

Данное изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к синтезу новых химических соединений 2-этокси-6,9-диаминоакридиния гало-бензоатов, проявляющих антимикробную, противовоспалительную, антиоксидантную, мембраностабилизирующую и кардиопротекторную активность.

Полученные соединения и их свойства в литературе не описаны.

Изыскание новых антимикробных, противовоспалительных, антиоксидантных, мембраностабилизирующих и кардиопротекторных средств является актуальной проблемой медицины.

Известны лекарственные препараты преимущественно противовоспалительного действия: этакридина лактат, индометацин, вольтарен, витамин Е [1].

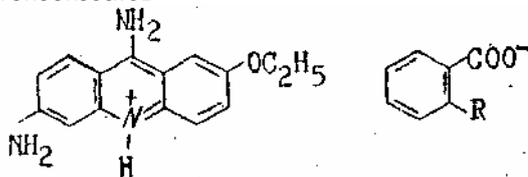
Однако основной тенденцией в создании лекарственных средств является повышение их терапевтической активности и расширение гармонически сочетающегося спектра действия.

Наиболее близким по структуре и направленности действия является 2-амино-4-нитро-бензоат 2-этокси-6,9-диаминоакридина, проявляющий антимикробную активность [2].

К недостаткам известного соединения можно отнести их относительно невысокую активность и узкий спектр действия.

В основу изобретения поставлена задача создания химических соединений акридинового ряда, проявляющих антимикробную, противовоспалительную, антиоксидантную, мембраностабилизирующую и кардиопротекторную активность, что позволит расширить арсенал лекарственных средств аналогичного спектра действия.

Поставленная задача решается путем синтеза новых соединений 2-этокси-6,9-диаминоакридиния галогенбензоатов



где: R=Br (I)  
R=Cl (II)

проявляющих указанную активность.

Заявляемые соединения получают сливанием спиртовых растворов 2-этокси-6,9-диаминоакридина и 2-бромбензойной кислоты при получении 2-этокси-6,9-диаминоакридиния 2-бромзоата (I) и сливанием спиртовых растворов 2-этокси-6,9-диамино-акридина и 2-хлорбензойной кислоты при получении 2-этокси-6,9-диаминоакридиния 2-хлорбензоата (II).

Полученные вещества - 2-этокси-6,9-ди-аминоакридиний галогенбензоаты представляют собой кристаллические порошки желтого цвета, растворимые в воде, плохо - в этаноле, хорошо растворимые в диоксане, ацетоне, ДМФА, ДМСО. Структура соединений подтверждена элементарным анализом и ИК-спектром.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами:

Пример 1. Получение 2-этокси-6,9-диаминоакридиния 2-бромбензоата (I). 2,53 г (0,01 моль) 2-этокси-6,9-диаминоакридина растворяют при нагревании в 15 мл этанола, 2,01 г (0,01 моль) 2-бромбензойной кислоты растворяют в 10 мл этанола. Затем растворы сливают и оставляют при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат.

Выход 4,22 г (93%). Т<sub>пл</sub> 215°C с разл.

C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> М.М. 454, 322

Найдено: С, % 68,07; Н, % 4,52; N, % 9,11

Вычислено: С, % 58,16; Н, % 4,44; N, % 9,24

ИК-спектр в КВг, см<sup>-1</sup>: 3350, 3200, 1642, 1598, 1500, 1.417, 1383, 1232, 1171, 1140, 1048.

Пример 2. Получение 2-этокси-6,9-диаминоакридиния 2-хлор-бензоата (II). 2,53 г (0,01 моль) 2-этокси-6,9-диаминоакридина растворяют при нагревании в 15 мл этанола, 1,56 г (0,01 моль) 2-хлорбензойной кислоты растворяют в 10 мл этанола. Затем растворы смешивают и оставляют при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат.

Выход 4,00 г (99%). Т<sub>пл</sub> 192°C с разл.

C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Cl М.м. 409,870

Найдено: С, % 64,50; Н, % 5,02; N, % 10,32

Вычислено: С, % 64,46; Н, % 4,92; N, % 10,25

ИК-спектр в КВг, см<sup>-1</sup>: 3302, 3145, 1640, 1581, 1496, 1397, 1249. 1179, 1150, 1055.

Пример 3. Определение антимикробной активности заявленных соединений проводилось методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Для испытаний использовано 4 штамма микроорганизмов:

- золотистый стафилококк, шт. ATCC 25923;
- сенная палочка, шт. ATCC 7241;
- кишечная палочка, шт. ATCC 25922;
- синегнойная палочка, шт. ATCC 27853.

Для культивирования бактерий использовали аминокептид, предварительно разбавленный два раза дистиллированной водой, рН 7,2.

Микробная нагрузка бактерий составляла 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> микробных тел в 1 мл среды. Результаты изучения антимикробной активности и токсичности 2-этокси-6,9-ди-аминоакридиния 2-бромбензоата (I), 2-этокси-6,9-диаминоакридиния 2-хлорбензоата (II), препарата сравнения этакридина лактата и прототипа (III)

представлены в таблице 1.

