



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 108368

(13) C2

(51) МПК

A61K 31/41 (2006.01)

C07D 257/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

- (21) Номер заявки: а 2012 09029
(22) Дата подання заявки: 23.07.2012
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 27.04.2015
(41) Публікація відомостей про заявку: 27.01.2014, Бюл.№ 2
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.04.2015, Бюл.№ 8

- (72) Винахідник(и):
Северіна Ганна Іванівна (UA),
Сааод Хайдар (IQ),
Георгіянц Вікторія Акіпівна (UA),
Демченко Анатолій Михайлович (UA)
(73) Власник(и):
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
DE 1173336 (B), 02.07.1964
EP 0004570 (A1), 17.10.1979
EP 0029202 (A1), 27.05.1981
WO 8703873 (A1), 02.07.1987
Karel Waissera et al. Antimycobacterial derivatives of tetrazole // Collect. Czech. Chem. Commun. 1991, 56, 2389-2394
M. V. Zatsepina, T. V. Artamonova, G. I. Koldobskii. Tetrazoles: XLIX. Alkylation of tetrazoles with tetrakis(chloroacetoxymethyl)methane // Russian Journal of Organic Chemistry, July 2006, Volume 42, Issue 7, pp 1056-1058

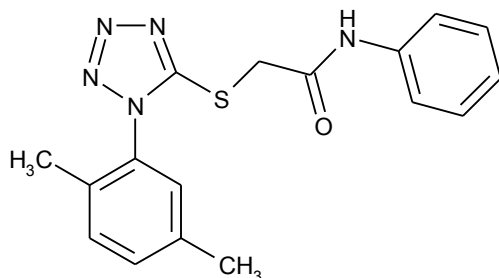
(54) 2-[1-(2,5-ДИМЕТИЛФЕНІЛ)-1Н-ТЕТРАЗОЛ-5-ІЛСУЛЬФАНІЛ]-N-ФЕНІЛАЦЕТАМІД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ АНТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ВІДНОСНО ВІРУСУ ГРИПУ H1N1

(57) Реферат:

2-[1-(2,5-Диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетамід, що проявляє антивірусну активність відносно вірусу грипу H1N1.

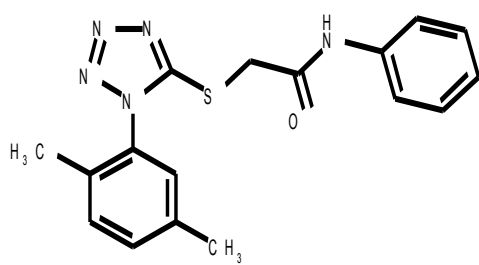
Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до біологічно активних сполук синтетичного походження з антивірусною активністю до вірусу грипу H1N1.

Заявлено сполуку 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетамід формули:



що проявляє антивірусну активність відносно вірусу грипу H1N1.

UA 108368 C2

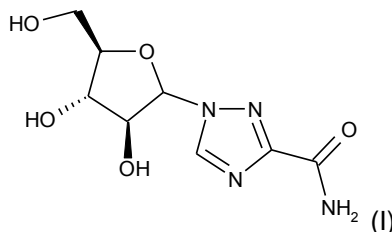


Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до біологічно активних сполук синтетичного походження з антивірусною активністю до вірусу грипу H1N1.

Вірус H1N1 викликає хворобу під умовною назвою "свинячий грип". Його штами виявлені серед вірусів грипу серотипу С та підтипу серотипу А (А/Н1N1, А/Н1N2, АН3N1, А/Н3N2 та А/Н2N3).

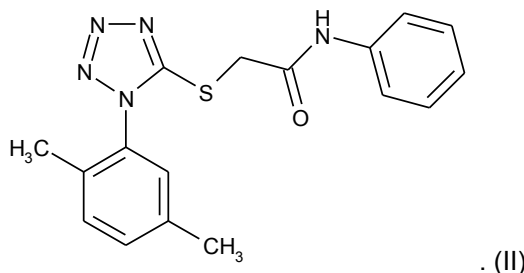
Пошук нових синтетичних протівірусних засобів є актуальною проблемою сучасної фармації. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я щороку від грипу помирає до 500 тис. осіб. Постійна мутація вірусу-збудника у результаті антигенного дрейфу або реасортації (обміну) генів веде до появи нових підтипів вірусу, проти яких у людей відсутній імунітет.

Аналогом заявленої сполуки за фармакологічною дією є препарат "Рибавірин", діючою речовиною якого є 1-β-D-рибофуранозил-1Н-1,2,4-триазол-карбоксамід загальної формули (I), який проявляє протівірусну активність (Машковский М.Д. Лекарственные средства: - 15-е изд., - М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2005. - 1200 с. - С. 877).

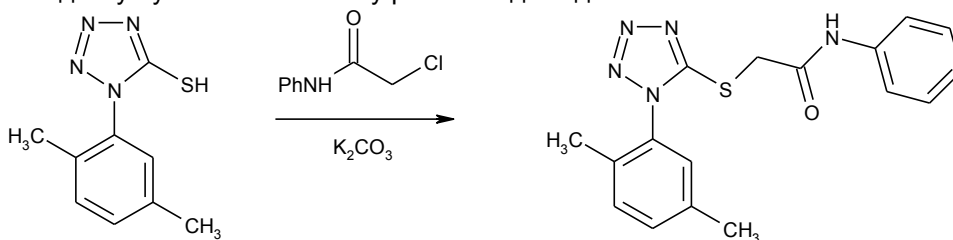


В основу винаходу поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з протівірусною активністю, що перешкоджають реплікації вірусу і тому здатні лікувати грип, викликаний вірусом H1N1.

