

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 117265

ПОХІДНІ N-(4<sup>1</sup>-ХЛОРФЕНІЛ)-6-МОРФОЛІН-4-ІЛ-N<sup>1</sup>-АРИЛ-  
[1,3,5]ТРИАЗИН-2,4-ДІАМІНУ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ  
ПРОТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ЩОДО ВІРУСІВ Н1N1  
ШТАМУ CALIFORNIA/07/2009 ТА Н3N2 ШТАМУ  
BRISBANE/10/2007

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **26.06.2017**.

Директор департаменту інтелектуальної власності Міністерства економічного розвитку і торгівлі України

В.О. Жалдак





- (21) Номер заявки: **u 2016 12996**
- (22) Дата подання заявки: **20.12.2016**
- (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **26.06.2017**
- (46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **26.06.2017, Бюл. № 12**

(72) Винахідники:  
**Демченко Анатолій Михайлович, UA,**  
**Суховєєв Володимир Володимирович, UA,**  
**Барчина Олена Ігорівна, UA,**  
**Абу Шарк Амжад Ібрагім, UA,**  
**Бобкова Людмила Станіславівна, UA**

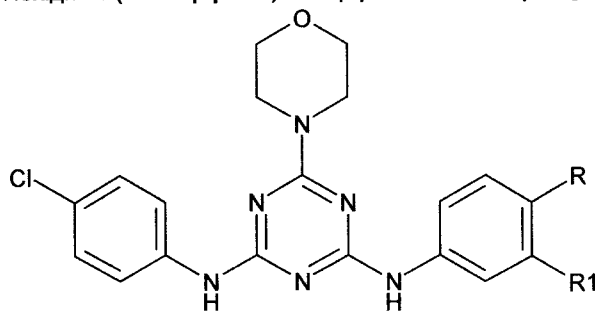
(73) Власник:  
**НІЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ МИКОЛИ ГОГОЛЯ,**  
вул. Графська, 2, м. Ніжин,  
16602, UA

(54) Назва корисної моделі:

**ПОХІДНІ N-(4<sup>1</sup>-ХЛОРФЕНІЛ)-6-МОРФОЛІН-4-ІЛ-N<sup>1</sup>-АРИЛ-[1,3,5]ТРИАЗИН-2,4-ДІАМІНУ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ ПРОТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ЩОДО ВІРУСІВ Н1N1 ШТАМУ CALIFORNIA/07/2009 ТА Н3N2 ШТАМУ BRISBANE/10/2007**

(57) Формула корисної моделі:

Похідні N-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-N<sup>1</sup>-арил-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну, структурної формули:



де RR<sub>1</sub>: -O-CH<sub>2</sub>-O-; R, R<sub>1</sub>: H, COCH<sub>3</sub>,  
що проявляють противірусну активність щодо вірусів Н1N1 штаму California/07/2009 та Н3N2 штаму Brisbane/10/2007.

Державне підприємство  
«Український інститут інтелектуальної власності»  
(Укрпатент)

Оригіналом цього документа є електронний документ з відповідними реквізитами, у тому числі з накладеним електронним цифровим підписом уповноваженої особи Міністерства економічного розвитку і торгівлі України та сформованою позначкою часу.

Ідентифікатор електронного документа 0619240717.

Для отримання оригіналу документа необхідно:

1. Зайти до ІДС «Стан діловодства за заявками на винаходи та корисні моделі», яка розташована на сторінці <http://base.uipv.org/searchInvStat/>.
2. Виконати пошук за номером заявки.
3. У розділі «Документи Укрпатенту» поруч з реєстраційним номером документа натиснути кнопку «Завантажити оригінал» та ввести ідентифікатор електронного документа.

Ідентичний за документарною інформацією та реквізитами паперовий примірник цього документа містить 2 арк., які пронумеровані та прошиті металевими люверсами.

