



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

для служебного пользования 605111

(19) **SU** (11) **1387376**

A1

(51)4 C 07 D 473/08, A 61 K 31/52

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4119623/31-04

(22) 10.07.86

(71) Московская ветеринарная академия им. К.И.Скрябина и Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР

(72) Б.Ф.Бессарабов, А.И.Потопальский, Л.В.Лозюк, Е.И.Бесядецкая, А.Н.Миролюбова и Н.К.Сущкова
(53) 547.857.4 (088.8)

(56) I.M.Peushdi, El-Sebai A. Ibrahim, S.M.Rida and F.Pshour. 7-Substituted Theophyllines (I), Theophylline-7-acetamides and-malondiamides. Die Pharmazie, 1973, 5, 300-303.

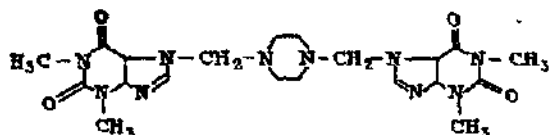
S.M.Ride, A.M.Farghaly and F.A.Ashour. - Synthesis and Pharmacological Testing of Some Theophylline Esters. Die Pharmazie, 1977, 11, 672-676.

(54) N,N'-БИС-(ТЕОФИЛЛИН-7-ИЛМЕТИЛЕН)-ПИПЕРАЗИН, ОБЛАДАЮЩИЙ ПРОТИВОВИ-

РУСНОЙ И ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
(57) Изобретение касается замещенных пиперазина, в частности N,N'-бис-(теофиллин-7-илметил)-пиперазина (ТП), обладающего противовирусной и противомикробной активностью, что может быть использовано в птицеводстве и медицине. Цель - создание новых малотоксичных веществ указанного класса с нехарактерной для него активностью. Синтез ТП ведут реакцией пиперазина и теофиллина в среде этанола при 60 °С. Выход 79,5%, т.пл. 282 °С, брутто-ф-ла C₂₀H₂₆N₄O₄. Токсичность для куриных эмбрионов (эмб) 20 мг/эмб, терапевтический индекс (противовирусный) 5, концентрация противомикробная 0,5-2 мг/эмб, противогриппозная доза для мышей 15-35 мг/кг. Кроме того, ТП повышает степень выводимости цыплят на 4,3%, а интенсивность их роста на 11,4-12,3%. 3 табл.

(19) **SU** (11) **1387376** **A1**

Изобретение относится к новому биологически активному соединению - N,N'-бис-(теофиллин-7-илметилен)-пиперазину формулы I



который может найти применение в ветеринарии, промышленном птицеводстве и медицине.

Цель изобретения - поиск в ряду пиперазинотеофиллинов новых малотоксичных соединений, обладающих новыми видами активности, нехарактерными для данного ряда - противовирусной и противомикробной.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. N,N'-Бис-(теофиллин-7-илметилен)-пиперазин (I).

К раствору 0,97 г (0,005 моль) пиперазина-гексагидрата в 15 мл этанола, нагретого до 60°C, прибавляют при помешивании 1,98 г (0,01 моль) теофиллина. К полученной смеси добавляют 2 мл 36%-ного раствора формальдегида. При этом происходит растворение исходных веществ с последующим выделением осадка белого цвета. Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре от 30 мин до 48 ч, после чего отфильтровывают выделившийся осадок, который отмывают от исходных веществ кипящей водой и этанолом. Сушат при 105°C. Выход соединения I 1,87 г (79,5%) т.пл. 282°C. Белое кристаллическое вещество без запаха, слегка горьковатое на вкус, не растворимое в воде, этаноле, диметилформамиде, хлороформе, растворимое в разбавленных соляной, уксусной кислотах, 7%-ном растворе лимонной кислоты и 5%-ном растворе аскорбиновой кислоты, диметилсульфоксиде и растворителе, состоящем из 1 об.ч. диметилсульфоксида и 3 об.ч. полиэтиленгликоля-400.

Найдено, %: С 51,40; Н 5,77; N 29,83.

$C_{20}H_{26}N_{10}O_4$

Вычислено, %: С 51,05; Н 5,57; N 29,76.

УФ-спектр в 0,1 н. HCl, λ_{max} нм (lg ϵ): 269-270 (4,00); в этаноле (насыщенный раствор) 270 (1,75). R_f 0,77 (бензол:этанол:вода:уксусная

кислота - 20:20:10:1); 0,13 (хлороформ:ацетон:25%-ный аммиак - 12:24:1).

Пример 2. Противовирусная активность соединения I.

При исследовании биологической активности установлена низкая токсичность соединения I (МПК для эмбрионов 20 мг/эмб). Терапевтическая концентрация для мышей 35 мг/кг, химиотерапевтический индекс 5.

Антивирусный эффект отмечен в отношении вируса гриппа типа А и А (H3N2), а также герпесвируса (штамм ВНИИП № 24). Результаты опытов приведены в табл. 1-3.

Данные табл. 1 свидетельствуют о выраженном противовирусном действии соединения I, которое зависит от времени начала применения и концентрации вещества, а также от множественности заражения.

Химиотерапевтический эффект соединения I в опытах на мышах, инфицированных вирусом А (Англия) 42/72H3N2 в дозах (10-100) ЛД₅₀, выражающийся купированием инфекционного процесса и высоким защитным действием (95-97%), свидетельствует о корреляции антигриппозного эффекта *in ovo* и *in vivo* (табл. 2).

