием. Кардиопротекторные свойства конъюгата выгодно отличаются от других препаратов данной фармакотерапевтической группы, благодаря одновременному сочетанию в себе вазодилаторных, инотропных и антиоксидантных свойств, которые синергетически могут обеспечить уникальный комплекс фармакологических эффектов. Благодаря такому действию конъюгат может улучшать коронарное кровообращение и сократительную активность миокарда, а также снижать уровень АФК в кардиомиоцитах.

Сущность изобретения заключается в выявлении выраженного кардиопротекторного действия 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаванон-4-она (3), ДКВ-11, обладающего вазодилаторной, антиоксидантной и положительной инотропной активностью.

По химическому строению 3 является 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаванон-4-оном (3) ДКВ-11 формулы:



ДКВ-11

К заявляемому соединению нет близких аналогов по химической структуре и его кардиопротекторные свойства исследованы впервые.

Решение поставленной задачи иллюстрируют следующие примеры:

Пример 1. Способ получения 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаванон-4-она (3), ДКВ-11.

Соединение 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаванон-4-он (3) получено по методу [44] по схеме 1:

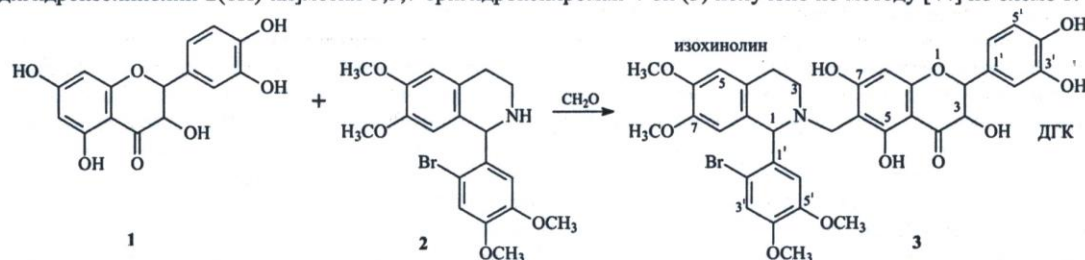


Схема 1.

Экспериментальная часть

ЯМР ^1H -спектр регистрировали на спектрометрах UNITY-400, (растворитель CDCl_3 , внутренний стандарт-ГМДС). Значения R_f определены методом ТСХ на пластинах силикагеля LS 5/40 с использованием элюирующей системы хлороформ:метанол 6:1. Температура плавления вещества 3 определена на микростоліке «BOETIUS».

Дигидрокверцетин (ДГК), химическое название - 3,5,7,3',4'-пента-гидроксифлаванон получен из *Larix sibirica* [45, 46] (CAS № 480-18-2), 1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (2) синтезировали по ранее описанному методу [47], физико-химические характеристики соответствовали литературным данным.

2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил]метил-3,5,7-тригидроксифлаванон-4-она (3), ДКВ-11

К раствору 0.20 г (0.49 ммоль) 1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина (2) в 10 мл изопропилового спирта прибавляли раствор дигидрокверцетина (1) (0.15 г, 0.49 ммоль) в 5 мл изопропилового спирта при перемешивании в течение 10 минут. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 30°C , затем прикапали 0.05 мл (0.54 ммоль) 30 %-го раствора формалина ($d=1.092$). Сразу началось выпадение осадка. Реакционную смесь перемешивали еще 4 ч при 30°C и оставляли при комнатной температуре на 10 ч. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ. Затем осадок отфильтровали, промыли изопропиловым спиртом. Остаток кристаллизовали из этанола. Выход 0.31 г (89%), т. пл. $169-171^\circ\text{C}$ (из этилового спирта), R_f 0.67 (хлороформ:метанол, 6:1).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J/Гц): дигидрокверцетиновый фрагмент: 3.70(2H, с, NCH_2), 4.33(1H, д, $J=11.4$, H-3), 4.66(1H, уш. сигнал, H-2), 5.81(1H, с, H-8), 6.72, 6.78(каждый 1H, д, $J=7.7$, H-5', 6'), 6.88(1H, с, H-2'); 1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолиновый

фрагмент: 2.70, 3.03, 3.21(4H, все м, Н-3, 4), 3.59(3H, с, 7-ОСН₃), 3.64(3H, с, 6-ОСН₃), 3.81(6H, с, 4', 5'-ОСН₃), 5.13(1H, с, Н-1), 6.10(1H, с, Н-8), 6.56(1H, с, Н-6'), 6.73(1H, с, Н-5), 6.99(1H, с, 3').

Пример 2. Изучение вазодилаторной активности препарата ДКВ-11.

Вазодилаторную активность заявляемого препарата ДКВ-11 изучали на изолированных сегментах аорты в виде колец, выделенных из беспородных белых крыс и помещенных в экспериментальную камеру, перфузируемую физиологическим раствором Кребса в условиях КС1 - и фенилэфрин-индуцированной контрактуры. Сократительную активность аорты регистрировали с помощью механографической установки и датчика напряжения FT-03 (Grass Instrument Co., США). В этих экспериментах было обнаружено, что препарат ДКВ-11, обладает выраженным, доза-зависимым вазодилаторным эффектом и максимально подавляет амплитуду сокращений сегментов аорты, индуцированных 1 мкМ фенилэфрином (ФЭ) на 90.3±3.4%, при концентрации 100 мкМ (Таблица 1). При этом значение IC₅₀ (концентрация ДКВ-11, вызывающая 50% максимального эффекта) составляло 23.7 мкМ. В таблице 1 также представлены результаты эффектов на ФЭ-индуцированные сокращения сегментов аорты, дигидрохверцина (ДГК), широко известного как флаол, обладающего гипотензивным и кардиопротекторным действием, который использован нами в качестве препарата сравнения. При этом ДГК максимально подавлял амплитуду ФЭ-индуцированных сокращений сегментов аорты на 79.5±3.8%, от контрольного уровня, при концентрации 125 мкМ и со значением IC₅₀ - 30,9 мкМ.