Уповноважена особа Укрпатенту



І.Є. Матусевич

26.06.2017



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117265** (13) **U**  
(51) МПК (2017.01)  
**C07D 253/065** (2006.01)  
**C07D 295/00**

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

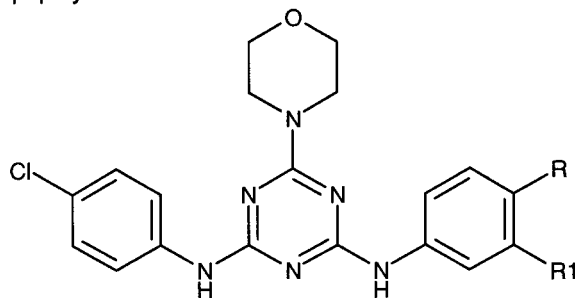
(21) Номер заявки: **u 2016 12996**  
(22) Дата подання заявки: **20.12.2016**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **26.06.2017**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **26.06.2017, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):  
**Демченко Анатолій Михайлович (UA),**  
**Суховєєв Володимир Володимирович (UA),**  
**Барчина Олена Ігорівна (UA),**  
**Абу Шарк Амжад Ібрагім (UA),**  
**Бобкова Людмила Станіславівна (UA)**  
(73) Власник(и):  
**НІЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ**  
**УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ МИКОЛИ ГОГОЛЯ,**  
вул. Графська, 2, м. Ніжин, 16602 (UA)  
(74) Представник:  
**Москаленко Олег Вадимович**

(54) **ПОХІДНІ N-(4<sup>1</sup>-ХЛОРФЕНІЛ)-6-МОРФОЛІН-4-ІЛ-N<sup>1</sup>-АРИЛ-[1,3,5]ТРИАЗИН-2,4-ДІАМІНУ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ ПРОТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ЩОДО ВІРУСІВ H1N1 ШТАМУ CALIFORNIA/07/2009 ТА H3N2 ШТАМУ BRISBANE/10/2007**

(57) Реферат:

Похідні N-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-N<sup>1</sup>-арил-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну, структурної формули:

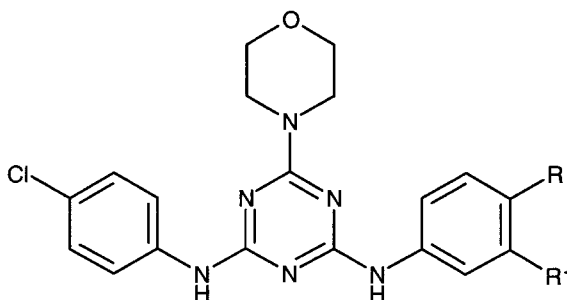


що проявляють противірусну активність щодо вірусів H1N1 штаму California/07/2009 та H3N2 штаму Brisbane/10/2007.

UA 117265 U

Патент на корисну модель належить до фармацевтичної хімії та медицини, а саме до фармакології, зокрема одержання біологічно активних N-бензо[1,3] діоксол-5-іл-N<sup>1</sup>-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM0011880) та 1-{3-[4<sup>1</sup>-хлорфеніламіно)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]-триазин-2-іл-аміно]феніл}етанону (DAM0011882)

5 загальної формули:



де RR<sub>1</sub>: -O-CH<sub>2</sub>-O- (DAM0011880); R = H, R<sub>1</sub> = COCH<sub>3</sub> (DAM0011882).

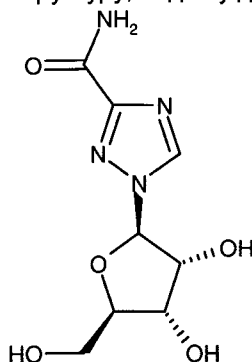
Зазначені сполуки пригнічують віруси грипу H1N1 штаму California/07/2009 та H3N2 штаму Brisbane/10/2007.

10 За даними ВООЗ щорічно в світі на сезонний грип хворіє близько одного мільярда людей, а помирає від нього - біля 3 мільйонів населення планети [1]. Вірус грипу H1N1 штаму California/07/2009 є особливо небезпечним для людини. Так, пандемія 2009/2010 рр. призвела до смерті біля 500 тисяч осіб. В Україні було зафіксовано 1128 летальних випадків, або 0,02 % від усіх, хто захворів [2].

15 Лікування тяжких та середнього ступеня тяжкості випадків направлено на попередження вірусної пневмонії, яка важко протікає та викликає геморагію та дихальну недостатність, а також на профілактику вторинної бактеріальної інфекції, що обумовлює розвиток бактеріальної пневмонії. До ускладнень належать також токсичний геморагічний набряк легень, міокардит, несправжній круп, набряк головного мозку, арахноїдит, поліневрит, радикуліт, невралгії різної локалізації, ендокардит, міозит, нефрит, гломерулонефрит, периферичний висхідний параліч м'язів кінцівок тощо [3].

