



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87909** (13) **C2**
(51) МПК (2009)
C07C 219/00
A61K 31/435МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) 6,9-ДІАМІНО-2-ЕТОКСІАКРИДИНІЮ 4-ХЛОП-N-(2'-НІТРОФЕНІЛ)АНТРАНІЛАТ, ЩО ПРОЯВЛЯЄ АНТИМІКРОБНУ, ПРОТИГРИБКОВУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧУ, АНТИОКСИДАНТНУ ТА КАРДІОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) а200712800**(22)** 19.11.2007**(24)** 25.08.2009**(46)** 25.08.2009, Бюл.№ 16, 2009 р.**(72)** ІСАЄВ СЕРГІЙ ГРИГОРОВИЧ, ЗУПАНЕЦЬ ІГОР АЛЬБЕРТОВИЧ, ЯРЕМЕНКО ВІТАЛІЙ ДМИТРОВИЧ, ПАВЛІЙ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ, ТКАЧ АНДРІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ШЕВЕЛЬОВА НАТАЛІЯ ЮХИМІВНА**(73)** НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**(56)** UA 10454 A, 25.12.1996

UA 48079 A1, 15.08.2002

UA 48070 A1, 15.08.2002

UA 48689 A, 15.08.2002

UA 29047 A, 16.10.2000

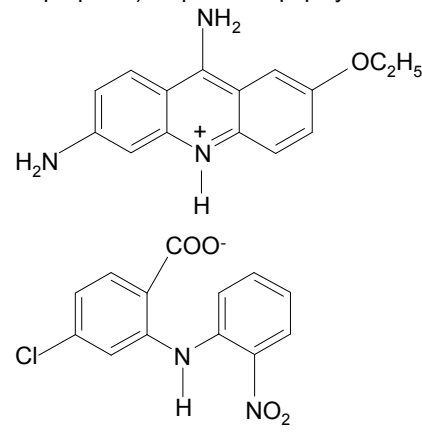
UA 80213 C2, 27.08.2007

RU 2024509 C1, 15.12.1994

US 3 678 054, 18.07.1972

Машковский М.Д. Лекарственные средства.-Минск «Беларусь», 1988. – Том 1. с.159, 172, 419, 421

Машковский М.Д. Лекарственные средства.-Минск «Беларусь», 1988. – Том 2. с.264, 316, 362

(57) 6,9-Діаміно-2-етоксиакридинію 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілат формули:

який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність.

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до синтезу 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)-антранілату, який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність.

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), індометацин та вольтарен (протизапальна дія), вітамін Е (мембраностабілізуюча, антиоксидантна, кардіопротекторна дії) [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2007. - 1200 с: ил. - С. 951, 852, 913, 170, 171, 633].

До недоліків зазначених засобів можна віднести, зокрема, наявність у тій чи іншій мірі негативної побічної дії. У комплексному лікуванні виникає необхідність призначення хворому одночасно декілька лікарських засобів з моноспрямованою фармацевтичною дією, внаслідок чого загальна побічна дія підсилюється.

За прототип вибраний - 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 2-хлорбензоат, який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність [Патент на винахід №10454 (Україна) МПК: С07Д219/08, А61К31/435. Заявлено 14.04.1994. Опубліковано 25.12.1996. Бюлетень №4].

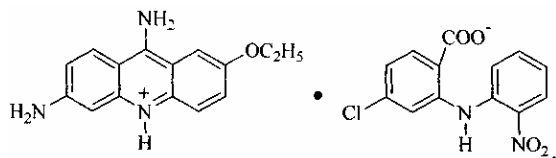
Заявлено 14.04.1994. Опубліковано 25.12.1996. Бюлетень №4].

C2
(13)**87909**
(11)**UA**
(19)

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

В основу винаходу поставлене завдання по створенню нової хімічної сполуки, що проявляє підвищену антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність.

Поставлене завдання вирішується шляхом синтезу нової індивідуальної хімічної сполуки 6,9-діаміно-2-етоксиакридинін 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)-антранілату формули



який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність.

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

6,9-Діаміно-2-етоксиакридинін 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілат - порошок жовтого кольору, мало розчинний у воді і етанолі, легко розчинний в ДМСО та ДМФА. Будова сполуки підтверджена за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а індивідуальність - методом тонкошарової хроматографії. Винахід ілюструється наступними прикладами:

Приклад №1. 2,53г (0,01 моль) 6,9-діаміно-2-етоксиакридину розчиняють при нагріванні у 15мл етанолу (розчин №1); 2,90г (0,01 моль) 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілової кислоти розчиняють у

10мл етанолу (розчин №2). Потім розчин №1 та №2 змішують. Осад, який випав, відфільтровують, промивають водою та сушать.

Вихід 4,90г (90%), $T_{пл}$ 175-179°C, М.м. 545,97

Бруто-формула: $C_{28}H_{24}ClN_5O_5$

Розраховано: С, % 61,60; N, % 12,83

Знайдено: С, % 61,58; N, % 12,86

ІЧ-спектр у KBr , cm^{-1} : 3349, 3219, 2996, 2630, 1649, 1590, 1530, 1500, 1362, 782

Rf: 0,48 (етанол-ізопропанол-гексан 3:3:2).

