



УКРАЇНА

(19) UA (11) 75779 (13) C2

(51) МПК (2006)

C07C 317/32 (2006.01)

C07D 239/10 (2006.01)

C07D 239/20 (2006.01)

A61K 31/10 (2006.01)

A61K 31/505

A61P 31/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**(54) 4,4'-СУЛЬФОНІЛБІС-(N,N'-ДИМЕТИЛАМОНІОМЕТИЛЕНАНАЛІН)-ХЛОРИД 6-МЕТИЛ-2,4-ДІОКСО-1,2,3,4-ТЕТРАГІДРОПІРИМІДИН-5-СУЛЬФОНАТ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЙОГО ОСНОВІ**

1

2

(21) 20040705593

(22) 09.07.2004

(24) 15.05.2006

(31) 2004100299

(32) 12.01.2004

(33) RU

(46) 15.05.2006, Бюл. №5, 2006р.

(72) Дмитрієв Александр Івановіч, RU

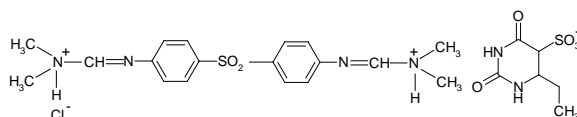
(73) ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ИНФОРМ-XXI", RU

(56) SU 687074, 28.09.79

UA №46163, 15.05.2002

М. Д. Машковский, Лекарственные средства, Москва, ООО "Новая волна", издатель С.Б. Дивов, 2002 г., 14-е изд., т.2, с. 321

(57) 1. 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометиленааналін)-хлорид 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонат формули (I):



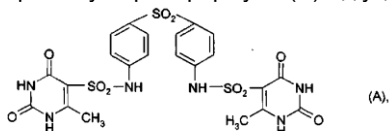
(I).

2. Сульфонат формули (I) за п.1, що виявляє антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активності.

3. Фармацевтична композиція, що має антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активність, що містить активну речовину і цільові добавки, яка відрізняється тим, що як активну речовину вона містить 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометиленааналін)-хлорид 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонат формули (I) за п.1 в ефективній кількості.

Винахід стосується галузі біологічно-активних речовин, зокрема 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометиленааналін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонату, які мають антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активність і можуть бути використані як імунomodulatory та антимікобактеріальні засоби, а також належить до фармацевтичної композиції на їх основі.

Відомий пара-пара-(2,4-діоксо-6-метилпіримідин-5-сульфонаміно)-дифенілсульфон формули (A) - діуцифон,



(A).

що має протилепопрозну та імунomodulatory активність [М.Д.Машковский, Лекарственные средства, Москва, ООО «Новая волна», издатель С.Б.Дивов, 2002г., 14-е изд., т.2, стр.321]. Токсичність діуцифону становить 2600мг/кг (перорально). Проте вказана речовина погано або зовсім не розчиняється у воді, що знижує її біологічну доступність і, отже, біологічну активність. У зв'язку з цим лікувальні дози лікарських препаратів на основі діуцифону повинні бути достатньо високими. Погана розчинність та низька біологічна доступність діуцифону не дозволяють йому протікати через клітинну мембрану, де, як правило, розташовані збудники мікобактеріозів, і брати участь у їхній життєдіяльності.

В основу винаходу покладена задача - пошук нових близьких за структурою сполук, що мають більш високу активність, більш низьку токсичність і

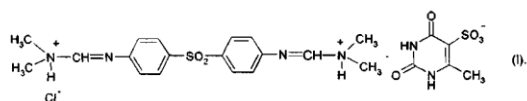
(13) C2

(11) 75779

(19) UA

позбавлені вищезазначених недоліків.

Задача вирішується запропонованим 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометилена-нілін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонатом формули (I)



4,4'-Сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометилена-нілін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонат формули (I) являє собою аморфний порошок від блідо-жовтого до зеленувато-жовтого кольору з температурою плавлення $T_{пл}=200-205^{\circ}\text{C}$ (з розкладом). Розчинний у воді, диметилсульфоксиді, диметилформаміді, органічних розчинниках.

Запропоновану сполуку одержують шляхом взаємодії N-диметиламоніометилена-нілін-4,4'-сульфонілбіс-анілін, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонату з хлористим воднем у розчиннику.

Сполуки формули (I) мають антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активність.

Задача також вирішується запропонованою фармацевтичною композицією, що включає активну речовину і цільові добавки, відмінність якої полягає у тому, що як активну речовину вона містить 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометилена-нілін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонат формули (I) в ефективній кількості.