Таблица 1

Вазодилаторный эффект препаратов ДКВ-11 и ДГК.			
Препарат	Вазодилатация %		
	Концентрация (мкМ)	E _{max}	IC ₅₀
ДКВ-11	25	43.9±3.7	23.7 мкМ
	50	79.5±4.1	
	100	90.3±3.4	
ДГК	25	29.7±3.8	30.9 мкМ
	50	65.4±4.2	
	100	80.8±3.8	
	125	81.6±3.7	

Примечание: вазодилатация выражена в процентах от амплитуды сокращения сегментов аорты, индуцированной 1 мкМ фенилэфрином и принятой за 100%. (p<0.05; n=4-6).

Эти данные свидетельствуют о том, что заявляемый препарат ДКВ-11, существенно превосходит препарат сравнения ДГК по вазодилаторной активности, так как он подавляет ФЭ-индуцированные сокращения сегментов аорты в значительно большей степени, по сравнению с ДГК, и при меньшей величине IC₅₀.

В основе гипотензивного эффекта большинства флавоноидов, включая ДГК, лежит их вазодилаторная активность, которая обеспечивается двумя механизмами - эндотелий-независимым и эндотелий-зависимым [48]. Эндотелий-независимый механизм обусловлен ингибированием поступления ионов Ca²⁺ в ГМК из внеклеточной среды и подавлением их высвобождения из СР [49]. В наших экспериментах вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 зависел от ионов Ca²⁺ и заметно подавлялся в присутствии специфического блокатора Ca²⁺-каналов L-типа верапамила (Таблица 2). При этом препарат ДКВ-11 и верапамил почти с одинаковой эффективностью подавляли сокращения сегментов аорты, индуцированные 50 мМ КС1

Таблица 2

Влияние ионов Ca²⁺ и блокатора Ca²⁺ каналов L-типа верапамила на вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 и ДГК.

Препарат	Амплитуда сокращения %			
	Ca ²⁺ (мМ)			Верапамил (мкМ)
	0.1	1	2.5	0.1
Контроль	28.9±3.1	72.5±3.4	100±2.5	50±4.3
ДКВ-11	2.9±2	12.6±3.2	18.7±3.8	34.8±3.8
ДГК	3.1±2.1	17.5±4.2	27.9±4	13.3±3.9

Примечание: амплитуда сокращения сегмента аорты, выражена в процентах от амплитуды, индуцированной 50 мМ КС1 и принятой за 100%. (p<0.05; n=4-5).

Эти данные свидетельствуют о том, что вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 может обеспечиваться благодаря подавлению поступления ионов Ca²⁺ в ГМК через Ca²⁺-каналы L-типа. Вместе с тем нами было обнаружено, что препарат ДКВ-11 существенно подавляет сокращения сегментов аорты, индуцированные ФЭ в растворах Кребса, не содержащих ионы Ca²⁺, которые обеспечиваются в основном ионами Ca²⁺ высвобождаемыми из СР [50]. В этих экспериментах препарат ДКВ-11 подавлял сокращения сегментов аорты, индуцированные ФЭ (1мкМ), в растворах Кребса без ионов Ca²⁺, на 48.8±3.5% (Рисунок 1). Эти результаты свидетельствуют о том, что вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 также может быть связан с подавлением высвобождения ионов Ca²⁺ из СР.

Рисунок 1. Влияние препаратов ДКВ-11 и ДГК на сокращения сегментов аорты, индуцированные фенилэфрином (1мкМ) в растворах Кребса без ионов Ca²⁺. По оси ординат сила сокращения сегмента аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной ФЭ (1 мкМ) и принятой за 100%. (*p<0.05, **p<0.01; n=5)

Эндотелий-зависимый механизм вазодилаторного действия флавоноидов обеспечивается путем активации NO/гуанилатциклазной системы, сопровождаемой снижением уровня ионов Ca^{2+} в ГМК, в результате уменьшения их поступления через Ca^{2+} -каналы и усиления их закачки в СР [51]. Нами было обнаружено, что удаление эндотелия сопровождается существенным снижением вазодилаторного эффекта препаратов ДКВ-11 и ДГК. При этом было установлено, что при удалении эндотелия, препарат ДКВ-11 подавляет ФЭ-индуцированные сокращения сегментов аорты на $60.5 \pm 3.9\%$, что на 29.8% меньше его эффекта на сегментах аорты с интактным эндотелием (Таблица 3). Удаление эндотелия в меньшей степени сказывалось на вазодилаторном эффекте ДГК, который уменьшался всего на 11.1% (Таблица 3). Эти результаты свидетельствуют о том, что в обеспечении вазодилаторного эффекта конъюгата ДКВ-11 важную роль играет эндотелий и NO-гуанилатциклазная сигнальная система. Для подтверждения участия NO/гуанилатциклазной системы в вазодилаторном действии конъюгата ДКВ-11 и ДГК были изучены их эффекты в присутствии ингибиторов синтазы оксида азота (NOS) - L-NAME и гуанилатциклазы (ГЦ) - метиленового синего (МС). В этих экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация сегментов аорты с интактным эндотелием, в присутствии L-NAME (100 мкМ), приводит к уменьшению вазодилаторного эффекта препаратов ДКВ-11 (100 мкМ) и ДГК (125 мкМ) на 24.5% и 8.2% , соответственно (Таблица 3).

Таблица 3
Эндотелий-зависимое и независимое вазодилаторное действие препаратов ДКВ-11 и ДГК.

