



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **16929** (13) **U**
(51) **МПК**
C01B 21/16 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) **N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)сульфоніл-N'-(4-піридин-карбоніл) гідразин і його ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТІ СОЛІ**

1

2

(21) 2003109083

(22) 07.10.2003

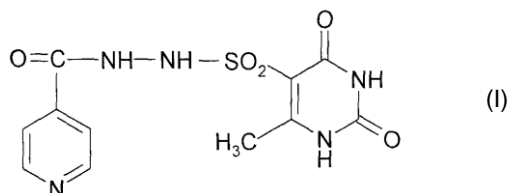
(24) 15.09.2006

(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

(72) Дмитрієв Александр Івановіч, RU

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

(57) 1. N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)сульфоніл-N'-(4-піридин-карбоніл)гідразин формули (I)

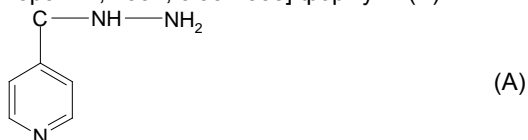


або його фармацевтично прийнятні солі.
2. Гідразин формули (I) за п. 1, що виявляє антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активності.

Корисна модель стосується нового N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)сульфоніл-N'-(4-піридинкарбоніл)гідразину або його фармацевтично прийнятним солям, які можуть використовуватись у медицині в комплексній терапії мікробактеріозів (туберкульоз тощо), неспецифічних захворювань легень, хламідіози і герпетичній інфекції, що протікають на тлі вторинного імунодефіцитного стану організму.

Зараз з рівня техніки відома велика кількість хімічних сполук, які мають аналогічні властивості.

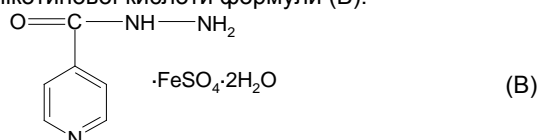
Відомий гідразид ізонікотинової кислоти (ГІНК) [див. Машковський М.Д., Лікарські засоби, т.2, Харків, "Торсинг", 1997, с.332-333] формули (A)



Суттєвим недоліком гідразиду ізонікотинової кислоти є його висока токсичність (LD₅₀ дорівнює 150мг/кг), а також виникаючі при тривалому лікуванні лікарським засобом на його основі (ізоніазидом) розлади травлення, діяльності нирок, нерво-психічні, гематологічні, алергічні прояви і токсичні гепатити.

Відомий також [див. патент РФ №2080114] хе-

латний комплекс двовалентного заліза гідразиду ізонікотинової кислоти формули (B).



Хоча зазначений вище комплекс і має меншу токсичність, порівняно з сполукою А, однак її рівень досить високий (LD₅₀ при внутрішньочеревному введенні дорівнює 163,2-382,9мг/кг). Крім того, великим недоліком є те, що лікарський препарат на основі сполуки В (феназид) не може використовуватися при серцево-легеневій недостатності і важких формах ішемічної хвороби серця.

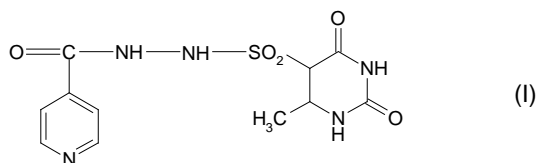
Завдання даної корисної моделі полягає у винайденні нових похідних ізонікотинової кислоти, які мають високу біологічну активність і низьку токсичність (приблизно в 50 разів меншу), стабільні у процесі збереження, а також при використанні яких як лікарського засобу побічні ефекти останнього були б зведені до мінімуму.

Проблема вирішується запропонованим новим N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)сульфоніл-N'-(4-піридинкарбоніл)гідрaziном формули (I)

(13) **U**

(11) **16929**

(19) **UA**



та його фармацевтично прийнятними солями.

