



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80213 (13) C2
(51) МПК (2006)
C07D 219/00
A61K 31/435

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

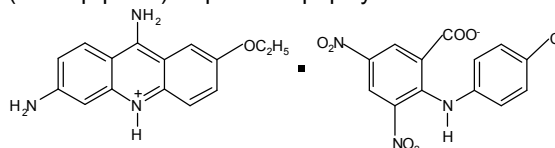
(54) 6,9-ДІАМІНО-2-ЕТОКСІАКРИДИНІЮ 3,5-ДИНІТРО-N-(4'-ХЛОРФЕНІЛ)АНТРАНІЛАТ, ЩО ПРОЯВЛЯЄ АНТИМІКРОБНУ, ПРОТИГРИБКОВУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, АНАЛЬГЕТИЧНУ, ДІУРЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ПОТЕНЦІЮЮЧУ ДІЮ ВІДНОСНО БЕНЗИЛПЕНІЦІЛІНУ НАТРІЄВОЇ СОЛІ

1

(21) а200602105
(22) 27.02.2006
(24) 27.08.2007
(46) 27.08.2007, Бюл. №13, 2007р.
(72) Ісаєв Сергій Григорович, Яременко Віталій Дмитрович, Кобзар Наталія Петрівна, Зупанець Ігор Альбертович, Павлій Олександр Іванович, Шевельова Наталія Юхимівна, Алексєєва Любов Михайлівна, Вишневська Лілія Іванівна
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(56) UA 29047; 16.10.2000
UA 45808; 15.04.2002
UA 48689; 15.08.2002
RU 2017730; 15.08.2002
GB 1999870; 05.07.1923
С.М. Навашин, И.П. Фомина. Рациональная антибиотикотерапия. М. Медицина, 1982, с. 40-42

2

Е.Б. Берхин. Хим. форм. журнал. - 1977 г., т. 11, №5, с. 3-11
М.А. Машковский. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1998 г. - Часть 1. - С. 199, С. 478-480, С. 183, С. 409, Часть 2. - С. 409, С. 357-358, С. 299-301
(57) 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілат формули:



який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно бензилпеніциліну натрієвої солі.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до синтезу 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату, яка проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, 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 (анальгетична дія), гіпотіазид (діуретична дія) [Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2005. - 1200 с.: ил. - С. 951, 852, 913, 170, 159, 499].

До недоліків зазначених засобів можна віднести, зокрема, наявність у тій чи іншій мірі негативної побічної дії. У комплексному лікуванні виникає необхідність призначення хворому одночасно декіль-

ка лікарських засобів з моноспрямованою фармацевтичною дією, внаслідок чого загальна побічна дія підсилюється.

За прототип вибраний - 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 2-N-(3'- хлорфеніл) антранілат, який проявляє антимікробну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі [декларативний патент на винахід №50388 А (Україна) МПК: C07D219/08, A61K31/435. Заявлено 29.12.2001. Опубліковано 15.10.2002. Бюлетень №10].

Сполука за прототипом має широкий спектр дії, проте ступінь фармацевтичної активності може бути реально підвищений.

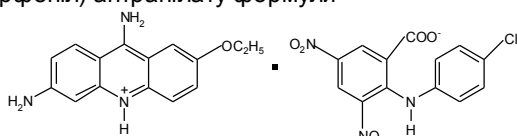
В основу винаходу поставлене завдання про створення нової хімічної сполуки, що проявляє підвищену антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

(13) C2

(11) 80213

(19) UA

Поставлене завдання вирішується шляхом синтезу нової індивідуальної хімічної сполуки 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)-антранілату формули



який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціуючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Речовина, яка заявляється, утворена взаємодією 6,9-діаміно-2-етоксиакридину та 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілової кислоти у етанольному середовищі.

6,9-Діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілат - порошок жовтого кольору, розчинний у воді (1:80), етанолі, ДМСО, ДМФА. Будова сполуки підтверджена за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а індивідуальність - методом тонкошарової хроматографії.

Винахід ілюструється наступним прикладом:

Приклад №1. 2,53г (0,01моль) 6,9-діаміно-2-етоксиакридину розчиняють при нагріванні у 15мл етанолу (розчин №1); 3,38г (0,01моль) 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілової кислоти розчиняють у 10мл етанолу (розчин №2). Потім розчин №1 та №2 змішують. Осад, який випав, відфільтровують, промивають водою та сушать.