20 За даними ВООЗ, в сезоні 2008-2009 рр. в більшості країн Європейського регіону переважним збудником епідемічного підйому був штаму Brisbane/10/2007 (H3N2). В Україні головним збудником епідемії грипу в сезоні 2011-2012 років був штаму вірусу грипу A(H3N2), який склав 99 % усіх виділених вірусів грипу у цьому сезоні [4]. Різкий підйом захворюваності супроводжувався появою великого числа тяжких форм та летальних випадків. Він стає все більш розповсюдженим і вбиває по всьому світу тисячі людей на рік.

25 Відомим протівірусним препаратом, що використовується для лікування важкої інфекції, викликаній респіраторним синцитіальним вірусом, вірусним гепатитом С тощо є рибавірин. Він активний у формі метаболіту, що має структуру, подібну до нуклеотиду [5]:



35 Серед побічних ефектів рибавіріну є дозозалежна анемія, важка форма якої викликає смерть пацієнта. Рибавірин також є тератогеном для деяких тварин. При захворюваннях нирок, серцево-судинної системи застосовують препарат після ретельного обстеження. Медичному персоналу слід враховувати його потенційну тератогенність [5].

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з протівірусною активністю, що перешкоджають реплікацію вірусів та які здатні лікувати гострі респіраторно-вірусні інфекції, викликані як вірусами H1N1, штамом California/07/2009, так і H3N2 штамом Brisbane/10/2007.



Таблиця 1

Противірусна активність щодо вірусів грипу H1N1 штаму California/07/2009 та H3N2 штаму Brisbane/10/2007 N-бензо [1,3] діоксол-5-іл-N<sup>1</sup>-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM0011880) та 1-{3-[4<sup>1</sup>-хлорфеніламіно]-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]-триазин-2-іл-аміно]феніл}етанону(DAM0011882)

ID	Virus / Strain	EC <sub>50</sub> , мкг/мл	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	SI	Control Drug	EC <sub>50</sub> , мкг/мл	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	SI
DAM 0011880	FluA(H1N1) Colifornia/07/09	<0,1	>100	>1000	Рибавірин	1	>320	>320
	FluA(H1N1) Colifornia/07/2009	0,56	>100	>180	Рибавірин	10	>320	>32
	Flu A (H3N2) Brisbane/10/2007	0,33	>100	>300	Рибавірин	4.3	>320	>74
DAM 0011882	FluA(H1N1) Colifornia/07/09	<0,27	1,7	6,3	Рибавірин	10	>320	>32
	Flu A (H3N2) Brisbane/10/2007	0,42	>100	>240	Рибавірин	4.3	>320	>74

1. EC<sub>50</sub> - ефективна концентрація, що визначається з кривої доза/ефект і є концентрацією речовини, при якій ефект спостерігається для 50 % популяції після проходження певного часу дії. Виражається у мкг/мл.

2. IC<sub>50</sub> - це концентрація, при якій інгібіція клітин організму речовиною складає 50 %. Виражається у мкг/мл.

3. SI - це індекс селективності, що є показником ефективності препарату, та виражається співвідношенням IC<sub>50</sub> до EC<sub>50</sub>.

Відповідно до результатів скринінгу, наведених у табл. 1, пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011880) у пробі за нейтральним червоним виражено ефективною концентрацією EC<sub>50</sub>, у першому досліді становить 0.1 мкг/мл, а у рибавірину - 1 мкг/мл. Отже, ефективність пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011880) в 10 раз вища, ніж у рибавірину. Поряд з різницею у токсичному впливі на клітини сполуки (DAM0011880) та рибавірину, вираженою концентраціями IC<sub>50</sub> (>100 та >320 відповідно), сумарна корисна активність сполуки (DAM0011880) виражена індексом селективності SI перевищує 1000, а у рибавірину - 320, що означає, що DAM0011880 в більш ніж у 3,12 рази ефективніший за рибавірин.

У другому досліді пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011880) становить 0,56 мкг/мл, тоді як у рибавірину - 10 мкг/мл. Отже, ефективність пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011880) в 17,86 рази вища, ніж у рибавірину. Індекс селективності SI сполуки (DAM0011880) > 180, а у рибавірину вона в 5,63 рази менша і складає >32.

Пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011882) EC<sub>50</sub> становить <0,27 мкг/мл, тоді як у рибавірину воно більша і складає - 10 мкг/мл. Отже, ефективність пригнічення вірусу грипу IVA(H1N1) штаму California/07/2009 сполукою (DAM0011880) у 37 разів вища, ніж у рибавірину.

