УКРАЇНА

(19) UA (11) 70689 (13) U

(51) МПК (2012.01)
C07D 219/00
A61K 31/435 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 13462**

(22) Дата подання заявки: **16.11.2011**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.06.2012**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.06.2012, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):
Ісаєв Сергій Григорович (UA),
Девяткіна Анна Олександрівна (RU),
Бризицький Олексій Аркадійович (UA),
Шевельова Наталія Юхимівна (UA),
Жегунова Галина Петрівна (UA),
Ханін Вадим Андрійович (UA)

(73) Власник(и):
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(54) 3,5-ДИХЛОР-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛАТИ ЗАМІЩЕНИХ 9-АМІНО-5-НІТРОАКРИДИНІЮ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ АНТИМІКРОБНУ, ПРОТИГРИБКОВУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, АНАЛЬГЕТИЧНУ, ДІУРЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ПОНТЕЦІЮЮЧУ ДІЮ У ВІДНОШЕННІ ДО БЕНЗИЛПЕНІЦИЛІНУ НАТРІЄВОЇ СОЛІ

(57) Реферат:

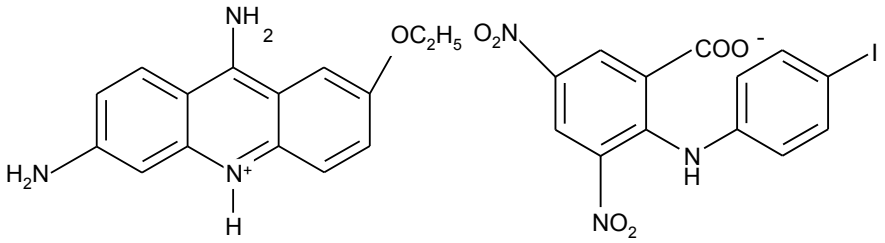
3,5-дихлор-N-фенілантранілати заміщених 9-аміно-5-нітроакридинію, що проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

UA 70689 U

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до індивідуальних хімічних сполук, а саме 3,5-дихлор-N-феніл-антранілатів 9-аміно-5-нітроакридинію, які проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Пошук нових засобів з широким спектром фармакологічної дії є актуальною проблемою сучасної медицини. Відомий цілий ряд лікарських засобів синтетичного походження, кожен з яких має свою домінуючу дію: етакридину лактат (антимікробна дія), фурацилін та грізеофульвін (протигрибкова дія), вольтарен (протизапальна дія), анальгін (аналгетична дія), гіпотіазид (діуретична дія) [1]. До недоліків зазначених засобів можна віднести, зокрема, наявність у тій чи іншій мірі негативної побічної дії. У комплексному лікуванні виникає необхідність призначення хворому одночасно декількох лікарських засобів з моноспрямованою фармацевтичною дією, внаслідок чого загальна побічна дія підсилюється.

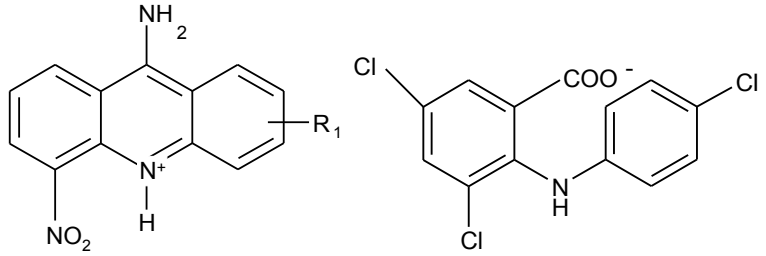
За прототип вибраний 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 2-аміно-3,5-динітро-N-(4'-йодфеніл)антранілат, що виявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну та діуретичну активність [2]. Сполука за прототипом має загальну формулу:



та проявляє високу антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну та діуретичну дію, проте діапазон та ступінь фармакологічної активності може бути реально підвищений.

В основу корисної моделі поставлена задача по створенню нових хімічних сполук, що проявляють високу антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні бензилпеніциліну натрієвої солі.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу нових хімічних сполук 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілатів 9-аміно-5-нітроакридинію загальної формули:



,

де: R_1=4-CH_3 (1)

або R_1=2-OCH_3 (2)

які проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Речовини № 1 та № 2, які заявляються, утворені взаємодією 9-аміно-4-метил-5-нітроакридину або 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридину з 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антраніловою кислотою в етанольному середовищі.

Заявлені 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл) антранілат (1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат (2) - порошки жовтого-зеленого кольору, розчинні у воді (1:100), етанолі, ДМСО, ДМФА. Будову сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а індивідуальність - методом тонкошарової хроматографії.

