



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **67510** (13) **U**
(51) **МПК (2012.01)**
C07D 251/00
A61K 31/53 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ГІДРОХЛОРИДИ 2-МОРФОЛІНО-4,6-ДІАРИЛАМІНО-1,3,5-ТРИАЗИНІВ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ АНТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ЩОДО ВІРУСУ TACARIBE

1

2

(21) u201109157

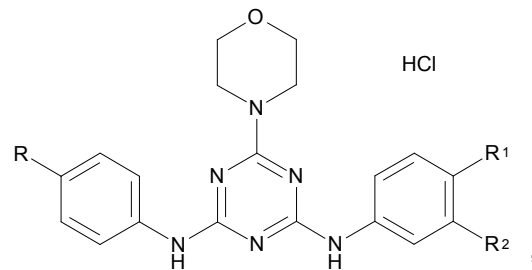
(22) 21.07.2011

(24) 27.02.2012

(46) 27.02.2012, Бюл.№ 4, 2012 р.

(72) ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ, БОБ-
КОВА ЛЮДМИЛА СТАНІСЛАВІВНА, ШУТЬ ДМИТ-
РО МИКОЛАЙОВИЧ, БАРЧИНА ОЛЕНА ІГОРІВНА
(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ФАРМА-
КОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ"

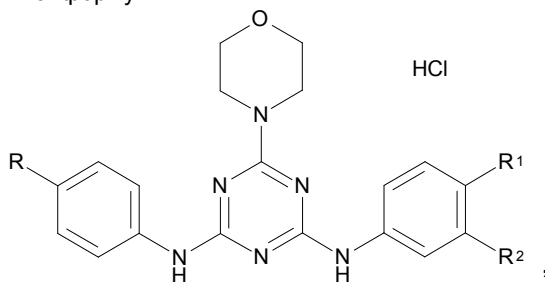
(57) Гідрохлориди 2-морфоліно-4,6-діариламіно-
1,3,5-триазинів структурної формули:



де R, R₁, R₂ = H, F, OCH₃

що проявляють антивірусну активність щодо вірусу Tacaribe.

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії та медицини, а саме до фармакології засобів, зокрема одержання біологічно активних 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів, загальної формули:



де R, R₁, R₂ = H, F, OCH₃

які виявляють антивірусну активність, що дозволяє передбачити їх використання у практичній медицині, як антивірусні лікарські засоби, а саме для лікування геморагічної лихоманки, викликаной вірусом Tacaribe.

Відомо, що вірус Tacaribe належить до аренавірусів та викликає тяжку геморагічну лихоманку з високою летальністю. Основні переносники вірусу - різноманітні гризуни. Під час спалахів хвороби можлива контактна передача аренавірусів через

пошкоджену шкіру. Вхідними воротами є КШТ та дихальні шляхи; віруси розмножуються у лімфатичних вузлах, поширюються з кровотоком та викликають масивні ураження капілярів з порушенням їх проникності та обширними геморагіями. Смерть хворих зазвичай настає у результаті розвитку шоку.

Розвиток геморагічної лихоманки протікає бурхливо: характерні висока температура тіла, головний та м'язові болі. При важких формах геморагічної лихоманки додаються явища інтоксикації, уражень ЦНС, геморагічного дізезу з подальшим розвитком шоку. Смерть настає через 2 тижні після початку хвороби; летальність може досягати 70 %.

Зазвичай, проводять симптоматичне лікування інфекцій аренавірусів, оскільки засоби етіотропної лікарської терапії відсутні. Для лікування використовують гіперімунну сироватку від донорів та реконвасцилентів. Для специфічної профілактики розроблені вакцини.

Препарати типу рибавіріну іноді можуть знижувати смертність в три рази. Препарати специфічної дії щодо вірусу Tacaribe не відомі.

Відомий противірусний препарат Рибавірин, який застосовують для лікування важкої інфекції, викликаной респіраторним синцитіальним вірусом, вірусним гепатитом С, а також багатьох вірусних

(13) **U**(11) **67510**(19) **UA**

геморагічних лихоманок. Рибавірин є активним у формі метаболіту, що має структуру, подібну до пуринового нуклеотиду, та порушує реплікацію вірусу, механізм якої не встановлений.