Запропонована сполука являє собою білий кристалічний порошок чи безбарвні кристали з жовтуватим або рожевим відтінком. Сполука формули (I) мало розчинна в N,N-диметилформаміді, помітно розчинна в 0,1М соляній кислоті, не розчинна в етанолі, трихлорметані та воді. Температура плавлення запропонованої сполуки становить 247-256°C.

Одержують запропоновану сполуку формули (I) шляхом взаємодії 6-метилурацил-5-сульфохлориду з гідразидом ізонікотинової кислоти в сухому ацетонітрилі кип'ятінням при перемішуванні.

Запропоновані сполуки мають антибактеріальну, антимікобактеріальну та імунотропну активності.

Лікарський засіб на основі запропонованої сполуки може використовуватись у вигляді таблеток, розчинів для ін'єкцій, капсул, комбінованих таблеток (у поєднанні з іншими активними речовинами такими, як ізоніазид, рифампіцин, піразинамід), суспензій і супозиторій.

Сполуки відповідно до корисної моделі можуть вводиться у звичайний спосіб орально, парентерально (підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньочеревно) чи ректально.

Дозування залежить від віку, стану та ваги пацієнта, а також від виду введення. Відповідно до корисної моделі, лікарський засіб містить запропоновану сполуку в кількості від 0,1 до 4г.

Лікарські засоби на основі запропонованої сполуки виготовляються у звичайний спосіб. Поряд з активною речовиною лікарські засоби можуть при цьому містити звичайні допоміжні речовини, прийняті в технології приготування ліків, такі як сполучні для таблеток, наповнювачі, консерванти, речовини, що розприскуються на таблетки, регулятори плинності, пом'якшувачі, змочувальні речовини, диспергатори, емульгатори, розчинники, пролонгатори дії, антиокислювачі і/або пропеленти [див. H. Sucker et al.: Pharmazeutische Technologie, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1991].

Крім того, лікарські засоби на основі запропонованої сполуки замість окремих активних речовин можуть містити комбінації різних активних речовин, щоб використовувати разом якості окремих активних речовин при застосуванні, або також тому, що окремі активні речовини в поєднанні демонструють синергізм, тобто, дають в результаті суперадитивне посилення дії.

Далі наводяться дані щодо біологічних випробувань.

Оцінка протитуберкульозної активності in vitro запропонованої сполуки

Критеріями оцінки були рівні мінімальних пригнічуючої і бактерицидної концентрації (МПК, МБК). Визначення МПК, МБК проводили у стандартний спосіб серійних розведень відповідно до вимог Фармакологічного комітету [Посібник з експериментального (доклінічного) вивчення нових лікарських речовин, М., 2000г].

Тест-культура: H37Rv - лабораторний штам M. Tuberculosis, високовірulentний, чутливий до протитуберкульозних препаратів.

Для приготування матричного розчину запропонованої сполуки зважували 10мг порошку і додавали 1мл димексиду. Відбувалося неповне розчинення речовини (дрібнодисперсна завись). Для приготування робочих розчинів використовували як розріджувач середовище Школьнікової.

Для визначення МПК і МБК протягом 2 тижнів вирощували тест-культуру в рідкому живильному середовищі Школьнікової з додаванням різних концентрацій запропонованої сполуки в широкому діапазоні (128; 64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,06мкг/мл).

Потім готували мазки та забарвлювали за Цилем-Нільсеном. У мазках підраховували кількість мікобактерій туберкульозу (МБТ), і на основі одержаних результатів визначали МПК запропонованої сполуки, при якій спостерігалось пригнічення їх росту.

Життєздатність МБТ після впливу запропонованої сполуки оцінювали за здатністю їх до росту на середовищі Левенштейна-Єнсена (після вилучення запропонованої сполуки шляхом відмивання фізіологічним розчином). МБК запропонованої сполуки визначали за відсутністю росту культури.

У результаті проведених досліджень виявлено, що МПК запропонованої сполуки варіювала від 8 до 16мкг/мл; МБК - 16-32мкг/мл.