Антигерпетическая активность предлагаемого соединения подтверждена опытами на развивающихся куриных эмбрионах, инфицированных на хорионаллантоисную оболочку (ХАО) при множественности инфицирования 100 ЗИД-50. Ингибирование репродукции вируса оценивали по выживаемости зародышей, а также по патологоанатомическим изменениям - отсутствию характерных бляшек на ХАО. Результаты приведены в табл. 3.

Пример 3. Антимикробное действие соединения I.

Исследование антимикробной активности проведено в отношении ряда микроорганизмов, в том числе сальмонелл (диких и музейных штаммов), патогенных и условно патогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжеподобных грибов. В результате лабораторных испытаний обнаружено, что наиболее чувствительными к препарату оказались сальмонеллы, в частности *Salmonella pullorum* g., вызывающая заболевание цыплят, передающееся трансовариальным путем.

Чувствительность *Salmonella pullorum* г. к препарату в эксперименте обнаружена в диапазоне концентраций 4,0-0,0132 мг/мл. Концентрация 0,0132 мг/мл является бактерицидной, сохраняет активность длительное время (7 сут) и может быть использована неоднократно. Препарат использовали в растворителе, состоящем из 1 об.ч. диметилсульфоксида и 3 об.ч. полиэтиленгликоля-400.

Проведены испытания по глубинной обработке предынкубационных яиц. Предварительно очищенные от загрязнений предынкубационные яйца погружали в раствор препарата (0,025%-ный раствор) по отношению к погружной жидкости в специальные ванны, где создавали перепад давления и выдерживали в растворе 10 мин. Затем яйца закладывали в инкубатор.

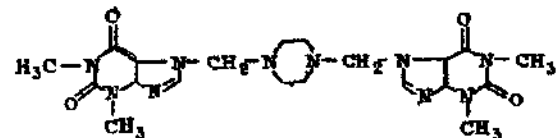
В ходе испытаний установлено повышение выводимости цыплят на 4,3%. Анализ полученных зоотехнических показате-

телей при выращивании молодняка после предынкубационной обработки и обработки суточных цыплят свидетельствовал об отсутствии каких-либо отклонений от нормы. Применение предлагаемого соединения привело к повышению интенсивности роста цыплят (в среднем на 11,4-12,3% по отношению к контролю).

Среднесуточный привес повысился на 9,03%, убойный выход мяса составил 82,2%.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

N,N'-Бис-(теофиллин-7-илметил)-пиперазин формулы



обладающий противовирусной и противомикробной активностью.

Т а б л и ц а 1

Влияние соединения I на репродукцию вируса гриппа in ovo в зависимости от штамма вируса

Время введения соединения I	Концентрация, мг/эмбр	Штаммы вируса и инфицирующие дозы (ЭИД-50)							
		А (WSN)		А (Англия) 42/72 H3N2		А (Порт) Чалмерс 1/73 H3N2		А (Бетезда) 12/2 H3N2	
		10	100	10	100	10	100	10	100
		разница логарифмов, Р		разница логарифмов, Р		разница логарифмов, Р		разница логарифмов, Р	
Одновременно	2,0	5,7	3,2	6,4	4,2	6,1	4,1	3,7	1,9
		<0,001	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,5
	0,5	4,1	2,7	3,9	2,5	4,5	2,6	3,8	1,2
		<0,001	<0,05	<0,001	<0,05	<0,001	<0,05	<0,01	<0,5
Через 60 мин	2,0	5,1	2,2	4,0	3,1	4,3	2,7	3,9	2,9
		<0,001	<0,5	<0,001	<0,01	<0,001	<0,5	<0,05	<0,05
	0,5	3,5	1,3	2,1	1,0	2,2	0,9	1,7	1,5
		<0,05	<0,5	<0,05	>0,5	<0,05	>0,5	<0,5	<0,5

П р и м е ч а н и е. Р - достоверность различий между показателями логарифмов средних геометрических титров гемагглютининов групп опыта и контроля.

Т а б л и ц а 2

Химиотерапевтическая эффективность предлагаемого соединения на мышах с гриппозной пневмонией, вирус А (Англия) 42/72Н3Н2

Концентрация соединения I, мг/кг	10 ЛД ₅₀		100 ЛД ₅₀	
	средняя продолжительность жизни мышей, дни (M±m), P	интенсивность поражения легочной ткани	средняя продолжительность жизни мышей, дни (M±m), P	интенсивность поражения легочной ткани
0 контроль 35,0	4,1±1,25	9/10+++	3,7±0,95	10/10 ++++
5 введений 15	14,0 P<0,001	0/10	13,7±0,72, P<0,001	0/10 -
5 введений	13,2 P<0,001	2/10+	12,2±0,45, P<0,001	3/10 ++

П р и м е ч а н и я. 1. P - достоверность различия между показателями средней продолжительности жизни мышей контрольной и подопытных групп.
2. Интенсивность поражения - количество выявленных больных пневмонией из взятых в опыт животных и степень выраженности поражения по четырехбалльной системе.

Т а б л и ц а 3

Вирусостатическое действие предлагаемого соединения в отношении герпетической инфекции эмбрионов 10-дневной инкубации

Концентрация соединения I, мг/эмб	За 24 ч до инфицирования		Спустя 24 ч после инфицирования	
	Защитный эффект, %, (M±m)	P	Защитный эффект, % (M±m)	P
2,4	100/100	<0,001	92/100	<0,001
	100		92,0±2,7	
1,2	75/100	<0,001	59/100	<0,001
	75,0±4,31		59,0±5,5	
0,6	53/100	<0,001	42/100	<0,01
	53,0±5,1		42,0±4,93	
0,3	22/100	>0,5	13/100	>0,5
	22,0±4,13		13,0±3,34	
0 (контроль)	0/100		0/100	