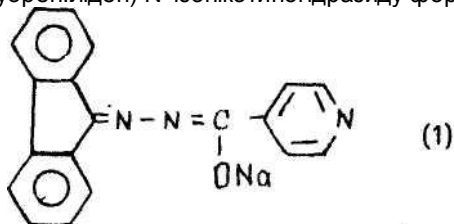


Винахід належить до розділу органічної хімії, до нової хімічної сполуки, а саме до натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду формули 1,



яка виявляє протимікробну, зокрема, протитуберкульозну і антихламідію дію щодо мікобактерій туберкульозу штаму H₃₇R_v і хламідій штаму L₂ (венерична лімфогранульома).

Туберкульоз останнім часом набрав масштабів небезпечного лиха.

20 тисяч громадян України щорічно хворіють на туберкульоз і приблизно 5 тисяч осіб умирає [Фещенко Ю. Двобій з туберкульозом // Медична газета України. - 1996 лютий, - №5(97). - С.7; Фещенко Ю.І. Актуальні питання фтизіатрії та пульмонології в Україні // Український пульмоно-логічний журнал. - 1993. - №1. - С 8-10].

Відомі протитуберкульозні препарати, які ефективні у фтизіатричній практиці, належать до похідних гідрозиду Ізонікотинової кислоти (ГІНК або Ізоніазид, фтивазид, салюзид, салюзид розчинний та метазад) і вже півстоліття широко використовуються для лікування різних форм туберкульозу легень та інших органів. Найефективнішим є Ізоніазид [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1986. - Ч. 2. - С 221-226; С 246-247; С. 273-281; Маслова Л.І., Хоменко А.Г., Парновский В.Л., Калмикова Г.Н. Лекарственные препараты для лечения туберкулеза. - Информационное письмо для врачей-фтизиатров и провизоров. - Львов, 1987. - 45 с].

Недоліком ізоніазиду та його похідних, за даними вітчизняних і зарубіжних авторів, є небажані побічні реакції (токсичні, алергічні і змішаного типу) у хворих [Маслова Л.І., Хоменко А.Г., Парновский В.Л., Калмикова Г.Н. Лекарственные препараты для лечения туберкулеза. - Информационное письмо для врачей-фтизиатров и провизоров. - Львов, 1987. - 45 с; Фирсова Н.А. Побочное действие туберкулостатических препаратов. - Минск, 1971.; Шмелев Н.А., Степанян Е.С. Побочное действие противотуберкулезных препаратов. - М., 1977.; Скакун Н.П., Шманько В. В. К вопросу о гепатотоксичности изониазида. - Проблемы туберкулеза, 1985. - №4 - С. 51-54.; Munch E., Eichelbaum M., Weng J. et al. - Klin. Nschr. - 1982. - Bd. 60. - S. 513-519]. У хіміотерапії туберкульозу має місце лікарська стійкість бактерій, зокрема, збільшення ізоніазидостійких форм, особливо у вперше виявлених хворих [Приймак А.А., Должанский В.М., Сагалович В.Я., Ельмурзаева А.А. Тенденции в развитии лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза // Проблемы туберкулеза. - 1985. - №8. - С. 49-52].

Урогенітальні хламідіози - це група хвороб (синдромів), які викликані патогенним облигатним мікроорганізмом Chlamydia trachomatis. Вони дуже поширені і передаються статевим шляхом. За даними ВООЗ (1992) хламідійними інфекціями у світі уражено 50 млн. людей. При цьому найвищий показник розповсюдження інфекції реєструється у молодих людей віком 15-29 років. [Пирогова В.І. Проблема генітальних сексуально-трансмисивних інфекцій в акушерстві та гінекології // Автореферат дис.... докт, мед. наук. - Київ, 1995. - 42 с].

Відомі такі препарати для лікування хламідіозу: тетрациклін, окситетрациклін, еритроміцин або сульфаніламідні препарати.

Недоліком цих препаратів є їх низька ефективність і велика частота побічних реакцій на організм [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1986. - Часть 1,2].

У зв'язку з викладеним вище, дуже актуальною є проблема пошуку препаратів специфічної протитуберкульозної та антихламідію дії.

Технічне завдання полягає у пошуку протимікробних засобів, зокрема, протитуберкульозної та антихламідію дії серед похідних флуореніліденгідрозидів.

Поставлену задачу вирішують таким чином, що одержують натрію сіль N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду, яка виявляє протитуберкульозну та антихламідію дію і характеризується низькою токсичністю.