Визначення бактеріостатичної активності (БАК) крові щурів при введенні запропонованої сполуки

БАК визначали класичним методом, описаним у методичних рекомендаціях ["Визначення концентрацій антибактеріальних препаратів і туберкулоостатичної активності крові хворих туберкульозом", Москва, 1973р.].

Попередньо відібраним і зваженим щурам внутрішньощлунково вводили запропоновану сполуку в 1% крохмальному гелі. Доза запропонованої сполуки - 100мг/кг.

Взяття крові у тварин робили через 0,5; 1 і 2 години після введення запропонованої сполуки. З кожної проби крові готували розведення від 1:2 до 1:512 з подальшим внесенням у кожну пробірку 0,2мл суспензії культури мікобактерій туберкульозу штаму H37Rv з розрахунку 500млн. клітин у 1мл, приготувану за стандартом мутності. Підготовлені таким чином пробірки інкубували в термостаті при 37 градусах протягом 14 днів.

По закінченні терміну з осаду робили мазки і забарвлювали за Цилем-Нільсеном без подальшого дозабарвлення синькою. При мікроскопії оцінювали ріст колоній за трибальною системою: суцільний ріст (+++); коси майже в кожному полі зору (++) ; одиничні в мазку (+) (така культура зростаючою не визнається). Відсутність росту позначали (-).

БАК проба оцінюється як позитивна при відсутності росту культури (-) чи при рісті культури, що оцінюється як (+) у розведеннях крові 1:32 і вище.

Дані мікроскопії мазків наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1

Картина мікроскопії мазків крові

Запропонована сполука і час взяття крові (година)	Розведення крові								
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Запропонована сполука/0,5	-	-	-	-	-	+	++	++	++
Запропонована сполука/1,0	-	-	-	-	-	-	+	+	++
Запропонована сполука/2,0	-	-	-	-	-	+	++	++	++

Аналіз картини мікроскопії дав результати, наведені в Таблиці 2.

Таблиця 2

Результати визначення БАК

Запропонована сполука і час взяття крові (година)	Позитивна БАК проба при розведенні крові
Запропонована сполука/0,5	1:64
Запропонована сполука/1,0	1:256
Запропонована сполука/2,0	1:64

БАК проба вважається високою при відсутності росту в розведеннях вище 1:32. В отриманих результатах дослідження БАК при введенні запропонованої сполуки вища від зазначеного еталона, що свідчить про високу чутливість культури МБТ до концентрацій запропонованої сполуки, які були створені в крові.

Найбільш висока БАК проба через 1 годину після введення запропонованої сполуки.

При ентеральному введенні запропонованої сполуки в дозі 100мг/кг протягом 2 годин після введення створюються концентрації запропонованої сполуки, що забезпечують високі рівні БАК проби.

Максимальне розведення крові, при якому відсутній ріст культури, 1:256 при введенні запропонованої сполуки.

Визначення імуностимулюючої активності за-

пропонованої сполуки методом Ерне (за синтезом антитіл у селезінці)

Імуностимулююча активність запропонованої сполуки характеризується індексом стимуляції (1С) імунної відповіді.

В експериментах використовували 30 мишей лінії F1 (СВА×57BL), які надійшли з розплідника "Крюково" РАМН РФ. Годували тварин відповідно до наказу Мінздраву СРСР №1179 від 10.10.83 року "Про затвердження нормативів витрат кормів для лабораторних тварин в установах охорони здоров'я".

Забій тварин для визначення імуностимулюючої активності запропонованої сполуки досліджуваної серії проводили на четверту добу після імунізації.

Результати наведені в Таблиці 3.

Таблиця 3

Імуностимулююча активність запропонованої сполуки

Розведення комплементу 1:15	Кількість антитілоутворюючих клітин			
	контроль		Дослід	
	11,7	n=15	48,1	n=15
	Індекс стимуляції (1С) імунної відповіді = 4,1			

Отримана величина індексу стимуляції (1С) імунної відповіді даної серії становила 4,1, що говорить про високу імуностимулюючу активність запропонованої сполуки.

Спосіб одержання запропонованої сполуки ілюструється таким прикладом.

