



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87361** (13) **C2**  
(51) **МПК (2009)**  
**C07C 243/00**  
**A61K 31/15**  
**A61P 31/06 (2009.01)**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

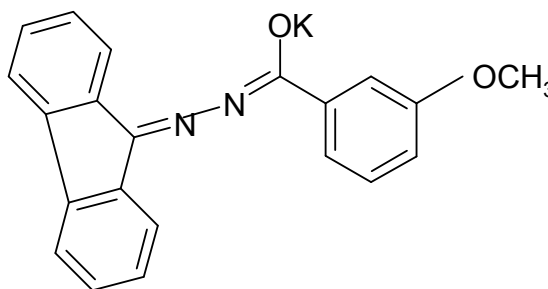
(54) КАЛІЙ N-(9-ФЛУОРЕНІЛІДЕН)-N'-м-Анісогідрозонат, який виявляє протитуберкульозну дію

1

(21) а200710624  
(22) 25.09.2007  
(24) 10.07.2009  
(46) 10.07.2009, Бюл.№ 13, 2009 р.  
(72) ПЕТРУХ ЛЮБОВ ІВАНІВНА, ПАВЛІЙ РОСТИСЛАВ БОГДАНОВИЧ, ДАНИЛЕЙЧЕНКО ВАЛЕРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, ПАВЛІЙ СВІТЛАНА ЙОСИПІВНА, МИХАЛИК ОЛЯНА ІВАНІВНА, ЗАРГЕРЯН ОЛЬГА ПАВЛІВНА  
(73) ПЕТРУХ ЛЮБОВ ІВАНІВНА  
(56) UA 81084 C2, 25.09.2007  
UA 17859 A, 03.06.2007  
UA 24790 C2, 17.02.2003  
SU 1 517 313 A1, 15.11.1994  
SU 1 541 998 A1, 27.12.1996  
Сибірний А.В. Бактеріостатична дія похідних флуоренілідену на мікобактерії //Мікробіологічний журнал.- 2002.- №1.- С.77-82

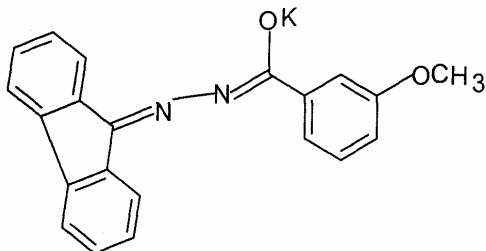
2

(57) Калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат формули (I)



(I)  
який виявляє протитуберкульозну дію.

Винахід стосується нової хімічної сполуки флуоренового ряду, а саме калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату формули 1,



яка виявляє протитуберкульозну дію.

У період епідемії туберкульозу в Україні пошук нових ефективних протитуберкульозних препаратів є надзвичайно актуальним.

Основним напрямом у пошуку нових туберкулостатиків є модифікація структури молекул відомих протитуберкульозних препаратів з метою отримати активніші і менш токсичні фармакологічні речовини. Найбільший інтерес як потенційні туберкулостатики представляють групи сполук з

високою активністю щодо чутливих і стійких штамів *Myc. tuberculosis* та низькою токсичністю [3].

До найефективніших нових речовин належать аналоги Ізоніазиду, Рифампіцину, а також різні фторхінолони [3, 4].

Виявлені нові оригінальні речовини, створені на основі флуорену. За активністю *in vitro* та *in vivo* вони не поступаються Ізоніазиду, менш токсичні, пригнічують ріст полірезистентних штамів мікобактерій туберкульозу, виявляють синергідну дію з Рифампіцином [5, 6].

Технічне завдання полягає у розширенні асортименту ефективних протитуберкульозних засобів, які виявляють специфічну дію при низькій токсичності.

Поставлену задачу вирішують таким чином, що одержують калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат, який активний до чутливого й стійкого штамів мікобактерій туберкульозу і має низьку токсичність.

Сполука формули 1 в літературі не описана.

Спосіб синтезу сполуки формули 1 полягає у взаємодії еквімолярних кількостей N-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозиду і металічного

(13) **C2**

(11) **87361**

(19) **UA**

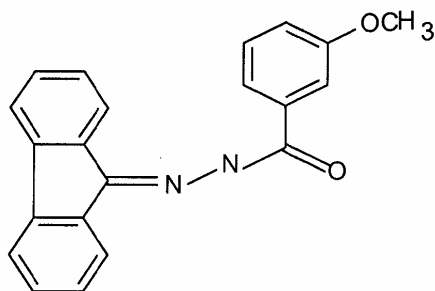
калію у диметилформаміді.