У США та Великобританії рибавірин признають орально для лікування гепатиту С у поєднанні з інтерферонами. У формі аерозолі рибавірин використовують для лікування захворювань респіраторним синцитіальним вірусом у дітей. Ефективність препарату не підтверджується у багатьох дослідженнях.

Одним із побічних ефектів рибавірину є дозозалежна анемія, тяжка форма якої викликає смерть пацієнта (у зв'язку з чим необхідний повний контроль показників крові у процесі лікування). Рибавірин також є тератогеном для деяких тварин.

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з противірусною активністю, що перешкоджають репліка-

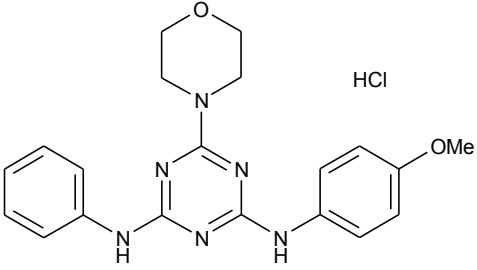
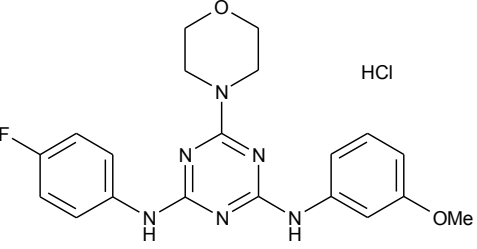
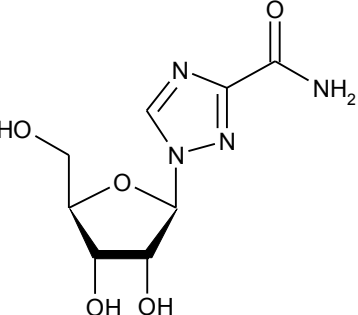
цію вірусу та які здатні лікувати геморагічну лихоманку, викликану вірусом Tacaribe.

Поставлена задача вирішується тим, що як нові біологічно активні сполуки запропоновані похідні 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів.

В таблиці наведені експериментальні дані активності гідрохлоридів 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів щодо вірусу Tacaribe. Ефективність одержаних сполук виражали показниками EC_{50} , IC_{50} та SI, які визначали в досліді *in vitro* при дії сполук в розчині ДМСО в діапазоні концентрацій від 0,1 до 100 мкг/мл. Сполуки DAM0011788 та DAM0012262 мають переваги в пригніченні вірусу у порівнянні з прототипом - рибавірином. А саме - індекс селективності сполук DAM0011788 та DAM0012262 складає 160 та 667 відповідно, проти 140 у рибавірин. Крім того, активність проявляється при значно менших концентраціях - EC_{50} 0,64 та 0,15 відповідно, проти 6,9 у рибавірин. Результати наведені в таблиці.

Таблиця

Противірусна активність щодо вірусу Tacaribe похідних 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів

ID	Структура	Мол. маса	Тип вірусу	EC_{50} , мкг/мл	IC_{50} , мкг/мл	SI
DAM 0011788		414,9	Tacaribe	0,64	>100	>160
DAM 0012262		432,9	Tacaribe	0,15	>100	>667
Рибавірин		244,2	Tacaribe	6,9	>1000	>140

Примітки:

1. EC_{50} - ефективна концентрація, що визначається з кривої доза/ефект і є концентрацією речовини, при якій ефект спостерігається для 50 % популяції після проходження певного часу дії. Виражається у мкг/мл.
2. IC_{50} - це концентрація, при якій інгібіція клітин організму речовиною складає 50 %. Виражається у

мкг/мл.

3. SI - це індекс селективності, що є показником ефективності препарату та виражається співвідношенням IC_{50} до EC_{50} .

Заявлені похідні 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів отримують із середніми виходами при використанні відомих синтетичних підходів в декілька стадій (рис.).

Приклади конкретного виконання.

Приклад 1.

Загальний метод синтезу похідних 2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів.

Стадія 1. 2,4-дихлор-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазин 2 був одержаний з ціанурхлориду та морфоліну за методом [1].

Стадія 2. 4-хлор-6-морфолін-4-іл-М-феніл-1,3,5-триазин-2-амін 3a був одержаний з 2,4-дихлор-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазину 2 та аніліну за методом [2].

4-хлор-N-(4-фторфеніл)-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-амін 3b був одержаний з 2,4-дихлор-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазину 2 та n-фтораніліну за методом [3].