Приклад 1:

Спосіб одержання N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)-сульфоніл-N'-(4-піридинкарбоніл)гідрозину

Змішують 137г (1 моль) гідрозиду ізонікотинової кислоти і 224,5г (1 моль) 6-метилурацил-5-сульфохлориду в ацетонітрилі протягом 5 годин при температурі кипіння розчинника.

Фільтрують, сушать на повітрі. Фільтрат нейтралізують. Потім очищують отриману речовину шляхом переосадження з ацетону, або шляхом перекристалізації з N,N-диметилформаміду. Одержують 311,5г (86%) дрібно кристалічного порошку від білого до кремового кольору N-(2,4-діоксо-6-метил-5-піримідил)сульфоніл-N'-(4-піридинкарбоніл)гідрозину (C₁₁H₁₁N₅O₅S) із T_{пл}=247-256°C.

Знайдено, %: С 40,44; Н 3,91; N 21,24; О 24,76; S 9,65.

Розраховано, %: С 40,61; Н 3,41; N 21,53; О 24,59; S 9,86.

Вміст H₂O за Карлом-Фішером, % - 0,15.

ІЧ-спектр (γ , cm^{-1} , KBr)

3308, 3192, 3150 (NH);
3068, 2816(=C-H, C-H);
1744, 1728, 1692, 1644 (C=O);
1588, 1544, 1528(C=C, C=N);
1336, 1164(SO₂).

ПМР спектр у ДМСО: (3H, урацил) - 2,37м.ч.;
(4H, піридин) - 7,66м.ч., 8,73м.ч.; (2H, NH урацил) -
9,3м.ч., 10,86м.ч.; (2H; NH-NH) - 11,52м.ч.,

11,61м.ч.

Наведені нижче приклади ілюструють одержання названих вище готових форм.

Приклад А:

Одержання лікарської форми у вигляді таблеток.

Змішують основну і допоміжну речовини в співвідношеннях, зазначених у таблиці 4 (розрахунків на масу таблетки):

Таблиця 4

Маса таблетки (Мт), г				Масовий склад, %
0,250		0,500		
Запроп. сполука	0,1	Запроп. сполука	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

Діаметр кульок - 5мм.

Маса кульок на 100м готової форми - 500г.

Пресування таблеток здійснюють на пресі РТМ-12. На таблетки наносять покриття на основі ацетилфталілцелюлози (АФЦ) на апараті "Strea-1". Склад покриття (масові частини): ацетон - 56,4; етиловий спирт 96% - 37,6; касторова олія - 1,0; АФЦ - 5,0; тропеолін - додають до світло-

коричневого забарвлення розчину. Витрата покриття: кількість покриття (мл) = 50% від маси таблеток (г).

Приклад Б

Одержання лікарської форми у вигляді комбінованої таблетки

Таблетки одержують за відомою технологією. Склад наведено в таблиці 5.

Таблиця 5

Складові	Вага, мг					
	1	2	3	4	5	6
Запроп. сполука	до 400	до 400	до 400	до 400	до 400	до 400
Изоніазид	до 100	-	-	до 75	-	-
Рифампицин	-	до 150	до 150	до 150	до 150	до 150
Піразинамід	-	до 300	-	-	-	до 300
Етамбутол	-	-	-	-	до 150	до 250

Використовують стандартні цільові добавки і допоміжні речовини для формування лікарської форми.

Приклад В:

Одержання лікарської форми у вигляді желатинових капсул

Запропоновану сполуку в желатинових капсулах по 0,1г і по 0,2г одержують фасуванням ручним способом у капсули №1 і №0 за допомогою капсульниць із запірним пристроєм. Склад: Запропонована сполука - 0,1г і 0,2г без наповнювачів і консервантів.

Наважку запропонованої сполуки 10,0г приміщують на пластину капсульниць, розподіляють по поверхні пластини і далі відповідно до опису процесу роботи з капсульницею.

Желатинові капсули складаються з: хіноліну епу - 0,05%, титану діоксиду - 1,0%, желатину - до 100%. Речовини, що входять до складу капсул, дозволені для медичного застосування в Росії.