Условия эксперимента	Вазодилатация %			
	ДКВ-11		ДГК	
	E_{max}	$IC_{50} \text{ (мкМ)}$	E_{max}	$IC_{50} \text{ (мкМ)}$
Эндотелий (+)	90.3 ± 3.4	23.7	81.6 ± 3.7	30.9
Эндотелий (-)	60.5 ± 3.9	38.2	70.5 ± 3.9	40.1
L-Name (100 мкМ)	65.8 ± 3.2	26.9	73.4 ± 3.8	38.2
Метилен.синий (10 мкМ)	69.8 ± 3.3	26.5	76.6 ± 4.1	34.9

Примечание: вазодилатация выражена в процентах от амплитуды сокращения сегментов аорты, индуцированного 1 мкМ фенилэфрином и принятой за 100% . ($p < 0.05$; $n = 5-6$).

Из представленных данных видно, что в присутствии L-NAME вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 снижается на величину, которая существенно не отличается от величины его эффекта на сегментах аорты с удаленным эндотелием. На сегментах аорты, преинкубированных с МС (10 мкМ), вазодилаторный эффект препаратов ДКВ-11 (100 мкМ) и ДГК (125 мкМ) уменьшался на 20.5% и 5.0% , соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 в большей степени связан с активацией синтазы NO, которая играет ведущую роль в процессе расслабления ГМК [52]. Таким образом полученные данные свидетельствуют о том, что вазодилаторный эффект препарата ДКВ-11 обеспечивается комплексным механизмом, включающим прямое ингибирование Ca^{2+} -каналов L-типа, активацию NOS, гуанилатциклазной системы и Ca^{2+} -АТФазы СР, сопровождаемых снижением уровня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в ГМК и их расслаблением.

Пример 3. Инотропная активность препарата ДКВ-11.

Инотропную активность препарата ДКВ-11 изучали на изолированной папиллярной мышце левого желудочка сердца беспородных белых крыс, помещенных в специальную экспериментальную камеру (STEIRT, Hugo Sachs Electronik, Germany). Папиллярную мышцу перфузировали оксигенированным карбогеном (O_2 - 95% , CO_2 - 5%) раствором Кребса при температуре 37°C . Мышцу стимулировали импульсами прямоугольной формы частотой 1 Гц , длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на 20% . Регистрацию сокращений мышцы осуществляли в изометрическом режиме с помощью механографической установки и датчика напряжения F30 (HSE, USA). В этих экспериментах было установлено, что заявляемый препарат ДКВ-11 обладает выраженным положительным инотропным эффектом (ПИЭ) и максимально увеличивает амплитуду сокращения папиллярной мышцы на $77.4 \pm 4.2\%$, от контрольного уровня (Таблица 4).

Таблица 4

Положительный инотропный эффект препаратов ДКВ-11 и ДГК.

Препарат	Амплитуда сокращения (%)		
	Концентрация (мкМ)	E_{max}	EC_{50}
ДКВ-11	5	107.3 ± 3.2	9.7 мкМ
	15	143.8 ± 3.3	
	25	170.9 ± 3.4	
	35	177.4 ± 4.2	
ДГК	15	116 ± 3.1	21.2 мкМ
	30	133.5 ± 3.9	
	45	147 ± 3.8	
	60	151.4 ± 3.4	

Примечание: амплитуда сокращения папиллярной мышцы, выражена в процентах от амплитуды контрольного сокращения, полученной при 1 Гц и принятой за 100% . ($p < 0.05$; $n = 5-6$).

При этом значение EC_{50} , концентрация препарата ДКВ-11, вызывающая 50% максимального эффекта, составляло 9.7 мкМ. В аналогичных экспериментах препарат ДГК также вызывал ПИЭ и максимально увеличивал амплитуду сокращения мышцы на $51.4 \pm 3.9\%$ от контрольного уровня, с EC_{50} 21.2 мкМ (Таблица 4). Эти данные свидетельствуют о том, что препарат ДКВ-11, обладает более выраженным ПИЭ по сравнению ДГК, так как он увеличивает силу сокращения папиллярной мышцы в значительно большей степени ($77.4 \pm 4.2\%$) чем ДГК ($51.4 \pm 3.9\%$) и при меньшей величине EC_{50} . В основе ПИЭ большинства фармакологических агентов лежит увеличение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах, которое обеспечивают различные механизмы [53]. При этом ведущую роль играет активация Ca^{2+} -каналов L-типа и $RyR2$ СР, которую обеспечивает циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), концентрация которого возрастает при стимуляции β_2 -адренорецепторов (β_2 -AR) и активации аденилатциклазы (АЦ) [54]. В наших экспериментах, выполненных в присутствии блокатора β_2 -AR пропранолола (10 мкМ), эффект препарата ДКВ-11 (35 мкМ) на амплитуду сокращения папиллярной мышцы составлял $87.8 \pm 3.5\%$ (Таблица 5).

Таблица 5

Влияние блокады β -адренорецепторов и Ca^{2+} -каналов L-типа на положительный инотропный эффект препаратов ДКВ-11 и ДГК.

Условия эксперимента	Амплитуда сокращения (%)		
	Контроль	ДКВ-11 (35мкМ)	ДГК (60мкМ)
Пропранолол (10 мкМ)	62.5 ± 3.2	87.8 ± 3.5 (n=6)	68.4 ± 3.3 (n=5)
Нифедипин (0.01 мкМ)	50.4 ± 4.1	85.4 ± 3.6 (n=5)	71.5 ± 3.6 (n=7)

Примечание: амплитуда сокращения папиллярной мышцы, выражена в процентах от амплитуды контрольного сокращения, полученной при 1 Гц и принятой за 100%. ($p < 0.05$; $n = 5-6$).

