



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **78174** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C07D 251/00
A61K 31/53 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

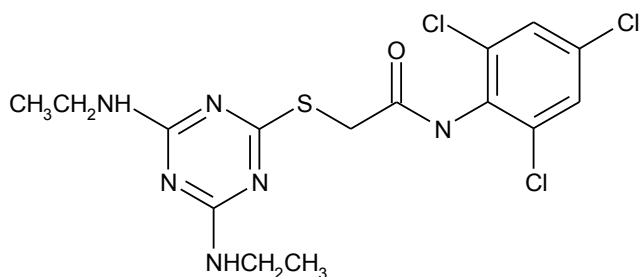
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 10537	(72) Винахідник(и): Демченко Анатолій Михайлович (UA), Барчина Олена Ігорівна (UA), Гриневич Олександр Йосипович (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.09.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.03.2013	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680 (UA), ДЕРЖАВНИЙ ЦЕНТР ІННОВАЦІЙНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.03.2013, Бюл.№ 5	(74) Представник: Шаповаленко Світлана Лазарівна

(54) 2-(4,6-БІС-ЕТИЛАМІНО-[1,3,5]ТРИАЗИН-2-ІЛСУЛЬФАНІЛ)-N-(2,4,6-ТРИХЛОРФЕНІЛ)АЦЕТАМІД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ АНТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ВІДНОСНО ДО ВІРУСУ H1N1

(57) Реферат:

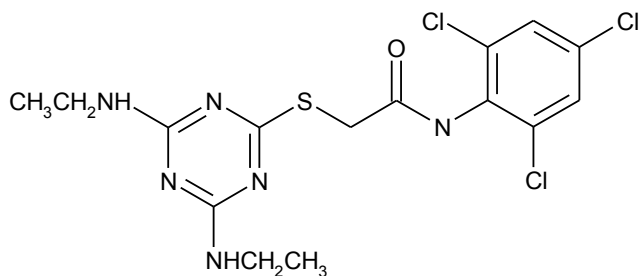
2-(4,6-Біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід структурної формули:



який проявляє антивірусну активність відносно до вірусу H1N1.

UA 78174 U

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії та медицини, а саме до фармакології засобів, зокрема, одержання біологічно активного 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетаміду [1] загальної формули:



5

який проявляє протівірусні властивості, що дозволяє передбачити використання його у практичній медицині, як антивірусний лікарський засіб, а саме для лікування грипу, викликаного вірусом California/07/2009 IVA(H1N1).

Актуальність питання лікування і профілактики сезонних респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ та грипу) на сучасному етапі зумовлена рядом факторів, насамперед, кількістю хворих. Наприклад, частота випадків ГРВІ за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) дорівнює 1,5 мільярди за рік (а це - кожен третій мешканець планети). Захворюваність на ГРВІ становить 75 % інфекційної патології у світі, а під час епідемій - близько 90 % усіх випадків. Ці показники тим самим визначають для ГРВІ перше місце у структурі причин високої захворюваності та тимчасової непрацездатності. Окрім того, простежується прямий зв'язок між розвитком хронічної патології серця, легень, нирок та інших органів після перенесеної ГРВІ. В Україні на ГРВІ та грип щорічно хворіють близько 10-14 млн. людей, що становить 25-30 % загальної захворюваності.

Віруси, як і бактерії, здатні змінювати свої біохімічні процеси, внаслідок чого з'являються резистентні штами. Сучасні протівірусні препарати найбільш ефективні в період реплікації вірусів. Чим раніше вони призначені, тим позитивніші наслідки терапії. Суттєвою перепорою є ті обставини, що мультиплікація вірусів значною мірою відбувається ще до розвитку симптомів захворювання. При цьому на фоні імунної недостатності перебіг даного патологічного процесу ускладнюється. На цьому підґрунті базується принциповий поділ сучасних протівірусних препаратів, які застосовуються для лікування грипу, за механізмом дії на: 1) ЛЗ, які безпосередньо порушують реплікацію вірусу; 2) ЛЗ, які модулюють імунну систему організму-хазяїна.

До першої групи відносять амантадин, занамівір, озельтамівір, римантадин, арбідол та інозин пранобекс [1-4].

У зв'язку із ситуацією щодо захворюваності на сезонний грип та випадками захворюваності на каліфорнійський грип постає питання не лише щодо ефективності, але й щодо безпеки протівірусних препаратів. Слід зазначити, що як і будь-яким ЛЗ, протівірусним препаратам, що використовуються для лікування грипу, властиві побічні реакції (ПР). Тому пошук нових протівірусних препаратів є досить актуальним.

В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з протівірусною активністю, що перешкоджають реплікацію вірусу, та які здатні лікувати грип, викликаний вірусом H1N1.

Як біологічно активну сполуку запропоновано 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід, ефективність якої підтверджується експериментально. В таблиці 1 наведені експериментальні дані активності 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетаміду відносно до вірусу California/07/2009 IVA(H1N1). Ефективність даної сполуки виражали показниками EC_{50} , IC_{50} та SI, які визначали в досліджах *in vitro* при дії сполук, що попередньо розчиняли в ДМСО в діапазоні концентрацій від 0,1 до 100 мкг/мл. Дана сполука має перевагу в пригніченні вірусу у порівнянні з прототипом - рибавирином.

В умовах експерименту заявлена сполука виявила високу протівірусну активність щодо вірусу California/07/2009 IVA(H1N1) (результати наведені в таблиці 1).