Приклад. 3,28г (0,1моль) N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідразиду (ТУ 6-09-14-2157-84) у вигляді тонких коротких голочок золотисто-жовтого кольору розчиняють при 90°C у 0,15л ДМФА (диметилформаміду). До гарячого розчину додають 3,91г дрібно нарізаного калію металічного і кип'ять протягом 2 год. Після чого до гарячого розчину додають при перемішуванні 0,06л толуолу. Із реакційного середовища виділяється дрібнокристалічний продукт червонувато-оранжевого кольору. Суміш кип'ять ще 15хв, після чого осад відфільтровують, промивають толуолом і ефіром, висушують.

Одержують 3,57г (97,5%) калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідразонату у вигляді яскраво-оранжевих кристаликів, т.пл. >300°C  
Знайдено, %: С 68,75 Н 4,25 N 7,76 К 10,82  
Вирахувано, %: С 68,83 Н 4,13 N 7,64 К 10,67  
C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>K М.м. 366.47

УФ-спектри в етанолі, λ макс, нм: 254-260 (lgε 4,6), 341-347 (lgε 4,0)

Найближчим структурним аналогом заявленої нової сполуки є N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид формули 2:



Структурний аналог описаний серед флуореніліденгідрозидів заміщеної бензоатної кислоти (3-метокси-, 3-нітро-, 4-нітро-, відповідно шифри ЛІ-5,

ЛІ-6, ЛІ-7), які виявляють in vitro протитуберкульозну дію щодо *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv. Досліджені флуореніліденгідрозиди характеризуються дуже цінною здатністю трансформувати мікобактерії туберкульозу в зернисті форми (конгломерати). Цієї здатності не виявляють відомі туберкулостатики Ізоніазид (син. ПНК) і препарати ряду ПНК (гідрозид ізонікотинової кислоти).

Структурний аналог (формула 2) N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид (ЛІ-5) ефективний у концентрації 12,5мкг/мл; при 6,2мкг/мл у полі зору є поодинокі зернисті форми мікобактерій туберкульозу [1].

Ефективність заявленого калій N-(9-флуореніліден)-N'-анісогідрозонату вивчено in vitro із зависю культури *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv та мікобактерій, виділених від хворих на вперше виявлений туберкульоз легень.

Використано метод серійних розведень на густоті середовищі Льовенштейна-Єнсена. У кожную дослідну і контрольні пробірки засівали по 0,2мл суспензії мікобактерій за стандартом оптичної мутності. Через 14 днів інкубації з осаду готували мазки для бактеріологічного дослідження. Забарвлення за Ціль-Нільсеном. Результати бактеріологічних досліджень отримували через 15, 30, 60 та 90 діб від моменту посіву матеріалу. Відлік починався з часу, коли в контрольних пробірках (без протибактерійних препаратів) спостерігався ріст колоній мікобактерій туберкульозу.

За еталон порівняння специфічної протитуберкульозної дії взято найактивніший лікарський засіб - туберкулостатик Ізоніазид.

Встановлено, що заявлений калій N-(9-флуореніліден)-N'-анісогідрозонат перевищує активність Ізоніазиду. Мінімальна інгібувальна концентрація (МІК) заявленої нової сполуки щодо *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv становить 0,078мкг/мл (таблиця 1).

Таблиця 1

Ефективність калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату, структурного аналога та Ізоніазиду на *Myc. tuberculosis hominis* H<sub>37</sub>Rv

Досліджувані сполуки	Ефективність щодо <i>Myc. tuberculosis hominis</i> H <sub>37</sub> Rv (розведення речовин / мкг/мл)						
	5,0	2,50	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078
Контроль культури	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Контроль ПЕГ-400	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ізоніазид	-	+	+	+	+	+	+
N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид	+	+	+	+	+	+	+
калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: (-) немає росту мікобактерій; (+) наявність поодиноких колоній, (+++) ріст культури.

На 90-й день експерименту росту колоній не спостерігалось у пробірках із такими досліджуваними сполуками в концентраціях: калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат - 1,25мкг/мл,

структурний аналог N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид - 5мкг/мл, Ізоніазид - 5мкг/мл (таблиця 2).

