



УКРАЇНА

(19) UA (11) 24554 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 9/02
A61K 31/661
C07C 275/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) 2-,3-,4-ПІРИДИЛАМІДИ УНДЕЦИЛЕНОВОЇ КИСЛОТИ, ЩО МАЮТЬ СПЕЦИФІЧНУ АНТИМІКРОБНУ АКТИВНІСТЬ ПРОТИ ЕНТЕРОКОКІВ

1

2

(21) u200613962

(22) 28.12.2006

(24) 10.07.2007

(46) 10.07.2007, Бюл. № 10, 2007 р.

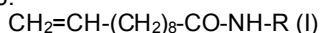
(72) Вишневський Олег Вадимович, Авдєєва Лілія Василівна, Бобкова Людмила Станіславівна, Шумейко Володимир Миколайович, Голубов Михайло

Іванович, Демченко Анатолій Михайлович, Мачерет Яна Юріївна, Покас Олена Вікторівна

(73) ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ

(57) 2-,3-,4-Піридиламіди ундециленової кислоти, що мають специфічну антимікробну активність проти ентерококів.

Корисної моделі відноситься до галузей органічної хімії та медицини і стосується сполук 2-,3-,4-піридиламідів ундециленової кислоти (1) з формулою:



де R=4-Пу(1), 3-Пу(2), 2-Пу(3),

які можуть бути використані як ефективні протимікробні препарати.

Сполуки (1-3) вперше були одержані у 1982 році [1], але їх біологічна активність не була відома. Нами встановлено, що сполуки (1-3) мають високу специфічну антимікробну активність по відношенню до ентерококів, зокрема, проти видів *Enterococcus faecalis* та *Enterococcus faecium*, які найчастіше викликають опортуністичні, в тому числі внутрішньолікарняні інфекції різної локалізації. Серед них захворювання сечостатевої системи, ураження кишечника, ураження жовчовивідних шляхів, підгострі та хронічні ендокардити, хронічні обструктивні бронхіти, хірургічні інфекції, гнійно-септичні інфекції різної локалізації, інфекції центральної нервової системи, абдомінальні та пельвіоперитонеальні інфекції, а також діарея та харчові токсикоінфекції [2, 3]

В сучасний період ентерококи входять до п'ятірки так званих "проблемних" видів мікроорганізмів, які викликають у всьому світі занепокоєння через високу природну стійкість до антибіотиків та

швидкість наростання резистентності до антимікробних препаратів [4].

Аналогом, близьким за хімічною структурою, та прототипом сполук (1-3) корисної моделі є ундециленова кислота (УК), яка використовується в медичній практиці самостійно або у формі солей як протимікробний засіб [5], зокрема, як високо-ефективний препарат проти *Staphylococcus aureus*, що підтверджено і в наших дослідженнях (приклад 2).

Завданням корисної моделі є визначення речовин, які можуть бути використані як ефективні та малотоксичні субстанції для розробки потенційних медичних препаратів проти ентерококових інфекцій.

Поставлене завдання досягається таким чином, що в якості речовин, які мають антимікробну активність по відношенню до ентерококів, запропоновані речовини загальної формули (I).

Суть корисної моделі полягає в тому, що запропоновані сполуки забезпечують високу ефективність дії на ентерококи при малій концентрації в розчинах та низькій токсичності порівняно з прототипом та аналогом.

Сполуки (1-3) можуть бути одержані за відомим методом [1], або технологічно простим та більш економічним, запропонованим нами, способом (приклад 1).

Приклад 1

UA
(19)
24554
(11)
U
(13)

Синтез 2-,3-,4-піридиламідів ундециленової кислоти.

У 3-х горлий реактор об'ємом 150мл вносять 0,94г (0,01г-моль) 2-,3-або 4-амінопіридину, додають 30мл сухого бензолу та 1,4мл (0,01г-моль) триетиламіну. При постійному перемішуванні і температурі в реакційній масі 15-20°C поступово протягом 30хв. додають 2,03г (0,01г-моль) хлорангідриду ундециленової кислоти в 20мл сухого бензолу. Після додавання всієї кількості хлорангідриду ундециленової кислоти реакцію проводять ще протягом 30хв. при температурі 18-20°C, а потім ще 1 годину при температурі 50-55°C. Потім реак-

ційну масу охолоджують до 10-15°C. Осад відфільтровують у вакуумі, промивають на фільтрі 10мл бензолу. Фільтрат упаровують у вакуумі водоструменевого насоса до ¼ первинного об'єму і залишають для кристалізації осаду на добу при температурі 5-8°C. Кристалічний осад відфільтровують у вакуумі і сушать. Одержано кінцевих сполук: $\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_2)_8-\text{CO}-\text{Py}-2-,3-,4$ (таблиця 1).