Снижение ПИЭ препарата ДКВ-11, в условиях блокады β_2 -AR, указывает на то, что его реализация связана с активацией β_2 -AR/АЦ/цАМФ сигнальной системы, которая обеспечивает увеличение поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через Ca^{2+} -каналы L-типа. Это находит подтверждение в экспериментах с нифедипином, специфическим блокатором Ca^{2+} -каналов L-типа, в присутствии которого ПИЭ конъюгата ДКВ-11, также заметно подавлялся (Таблица 5). При этом на фоне 0.01 мкМ нифедипина, концентрации соответствующей его значению IC_{50} , препарат ДКВ-11 (35 мкМ) увеличивал амплитуду сокращения папиллярной мышцы всего на $85.4 \pm 3.6\%$ (Таблица 5). Эти данные свидетельствуют о том, что в основе ПИЭ конъюгата ДКВ-11 лежит увеличение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах, которое обеспечивается благодаря активации β_2 -AR/АЦ/цАМФ сигнальной системы. Однако, в увеличении уровня $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах, при активации β_2 -AR/АЦ/цАМФ сигнальной системы, также участвуют ионы Ca^{2+} высвобождаемые из СР через RyR [55]. Для проверки участия ионов Ca^{2+} , высвобождаемых из СР, в обеспечении ПИЭ препарата ДКВ-11 нами было изучено его влияние на пост-рест потенциацию силы сокращения папиллярной мышцы, которая отражает процессы загрузки и высвобождения ионов Ca^{2+} в СР [56]. В этих экспериментах было обнаружено, что в присутствии препарата ДКВ-11 (35 мкМ) и ДГК (60 мкМ) амплитуда сокращения мышцы, после периода покоя (30 сек), увеличивается от контрольного уровня, на $93.1 \pm 3.8\%$ и $43.2 \pm 4.8\%$ соответственно (Рис.2). Эти результаты свидетельствуют о том, что в присутствии препарата ДКВ-11 происходит дополнительное накопление ионов Ca^{2+} в СР, в результате которого в ответ на стимуляцию высвобождается больше ионов Ca^{2+} , которые и обеспечивают наблюдаемый прирост силы сокращения папиллярной мышцы. В связи с тем, что загрузка ионов Ca^{2+} в СР, которую обеспечивает Ca^{2+} -АТФаза СР, в основном участвуют ионы Ca^{2+} , поступающие через Ca^{2+} -каналы [53], результаты наших экспериментов с нифедипином могут подтверждать влияние конъюгата ДКВ-11 на накопление ионов Ca^{2+} в СР.

Рисунок 2. Влияние препаратов ДКВ-11 и ДГК на пост-рест потенциацию папиллярной мышцы сердца кпысы. По оси ординат пост-рест потенциация, выраженная в %, от амплитуды контрольного сокращения, полученной при 1 Гц и принятой за 100% ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$; $n = 5$).

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что в основе ПИЭ препарата ДКВ-11 лежит увеличение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах, которое обеспечивается благодаря активации β_2 -AR/АЦ/цАМФ сигнальной системы и поступлению ионов Ca^{2+} через Ca^{2+} -каналы L-типа. Усиление поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах в свою очередь, может сопровождаться дополнительным накоплением ионов Ca^{2+} в СР, что также будет способствовать усилению их высвобождения и росту силы сокращения сердечной мышцы.

Пример 4. Оценка кардиопротекторной активности препарата ДКВ-11.

Кардиопротекторную активность заявляемого препарата ДКВ-11 оценивали используя *in vitro* модели гипоксии и окислительного стресса. Эти модели создавали путем инкубации сегментов аорты и папиллярной мышцы сердца крысы в растворе Кребса, аэрируемого смесью (95% N_2 / 5% CO_2) и внесением в среду инкубации перекиси водорода [57, 58]. В этих экспериментах перфузия сегментов аорты гипоксическим раствором Кребса в течении 60 мин, приводила к существенному подавлению амплитуды ФЭ-индуцированных сокращений, которая снижалась до $44.7 \pm 2.8\%$ от контрольного уровня (Таблица 6). Этот эффект гипоксии связан с нарушением Ca^{2+} гомеостаза в ГМК, обусловленного в основном угнетением функции эндотелия и NO/гуанилатциклазной сигнальной системы, в результате их окислительной модификации [59]. При этом ключевую роль

Таблица 6

Влияние препаратов ДКВ-11 и ДГК на сократительную активность сегментов аорты, в условиях гипоксии и окислительного стресса.

Условия эксперимента	Амплитуда сокращения %		
	Контроль %	ДКВ-11 (15 мкМ)	ДГК (25 мкМ)
		$E_{\max}$	$E_{\max}$
Гипоксия (95% N ₂ / 5% CO ₂) (60 мин)	44.7±2.8	5.4±3.7	14.7±3.6
Окислительный стресс (H ₂ O ₂) (50 мкМ)	46.8±4.2	10.4±4.1	21.8±3.8

Примечание: амплитуда сокращения сегмента аорты, выражена в процентах от амплитуды, индуцированной 1 мкМ фенилэфрином и принятой за 100%. ($p < 0.05$; $n = 4-5$).