Корисна модель ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. 2,53 г (0,01 моль) 9-аміно-4-метил-5-нітроакридину розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 3,17 г (0,01 моль) 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу (розчин № 2). Потім гарячі розчини № 1 та № 2 змішують. Осад, що випав відфільтровують, промивають водою та сушать.

Одержано сполуку: 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-(4'-хлорфеніл)антранілат.

Вихід 5,21 г (90 %), $T_{топл.}$ 212-214° С, М.м. 569,835.

Бруто-формула $C_{27}H_{19}Cl_3N_4O_4$.

Розраховано: С, % 56,91; N, % 9,83; Н, % 3,36.

Знайдено: C, % 56,85; N, % 9,91; H, % 3,42.

ІЧ-спектр у KBr, $см^{-1}$: 3390, 3250, 2995, 1640, 1600, 1538, 1485, 1352, 725.

Rf: 0,29 в системі ацетон-гексан-етанол (1:3:1).

Приклад 2. 2,69 г (0,01 моль) 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридину розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 3,17 г (0,01 моль) 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу (розчин № 2). Потім гарячі розчини № 1 та № 2 змішують. Осад, що випав відфільтровують, промивають водою та сушать.

Одержано сполуку: 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат.

Вихід 5,51 г (94 %), $T_{топл}$. 235-236° C, М.м. 585,835.

Бруто-формула $C_{27}H_{19}Cl_3H_4O_5$.

Розраховано: C, % 55,36; N, % 7,17; H, % 3,27.

Знайдено: C, % 55,42; N, % 7,25; H, % 3,31.

ІЧ-спектр у KBr, $см^{-1}$: 3415, 3300, 3210, 2980, 1635, 1602, 1540, 1480, 1345, 720.

Rf: 0,25 в системі ацетон-гексан-етанол (1:3:1).

Приклад 3. Визначення антимікробної активності заявлених сполук проводилося за методом двократних серійних розведень у рідких харчових середовищах [3].

Для культивування бактерій використовувався амінопептид, попередньо розведений у два рази дистильованою водою, pH 7,2. Мікробне навантаження склало $10^{5-}10^{6}$ мікробних тіл в 1 мл середовища.

Для випробування використовувалися 8 штамів мікроорганізмів: 1-Staphylococcus aureus, штам ATCC 25923; 2-Echerichia coli, штам ATCC 7241; 3 - Bacillus subtilis, штам ATCC 25922; 4-Pseudomonas aeruginosa, штам ATCC 27853, 5-Salmonella choleraesuis; 6-Salmonella thyphimurium; 7-Salmonella thyphisuis, 8-Salmonella dublin.

Як критерій фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) та рівень гострої токсичності (DL_{50}).

Результати вивчення антимікробної активності та токсичності 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл) антранілат (сполука № 2) у порівнянні з 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 2-аміно-3,5-динітро-N-(4'-йодфеніл)антранілатом (прототип) та рефренс-препаратом етакридину лактатом наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Антимікробна активність і токсичність заявлених сполук № 1, № 2 у порівнянні з прототипом та етакридину лактатом

Сполука	МПК (мкг/мл)								DL_{50} (внутрішньо-шлунково), мг/кг
	Штами мікроорганізмів								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
№ 1	1,7	1,7	2,0	1,8	4,7	10,0	5,3	6,2	>6200
№ 2	1,7	1,7	1,9	2,0	4,8	10,0	5,2	6,4	>6200
Прототип	2,2	2,2	2,2	2,5	5,0	15,0	6,0	7,8	>5000
Етакридину лактат	31,2	31,2	15,6	62,5	125	250	125	250	21*

Примітка. * DL_{50} - при внутрішньочеревинному введені

За даними табл. 1, сполуки № 1 та № 2 активніше етакридину лактату у відношенні до Staphylococcus aureus (1) у 18,35 рази, Bacillus subtilis (3) у 7,8-8,21 рази, у відношенні до Echerichia coli (2) у 18,35 рази, у відношенні до Pseudomonas aeruginosa (4) у 31,2-34,72 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду Salmonella (5-8) у 24,04-40,32 разів. Сполуки № 1 та № 2 також перевищують в аналогічних умовах основні характеристики прототипу у відношенні до Staphylococcus aureus (1) у 1,3 рази, у відношенні до Echerichia coli (2) у 1,3 рази, Bacillus subtilis (3) у 1,10-1,16 рази, у відношенні до Pseudomonas aeruginosa (4) у 1,25-1,39 рази та у відношенні мікроорганізмів роду Salmonella (5-8) у 1,06-1,50 рази.

Крім того, заявлені сполуки є дещо менш токсичними ніж прототип і значно менш токсичними ніж етакридину лактат.