Дозування залежить від віку, стану і ваги пацієнта, а також від виду введення. Згідно з винаходом, запропонована фармацевтична композиція містить активну речовину у кількості від 100 до 400 мг. Токсичність запропонованих сполук була визначена шляхом введення у шлунок (перорально) мишам. Досліджувану сполуку вводили у вигляді розчину білим мишам масою 19-21 грамів (розплідник РМН, відділення «Крюково»). Показ-

ником токсичності служили загибель тварин і вираженість клінічної картини отруєння. За результатами дослідів розрахунковим шляхом визначалася величина середньосмертельної дози (LD_{50}) при введенні запропонованої сполуки групам з 6-12 тварин. Розрахунок проводився статистичними методами, рекомендованими Державною Фармакопеею СРСР XI видання. На основі LD_{50} визначалася належність досліджуваної речовини до певного класу токсичності за Hodge & Sterner.

В результаті проведених досліджень встановлено, що гостра токсичність LD_{50} перорально складає 3700 мг/кг, тобто за Hodge & Sterner належить до класу «Малотоксичні сполуки». Таким чином, токсичність запропонованої сполуки (1) значно нижче токсичності раніше відомої сполуки (A) - діуцифону.

Визначення імунотропної активності запропонованої сполуки (1)

За основу для визначення імунотропної активності запропонованої сполуки була узят методика, заснована на відношенні числа зон гемолізу еритроцитів навколо антитілоутворюючих клітин у досліді до числа зон гемолізу в контролі.

В експерименті було використано 130 мишей лінії FI (СВАхС57 BL). Тварини, що використовувалися в експерименті, утримувалися у приміщенні віварію відповідно до діючих правил і одержували корми відповідно до затверджених раціонів годування. Всі тварини надходили з розплідника РМН, відділення «Крюково».

Визначення імунотропної активності запропонованої сполуки було проведене у чотирьох дослідках.

Для уточнення піка імунотропної активності запропонованої сполуки і підрахунку антитілоутворюючих клітин у дослідній та контрольній групах експерименти проводили не тільки на четверту і п'яту добу після імунізації, але й на третю добу.

Результати експериментів подані у Таблицях 1,2,3,4.

Таблиця 1

Третя доба після імунізації

Розведення комплексу 1:15	Число антитілоутворюючих клітин			
	контроль		дослід	
	10,7	n=13	20,2	n=13
Індекс стимуляції імунної відповіді =1,9				

Таблиця 2

Четверта доба після імунізації

Розведення комплексу 1:15	Число антитілоутворюючих клітин			
	контроль		дослід	
	10,1	n=10	48,7	n=9
Індекс стимуляції імунної відповіді =4,1				

Таблиця 3

Четверта доба після імунізації

Розведення комплементу 1:15	Число антитілоутворюючих клітин			
	контроль		дослід	
	7	n=12	37,4	n=11
	Індекс стимуляції імунної відповіді =5,3			

Таблиця 4

П'ята доба після імунізації

Розведення комплементу 1:15	Число антитілоутворюючих клітин			
	контроль		дослід	
	71	n=12	145,5	n=16
	Індекс стимуляції імунної відповіді =2,1			

Одержані у проведених дослідках результати наочно демонструють залежність розвитку імунної відповіді на введення запропонованої сполуки (1) в різні терміни після імунізації. На третю добу від початку введення запропонованої сполуки імунна відповідь у дослідній групі відрізнялася від контрольної незначно (Індекс стимуляції (IC)=1,9). На четверту добу індекс стимуляції в середньому збільшився у 2,8 рази, що свідчить про високий ступінь імуноотропної активності запропонованої сполуки. На п'яту добу індекс стимуляції виявився значно нижчим, ніж на четверту, що, певно, пояснюється зниженням піка імуноотропної активності запропонованої сполуки до цього часу.

Проведені дослідження показали, що індекс стимуляції імунної відповіді запропонованої сполуки склав 4,7, що свідчить про достатньо високу імуноотропну активність запропонованої сполуки.

Визначення протилепопрозної активності запропонованої сполуки

Протилепопрозна активність запропонованої сполуки формули (I) вивчалася у порівнянні з діу-

цифоном на мишах-гібридах СВАхС57 В1, заражених лабораторним штамом К-1 мікобактерій лепри.

Під спостереженням були три групи мишей по 20 тварин у кожній групі, всі вони містилися в однакових умовах. Контрольна група протягом 6 місяців один раз на тиждень через зонд одержувала 0,5мл крохмальної суспензії. Основна група одержувала протягом всього терміну препарат діуцифон і запропоновану сполуку у дозі 50мкг в 0,5мл крохмальної суспензії 5 разів на тиждень. По закінченні 6 місяців тварини були умертвлені цервікальним зміщенням хребта.

При бактеріоскопічному дослідженні місця зараження лапку розтирали у двох мл 0,1% розчину альбуміну, з 0,01мл суспензії робили мазок, забарвлювали за Ціль-Нільсеном, підраховували кількість мікобактерій лепри у 60-ти полях зору і визначали кількість мікобактерій на 1 мишу у кожній групі.

Результати дослідження подані у таблиці 5.