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, соединения I и II проявляют более высокую антимикробную активность и значительно меньшую токсичность.

Соединение I проявляет более высокую антимикробную активность в сравнении с прототипом (III): по отношению к золотистому стафилококку в 2 раза, по отношению к синегнойной палочке в 2 раза; в сравнении с этакридина лактатом: по отношению к золотистому стафилококку в 8 раз; по отношению к сенной палочке в 4 раза, по отношению к кишечной палочке в 4 раза, по отношению к синегнойной палочке в 8 раз.

Соединение II проявляет более высокую антимикробную активность в сравнении с прототипом (III); по отношению к золотистому стафилококку в 2 раза, по отношению к синегнойной палочке в 4 раза; в сравнении с этакридина лактатом: по отношению к золотистому стафилококку в 8 раз; по отношению к сенной палочке в 4 раза; по отношению к кишечной палочке в 4 раза; по отношению к синегнойной палочке в 16 раз.

Сравнение острой токсичности новых соединений показало, что соединение I менее токсично по отношению к прототипу (III) в 1,1 раза, по отношению к этакридина лактату в 164,8 раза.

Соединение II менее токсично по отношению к прототипу (III) более, чем в 1,3 раза, по отношению к этакридина лактату более, чем в 190,5 раза.

Пример 4. Изучение противовоспалительной активности заявляемых соединений I и II проводили на модели каррагенинового отека у мышей массой 18-20 г.

Для воспроизведения модели острого асептического воспаления мышам в одну из задних конечностей субплантарно вводили 0,05 мл 1% раствора каррагинина ("Sigma", США). Через 4 часа задние лапки животных ампутировали на уровне тазобедренного сустава и взвешивали. По разнице в весе отечных и неотечных лапок животных по сравнению с контролем рассчитывали анти-экссудативную активность, которую выражали в % угнетения отека.

В качестве эталонного препарата использовали индометацин какодин из наиболее эффективных в настоящее время НПВС. Заявляемые вещества и стандартные препараты вводили внутривентрикулярно, однократно. В каждой серии опыта использовали по 6 животных.

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2 заявляемые вещества обладают достаточно высокой противовоспалительной активностью, не уступающей индометацину и вольтарену, кроме того: вещество I в среднем в 8,2-9,8 раз менее токсично, чем вольтарен и индометацин, а вещество II в среднем в 11,3-133,3 раза менее токсично, чем вольтарен и индометацин, соответственно. Характеризуя широту терапевтического действия, отмечается еще более выраженное преимущество заявляемых соединений. Вещество I превосходит по данному показателю вольтарен и индометацин в 6,5; 98 раз, а вещество II по данному показателю превосходит вольтарен и индометацин в 10,1; 151,5 раз, соответственно.

Пример 5. Антиоксидантную, мембрано-стабилизирующую и кардиопротекторную активность определяли на модели изадрино-фуразолидонового поражения миокарда у крыс.

Данная модель характеризуется деструктивно-дистрофическими изменениями в миокарде, повышением активности перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Крысам массой 180-200 г внутривентрикулярно, через зонд вводили фуразолидон в дозе 200 мг/кг. Через 1 час внутримышечно вводили изадрин - 40 мг/кг. Вышеперечисленный спектр фармакологической активности оценивали на 4-е сутки (максимум изменений в миокарде).

Антиоксидантную активность заявляемых соединений и препаратов сравнения (вольтарен, витамин Е) определяли по уровню малонового диальдегида в миокарде опытных и контрольных групп животных по реакции с тиобарбитуровой кислотой, Мембраностабилизирующую активность - по уровню маркерного фермента кардиомиолиза - аспартатаминотрансферазы (АсАТ), который определяли спектрофотометрически по реакции с 2,4-фенилгидразином.

Кардиопротекторную активность рассчитывали как интегральный показатель среднего значения суммы мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности.

Заявляемые вещества и стандартные препараты вводили внутривентрикулярно за 1 час до моделирования изадрино-фуразолидонового поражения миокарда и затем ежедневно в течение 4-х дней в эффективных дозах по противовоспалительному действию. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблицах 3 и 4.

Как видно из таблиц 3 и 4 заявляемые соединения обладают выраженной мембраностабилизирующей, антиоксидантной и кардиопротекторной активностью. Соединение I превосходит по указанным видам активности вольтарен в 2,4; 1,8; 2,1 раза, витамин Е - в 4,6; 1,9; 2,7 раза соответственно, а соединение II превосходит указанным видам активности вольтарен в 1,6 раза; витамин Е - в 3,0; 1,7; 2,2 раза соответственно. Следует отметить, что данная активность у соединений достигается дозами в 5 раз меньшими, чем у витамина Е.

Таким образом, заявляемые соединения обладают антимикробной, противовоспалительной, мембраностабилизирующей, антиоксидантной и кардиопротекторной активностью, что делает их перспективными в плане дальнейшего изучения с целью создания высокоэффективных лекарственных препаратов с широким фармакологическим спектром, гармонично дополняющим друг друга.