Таблиця 2

Ефективність калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату, структурного аналога та Ізоніазиду на Мус. tuberculosis hominis H<sub>37</sub>Rv (90-ий день після посівів)

Сполуки	Ефективність щодо Мус. tuberculosis hominis H <sub>37</sub> Rv (розведення речовин / мкг/мл)						
	5,0	2,50	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078
Контроль культури	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Контроль ПЕГ-400	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ізоніазид	-	+	+	+	+	+	+
N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид	-	+	+	+	+	+	+
калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат	-	-	-	+	+	+	+

Примітка: (-) немає росту мікобактерій; (+) наявність поодиноких колоній, (+++) ріст культури.

Вивчено чутливість штамів мікобактерій, виділених від хворих на вперше виявлений туберкульоз легень, до заявленого калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату.

Використано чутливий до Ізоніазиду та стійкий до Ізоніазиду штами мікобактерій, які виділені від хворих на вперше виявлений туберкульоз легень. Встановлено ефективну дію заявленого калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату на штам мікобактерій туберкульозу, стійкий до Ізоніазиду.

При цьому МІК заявленого калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату перевищує МІК Ізоніазиду і становить 10,0 мкг/мл (таблиця 3).

Висока активність калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату до мікобактерій туберкульозу, які резистентні до протитуберкульозних препаратів, має важливе практичне й наукове значення.

Дослідження гострої токсичності. Гостру токсичність нової сполуки визначено за «Вимогами до вивчення загальнотоксичної дії нових

Таблиця 3

Ефективність калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату та Ізоніазиду на штами мікобактерій туберкульозу, виділені від хворих

Досліджувані фармакологічні речовини	Мінімальна інгібувальна концентрація / мкг/мл	
	штам мікобактерій туберкульозу, чутливий до Ізоніазиду	штам мікобактерій туберкульозу, стійкий до Ізоніазиду
Калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат	0,078	10,0
Ізоніазид	0,078	-

фармакологічних речовин» Державного фармакологічного центру МОЗ України. Дані ЛД<sub>50</sub> для білих безпородних мишей при внутрішньо-

очеревинному введенні дорівнює понад 8000 мг/кг маси (таблиця 4).

Таблиця 4

Порівняльні дані ЛД<sub>50</sub> для калію N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонату, структурного аналога та Ізоніазиду

Досліджувані фармакологічні речовини	спосіб введення	ЛД <sub>50</sub> для білих безпородних мишей, мг/кг
калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат	внутрішньо-очеревинний	> 8000
N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозид	внутрішньо-очеревинний	2900
Ізоніазид	внутрішньовенно	195

За даними гострої токсичності калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат є найбезпечнішим для організму.

Таким чином, заявлений калій N-(9-флуореніліден)-N'-м-анісогідрозонат представляє собою важливу фармакологічну субстанцію для

виготовлення лікарських форм нових протитуберкульозних засобів,

Література.

1. А.с. SU 1469805 А1 С07 109/10, 109/16, А61К 31/175 Флуоренилиденгидразида замещенной бензойной кислоты, обладающие противоту-

беркулезным действием / Маслова Л.И., Калмыкова Г.Н., Змияк Н.В., Саядова З.С. - Заявка №4230091/3 1-04 от 14.04.87 (непубликуемое).

2. Виноградова Т.Н. Совершенствование этиотропной терапии туберкулеза: Авторсф. дис.... докт. мед. наук. - Санкт-Петербург, 1994. - 40 с.

3. Каюкова Л.А., Пралиев К.Д. Основные направления поиска новых противотуберкулезных средств (обзор) / Химико-фармацевтический журнал. - 2000. - Т. 34. - №1. - С.12-19.

4. Проблема пошуку активних проти туберкульозних препаратів / М. Плешакова. О. Ткач, М. Коваленко, І. Корда // Матер. IV Міжнародного ме-

дичного конгресу студентів і молодих вчених. - Тернопіль, 2000. - С 313-314.

5. Петрух Л.І. Актуальність створення і впровадження у промислове виробництво нових лікарських засобів (збірник описів винаходів). - Львів, 2003. - 196 с.

6. Петрух Л.І. Вклад у розвиток української фармацевтичної та медичної науки й практики кафедри фармацевтичної хімії факультету післядипломної освіти ЛНМУ імені Данила Галицького. Історичний нарис. До 50-річчя ФПДО ЛНМУ імені Данила Галицького / За ред. докт. фарм. наук, проф. Петрух Л.І. - Львів, 2005. - 156 с.