"2-,3-,4-Піридиламіди ундециленової кислоти, що мають специфічну антимікробну активність проти ентерококів"

Таблиця 1

Основні показники сполук (1-3)

Py	Вихід		Т.топ. °C	Дані елементного аналізу					
	г	%		Розрахункові, %			Одержані, %		
				C	H	N	C	H	N
4-Py	1,64	63	68-70	73.80	9,29	10,76	73,68	9,35	10,91
3-Py	1,56	60	69-71	73.80	9,29	10,76	73,71	9,24	10,82
2-Py	1,69	65	54-56	73.80	9,29	10,76	73,75	9,40	10,71

Вишневський О.В., Авдеева Л.В., Бобкова Л.С., Шумейко В.М., Голубов М.І., Демченко А.М., Мачерет Я.Ю., Покас О.В.

Спектри ЯМР¹H сполук зроблено на імпульсному Фур'є-спектрофотометрі при температурі 20°C у дейтерированому диметилсульфоксиді. В якості стандарту використовували тетраметисилан. Дані вимірювань ЯМР¹H сполук (δ м.д.): 1,2-1,4 (12H, 6-CH₂); 2,0 (2H, =CH-CH₂); 2,3 (2H, -CH₂-CO-); 1,2-1,4 (12H, 6-CH₂); 4,75-5,1 (2H, CH₂=); 5,8(1H, -CH-); 9,45 (1H, -CO-NH-); 7,0-8,3 (4H, протони піридинового циклу).

Співвідношення інтегральних інтенсивностей відповідних сигналів протонів підтверджує структуру молекул та чистоту сполук.

Приклад 2

Визначення антимікробної активності сполук (1) в порівнянні з прототипом

Визначення антимікробної активності сполук (1-3) і прототипа-аналога - ундециленової кислоти проводили методом серійних розведень в рідкому поживному середовищі, яке є оптимальним для росту тест-мікроорганізмів. Для цього використовували м'ясо-пептонний бульйон для штамів E.coli ATCC 25922, S.aureus ATCC 25923, P.aeruginosa ATCC 27853, поживний бульйон з 1 % вмістом глюкози для E.faecalis ATCC 29212. Крім того, в дослідках використовували клінічні ізоляти E.faecalis 52, E.faecalis 12/2, E.faecalis 55/1, а також E.faecium 32, E.faecium 21/1 та E.faecium 25.

Для визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) речовин готували робоче розведення останніх з концентрації 1000мкг/мл, розводили двократно в 2мл рідкого поживного середовища до концентрації 1,25мкг/мл. В кожен пробірку ряду

вносили суспензію тест-мікроорганізмів з розрахунку 10⁵ КУО в 1мл розведення сполуки. Результати враховували візуально через 24год. культивування при 37°C за наявності видимого росту бактерій. Мінімальну концентрацію речовин, при якій не спостерігали видимого росту вважали за МІК речовини. Контролем слугували пробірки з різними концентраціями препарату, але без культури, пробірки з відповідними розведеннями розчинника, а також пробірки з відповідним поживним середовищем без сполуки, але з культурою тест-мікроорганізму.

Визначені МЖ сполук (1-3) та аналога-прототипа представлено в таблиці 2.

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, всі три сполуки та аналог-прототип проявляють високу активність по відношенню до S.aureus, для якого МІК становила: для сполук (1-3) 7,9мкг/мл, а аналога-прототипа - 3,8мкг/мл. Штами E.faecalis і E.faecium, в тому числі клінічні, виділені з біологічного матеріалу від хворих на гнійно-запальні захворювання, не розмножувались при МІК сполуки (1), яка дорівнювала 62,5мкг/мл. Сполуки (2) та (3) пригнічували ріст ентерококів обох видів при концентрації 15,7-31,75мкг/мл. Досліджувані сполуки не проявляли антимікробної активності по відношенню до музейних штамів E.coli та P.aeruginosa.

