



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 34079

(13) U

(51) МПК (2006)

A61K 31/33

A61K 31/4409

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) 4-АМІНО-БЕНЗИЛІДЕН-ГІДРАЗІД ІЗОНІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ, ЩО ВІЯВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ

1

2

(21) u200802999

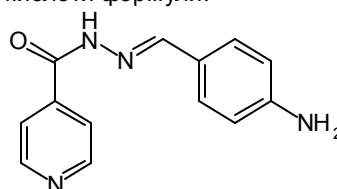
(22) 07.03.2008

(46) 25.07.2008, Бюл.№ 14, 2008 р.

(72) ДРАПАК ІРИНА ВОЛОДИМИРІВНА, UA, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС СЕМЕНОВИЧ, UA, ЛЕСИК РОМАН БОГДАНОВИЧ, UA, АТАМАНЮК ДМИТРО ВАЛЕРІЙОВИЧ, UA, ЧУЛОВСЬКА УЛЯНА БОГДАНІВНА, UA, НЕКТЕГАСЬ ІГОР ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, UA

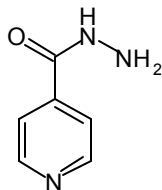
(57) 4-аміно-бензиліден-гідрозид ізонікотинової кислоти формули:



що виявляє протитуберкульозну активність.

Корисна модель стосується синтезу органічних сполук і фармації, зокрема одержання біологічно активних сполук, що виявляють протитуберкульозну активність, і може бути використана в клінічній медицині як протитуберкульозний лікарський засіб.

Відомі лікарські засоби з протитуберкульозною активністю, похідні γ -піридинкарбонової (ізонікотинової) кислоти (група ГІНК), основним представником яких є ізоніазид:



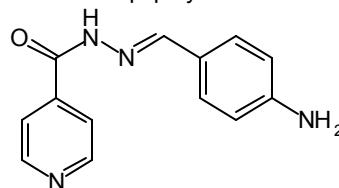
Ізоніазид виявляє високу бактеріостатичну активність по відношенню до збудника туберкульозу *Micobacterium tuberculosis*. Діє на мікобактерій, які знаходяться як позаклітинно, так і внутріклітинно, на інших розповсюджених збудників інфекційних захворювань вираженої хіміотерапевтичної дії не виявляє. Ізоніазид є найефективнішим протитуберкульозним засобом, застосовують для профілак-

тики та лікування туберкульозу різної форми та локалізації [Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2-х т. - М.: Новая Волна, 2001. - Т. 1. - 540с.; Т. 2. - 608с.].

Однак ізоніазид має ряд побічних ефектів, зв'язаних з токсичним і імунопатологічним ураженням печінки, центральної нервової системи, нирок, шкіри та інших органів та систем. Крім того, можливе формування стійкості *M. tuberculosis* до препаратів ГІНК.

В основу корисної моделі поставлене завдання створення більш ефективного протитуберкульозного засобу з меншими побічними проявами.

Поставлене завдання вирішується тим, що синтезований 4-аміно-бензиліден-гідрозид ізонікотинової кислоти формули:



що виявляє протитуберкульозну активність.

Синтезована сполука є жовтим кристалічним порошком, нерозчинним у воді, розчинним в оцто-

(13) U

(11) 34079

(19) UA

вій кислоті та спиртах при нагріванні.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, зокрема ПМР-спектроскопія та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Заявлену сполуку одержують взаємодією ізоніазиду та утвореного *in situ* 4-амінобензальдегіду. Реакцію проводять у водно-спиртовому середовищі.

Туберкулостатичну активність речовини вивчено на мікобактеріях туберкульозу людського типу штаму H₃₇R_v. Досліди проведено *in vitro* з завісью культури методом серійних розведень на твердому середовищі Левенштейна-Єнсена. Розведення кожної речовини починають від концент-

рації 200мкг/мл розчину. У кожную пробірку заливають середовище з відповідним розведенням досліджуваної сполуки та додають 0,2 мл суспензії культури. Мікробну суспензію готують за стандартом помутніння Me Farland 0,5. Її густина становить приблизно 1,5x10⁸ клітин в 1мл. Контролем є мікробна суспензія зі середовищем без досліджуваних сполук. Паралельно, з метою порівняння бактеріостатичної активності, виконано ідентичні дослідження з еталоном порівняння - одним із основних протитуберкульозних засобів - ізоніазидом. Мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) вважають найменшу концентрацію сполуки, яка затримує ріст мікобактерій туберкульозу. МІК заявленої сполуки та ізоніазиду подані в таблиці 1.