Приклад № 4. Визначення протигрибкової активності проводилось за відомою методикою [4].

Для вирощування грибів використовувалось середовище Сабуро (pH=6,5-6,7). Навантаження склало 500-600 репродуктивних тілець штамів Candida albicans або Trichophyton rubrum в 1 мл середовища. Протигрибкову дію оцінювали за мінімальною мікостатичною концентрацією (ММК), вираженою в мкг/мл.

Результати вивчення протигрибкової активності та токсичності 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл) антранілату (сполука № 2) у порівнянні з фурациліном та грізеофульвіном наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Протигрибкова активність та токсичність
сполук № 1, № 2 у порівнянні з фурациліном та грізеофульвіном

Сполука	Штами грибків, ММК (мкг/мл)		DL_{50} (внутрішньо черевинно) мг/кг
	Candida albicans	Trichophyton rubrum	
Сполука № 1	10,0	18,5	>2500
Сполука № 2	10,5	18,0	>2500
Прототип	15,6	25,0	>2000
Фурацилін (нітрофурал)	64,0	-	82,5
Грізеофульвін	-	50,0	-

За результатами дослідження, наведеними у таблиці 2, сполуки № 1 та № 2 інгібують ріст Candida albicans у концентрації у 6,0-6,4 рази меншій ніж фурацилін. Крім того, сполуки № 1 та № 2 у 30,3 рази менш токсичні ніж фурацилін при внутрішньочеревному введені. Також сполуки № 1 та № 2 проявляють протигрибкову дію у відношенні Trichophyton rubrum у концентрації 18,0-18,5 мкг/мл відповідно і перевищують за активністю грізеофульвін у 2,70-2,78 рази. Прототип проявляє протигрибкову дію у відношенні Trichophyton rubrum в концентрації 25,0 мкг/мл і є менш активною сполукою ніж сполуки № 1 та № 2. В результаті експерименту встановлено також, що заявлені сполуки є менш токсичними, ніж наведені препарати порівняння та прототип.

Таким чином, заявлені сполуки перевищують прототип та препарати порівняння за широтою протигрибкової дії.

Приклад 5, Вивчення протизапальної активності проводилося на моделі карагенінового набряку [5].

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоефективну дозу (DE_{50}), при якій фармакологічний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL_{50}); терапевтичний індекс TI (показник відношення DL_{50}/DE_{50}); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення протизапальної активності та токсичності 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлор-феніл)антранілату (сполука № 2) у порівнянні з прототипом та диклофенаком натрію наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Протизапальна активність та токсичність
заявлених сполук № 1, № 2 у порівнянні з прототипом та диклофенаком натрію

Сполука	DE_{50}, мг/кг	DL_{50}, мг/кг	Терапевтичний індекс	Відносний Т.І. по диклофенаку натрію
Сполука № 1	5,5	>6200	1127,27	25,05
Сполука № 2	5,7	>6200	1087,72	24,17
Прототип	6,0	>5000	833,33	18,52
Диклофенак натрію	8,0	360	45	1

Як видно за даними таблиці 3, сполуки № 1, № 2 мають виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищують диклофенак натрію у 24,17-25,05 рази. Прототип протизапальну активність проявляє у дозі більшій ніж сполуки № 1 та № 2 та є більш токсичною речовиною.

Приклад 6. Вивчення аналгетичної активності 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлор-феніл)антранілату (сполука № 2) проводилося за методом "оцтових корчей" у білих лабораторних щурів масою 150-180 г [6]. Корчі були викликані внутрішньочеревним введенням розчину 0,75 % оцтової кислоти у дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини. Підрахунок кількості корчей проводили через 15 хвилин після введення розчину оцтової кислоти протягом 30 хвилин.

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоефективну дозу (DE_{50}), при якій аналгетичний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL_{50}); терапевтичний індекс (TI); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення анальгетичної активності та токсичності 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл) антранілату (сполука № 2) у порівнянні з прототипом та анальгіном наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Анальгетична активність та токсичність сполук № 1 та №2 у порівнянні з прототипом та анальгіном

Сполука	DE_{50}, мг/кг	DL_{50}, мг/кг	Терапевтичний індекс (TI)	Відносний TI по анальгіну
Сполука № 1	12,2	>6200	>508,2	23,31
Сполука № 2	12,0	>6200	>516,67	23,70
Прототип	15,2	>5000	>328,95	15,09
Анальгін	55	1197	21,8	1

Як видно за даними таблиці 4, сполуки № 1 та № 2 за широтою терапевтичної дії перевищують анальгін в 23,31-23,70 рази, а прототип в 1,54-1,57 рази.