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 використовувався 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 dublin*; 7 - *Salmonella thyphimurium*; 8 - *Salmonella thyphisuis*,

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

Результати вивчення антимікробної активності та токсичності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілату (сполука №1), у порівнянні з 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 2-хлорбензоатом (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	3,0	3,9	3,2	3,5	5,0	12,5	5,0	7,8	2200
Прототип	3,9	3,9	7,8	3,9	15,6	31,2	31,2	31,2	1500
Етакридину лактат	31,2	31,2	15,6	62,5	125	250	250	125	21

Як видно за даними таблиці 1, сполука №1 активніше етакридину лактату у відношенні до *Staphylococcus aureus* у 10,4 рази, у відношенні до *Bacillus subtilis* у 2,4 рази, у відношенні до *Echerichia coli* у 8 разів, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* у 17,9 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду *Salmonella* у 16-25 разів. Сполука №1 також перевищує за антимікробної активністю сполуку за прототипом: у відношенні до *Staphylococcus aureus* у 1,3 рази, у відношенні до *Bacillus subtilis* у 2,4 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* у 1,1 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду *Salmonella* у 2,5-6,24 рази тощо.

Крім того, заявлена сполука є дещо менш токсичною ніж прототип (в 1,47 рази) 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. - 462с.].

Для вирощування грибів використовувалось середовище Сабуро (рН=6,5-6,7). Навантаження складало 500-600 репродуктивних тілець штамів *Candida albicans* або *Trichophyton rubrum* в 1мл середовища. Протигрибкову дію оцінювали за мі-

німальною мікостатичною концентрацією (ММК), вираженою в мкг/мл.

Результати вивчення протигрибкової активності та токсичності 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 4-

хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілату (сполука №1) у порівнянні з прототипом, фурациліном та грізеофульвіном наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Протигрибкова активність та токсичність сполуки №1, у порівнянні з прототипом та референс препаратами

Сполука	Штами грибків, ММК (мкг/мл)		DL ₅₀ (внутрішньоочеревино) мг/кг
	Candida albicans	Trichophyton rubrum	
Сполука №1	25,0	30,0	2200
Прототип	250	125	1500
Фурацилін	64,0	-	82,5
Грізеофульвін	-	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 і у 10 разів меншій ніж прототип. Крім того, сполука №1 у 26,7 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 каррагенінового набряку [Яковлева Л.В., Зупанец І.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поис-

ке 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 $\frac{DL_{50}}{DE_{50}}$); відносний терапевтичний індекс.

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

Таблиця 3

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

Сполука	DE ₅₀ , мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс (ТІ)
Сполука №1	8,2	2200	268,3
Прототип	8,8	1500	170,5
Індометацин	10,0	30	3
Вольтарен	8,0	360	45

Як видно за даними таблиці 3, сполука №1 має виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищує вольтарен у 5,96 разів, перевищує індометацин у 89,4 рази та перевищує прототип у 1,6 рази.

Приклад №5. Вивчення мембраностабілізуючої, антиоксидантної та кардіо-протекторної активностей проводилося на моделі іздринофуразолідонового ураження міокарду у щурів, яким внутрішньошлунково одноразово через зонд вводили іздрин у дозі 200мг/кг, а через 1 годину внутрішньом'язово вводили іздрин у дозі 40мг/кг. В якості критеріїв фармакологічної активності вибрано наступні показники: за антиоксидантною - рівень малонового діальдегиду в міокарді експериментальних і контрольних груп тварин в реакції з тіобарбітуровою кислотою РВладимиров Ю.Л., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в

биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 157с.] за мембраностабілізуючою - рівень маркерного ферменту кардіоміолізу, аспартатамінотрансферази (АсАТ) в реакції з 2,4-дінітрофенілгідразином [Руководство по кардиологии: Методы исследования сердечно-сосудистой системы / Под ред. акад. АМН СССР Е.И. Чазова. - М.: Медицина, 1982. - Т. 2. - С. 506-521].

Кардіопротекторну активність розраховували як інтегральний показник середнього значення суми мембраностабілізуючої та антиоксидантної активності.

Результати вивчення мембраностабілізуючої, антиоксидантної та кардіопротекторної активностей 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілату (сполука №1) у порівнянні з прототипом, вольтареном та вітаміном Е наведені в таблиці 4.

Мембраностабілізуюча, антиоксидантна та кардіопротекторна активності сполуки №1 у порівнянні з прототипом, вольтареном та вітаміном Е

Сполука	Доза мг/кг	Мембраностабілізуюча %	Антиоксидантна %	Кардіопротекторна %	Відносна кардіопротекторна активність по вітаміну Е
Сполука №1	8,2	64,3±5,3*	73,3±5,4*	70,3	2,8
Прототип	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
Вітамін Е	50,0	16,4±1,2	33,6±2,6	25,0	1,0

* - $p < 0,05$ по відношенню до вольтарену та вітаміну Е;

** - $p < 0,05$ по відношенню до вітаміну Е.

Як видно за даними таблиці 4, сполука №1 у дозі 8,2мг/кг має виражену фармакологічну дію. Сполука №1 перевищує прототип, вольтарен та вітамін Е по мембраностабілізуючій активності відповідно у 1,3, 2,1 та 3,9 рази, по антиоксидантній активності - у 1,3, 2,1 та 2,2 рази, по кардіопротекторній активності - у 1,3, 2,1 та 2,8 рази.

Таким чином заявлена сполука 6,9-діаміно-2-етоксиакридинію 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілат проявляє широкий спектр фармакологічної дії: антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиокси-

дантну та кардіопротекторну. За наведеними видами активності вона перевищує дію етакридину лактату, фурациліну, грізеофульвіну, індометацину, вольтарену, вітаміну Е. Крім того, сполука має відносно низьку собівартість у порівнянні до наведених тест-препаратів.

Заявлена сполука може знайти застосування у медичній практиці при створенні лікарських засобів у різних лікарських формах для лікування інфекційних та запальних некоронарогенних уражень міокарду різної етіології.