Вихід 5,50г (93%), $T_{пл}$. 225-226 °С, М.м. 590,97

Бруто-формула: $C_{28}H_{23}ClN_6O_7$

Розраховано: С, % 56,91; N, % 14,22

Знайдено: С, % 56,95; N, % 14,30

ІЧ- спектр у KBr, cm^{-1} : 3360, 3200, 2990, 1610, 1600, 1590, 1505, 1320, 720

Rf: 0,45 (етанол-хлороформ-гексан 2:1:1).

Приклад №2. Визначення антимікробної активності заявленої сполуки проводилося за методом двократних серійних розведень у рідких поживних середовищах [Навашин С.И., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: Медицина, 1982. -С. 40-42].

Для культивування бактерій використовувалася амінопептид, попередньо розведений у два рази дистильованою водою, рН 7,2. Мікробне навантаження складало 10^5 - 10^6 мікробних тіл в 1мл 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*.

В якості критерію фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) та рівень гострої токсичності (DL_{50}).

Результати вивчення антимікробної активності та токсичності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука №1), у порівнянні з 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 2-N-(3'-хлорфеніл)антранілатом (прототип) та етакридину лактатом наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Антимікробна активність і токсичність заявленої сполуки №1 у порівнянні з прототипом та етакридину лактатом

Сполука	МПК (мкг/мл)								DL_{50} , мг/кг
	Штами мікроорганізмів								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
№1	2,5	2,5	2,5	2,8	7,0	25,0	7,8	10,0	>4900
Прототип	2,8	2,5	2,8	3,8	7,8	31,2	10,0	12,5	>4800
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	250	21

Як видно за даними таблиці 1, сполука №1 активніше етакридину лактату у відношенні до *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* у 12,48 рази, у відношенні до *Echerichia coli* у 6,24 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* у 22,3 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду *Salmonella* у 16-25 разів. Сполука №1 також перевищує основні характеристики прототипу, який в аналогічних умовах виявив наступний рівень активності: у відношенні до *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* у 11,1 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* у 16,4 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду *Salmonella* у 8-20 разів тощо.

Крім того, заявлена сполука є дещо менш токсичною ніж прототип і значно менш токсичною ніж етакридину лактат.

Приклад №3. Визначення протигрибкової активності проводилось за відомою методикою (Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О.Бригера, -3-е изд. перераб. и доп. -М.: Медицина, 1982. -462 с.).

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

Результати вивчення протигрибкової активності та токсичності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука

№1) у порівнянні з прототипом фурациліном та гризеофульвіном наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Протигрибкова активність та токсичність сполуки №1, прототипу та фурациліну

Сполука	Штами грибків, ММК (мкг/мл)		DL ₅₀ (внутрішньо очеревино) мг/кг
	Candida albicans	Trichophyton rubrum	
Сполука №1	25,0	30,0	1100
Прототип	30,0	-	1020
Фурацилін	64,0	-	82,5
Гризеофульвін	-	50	-

Як видно за результатами дослідження, наведеними у таблиці 2, сполука №1 інгібує ріст *Candida albicans* у концентрації у 2,56 рази меншій ніж фурацилін. Крім того, сполука №1 у 13,3 рази менш токсична ніж фурацилін. Прототип не проявляє протигрибкову дію у відношенні *Trichophyton rubrum*. В результаті експерименту встановлено також, що заявлена сполука є менш токсичною, ніж наведені препарати порівняння та прототип.

Таким чином, заявлена сполука перевищує прототип та препарати порівняння за широтою протигрибкової дії.

Приклад №4. Вивчення протизапальної активності проводилося на моделі каррагенинового набряку [Яковлева Л.В., Зупанец І.А. Использование

модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств // Деп. в УкрНИИТИ 07.07.87. -№1908. -Ук. 87].

В якості критеріїв фармакологічної активності вибрано ізоєфективна доза (DE₅₀), при якій фармакологічний ефект набуває 50% випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL₅₀); терапевтичний індекс ТІ (показник відношення DL₅₀/DE₅₀); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення протизапальної активності та токсичності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука №1) у порівнянні з прототипом та вольтареном наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Протизапальна активність та токсичність сполуки №1 у порівнянні з прототипом та вольтареном

Сполука	DE ₅₀ , мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс (ТІ)	Відносний ТІ по вольтарену
Сполука №1	6,2	>4900	790,3	17,56
Прототип	6,25	>4800	768	17,07
Вольтарен	8,0	360	45	1

Як видно за даними таблиці 3, сполука №1 має виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищує вольтарен у 17,56 рази, та знаходиться на рівні прототипу.