Сполука формули 1 у літературі не описана.

Спосіб синтезу речовини формули 1 полягає у взаємодії еквімолекулярних кількостей N-(9-флуореніліден)-N'-Ізонікотиногідрозиду й металічного натрію у диметилформаміді.

Приклад. 2.99 г (0,01 моль) N-(9-флуореніліден)-N'- ізонікотиногідрозиду розчиняють у 50,0 мл диметилформаміду при нагріванні, додають 0,23 г тонко порізаного натрію металічного і кип'ятять протягом 2 год. Потім до гарячого розчину додають при перемішуванні 100,0 мл толуолу і продовжують нагрівати ще 30 хв. Охолоджують до кімнатної температури. Викристалізований осад відфільтровують, промивають толуолом та ефіром, висушують.

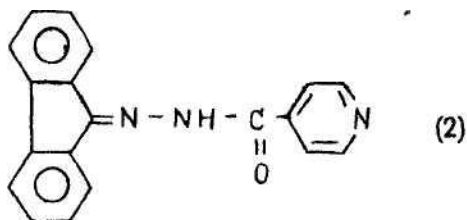
Одержують 3,1 г (96,6%) натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'- Ізонікотиногідрозиду у вигляді оранжевих кристалів, т.пл. >300°C. Знайдено, %: С 71,27; Н 3,79; N 13,26; Na 7,42;

Вирахувано, %: С 71,02; Н 3,76; N 13,08; Na 7,16;

C₁₉H₁₂N₃ONa М. м 321,3173

УФ спектри в етанолі, λ макс, нм: 260 (lg ε 4,69), 340-345 (lg ε 4,21)

Найближчим структурним аналогом заявленої речовини є N-(9-флуореніліден)-N'-Ізонікотиногідрозид формули 2, метод одержання якого описаний у патенті Великобританії №722679 від 26.01.55 р., але який не вивчений з точки зору утилітарних властивостей.



Протитуберкульозна дія заявленої натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду вивчена щодо *Myc. tuberculosis hominis* H₃₇R_v при проведенні експерименту з зависсю культури *Myc. tuberculosis hominis* H₃₇R_v методом дворазових серійних розведень на густому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена.

Густина мікробної суспензії дорівнювала 50 млн. кл./мл.

Встановлено мінімальну інгібуючу концентрацію досліджуваної нової речовини щодо штаму *Myc. tuberculosis hominis* H₃₇R_v, який чутливий до протитуберкульозних препаратів. Вона становить 0 078 мкг/мл.

За еталон порівняння взято найактивніший туберкулостатик ізоніазид.

Порівняльні дані туберкулостатичної активності досліджуваних речовин подані в табл. 1.

Результати досліджень, подані в табл. 1, свідчать про те, що нова речовина - натрієва сіль N-(9-флуореніліден)-N'-Ізонікотиногідрозиду - у двічі перевищує активність відомого протитуберкульозного засобу Ізоніазиду в дослідках на густому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена.

Протихламідійна активність заявленої речовини вивчена при експериментальній хламідійній інфекції (штам L₂, венерична лімфогранульома) в дослідках на курячих ембріонах, які розвиваються.

Зараження проводили у жовточний мішок 7-денних курячих ембріонів в дозі 10 ЛД₅₀/емб, викликавши при цьому загибель 80% контрольних ембріонів. Досліджувану речовину вводили одночасно із збудником в об'ємі 0,5 мл/емб. На кожну експериментальну умову використовували не менше 20 ембріонів.

Термін спостереження за ембріонами становив 12 днів.

Для порівняння ефективності дії використовували відомий сульфаніламідний препарат етазол-натрій, яким лікують хламідіози.

Активність досліджуваної речовини оцінювали за ступенем захисту, який визначають за різницею у виживанні між дослідною і контрольною групами, а також середньою тривалістю життя ембріонів.

Статистичну достовірність одержаних результатів визначено за методом Фішера-Стьюдента.

Отримані результати подані в табл. 2.

Дані табл. 2 свідчать про те, що заявлена речовина має протихламідійну дію, ступінь якої залежить від дози препарату. Так, одноразове її введення разом із збудником у дозах 5,0 та 2,5 мг/емб. забезпечує повне попередження загибелі курячих ембріонів, які розвиваються (процент захисту дорівнює 90). Введення нового препарату в дозі 1,25 мг/емб. підвищувало резистентність до хламідійної Інфекції у 20% ембріонів.