Таким чином, сполуки (1-3) проявляють виражену антимікробну активність по відношенню до музейного та клінічних штамів ентерококів, а прототип-аналог не проявляє антимікробної активності до ентерококів.

"2-,3-,4-Піридиламіди ундециленової кислоти, що мають специфічну антимікробну активність проти ентерококів"

Таблиця 2

Антимікробна активність сполук $[\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_2)_8\text{CO}-\text{R}]$ на досліджувані штами мікроорганізмів

Мікроорганізм	Мінімальна інгібуєча концентрація сполук, мкг/мл			
	Сполуки			Ундециленова кислота (УК)
	1	2	3	
S.aureus ATCC 25923	7,9	7,9	7,9	3,8
E.coli ATCC 25922	>500	>500	>500	>500
P.aeruginosa ATCC 27853	>500	>500	>500	>500
E.faecalis ATCC 29212	62,5	15,7	31,75	>500
E.faecalis 52	62,5	15,7	31,75	>500
E.faecalis 12/2	62,5	15,7	15,7	>500
E.faecalis 55/1	31,75	15,7	31,75	>500
E.famm 32	62,5	15,7	15,7	>500
E.faecium 21/1	62,5	15,7	31,75	>500
E.faecium 25	62,5	15,7	31,75	>500

Вишневський О.В., Авдеева Л.В., Бобкова Л.С., Шумейко В.М., Голубов М.І., Демченко А.М., Мачерет Я.Ю., Покас О.В.

Приклад 3

Визначення гострої токсичності сполук (1-3) та аналога-прототипа

Визначення гострої токсичності сполук (1-3) та аналога-прототипа проведено у відповідності з вимогами ГОСТ 12.1.007-76 та ГОСТ 12.1.005-88 на білих статевозрілих мишах по 10 особин у кож-

ній групі шляхом введення розчинів внутрішньочеревинно. Спостереження у гострому токсикологічному експерименті тривало протягом 14 діб. Розрахунок показників гострої токсичної дії проведено за модифікованого методикою Лічфілда та Вількоксона [6]. Одержані у дослідіх результати статистично оброблено і зведено в таблиці 3.

"2-,3-,4-Піридиламіди ундециленової кислоти, що мають специфічну антимікробну активність проти ентерококів"

Таблиця 3

Токсикологічні характеристики гострої токсичної дії сполук (1-3) $[\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_2)_8\text{CO}-\text{NH}-\text{R}]$ та прототипу (УК)

Сполука	Значення характеристики, мг/кг маси тіла тварин						
	ЛД ₉₅	ЛД ₈₄	ЛД ₅₀ ¹³³³⁶	ЛД ₁₆	ЛД ₁₀	ЛД ₀	LIM _{ac}
1	400,0	370,0	340±13,3	305,0	290,0	51,0	4,8
2	300,0	185,0	85,0±3,6	40,0	32,0	12,8	1,2
3	350,0	278,0	212,5±6,3	172,0	-	31,0	3,2
Прототип (УК)	-	38,4	22,5±1,85	18,0	12,0	3,38	0,32

Вишневський О.В., Авдеева Л.В., Бобкова Л.С., Шумейко В.М., Голубов М.І., Демченко А.М., Мачерет Я.Ю., Покас О.В.

З аналізу даних таблиці 3 можна зробити висновки про те, що найбільш токсичною сполукою в представленому ряду сполук є ундециленова кислота (прототип).

Перелік посилань:

1. Vig O.P., Trehan I.R., Kad G.I. et al. // Indian J. Chem. Sect. B. - 1982, 21 B (11). - P.1052-1055.
2. Dan M., Heshkovits A., Mirsky L. et al. // Int. J. Infect. Diseases. - 1997. - Vol.2, N2. - P.110-112.

3. Shaberg D.R., Cuever D.H., Gayner R.P. // American Jomal of Medicine. - 1991. - Vol.91, Suppl. 3 B. - P.72-75.

4. Moellering R.C. // Clin. Infec. Diseases. - 1998. - Vol.26, N5. -P.1196-1199.

5. Машковский М.Д. Лекарственные средства // Т.1, 2. - М, ООО Изд. "Новая волна". - 2002.

6. Шумейко В.М., Глуховський Ш.Г., Овруцький В.М. та ін. - Екологічна токсикологія // Київ, "Столиця". - 1998. - С.59-62.