Приклад № 7. Вивчення діуретичної активності проводили за методою Е.Б. Берхіна [7] на білих щурах лінії Вістар масою 120-160 г. Кожна серія складалася з 7 тварин. Кожну з досліджених сполук (заявлена сполука, сполука за прототипом, препарат порівняння гіпотіазид) вводили у дозі 50 мг/кг у водному розчині з розрахунку 3 мл води на 100 г ваги тварини. Тварини контрольної групи одержували лише воду. Сечу збирали кожну годину протягом 4 годин.

Як критерій фармакологічної активності вибрано об'єм сечі досліджених тварин, розрахований у відсотках у порівнянні з контролем.

Результати вивчення діуретичної дії сполук №1 та №2, прототипу та гіпотіазиду наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Діуретична активність сполук № 1 та №2 у порівнянні з прототипом та гіпотіазидом.

Сполука	Діуретична активність, в % к контролю
Сполука № 1	350
Сполука № 2	340
Прототип	280
Гіпотіазид	212

Як видно за даними таблиці 5, сполуки № 1 та № 2 за діуретичною дією перевищують гіпотіазид на 128-138 %, а прототип на 60-70 %.

Приклад № 8. Визначення потенціюючої дії 9-аміно-4-метил-5-нітро-акридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука № 2) проводилося у суббактеріостатичній концентрації як мікродобавка до бензилпеніциліну натрієвої солі. За тест-модель вибрані серійні двократні розведення у рідкому живильному середовищі. Як розчинник використовувалася вода для ін'єкцій.

Для випробування використовувалися 2 штами мікроорганізмів: Staphylococcus aureus та Pseudomonas aeruginosa.

Як критерій фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК).

Результати описаного мікробіологічного дослідження наведені у таблиці 6.

Таблиця 6

Потенціююча дія сполук № 1 та № 2 у порівнянні з прототипом у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Сполука	Штам мікроорганізмів, МПК мкг/мл	
	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa
Бензилпеніциліну натрієва сіль (БПН)	0,9	15,6
БПН + сполука № 1	0,20	1,40
БПН + сполука № 2	0,22	1,38
БПН + прототип	0,30	1,80

За даними таблиці 6, сполуки № 1 та № 2 в суббактеріостатичній концентрації підвищують активність антибіотика у відношенні до Staphylococcus aureus в 4,09-4,5 рази, у відношенні до Pseudomonas aeruginosa в 11,14-11,30 рази. Потенціююча дія прототипу у даному випадку нижча.

Таким чином, заявлені сполуки 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат (сполука № 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл) антранілат (сполука № 2) проявляють широкий спектр фармакологічної дії: антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну та потенціюючу до бензилпеніциліну натрієвої солі. За окремими видами активності вони перевищують дію препаратів порівняння: етакридину лактату, фурациліну, грізеофульвіну, диклофенаку натрію, анальгіну, гіпотіазиду.

Заявлені сполуки можуть знайти застосування у медичній практиці при створенні лікарських засобів у різних лікарських формах для лікування інфекційних та запальних процесів різної етіології, а також середньої сили больових синдромів.

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2005.-1200 с.

2. Патент на винахід № 87887 (Україна), МПК: C 07 D 219/00, A 61 K 31/435. Заявлено 19.07.2007. Опубліковано 25.08.2009. Бюл. № 16.

3. Навашин СИ., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. - М.: Медицина, 1982. - С. 40-42.

4. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования/Под ред. М.О. Бригера - 3-е изд. перераб. и доп. - М.: Медицина, 1982. - С. 392-417.

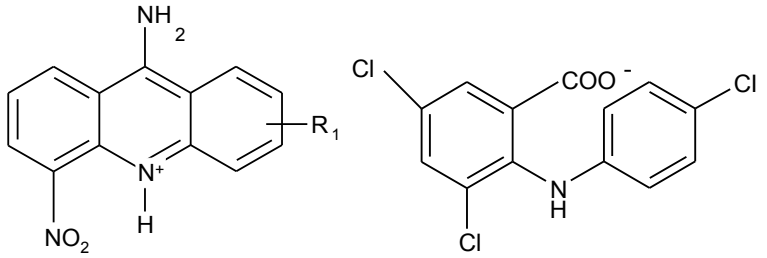
5. Яковлева Л.В., Зупанец И.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств.//Деп. в УкрНИИНТИ 07.07.87. - №1908. - Ук. 87.

6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)/ За редакцією член.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 307-320.

7. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Хим.-фармац. журн.-1977. - Т. 11, №5. - С. 3-11.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

3,5-дихлор-N-фенілантранілати заміщених 9-аміно-5-нітроакридинію загальної формули:



,

де: R_1=4-CH_3 (1)
або R_1=2-OCH_3 (2),
що проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601