Приклад Г

Одержання лікарської форми у вигляді суспензії (сиропу).

На 100мл кінцевої лікарської форми беруть запропоновану сполуку - до 4г, фруктози - до 20г, ароматизатори, а також цільові добавки до збереження свіжоприготованої суспензії (шляхом дове-

дення її кип'яченою водою до 100мл) терміном до 10 днів у прохолодному захищеному від світла місці.

Цільові добавки і допоміжні речовини - пропіленгліколь, натрію цикламат, камедь ксантанова, фруктозовий сироп, натрію бензоат, натрію сахаринат моногідрат, етанол 95%, аромат апельсиновий 51.941/А, натрію цитрат дигідрат, мальтодекстрин КМС Х-50, дистильована вода - вводять у звичайних кількостях, що використовуються для приготування суспензій (сиропів), за відомою технологією.

Приготовану суспензію перед кожним вживанням збовтувати.

Приклад Д:

Одержання лікарської форми у вигляді ін'єкцій.

Препарат для ін'єкцій являє собою розсіпку порошку лікарського засобу, що включає запропоновану сполуку і її фармацевтично прийнятні солі в дозуванні 0,1-0,5г.

Приклад Е:

Одержання лікарської форми у вигляді супозиторій.

Маса однієї супозиторії для дорослих від 1 до 4г. Вміст активної речовини від 200 до 400мг. Маса однієї супозиторії для дітей від 0,5 до 1,5г. Вміст активної речовини від 100 до 200мг. Для виготов-

лення супозиторії використовуються традиційні добавки.

В якості ліпофільних основ для виготовлення супозиторіїв застосовують олію какао, сплави олії какао з парафіном чи гідрогенізованими жирами, рослинні і тваринні гідрогенізовані жири, твердий жир, ланоль, сплави гідрогенізованих жирів з воском, твердим парафіном та інші основи, дозволені для медичного застосування.

Як гідрофільні основи використовують желатино-гліцеринові гелі, сплави поліетиленоксидів з різними молекулярними масами та інші речовини, дозволені для медичного застосування. Желатино-гліцеринову основу виготовляють з желатину медичного, гліцерину і води.

При виготовленні супозиторіїв можуть застосовуватися бутилокситолуол, бутилоксіанізол, лимонна кислота, емульгатор №1, емульгатор Т-1, емульгатор Т-2, твін-80, спирти шерстного воску, аеросил та інші допоміжні речовини, дозволені для медичного застосування.

Переваги заявленої сполуки засобу полягають у викладеному далі.

При визначенні гострої токсичності запропонованої сполуки на мишах за методом Міллера і Тейнтера LD₅₀ при внутрішньочеревному введенні становить 1001-3000мг/кг, а токсичність Феназиду

при внутрішньочеревному введенні становить 163,2-382,9мг/кг. Оскільки токсичність Феназиду майже в 10 разів вища, запропонована сполука дає змогу одержати лікарський засіб, який може застосовуватися при резистентних формах захворювань, а також у великих дозах і протягом більш тривалого часу.

Крім того, заявлена запропонована сполука не має побічних ефектів, притаманних Феназиду: не може застосовуватися при серцево-легеневій недостатності, важких формах ішемічної хвороби серця.

Сучасна концепція лікування хворих на туберкульоз передбачає разом з базисною хіміотерапією призначення різних імуномодуючих засобів, що збільшує ризик розвитку побічних реакцій і підвищує вартість лікування.

Великі перспективи в підвищенні ефективності хіміотерапії хворих на туберкульоз відкриває застосування препаратів, що мають поряд з антимікобактеріальною імунокоригуючу дію. Таким є лікарський засіб на основі запропонованої сполуки.

Лікарський засіб на основі запропонованої сполуки є стабільним в процесі збереження. Не змінює зовнішнього вигляду, фізичних характеристик і біологічних властивостей протягом кількох років, наприклад, 5 років і більше.