Играет избыток активных форм кислорода, которые ингибируя NOS и снижая продукцию NO, приводят к уменьшению уровня Ca²⁺ в ГМК и подавлению сократительной активности ГМК [60]. В наших экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация сегментов аорты в присутствии препарата ДКВ-11, сопровождается заметным снижением эффекта гипоксии на амплитуду ФЭ-индуцированных сокращений. При этом было установлено, что на сегментах аорты, преинкубированных с препаратом ДКВ-11 (15 мкМ), эффект гипоксии на амплитуду ФЭ-индуцированных сокращений, уменьшается с 44.7±2.8 % до 5.4±3.7 % (Таблица 6). Аналогичный, но менее выраженный защитный эффект наблюдался и на сегментах аорты, преинкубированных с ДГК (25 мкМ), где действие гипоксии на амплитуду ФЭ-индуцированных сокращений снижалось с 44.7±2.8 % до 14.7±3.6 % (Таблица 6). Эти данные указывают на то, что препараты ДКВ-11 и ДГК способны предотвращать повреждения функциональной активности аорты, вызываемые гипоксией, что свидетельствует о их защитном действии. Аналогичный защитный эффект препаратов ДКВ-11 и ДГК наблюдался и в условиях окислительного стресса, индуцированного H₂O₂. В контрольных экспериментах аппликация H₂O₂ (50 мкМ) в инкубационный раствор Кребса приводила к снижению амплитуды ФЭ-индуцированных сокращений сегментов аорты на 46.8±4.2 %, от контрольного уровня. В основе этого эффекта окислительного стресса также лежат повреждения ключевых процессов в эндотелии и ГМК, ответственных за продукцию NO и поддержание Ca²⁺ гомеостаза [58]. В наших экспериментах было установлено, что при предварительной инкубации сегментов аорты с препаратами ДКВ-11 (15 мкМ) и ДГК (25 мкМ), эффект окислительного стресса на амплитуду ФЭ-индуцированных сокращений, уменьшается с 46.8±4.2 % до 10.4±4.1 % и 21.8±3.8 %, соответственно (Таблица 6). Эти данные указывают на то, что препараты ДКВ-11 и ДГК также эффективно защищают сегменты аорты, от повреждений, вызываемых окислительным стрессом, что является дополнительным свидетельством их протекторной активности, которая более выражена у препарата ДКВ-11. Протекторный эффект препарата ДКВ-11 на сегментах аорты, в условиях гипоксии и окислительного стресса, по-видимому, в основном обусловлен наличием в его составе ДГК, который обладает высокой антиоксидантной активностью [61].

Благодаря этому свойству ДКВ-11 способен нейтрализовать свободные радикалы и, ограничивая окислительные процессы, может стабилизировать функции эндотелия и систем ионного транспорта и обеспечить нормализацию синтеза NO и Ca²⁺ гомеостаза в ГМК, а также, их сократительной активности.

Дополнительную оценку протекторной активности препаратов ДКВ-11 и ДГК проводили на *in vitro* моделях гипоксии и окислительного стресса на папиллярной мышце сердца крысы. Развитие гипоксии и окислительного стресса в сердечной мышце сопровождается существенным снижением силы сокращения, что в основном обусловлено нарушением функции Ca²⁺-транспортирующих систем и Ca²⁺ гомеостаза в кардиомиоцитах [62]. При этом ключевую роль играют повреждения функции RyR2 и Ca²⁺-АТФазы СР, которые выполняют ведущую роль в поддержании Ca²⁺ гомеостаза в кардиомиоцитах [63]. В наших экспериментах перфузия папиллярной мышцы сердца крысы гипоксическим раствором в течении 60 мин, приводила к уменьшению амплитуды сокращений на 67.6±5.2 % (Таблица 7). Аналогичное снижение амплитуды сокращений папиллярной мышцы происходило и при аппликации H₂O₂ (10 мкМ), которая уменьшалась на 62.7±3.2 %, по сравнению с контролем. Наблюдаемое уменьшение силы сокращений папиллярной мышцы в условиях гипоксии и окислительного стресса, в основном происходит в результате окислительной модификации остатков цистеина в структуре RyR2 и Ca²⁺-АТФазы СР, сопровождаемой нарушением их функции [64].

В наших экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация папиллярной мышцы с препаратом ДКВ-11 сопровождается существенным снижением повреждающего эффекта гипоксии на её сократительную активность. При этом было установлено, что на папиллярной мышце, преинкубированной с препаратом ДКВ-11 (35 мкМ), перфузия гипоксическим раствором, сопровождается снижением амплитуды вызванных сокращений всего на 11.2±3.5%, от контроля (Таблице 7). Аналогично, на папиллярной мышце, преинкубированной с препаратом ДКВ-11 (35 мкМ), добавление H₂O₂ (10 мкМ), приводило к снижению амплитуды сокращений на 17.1±3.1 %, от контроля (Таблице 7).

Таблица 7

Влияние препаратов ДКВ-11 и ДГК на сократительную активность папиллярной мышцы, в условиях гипоксии и окислительного стресса.

Условия эксперимента	Амплитуда сокращения (%)		
	Контроль	ДКВ-11 (35 мкМ)	ДГК (60 мкМ)
Гипоксия (95% N ₂ , 5% CO ₂) (60 мин)	67.6±5.2	11.2±3.5	51.2±4.7
Окислительный стресс (H ₂ O ₂) (10 мкМ)	62.7±3.2	17.1±3.1	58.7±5.3

Примечание: амплитуда сокращения папиллярной мышцы, выражена в процентах от амплитуды контрольного сокращения, полученного при 1 Гц и принятого за 100%. ($p < 0.05$; $n = 5-6$).