Пригнічення вірусу грипу H3N2 штаму Brisbane/10/2007 сполукою (DAM0011880), що виражено ефективною концентрацією EC<sub>50</sub>, становить 0,33 мкг/мл, а це в 13 раз вища, ніж у рибавірину, для якого EC<sub>50</sub> становить 4,3 мкг/мл. Індекс селективності SI сполуки (DAM0011880) >300, а у рибавірину вона в 4,05 рази менша і складає >74. Для сполуки (DAM0011882) EC<sub>50</sub>, становить 0,42, тобто в 10,24 рази вища, ніж у рибавірину Індекс селективності SI перевищує рибавірин у 3,24 рази і складає >240.

Такий високий результат дозволяє пропонувати N-бензо [1,3] діоксол-5-іл-N<sup>1</sup>-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діамін та 1-{3-[4<sup>1</sup>-хлорфеніламіно]-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]-триазин-2-іл-аміно]феніл}етанон як альтернативу рибавірину.

Приклади конкретного виконання

Приклад 1. 2,4-Дихлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин (2) одержано взаємодією ціанурхлориду 1 з морфоліном у ацетоні при 5 °C за методикою [6].

Приклад 2. N-бензо[1,3] діоксол-5-іл-N<sup>1</sup>-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну (DAM0011880): До розчину 4,7 г (0,02 моля) 2,4-дихлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазину

(2) в 50 мл диметилформаміду при перемішуванні додавали послідовно 2,76 г (0,02 моль) поташу та 2,55 г (0,02 моля) 4-хлораніліну. Реакційну суміш перемішували при температурі 20 °С 2 години та виливали в 250 мл води. Осад відфільтровували, промивали водою, сушили. Отримували 5,22 г (4-хлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2-іл)-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-аміну (2), який без додаткової очистки та ідентифікації розчиняли в 50 мл тетрагідрофурану. До одержаного розчину при перемішуванні додавали 2,21 г (0,016 моль) поташу та 2,20 г (0,016 моля) бензо[1,3]діоксол-5-аміну. Реакційну суміш перемішували 4 години при температурі 40 °С, охолоджували. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід становить 4,85 г (71 %).  $T_{пл} = 222-224$  °С. Знайдено, %: N, 19,5, Cl, 8,31  $C_{20}H_{19}ClN_6O_3$ . Вирахувано, %: N, 19,7, Cl, 8,20. Спектр ПМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMC): 3,60 (м, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3,73 (м, 4H, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 5,95 (с, 2H, OCH<sub>2</sub>O), 6,80-7,43 (м, 3H, ароматичні протони), 7,26 та 7,74 (д-д, 4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 9,22 (уш. с, 1H, NH), 9,33 (уш. с, 1H, NH).

Приклад 3. 1-{3-[4<sup>1</sup>-Хлорфеніламіно]-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]-триазин-2-іл-аміно]феніл}етанону (DAM0011882) був одержаний аналогічно сполуці (DAM0011880) з 5,22 г (4-хлор-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2-іл)-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-аміну (2), 2,21 г (0,016 моль) поташу та 2,16 г (0,016 моля) 3-аміноацетофенону. Вихід 5,17 г (76 %).  $T_{пл} = 228-230$  °С (з етанолу). Знайдено, %: N, 19,9, Cl, 8,41  $C_{21}H_{21}ClN_6O_2$ . Вирахувано, %: N, 19,8, Cl, 8,35. Спектр ПМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMC): 2,58 (с, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3,64 (м, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3,77 (м, 4H, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 7,42-8,36 (м, 4H, ароматичні протони), 7,32 та 7,77 (д-д, 4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 9,38 (уш. с, 1H, NH), 9,46 (уш. с, 1H, NH).

Приклад 4. Експериментальне визначення противірусної активності було проведено в рамках скринінгової програми Національного Інституту Здоров'я США (NIH/NIAD) у Південному дослідному інституті США (Southern Research Institute-SRI, Birmingham, Alabama).

Для оцінки противірусної активності сполук (DAM0011880) та (DAM0011882) використано методики [7].

Для визначення противірусної активності досліджуваних сполук був проведений тест *in vitro* з використанням клітин MDCK.