Стадія 3. Гідрохлорид N^2 -(4-метоксифеніл)-6-морфолін-4-іл- N^4 -феніл-1,3,5-триазин-2,4-діаміну (сполука DAM0011788) одержаний додаванням до розчину 2,92 г (0,01 моля) 4-хлор-6-морфолін-4-іл-N-феніл-1,3,5-триазин-2-аміну 3a у 40 мл ацетонітрилу 1,23 г (0,01 моля) пара-анізидину, після чого суміш кип'ятять протягом 3-х год. Після проходження реакції суміш охолоджують і осад продукту, що випав, відфільтровують та промивають ізопропанолом. Вихід гідрохлориду DAM0011788 складає 2,81 г (68 %). Т. пл. 181-183 °C Знайдено, %: N20,1, Cl 8,42. $C_{20}H_{22}N_6O_2 \cdot HCl$. Вираховано, %: N20,3; Cl 8,54. ЯМР 1H (δ , м.ч.): 3,67 (м, 4H, $-CH_2-CH_2-$); 3,71 (м, 4H, $-CH_2-CH_2-$); 3,74 (с, 3H, OCH_3); 6,89-7,32 (м, 5H, Ph); 7,56 та 7,70 (д-д, 4H, C_6H_4); 9,51 (уш. с. 1H, NH); 9,60 (уш. с. 1H, NH).

Гідрохлорид N^2 -(4-фторфеніл)- N^4 -(3-метоксифеніл)-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2,4-діаміну (сполука DAM0012262) одержаний аналогічно сполуці DAM0011788 з 3,1 г (0,01 моля) 4-хлор-N-(4-фторфеніл)-6-морфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-аміну 3b та 1,23 г (0,01 моля) метанізидину. Вихід гідрохлориду DAM0012262 складає 3,15 г (73 %). Т. пл. 204-206 °C. Знайдено, %: N19,2 %. $C_{20}H_{21}FN_6O_2 \cdot HCl$. Вираховано, %: N19,4 %; ЯМР 1H (δ , м.ч.): 3,67 (м, 4H, $-CH_2-CH_2-$); 3,71 (м, 4H, $-CH_2-CH_2-$); 3,74 (с, 3H, OCH_3); 6,63 (м, 1H, $C_6H_4OCH_3$); 7,16 (м, 2H, $C_6H_4OCH_3$); 7,22 (д, 2H, C_6H_4F); 7,35 (уш. с. 1H, $C_6H_4OCH_3$); 7,69 (уш. м. 2H, C_6H_4F); 9,8 (уш. с. 2H, NH).

Приклад 2.

Експериментальне визначення протівірусної активності було проведено в Південному дослідному інституті США (Southern Research Institute-SRI, Birmingham, Alabama).

Для визначення протівірусної активності сполук DAM0011788 та DAM0012256 був проведений тест *in vitro* з використанням клітин Vero.

Клітини Vero вирощували в 96-лунковому мікропланшеті до того часу, поки дно кожної лунки не покриється клітинами. Залишкове культуральне середовище повністю видаляли, і кожну лунку двічі промивали фосфатним буфером. В кожну лунку додавали розчин вірусу Tataribe, скорегований до необхідної концентрації. Кожну із сполук DAM0011788, DAM0012256; та протівірусний засіб - рибавірин (Sigma), розчинені в диметилсульфоксиді, додавали до кожної лунки до кінцевої концентрації від 0,1 до 10 мкг/мл. Після культивування протягом 48 год. клітини Vero спостерігали в мікроскоп. Після додавання 100 мкл 70 % ацетону кожну лунку витримували при -20 °C протягом 1 год. Після висушування в сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну Б), розчиненого в 1 % (v/v) оцтової кислоти. Після 30 хв. забарвлення розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) оцтовою кислотою. Після висушування в кожну лунку додавали 100 мкл 10 mM розчину Tris (pH 10,5) для розчинення забарвлюючої речовини на дні лунки. Для оцінки протівірусної активності вимірювали оптичну густину. Клітини, оброблені тільки DMSO, та клітини, оброблені DMSO та Tataribe, використовували як контрольні групи.