В отличие от заявляемого препарата ДКВ-11, предварительная инкубация папиллярной мышцы с препаратом сравнения ДГК (60 мкМ), сопровождалась существенно меньшим снижением эффектов гипоксии и окислительного стресса. При этом эффекты гипоксии и окислительного стресса на амплитуду сокращений папиллярной мышцы, преинкубированной с препаратом ДГК (60 мкМ), составляли $51.2 \pm 4.7\%$ и $58.7 \pm 5.3\%$, от контроля, соответственно (Таблица 7). Эти результаты указывают на то, что заявляемый препарат ДКВ-11 более эффективно и при меньших концентрациях предотвращает повреждения сердечной мышцы, вызываемые гипоксией и окислительным стрессом, по сравнению с препаратом ДГК. Полученные данные свидетельствуют о том, что заявляемый препарат ДКВ-11 обладает более выраженным кардиопротекторным действием, по сравнению с препаратом сравнения ДГК. Более высокая кардиопротекторная активность препарата ДКВ-11, по-видимому, обеспечивается благодаря синергетическому эффекту входящих в его состав компонентов, обладающих выраженным положительным инотропным действием и высокой антиоксидантной активностью. При этом способность препарата ДКВ-11 более эффективно, чем прототип ДГК, предотвращать повреждения сократительной активности сердечной мышцы, вызываемые гипоксией и окислительным стрессом, указывает на ведущую роль его положительного инотропизма в обеспечении кардиопротекторной активности. Благодаря синергетическому действию, входящих в состав препарата ДКВ-11 компонентов, обладающих антиоксидантными и инотропными свойствами, он может обеспечивать стабилизацию мембран, нормализовать Ca^{2+} гомеостаз в кардиомиоцитах и улучшать сократительную активность сердечной мышцы.

Таким образом, впервые выявлено, что синтезированный конъюгат флавоноида дигидрокверцетина с изохинолиновым алкалоидом 1-арил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохиналином (ДГК-11) обладает выраженным кардиопротекторной активностью. Экспериментально подтверждено его преимущества при защите сердечной мышцы от повреждений, вызываемых гипоксией и окислительным стрессом по сравнению с препаратом прототипом ДГК. Препарат ДКВ-11 может быть использован в биомедицинских исследованиях в качестве рациональной основы при создании нового поколения кардиопротекторных средств для терапии ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности.

Использованная литература

1. Braunwald E, The war against heart failure: the Lancet lecture. *The Lancet*. 2015, Vol 38, No 15, PP. 1838–1845.
2. Wright P., and Thomas M. Pathophysiology and management of heart failure. *Clinical Pharmacist*. 2018, Vol 10, No 12, PP. 261-269.
3. Mc Murray J.J and Stewart S. *European Heart Journal Supplements*, 2002, 4 (Supplement D), D50-D58.
4. Drazner M.H. The progression of hypertensive heart disease. *Circulation*, 2011, Vol 25, No 3, PP.327-34.
5. Smith G. Matters of the heart: the physiology of cardiac function and failure. *Exp Physiol*. 2007, Vol 92, PP. 973–986.
6. Chandel N.S and Budinger G.R. The cellular basis for diverse response to oxygen. *Free radical Biol.Med*. 2007, Vol 42, PP.165-174.
7. Zima A., Bovo E., Terentyev D. Ca handling during Excitation-Contraction Coupling in Heart Failure. *Pflugers Arch*. 2014, Vol 466, No 6, PP. 1129-1137.
8. Bers D.M., Guo T. Calcium signaling in cardiac ventricular myocytes. *Ann NY Acad Sci*. 2005, Vol 1047, PP. 86–98
9. Lipskaia L., Chemaly E.R., Hadri L., Anne-Marie Lomprie A-M. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase as a therapeutic target for heart failure. *Expert Opin Biol Ther*. 2010, Vol 10, No 1, PP.29-41.
10. Kranias E.G., Hajjar R.J. Modulation of cardiac contractility by the phospholamban/SERCA regulatome. *Circulation Research*. 2012, Vol 110, PP. 1646-1660.
11. Jackson W. F. Ion channels and vascular tone. *Hypertension*. 2000, Vol 35, PP.173–178.
12. Tykocki N. R., Boerman E.M., Jackson W.F. Smooth muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles. *Compr Physiol*. 2017, Vol 7, No 2, PP. 485-581.
13. Furchgott R.F. The Discovery of endothelium-derived relaxing factor and its importance in the identification of Nitric Oxide. *JAMA*, 1996, Vol 276, No14, PP.1186-1188.
14. Vanhoutte P.M., Shimokawa H., Tang E.H., Feletou N. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol*. 2009, Vol 196, No 2, PP.193-222.
15. Ferdinandy P., Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol*. 2003, Vol 138, No 4, PP. 532-543.
16. Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007, Vol 115, PP. 1285–1295
17. Bristow M.R. β -Adrenergic Receptor Blockade in Chronic Heart Failure. *Circulation*. 2000, Vol 101, No 5, PP.:558–569.
18. Rahimtoola S.H., Tak T. The use of digitalis in heart failure. *Curr. Probl. Cardiol*. 1996, Vol 21, PP. 781-853.
19. Aronson J.K. Clinical pharmacology of digoxin. *Clin Pharmacokinet*. 1980, Vol 5, No 2, PP. 137-149.
20. Taconet C.L., Mc Caffrey J. & Delaney A. Dobutamine for patients with severe heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Intensive Care Med*. 2012, Vol 38, PP. 359–367.