Клітини MDCK вирощували в 96-лунковому мікропланшеті до того часу, поки дно кожної лунки не покриється клітинами. Залишкове культуральне середовище повністю видаляли, і кожну лунку двічі промивали фосфатним буфером. У кожну лунку додавали розчин вірусу Flu A (H1N1) California/07/09 або Flu A (H3N2) Brisbane/10/2007, скорегованого до необхідної концентрації. Сполуку DAM 0011880 (або DAM 0011882) та противірусний засіб - рибавірин (Sigma) розчинили в диметилсульфоксиді, додали до кожної лунки до кінцевої концентрації від 0,1 до 10 мкг/мл. Після культивування протягом 48 годин, клітини MDCK спостерігали в мікроскопі. Після додавання 100 мкл 70 % ацетону кожну лунку витримували при -20 °С протягом 1 год. Після висушування в сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну Б), розчиненого в 1 % (v/v) оцтової кислоті. Після 30 хвилин фарбування, розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) оцтовою кислотою. Після висушування в кожну лунку додавали 100 мкл 10 тМ розчину Tris (pH 10,5) для розчинення забарвлюючої речовини на дні лунки. Для оцінки противірусної активності вимірювали оптичну густину. Клітини, що оброблені тільки DMSO, та клітини, що оброблені DMSO та відповідним вірусом, використовували як контрольні групи.

Отже, згідно з одержаними результатами, нові біологічно активні сполуки N-бензо[1,3]діоксол-5-іл-N<sup>1</sup>-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діамін (DAM0011880) та 1-{3-[4<sup>1</sup>-хлорфеніламіно]-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]-триазин-2-іл-аміно]феніл}етанон (DAM0011882) можуть бути запропоновані як потенційні противірусні засоби щодо вірусів H1N1 штаму California/07/2009 та H3N2 штаму Brisbane/10/2007.

Джерела інформації:

1. Вакцина для профілактики гриппа. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Вакцина\\_для\\_профилактики\\_гриппа/](https://ru.wikipedia.org/wiki/Вакцина_для_профилактики_гриппа/) - Назва з екрану.

2. Голубка О.С. Оцінка наслідків тяжких форм грипу та летальності серед осіб груп ризику в пандемічному сезоні 2009-2010 років в Україні /О.С. Голубка, О.В. Онищенко, А.П. Міроненко //Профілактична медицина. -2013. -№ 3-4 (21). - С. 55-58.

3. Москалюк В.Д. Діагностика та лікування грипу: сучасні клініко-патогенетичні аспекти /В.Д. Москалюк, А.С. Сидорчук //Інфекційні хвороби. - 2016. - № 2 (84). - С. 5-14.

4. Лейбенко Л.В. Філогенетичний аналіз вірусів грипу людей А(H3N2), виділених в Україні в епідемічному сезоні 2011-2012 років /Л.В. Лейбенко, В.П. Поліщук, Л.В. Радченко, А.П. Міроненко //Мікробіологія і біотехнологія. - 2013. -№ 1. - С. 37-47.

5. Рибавірин. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%BI%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%80%D0%B8%D0%BD/> - Назва з екрану.



6. Mewada N.S. Synthesis and biological evaluation of novel s-triazine based aryl/heteroaryl entities: Design, rationale and comparative study /N.S. Mewada, D.R. Shah, H.P. Lakum, K.H. Chikhaliya //Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences. - V. 20. - 2016. - P. 8-18. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

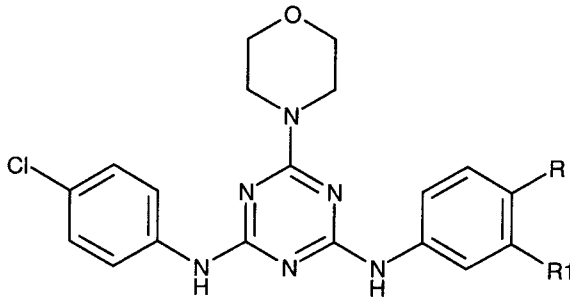
5 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaubas.2014.08.003/> - Назва з екрану.

7. Standard Operating Procedure for In Vitro Antiviral Screening, Institute for Antiviral Research, Institute of Allergy and Infectious Diseases National Institutes of Health. - <http://www.niaid.nih.gov>.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Похідні N-(4<sup>1</sup>-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-N<sup>1</sup>-арил-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну, структурної формули:



15 де RR<sub>1</sub>: -O-CH<sub>2</sub>-O-; R, R<sub>1</sub>: H, COCH<sub>3</sub>,  
що проявляють протівірусну активність щодо вірусів H1N1 штаму California/07/2009 та H3N2 штаму Brisbane/10/2007.

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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