Поставлена задача вирішується таким чином, що як біологічно активну сполуку запропоновано 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-1Н-фенілацетамід загальної формули:



Заявлений 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетамід одержано з високим виходом при взаємодії 1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-тіолу з 2-хлор-N-фенілацетамідом у лужно-етанольному розчині відповідно схеми:



Винахід ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. Метод синтезу 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетаміду.

До 3,39 г (0,01 моль) 1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-тіолу у 50 мл етанолу додавали 0,56 г (0,01 моль) гідроксиду калію. Після розчинення реакційної суміші при перемішуванні додавали розчин 1,70 г (0,01 моля) 2-хлор-N-фенілацетаміду у 20 мл етанолу. Реакційну суміш кип'ятили 3 години, охолоджували, виливали у 200 мл води. Осад, що випав, відфільтровували і перекристалізовували з етилового спирту.

Вихід - 92 %. Т. пл. - 190 °С.

Знайдено, %: N-20,70; S-9,49 C₁₇H₁₇N₅OS.

Вираховано, %: N-20,63; S-9,45. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, TMC): 2,01 (с, 3H, CH₃), 2,36 (с, 3H, CH₃), 4,38 (с, 2H, CH₂), 6,95-7,42 (м, 8H, Ar), 10,42 (с, 1H, NH).

Приклад 2. Експериментальне визначення протівірусної активності було проведено у Південному дослідному інституті США (Southern Research Institute-SRI, Birmingham, Alabama).

Для визначення протівірусної активності по відношенню до вірусу грипу H1N1 заявленої сполуки II був проведений тест *in vitro* з використанням клітин Vero.

5 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. У кожну лунку додавали розчин вірусу IVA(H1N1), скорегованого до необхідної концентрації. Сполуку I та протівірусний засіб - рибавірин (Sigma) розчинили в диметилсульфоксиді, додали до кожної лунки до кінцевої концентрації від 0,1 до 10
10 мкг/мл. Після культивування протягом 48 годин, клітини Vero спостерігали у мікроскопі. Після додавання 100 мкл 70 % ацетону кожну лунку витримували при -20 °C протягом 1 год. Після висушування у сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну Б), розчиненого в 1 % (v/v) оцтовій кислоті. Після 30 хвилин фарбування, розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) оцтовою кислотою. Після висушування у кожну лунку додавали 100 мкл 10 mM розчину Tris (pH 10,5) для розчинення забарвлюючої
15 речовини на дні лунки. Для оцінки протівірусної активності вимірювали оптичну густину. Клітини, що оброблені тільки DMSO, та клітини, що оброблені DMSO і вірусом IVA(H1N1), використовували в якості контрольних груп.

У таблиці наведені експериментальні дані активності 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-
20 5-ілсульфаніл]-1Н-фенілацетаміду відносно вірусу California/07/2009 IVA(H1N1). Ефективність цієї сполуки виражали показниками EC₅₀, IC₅₀ та SI, які визначали у дослідях *in vitro* при дії сполук, що попередньо розчиняли в DMSO у діапазоні концентрацій від 0,1 до 100 мкг/мл. Сполука II має значну перевагу у пригніченні вірусу у порівнянні з прототипом - рибавірином.

Таблиця

Протівірусна активність 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетаміду (II) щодо вірусу California/07/2009 IVA(H1N1)

Сполука	Мол. маса	Тип вірусу	EC ₅₀ , мкг/мл	мкг/мл	SI
Сполука II	339,42	California/07/2009 IVA(H1N1)	4.6	>100	>22
Рибавірин	244,2	California/07/2009 IVA(H1N1)	8.7	>320	>37

Примітки:

1. EC₅₀ - 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. IC₅₀ - концентрація, при якій інгібування клітин організму речовиною складає 50 %. Виражається у мкг/мл.

3. SI - індекс селективності, що є показником ефективності препарату, і виражається співвідношенням IC₅₀ до EC₅₀.

25

Відповідно до таблиці 2-[1-(2,5-диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетамід за індексом селективності перевищує рибавірин майже у 2 рази.

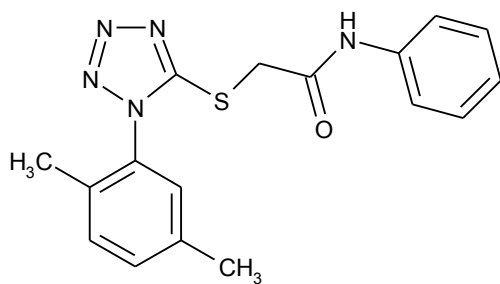
30

Заявлена сполука за антивірусною активністю перевищує відомий антивірусний засіб. Це дозволяє передбачити можливість його застосування у медичній практиці для лікування грипу, викликаного вірусом H1N1. Заявлена сполука може бути одержана в умовах хіміко-фармацевтичних підприємств за доступною технологією без використання токсичних реагентів.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

35

2-[1-(2,5-Диметилфеніл)-1Н-тетразол-5-ілсульфаніл]-N-фенілацетамід формули:



що проявляє антивірусну активність відносно вірусу грипу H1N1.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601