Таблиця 5

Вплив сполуки (А)-діуцифону і запропонованої сполуки (1) на кількість мікобактерій у лапці заражених тварин

	Кількість мишей у групі	Кількість мікобактерій у лапці $\times 10^6$	Відсоток інфікованих тварин	Р відносного контролю
Контроль	20	1,37 \pm 0,103	100	
Діуцифон	20	0,435 \pm 0,110	80	<0,001
Запропонована сполука	20	0,08 \pm 0,003	50	<0,001

Згідно з наведеними даними сполука (1) має високу бактеріостатичну активність щодо мікобактерій лепри, що значно перевищує антимікобактеріальну активність відомої сполуки (А).

Спосіб одержання запропонованих сполук формули (I) ілюструється наступним прикладом.

Приклад. Одержання 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометиланілін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-

сульфонату.

До суспензії 5,65г (0,01моля), що перемішувалася, чистого N-диметиламоніометиланілін-N'-диметиламоніометиланілін-4,4'-сульфонілбісанілін, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонату (сульпіфону) в абсолютному спирті при охолодженні прикраплюють 3,65г (0,1моля) розчину газоподібного хлористого водню в абсолютному ефірі. Реакційну суміш перемішують при

кімнатній температурі протягом оптимального періоду. Утворюваний осад 4,4'-сульфонілбіс-(N,N'-диметиламоніометилананілін)-хлорид, 6-метил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-5-сульфонату відфільтровують, промивають абсолютними спиртом та ефіром. Далі висушують в екзикаторі над хлористим кальцієм.

Вихід цільового продукту - 4,81г (80%).

Температура плавлення (з розкладом) =200-205°C.

$C_{23}H_{29}ClN_6S_2O_7$

Знайдено %: С 45,66; Н 4,66; Cl 5,76; N 13,92; S 10,57.

Обчислено %: С 45,66; Н 4,86; Cl 5,90; N 13,98; S 10,67.

ПМР-спектр (ДМСО, δ , м.д.): 3,20 (12H, с, $^+NH(CH_3)_2$; 8,40 (2H, с, $CH=N$); 7,85 (4H, g, Ph); 7,52 (4H, g, Ph); 2,38 (3H, с= $C-CH_3$); 10,88 (1H, с, $-C(=O)-NH-C(=O)-$); 10,62 (1H, с, $-C(=O)-NH-C(CH_3)=$).

ІЧ-спектр (γ , cm^{-1}): 3440 (NH), 3068,2930 (CH), 2360, 1920($(CH_3)_2-NH^+$), 1710, 1684 (C=O, C=C), 1616, 1592 (C=N, C=C), 1500, 1480 (C=C), 1340,

1150 ($-SO_2-$), 1230, 1210, 1032 (SO_3^-).

Приклади рецептур фармацевтичних композицій

Капсули

Активна речовина - сполука формули (I) у кількості 100мг, 200мг. Одержують фасуванням ручним способом в капсули №1 і №0 за допомогою капсульниць із запірним пристроєм. Склад: сполука (1) -100мг або 200мг без наповнювача і консервантів. Желатинові капсули складаються: хінолін епу - 0,05%, титан діоксиду -1%, желатин - до 100%. Речовини, що входять до складу капсул, дозволені до медичного застосування в Росії.

Таблетки

Активна речовина - сполука формули (I) у кількості 100мг, 200мг - масова частина 40%.

Цільові добавки (лактоза, аеросил, стеарат кальцію) - масова частина 60%.

Змішують основні і допоміжні речовини у співвідношенні, вказаному у таблиці №6 (розрахунок на масу таблеток).

Таблиця 6

Маса таблетки (M _T), г		Масовий склад, %
0,250	0,500	
Сполука (1) - 0,1	Сполука (1)-0,2	40
Лактоза - 0,144	Лактоза - 0,288	57,6
Аеросил - 0,004	Аеросил - 0,008	1,6
Стеарат Са - 0,002	Стеарат Са - 0,004	0,8

Пресування таблеток здійснюють на пресі РТМ-12. На таблетки наносять покриття на основі ацетилфталілцелюлози (АФЦ) на апараті «Strea-1». Склад покриття (масової частини): ацетон - 56,4; 96%-й етиловий спирт - 37,6; рицинова олія - 1,0; АФЦ - 5,0; тропеалін додають до світло-коричневого забарвлення розчину. Витрата пок-

риття: кількість покриття (мл) =50% від маси таблеток (г).

Ін'єкції

Сполука (1) для ін'єкції являє собою розсіп порошку, що включає активну речовину, її фармацевтично прийнятні солі в дозуваннях 100-400мг.

Таблиця 7

Складові		Кількість, мл		
		1	2	3
сполука формули (I)		100мг	200мг	400мг
Розчинник	бідистильована вода	5	-	-
	новокаїн 0,5%	-	5	-
	новокаїн 0,25%	-	-	5