Список посилань:

1. Montalbetti, Christian A. G. N.; Coulter, Thomas S.; Uddin, Muhammed K.; Reignier, Serge G.; Magaraci, Filippo; Granaes, Charlotta; Krog-Jensen, Christian; Felding, Jakob; Tetrahedron Letters; vol. 47; nb. 33; (2006); p. 5973-5975.

2. Sunduru, Naresh; Gupta, Leena; Chauhan, Prem M.S.; Chaturvedi, Vinita; Dwivedi, Richa; Sinha, Sudhir; European Journal of Medicinal Chemistry; vol. 45; nb. 8; (2010); p. 3335-3345.

3. Patent: WO2011/39735A2, 2011. CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE; UNIVERSITA DEGLI STUDI DI SIENA; RADI, Marco; BOTTA, Maurizio; FALCHI, Federico; MAGA, Giovanni; BALDANTI, Fausto; PAOLUCCI, Stefania.

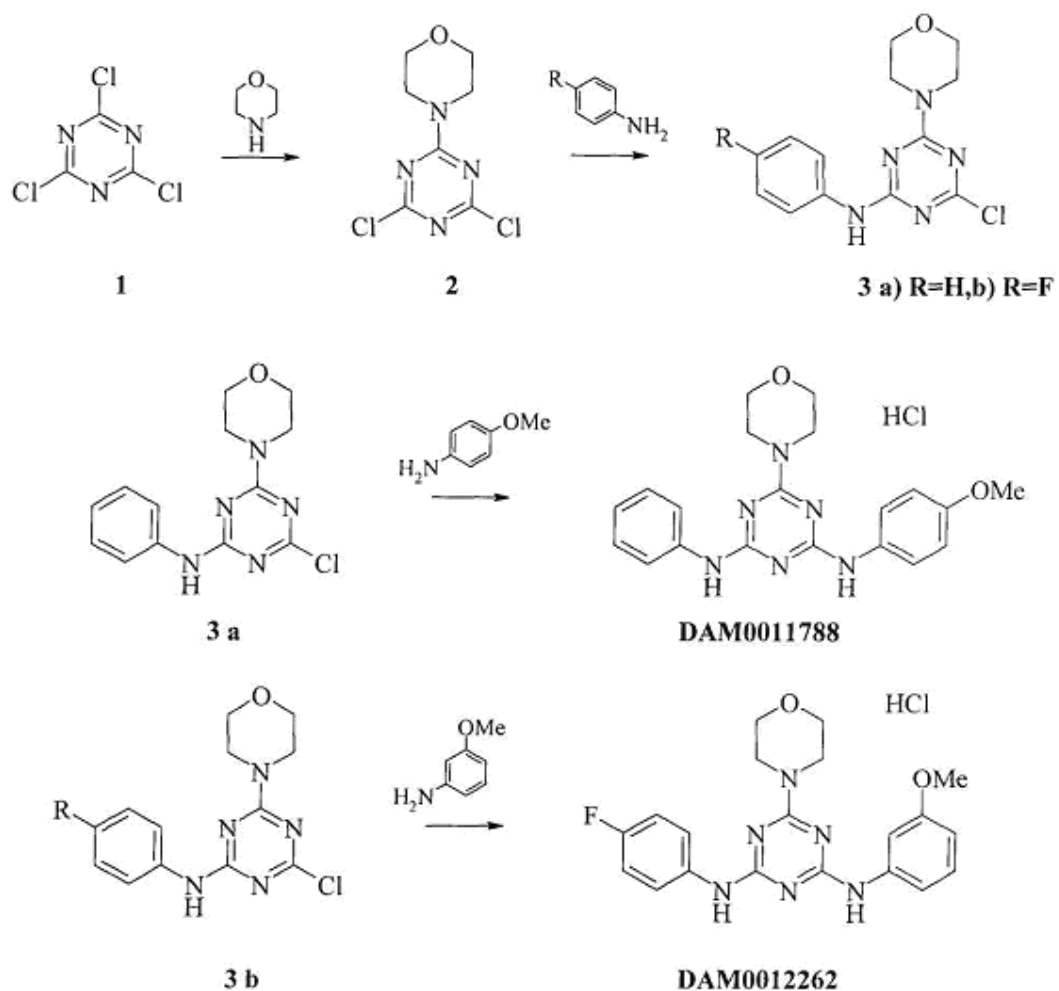


Схема синтезу гідрохлоридів
2-морфоліно-4,6-діариламіно-1,3,5-триазинів