Таблиця 1

Бактеріостатична активність 4-амінобензиліден-гідразиду ізонікотинової кислоти в порівнянні з ізоніазидом

Препарат	Активність щодо мікобактерій туберкульозу штаму H ₃₇ R _v / розведення речовин, мкг/мл														
	200,0	100,0	50,0	25,0	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,195	0,097	0,048	0,024	
4-аміно-бензиліден-гідразид ізонікотинової кислоти	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	
ізоніазид	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	

Примітка: - немає росту мікобактерій туберкульозу ± - наявність 1-19 колоній

Як видно з таблиці 1, заявлена сполука затримує ріст мікобактерій туберкульозу штаму H₃₇R_v в концентрації 0,097мкг/мл.

Для визначення гострої токсичності використано показник середньої летальної дози LD₅₀. Гостру токсичність заявленої сполуки вивчено на білих безпородних мишах масою 20-22г при внутрішньоочеревинному способі введення. З досліджуваної речовини приготовано суспензію з таким розрахунком, щоб доза препарату для однієї тварини містилася в об'ємі 0,3мл. Тваринам введено по 3-4 концентрації речовини, на кожную кон-

центрацію використано 6-8 мишей. Загибель мишей реєстрували протягом 14 днів. Розрахунок LD₅₀ проведено за методом Літчфілда та Уілкоксона [Litchfield J.T., Wilcoxon F.A simplified method of evaluating dose-effect experiments // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1949. Vol. 96. - P.99.; Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральном способе введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. - М.: Медицина. - 1973. - Вып. 13. - С.47-51]. LD₅₀ заявленої сполуки в порівнянні з ізоніазидом подані в таблиці 2.

Таблиця 2

Гостра токсичність 4-аміно-бензиліден-гідразиду ізонікотинової кислоти при внутрішньоочеревинному введенні (для білих мишей)

Речовини	LD ₅₀ , мг/кг
4-аміно-бензиліден-гідразид ізонікотинової кислоти	320
ізоніазид	160

З наведених у таблиці 2 даних видно, що LD₅₀ досліджуваної сполуки становить 320мг/кг при внутрішньоочеревинному способі введення. Отже, досліджувана речовина в 2 рази менш токсична за ізоніазид.

Таким чином, сполука, що заявляється, виявляє високу протитуберкульозну активність та меншу токсичність за ізоніазид і є перспективним протитуберкульозним засобом.

Сполуку синтезують наступним чином. До розчину 0,062 моль гідроксиду натрію в 15мл води

додають 0,037 моль сірки та кип'ятять під зворотнім холодильником 1-1,5год до утворення однорідного розчину. Окремо приготований розчин 0,018 моль 4-нітротолуолу в 12мл етанолу додають до реакційної суміші та кип'ятять її під зворотнім холодильником ще 2год. Після закінчення реакції та охолодження до кімнатної температури на ділільній лійці відділяється нижній шар, а решта додається до попередньо приготованого розчину 0,011моль ізоніазиду в 10мл води. Утворену реакційну суміш нагрівають до кипіння та охолоджують.

Одержаний осад відфільтровують та перекристалізують з етанолом.

Одержують жовтий порошок з $T_{\text{топл}} 176^{\circ}\text{C}$, вихід - 77%.

Знайдено, %: N23,40. $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$

Вираховано, %: N23,32.

ЯМР ^1H , δ , м.ч. ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_3$): 5,86с (2H, NH_2 , 6,58д, 7,39д (4H, $J=8,5\text{Гц}$, $\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$), 7,78д, 8,74д (4H, $J=6,0\text{Гц}$, $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$), 8,24с (1H, CH), 11,70с (1H, CONH).