Таблица 1

Антимикробная активность и токсичность 2-этокси-6,9-диаминоакридиния галогенбензоатов (I, II)

Соединение	МПК/МБК, мкг/мл				ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	
	штаммы				внутри- брюшинно	внутриже- лудочно
	1	2	3	4		
I	3,9/7,9	3,9	7,8/7,8	7,8	2000	3460
II	3,9/3,9	3,9	7,8/7,8	3,9	> 2000	> 4000
прототип (III)	7,8	3,9	7,8	15,6		3000
этакридина лактат	31,2	15,6	31,2	62,5		21

Условные обозначения: 1 – золотистый стафилококк  
2 – сенная палочка  
3 – кишечная палочка  
4 – синегнойная палочка

Таблица 2

Противовоспалительная активность, острая токсичность и широта терапевтического действия заявляемых соединений (I, II)

Изучаемые вещества, эталонные препараты	Эффективная доза ЕД <sub>50</sub> по противовоспалительной активности, мг/кг	Острая токсичность ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	Широта терапевтического действия (ТИ)
I	10,0	2940(2420-3460)	294,0
II	8,8	> 4000	454,5
Индометацин	10,0	30,0	3,0
Вольтарен	8,0	360,0	45,0

Таблица 3

Антиоксидантная, мембраностабилизирующая и кардиопротекторная активность заявляемых соединений (I, II)

Изучаемые вещества и стандартные препараты	Доза, мг/кг	Мембраностабилизирующая активность, %	Антиоксидантная активность, %	Кардиопротекторная активность, %	Относительная кардиопротекторная активность по витамину Е
I	10,0	75,0 ± 2,1*	62,5 ± 2,4*	68,7	2,7
II	8,8	50,0 ± 3,3*	57,8 ± 2,8*	53,9	2,2
Вольтарен	8,0	30,8 ± 2,3**	35,2 ± 2,4	33,0	1,3
Е	50,0	16,4 ± 1,2	33,6 ± 2,6	25,0	1,0

\* – p 0,05 по отношению к вольтарену и витамину Е.

\*\* – p 0,05 по отношению к витамину Е.

Таблица 4

Влияние заявляемого соединения (I) на биохимические и электрофизиологические показатели крыс при изадриново-фуразолидоновом поражении миокарда (n=40)

Изучаемые показатели	Интактные животные (норма)	Контрольные животные (норма)	Лечение соединением I в дозе 10 мг/кг	Лечение вольтареном в дозе 8,0 мг/кг
Весовой коэффициент сердца (ВКС)	0,35±0,017	0,44±0,009 p < 0,001	0,33±0,013 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05	0,40±0,015 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Электрокардиография: амплитуда зубца Р	0,460±0,020	0,275±0,023 p < 0,001	0,406±0,054 p > 0,005 p <sub>1</sub> < 0,01 p <sub>2</sub> < 0,05	0,400±0,034 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Частота сердечных сокращений (ЧСС)	340,0±10,2	383,9±9,8 p < 0,01	362,1±8,4 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05	310,7±24,2 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Ферментемия (АсАТ) мкмоль/мл'ч	0,77±0,21	1,97±0,10 p < 0,001	1,07±0,102 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,001	1,50±0,12 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,05
Содержание малонового диальдегида (МДА) в ткани миокарда левого желудочка, мкмоль/г	104,3±8,3	218,5±11,4 p < 0,001	147,1±11,1 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,05	178,3±12,6 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Влияние заявляемого соединения (II) на биохимические и электрофизиологические показатели крыс при изадриново-фуразолидоновом поражении миокарда (n=40)

Изучаемые показатели	Интактные животные (норма)	Контрольные животные (норма)	Лечение соединением I в дозе 10 мг/кг	Лечение вольтареном в дозе 8,0 мг/кг
Весовой коэффициент сердца (ВКС)	0,35±0,017	0,44±0,009 p < 0,001	0,34±0,004 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,01	0,40±0,015 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Электрокардиография: амплитуда зубца Р	0,46±0,02	0,275±0,025 p < 0,001	0,500±0,040 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,05	0,408±0,034 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001
Частота сердечных сокращений (ЧСС)	340,0±10,2	383,9±9,8 p < 0,01	371,6±14,3 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05 p <sub>2</sub> = 0,05	310,7±24,2 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Ферментемия (АсАТ) мкмоль/мл'ч	0,77±0,21	1,97±0,10 p < 0,001	1,37±0,09 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,002 p <sub>2</sub> > 0,05	1,6±0,12 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,05
Содержание малонового диальдегида в ткани левого желудочка миокарда (МДА), мкмоль/г	104,3±8,3	218,5±11,4 p < 0,001	152,2±17,8 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,01 p <sub>2</sub> > 0,05	178,3±12,6 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

p – достоверность различий к интактным животным;

p<sub>1</sub> – достоверность различий к контролю;

p<sub>2</sub> – достоверность различий по отношению к группе животных, получавших вольтарен.