При тих самих умовах досліду етазол-натрій в дозі 2,5 мг/емб. викликав 40%-ий захист курячих ембріонів, які розвиваються, більш ніж у два рази нижче від відповідного показника заявленої речовини. Введення етазол-натрію в дозі 1,25 мг/емб. і нижче не проявляло протихламідійної дії.

Таким чином, одержані дані свідчать про виражену антихламідійну активність нової речовини, яка при зараженні курячих ембріонів, які розвиваються (штам L₂, венерична лімфогранульома) в дозі 10 ЛД₅₀/емб, забезпечувала 90% захисту при дозах 5,0 та 2,5 мг/емб. і 20% захисту при дозі 1,25 мг/емб., що вище від аналогічного показника для етазол-натрію, який застосовується при хламідіозах.

Визначення гострої токсичності нової сполуки проводили на білих безпородних мишах при внутрішньочеревному введенні 5 концентрацій препарату, приготованих шляхом дворазового розведення. Речовину розчиняли в дистильованій воді. На кожну концентрацію використовували по 10 мишей. Загибель тварин реєстрували протягом 14 днів. Розрахунок ЛД₅₀ проводили за методом І.А. Ашмарина, А.А. Воробйова (1962). Вивчення гострої токсичності показало, що ЛД₅₀ при внутрішньочеревному введенні становить для нового препарату 1500 мг/кг маси тварини.

Верхні параметри токсичності натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду вивчено на трьох видах лабораторних тварин, а саме: білих мишах, білих щурах, морських свинках.

Речовини вводили внутрішньошлунково натще в рослинній олії. Середньосмертельна доза для білих мишей, розрахована за методом пробіт-аналізу В.Б. Прозоровського становить 9660 мг/кг.

Гостру токсичність натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-Ізонікотиногідрозиду на білих щурах і морських свинках визначали за методом Дейхмана і Ле Бланка; ЛД₅₀ для білих щурів дорівнює 12000 мг/кг, для морських свинок - 10600 мг/кг.

Результати досліджень подані в табл. 3.

Результати проведених досліджень дозволяють кваліфікувати нову речовину як малотоксичну, що належить до IV класу безпеки за ГОСТ 12.1.007-76.

Перевагою натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду над відомими протимікробними засобами, зокрема, протитуберкульозної (ізоніазид) і антихламідійної (етазол-натрій) дії є те, що запропонована речовина виявляє високу туберкулостатичну і антихламідійну дію при низькій токсичності.

Після поглибленого токсикологічного та фармакологічного дослідження натрієву сіль N-(9-флуореніліден)-N'-Ізонікотиногідрозиду можна рекомендувати для клінічних досліджень у різних лікарських формах (порошок, таблетки, ін'єкційні розчини).

Нова речовина як засіб специфічної протитуберкульозної та антихламідійної дії замінить препарати ряду ГНК, антибіотики-макроліди, антибіотики тетрациклінового та цефалоспоринового ряду й сульфаніламідні препарати. Вона належить до оригінальних субстанцій, які спроможна випускати хіміко-фармацевтична промисловість України.

Таблиця 1

Туберкулостатична дія натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду порівняно з Ізоніазидом у дослідях *in vitro*

Препарати	Активність щодо штаму <i>Myc. tuberculosis hominis</i> H37Rv									
	в мкг/мл (розведення речовин)									
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,156	0,078
Ізоніазид	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Натрієва сіль N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

П р и м і т к а: — повна відсутність росту мікобактерій туберкульозу;
+ наявність 1–20 колоній.

Таблиця 2

Порівняльна антихламідійна активність натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду та етазолу-натрію на моделі експериментальної інфекції у курячих ембріонах, які розвиваються (штам L2, венерична лімфогранульома)

Препарати	Доза, мг/ембріон	Середні терміни загибелі, дні	Повне попередження загибелі, %	% захисту
Контроль хламідій	—	6,8	10	—
Етазол-натрій	5,00	—	100	90
	2,50	7,9	50	40
	1,25	7,4	10	0
	0,62	6,8	5	0
Заявлена речовина	5,00	—	100	90
	2,50	—	100	90
	1,25	7,0	30	20
	0,62	7,0	10	0

Таблиця 3

Гостра токсичність натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду при одноразовому внутрішньошлунковому введенні

Вид тварин	ЛД ₅₀ , мг/кг
Білі миші	9660
Білі щурі	12000
Морські свинки	10600