21. Stamm C., Friehs I., Cowan D., Cao-Danh H., Choi H., Duebener L., MD; McGowan F., MD; del Nido P. Dopamine treatment of postischemic contractile dysfunction rapidly induces calcium-dependent pro-apoptotic signaling. *Circulation*. 2002, Vol 106, No 1, PP.290-298.
22. Hutchings D.C., Anderson S.G., Caldwell J.L., Trafford A.W. Phosphodiesterase-5 inhibitors and the heart: compound cardioprotection? *Heart* 2018, Vol 104, No 15, PP. 1244-1250.
23. Pathak A., Lebrin M., Vaccaro A., Senard J., Despas F. Pharmacology of levosimendan: inotropic, vasodilatory and cardioprotective effects. *J Clin Pharm Ther*. 2013, Vol 38, No 5, PP. 341-349.
24. Mc Gavin J.K., Keating G.M. Bisopropolol: a review its use in chronic heart failure. *Drugs*. 2002, Vol 62, PP. 2677-2696.
25. Matoba S., Tatsumi T., Keira N., Kawahara A., Akashi K., Kobara M. Cardioprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition against hypoxia/reoxygenation injury in cultured rat cardiac myocytes. *Circulation*. 1999, Vol 99, No 6, PP. 817-822. Fang
26. Fang J. Angiotensin-converting enzyme inhibitors or β -blockers in heart failure. *Circulation*. 2005, Vol 112, PP. 2380-2382.
27. Roush G.C., Kaur R., Ernst M.E. Diuretics: a review and update. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014, Vol 19, PP.5-13.
28. Elkayam U., Shotan A., Mehra A., Ostrzega E. Calcium channel blockers in heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1993, Vol 22, No 4, PP. 139A-144A.
29. De Vries R.J., van Veldhuisen D.J., Dunselman P.H. Efficacy and safety of calcium channel blockers in heart failure. *Am Heart J*. 2000, Vol 139, PP. 185- 193.
30. Marzilli M., Klein W.W. Efficacy and tolerability of trimetazidine in stable angina: a meta-analysis of randomized, double-blind, controlled trials. *Coron Artery Dis*. 2003, Vol 14, No 22, PP. 171-179.
31. Mc Carthy C.P., Mullins K.V., Kerins D.M. The role of trimetazidine in cardiovascular disease: beyond an anti-anginal agent. *Eur Heart J. Cardiovascular Pharmacother*. 2016, Vol 2, No 4, PP. 266-272
32. Ho H-T., Sarah C W, Stevens S. C., Györke S. Arrhythmogenic adverse effects of cardiac glycosides are mediated by redox modification of ryanodine receptors. *J Physiol*. 2011, Vol 589, No 19, PP. 4697-4708.
33. Mc Nally E.M. Can we do better than Dobutamine? *Circ Res*. 2013, Vol 113, PP. 355-357.
34. Chen H.H., Anstrom K.J., Givertz M.M., Stevenson L.W., Goldsmith S. R et al. Low-dose dopamine or low-dose nesiritide in acute heart failure with renal dysfunction: The rose acute heart failure randomized trial. *Jama*. 2013, Vol 310, PP. 2533-2543.
35. Guazzi M and Samaja M. The role of PDE5-inhibitors in cardiopulmonary disorders: from basic evidence to clinical development. *Curr Med Chem*. 2007, Vol 142, PP. 2181-2191.
36. Toller W.G., Stranz C. Levosimendan, a new inotropic and vasodilator agent. *Anesthesiology*. 2006, Vol 104, No 3, PP. 556-569.
37. Fishman W.H. Beta-adrenergic receptor blockers. Adverse effects and drug interactions. *Hypertension*. 1988, Vol 11, No 3, PP. 121-129.
38. Sica D.A. Angiotensin-converting enzyme inhibitors side effects-physiologic and non-physiologic consideration. *J Clin Hypertens*. 2004, Vol 6 PP. 410-415.
39. Ellison D.H., Felker G.M. Diuretic Treatment in Heart Failure. *N Eng J Med*. 2017, Vol 377, No 20, PP. 1964-1975.
40. Godfraind T. Calcium Channel Blockers in Cardiovascular Pharmacotherapy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 2014, Vol. 19, No 6, PP. 501-515.
41. Newman, D. J., Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Natural Prod*. 2016, Vol 79, PP 629-661.
42. Berube G. An overview of molecular hybrids in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2016, Vol 11, No3, PP. 281-305.
43. Инструкция по применению препарата «Флаол», ТУ 9197-010-88879112-10, СГР №RU.77.99.11.003.E.000031.01.11 от 12.01.2011
44. Zhurakulov Sh. N., Babkin V. A., Chernyak E. I., Morozov S. V., Grigorev I. A., Levkovich M. G. and Vinogradova V. I. Aminomethylation of 1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines by dihydroquercetin. *Chemistry of natural compounds*. 2015, T, 51, №1, PP. 57-61.
45. Бабкин, В. А., Остроухова Л. А., Малков Ю. А. Химия в интересах уст. разв. 2001, Т 9, С. 363.
46. Weidmann A. E. Dihydroquercetin: More than just an impurity? *European journal of pharmacology*. 2012, T. 684, №. 1-3, С. 19-26.
47. Zhurakulov Sh. N., Vinogradova V. I., Levkovich M. G. Synthesis of 1-aryltetrahydroisoquinoline alkaloids and their analogs // *Chemistry of natural compounds*. -New York, -2013. -Т. 49. -№1. -С. 70-74
48. Yamamoto Y., Oue E. Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006, Vol 70, PP. 933-939.
49. Edwards R.L., Lyon T., Litwin S.E., Rabovsky A., Symons J.D, et al. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr*. 2007, Vol 137, PP. 2405-2411.
50. Karaki H., Ozaki H., Hori M., Mitsui-Saito M., Amano K., Harada K, et al. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev*. 1997, Vol 49, PP.157-230.
51. Chan E.C., Pannangpetch P., Woodman O.L. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000, Vol 35, PP.326-333.

52. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M., Yaghoubi M., Bierl C., Bolotina V.M. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and inhibition of store-operated Ca^{2+} influx. *Circ Res.* 1999, Vol 5, No 84(2), PP. 210-219.
53. Bers D. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature.* 2002, Vol 10, No 415(6868), PP.198-205.
54. Scholz H. Introduction: Mechanisms of positive inotropic effects. *Basic Research In Cardiology.* 1989, Vol. 84, No 1, PP. 3-7.
55. Bassani R. A., Altamirano J., Puglisi J. L., Bers D. M. Action potential duration determines sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} reloading in mammalian ventricular myocytes. *J. Physiol. (London).* 2004, Vol 559, PP. 591-607.
56. Fabiato A. Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell. *J Gen Physiol.* 1985, Vol 85, No 2, PP.247-289.
57. Satoh K., Godo S., Saito H., Enkhjargal B. Dual roles of vascular-derived reactive oxygen species -With a special reference to Hydrogen Peroxide and Cyclophilin A. *J Mol Cell Cardiol.* 2014, Vol 73, PP. 50-56.
58. Goldhaber J.I., Liu E. Excitation-contraction coupling in single guinea-pig ventricular myocytes exposed to hydrogen peroxide. *J Physiol.* 1994, Vol 477, PP. 135-147.
59. Chan C., Vanhoutte P. Hypoxia, vascular smooth muscles and endothelium. *Acta pharmaceutica Sinica.* 2013, Vol 3, No 1, PP. 1-7.
60. Dhalla N., Temsah R.M., Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertension.* 2000, Vol 18, No 6, PP.655-73.
61. Larson A., Jalili T., Simons J.D. Quercetin: A Treatment for Hypertension?—A Review of Efficacy and Mechanisms. *Pharmaceuticals.* 2010, Vol 3, No 1, PP. 39-46.
62. Mac Donald WA, Hool LC. The effect of acute hypoxia on excitability in the heart and the L-type calcium channel as a therapeutic target. *Curr Drug Discov Technol.* 2008, Vol 5, PP.302-311.
63. Belevych A. "Przemyslaw B. Radwański P. B. Györke S. Ryanopathy: causes and manifestations of RyR2 dysfunction in heart failure/ *Cardiovasc Res.* 2013, Vol 98, No 2, PP.240-247.
64. Zima A.V. Blatter L. A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. *Cardiovasc. Res* 2006, Vol 71, PP. 310-321.

Формула изобретения

2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ил] метил-3,5,7-тригидроксихроман-4-он, обладающий вазодилаторным, инотропным и антиоксидантным действием.

(56)

1. Инструкция по применению препарата «Флаол», ТУ 9197-010-88879112-10;
2. Zhurakulov Sh. N., Babkin V. A., Chernyak E. I., Morozov S. V., Grigorev I. A., Levkovich M. G. and Vinogradova V. I. Aminomethylation of 1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines by dihydroquercetin. *Chemistry of natural compounds.* 2015, T, 51, №1, PP. 57-61.
3. Бабкин, В. А., Остроухова Л. А., Малков Ю. А. Химия в интересах уст. разв. 2001, Т 9, С. 363;
4. Chan E.C., Pannangpetch P., Woodman O.L. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000, Vol 35, PP.326-333.
5. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M., Yaghoubi M., Bierl C., Bolotina V.M. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and inhibition of store-operated Ca^{2+} influx. *Circ Res.* 1999, Vol 5, No 84(2), PP. 210-219.
6. Bers D. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature.* 2002, Vol 10, No 415(6868), PP.198-205.
7. Scholz H. Introduction: Mechanisms of positive inotropic effects. *Basic Research In Cardiology.* 1989, Vol. 84, No 1, PP. 3-7.

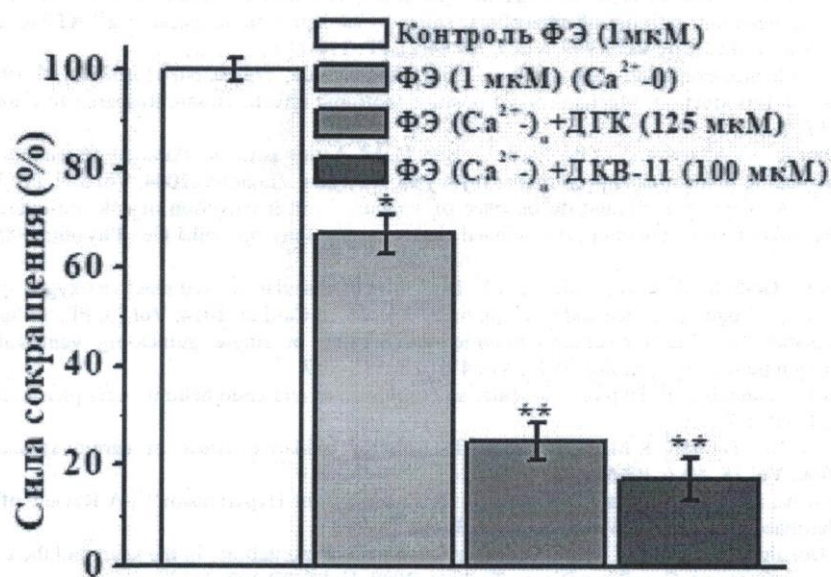


Рис. 1

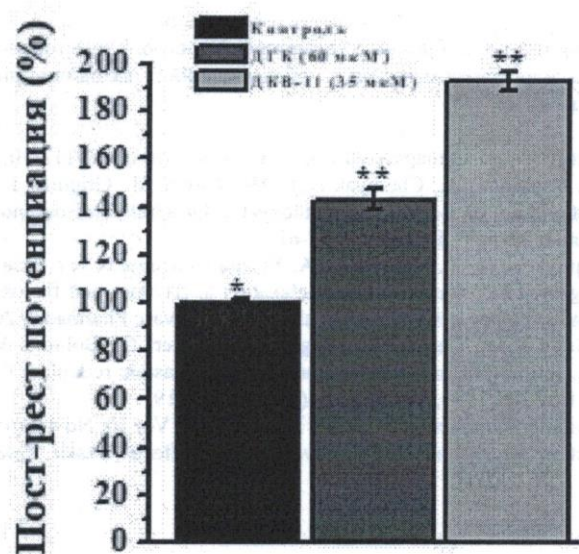


Рис. 2