Приклад №5. Вивчення анальгетичної активності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука №1) проводилося за методом «оцтових корчей» у білих лабораторних щурів масою 150-180г. Корчі були викликані внутрішньочеревним введенням 0,75% оцтової кислоти у дозі 1мл на 100г маси тіла тварини. Підрахунок кількості корчей проводили через

15 хвилин після введення розчину оцтової кислоти протягом 30 хвилин.

В якості критеріїв фармакологічної активності вибрано ізоєфективна доза (DE₅₀), при якій анальгетичний ефект набуває 50% випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL₅₀); терапевтичний індекс (ТІ); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення анальгетичної активності та токсичності сполуки №1 у порівнянні з прототипом та анальгіном наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Анальгетична активність та токсичність сполуки №1 у порівнянні з прототипом та анальгіном

Сполука	DE ₅₀ , мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс(ТІ)	Відносний ТІ по анальгіну
Сполука №1	20,0	>4900	245	11,24
Прототип	20,6	>4800	233	10,69
Анальгін	55	1197	21,8	1

Як видно за даними таблиці 4, сполука № 1 за широтою терапевтичної дії перевищує анальгін у 11,24 рази та дещо вища, ніж у прототипа.

Приклад №6. Вивчення діуретичної активності проводили за методом Е.Б. Берхіна [Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Хим. -фармац. журн. -1977. -Т. 11, №5. -С. 3-11] на білих щурах лінії Вістар масою 120-160 г. Кожна серія складала з 7 тварин. Кожну

з досліджених сполук вводили у дозі 50мг/кг у водному розчині із розрахунку 3мл води на кожні 100 г ваги тварини. Сечу збирали кожну годину протягом 4 годин.

В якості критерію фармакологічної активності вибрано об'єм сечі дослідних тварин, яка розрахована у відсотках у порівнянні з контролем.

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

Таблиця 5

Діуретична активність сполуки №1 у порівнянні з прототипом та гіпотіазидом

Сполука	Діуретична активність, в % к контролю
Сполука №1	258
Прототип	242
Гіпотіазид	200

Як видно за даними таблиці 5, сполука №1 за діуретичною дією перевищує гіпотіазид на 58%, а прототип на 16%.

Приклад №7. Визначення потенціуючої дії 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілату (сполука №1) при додаванні його до бензилпеніциліну натрієвої солі проводилося у суббактеріостатичній концентрації в якості мікродобавки до бензилпеніциліну натрієвої солі. Тест-моделлю були серійні двократні розведе-

нення в рідкому живильному середовищі. Як розчинник використовувалася вода для ін'єкцій.

Для випробування використовувалися 2 штами мікроорганізмів:

Staphylococcus aureus та *Pseudomonas aeruginosa*.

В якості критерію фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК).

Результати описаного мікробіологічного дослідження наведені в таблиці 6.

Таблиця 6

Потенціуюча дія сполуки №1 та прототипу у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі

Сполука	Штам мікроорганізмів, МПК (мкг/мл)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Бензилпеніциліну натрієва сіль (БПН)	0,9	15,6
БПН + сполука № 1	0,35	2,2
БПН + прототип	0,4	2,5

Як видно за даними таблиці 6, сполука №1 в суббактеріостатичній концентрації підвищує активність антибіотика у відношенні до *Staphylococcus aureus* в 2,6 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* в 7,1 рази. Активність прототипу у даному випадку нижча: 2,25 рази та 6,24 рази відповідно.

Таким чином заявлена сполука 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 3,5-динітро-N-(4'-хлорфеніл)антранілат проявляє широкий спектр фармакологічної дії: антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну та поте-

нціуючу до бензилпеніциліну натрієвої солі. За окремими видами активності вона перевищує дію етакридину лактату, фурациліну, грізеофульвіну, вольта-рену, анальгін, гіпотіазиду. Крім того, собіварність одержання заявленої сполуки нижча за собіварність сполуки за прототипом.

Заявлена сполука може 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.