Таблиця 1

Противірусна активність 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід щодо вірусу California/07/2009 IVA(H1N1)

Сполука	Структура	Мол. маса	Тип вірусу	EC ₅₀ , мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	SI
		460,56	California/07/2009 IVA(H1N1)	0.6	>100	>170
Рибавірин		244,2	California/07/2009 IVA(H1N1)	2	>320	>160

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.

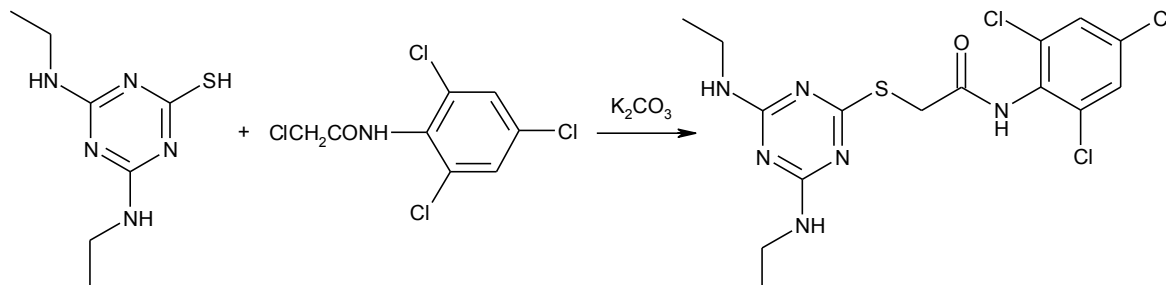
2. IC₅₀ - концентрація, при якій інгібіція клітин організму речовиною складає 50 %. Виражається у мкг/мл.

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

Як видно з результатів таблиці, противірусна активність 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)-ацетаміду спостерігається при введенні меншої в 3,3 рази за концентрацію дози в порівнянні із рибавірином, а індекс селективності досліджуваної речовини в 1,1 разу більше, ніж індекс селективності препарату порівняння.

Заявлений 2-(4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід отримують з високим виходом при використанні відомих синтетичних підходів [5]. (рис. 1).

Схема синтезу:



Приклади конкретного виконання.

Приклад 1. 2-(4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід.

У спиртовому розчині натрій гідроксиду змішують 0,001 моль 4,6-біс-(етиламіно)-1,3,5-триазин-2-тіолу з 0,001 моль з 2,4,6-трихлорацетаніліду. Суміш перемішують за кімнатної

температури протягом 5 год. Утворений білий осад, фільтрують та висушують. Кристалізують з ізопропанолу. Вихід 76 %. Т. пл. 181-183 °С. Знайдено, %: N 19,6; S 7,48; Cl 24,7 % C₁₅H₁₇Cl₃N₆OS. Вирахованого N 19,3; S 7,36; Cl 24,4 %. Спектр ПМР (ДМСО, ТМС): 1.10 (м, 6H, 2(CH₃)), 3.28 (м, 4H, 2(CH₂)), 3.89 (д, 2H, CH₂), 6.92-7.24 (м, 2H, NH+NH), 7.63 (с, 2H, C₆H₂), 9.81 (с, 1H, NHCO).

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

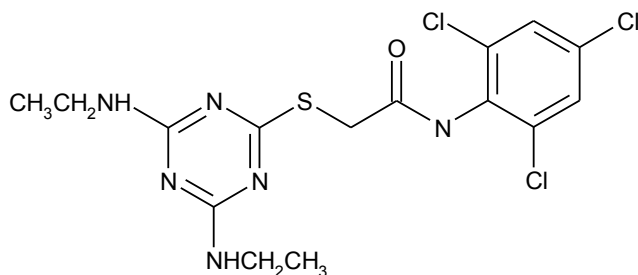
Для оцінки протівірусної активності сполуки 2-(4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлор-феніл)-ацетаміду. Моношар культури клітини Vero вирощували в 96-лунковому мікропланшеті до того часу, поки дно кожної лунки не покриється клітинами. Залишкове культуральне середовище повністю видаляли і кожну лунку двічі промивали фосфатним буфером. В кожну лунку додавали розчин вірусу IVA(H1N1, скорегованого до необхідної концентрації, 2-(4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлор-феніл)-ацетаміду та протівірусний засіб - рибавірин (Sigma), розчинені в диметилсульфоксиді, додавали до кожної лунки до кінцевої концентрації від 0,1 до 10 мкг/мл. Культивували протягом 48 годин, клітини Vero спостерігали в мікроскопі. Після додавання 100 мкл 70 % ацетону кожну лунку витримували при -20 °С протягом 1 год. Після висушування в сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну Б), розчиненого в 1 % (v/v) оцтової кислоті. Після 30 хвилин фарбування, розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) оцтовою кислотою. Після висушування в кожну лунку додавали 100 мкл 10 mM розчину Tris (рН 10,5) для розчинення забарвлюючої речовини на дні лунки. Для оцінки протівірусної активності вимірювали оптичну густину. Як контроль використовували лунки, в які не вносили клітини, в які вносили вірус без сполуки і в які не вносили ні вірус, ні сполуку(контроль культури клітин).

Джерела інформації:

1. Emergence of novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in human. Novel swine-origin influenza A (H1N1) virus investigation team. The New England Journal of Medicine 2009; 10:1-10.
2. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2009; 58: 433-435.
3. FDA. Antiviral Drug Advisory Committee. Gaithersburg: Centre for Drug Evaluation and Research 2002; 1-266.
4. Hayden F. WHO Guidelines on the Use of Vaccines and Antivirals during Influenza. Annex 5- Considerations for the Use of Antivirals during an Influenza pandemic, Geneva, 2-4 October, 2002.
5. Pandya U.H., Astik R.R., Thaker K.A. J. Studies On S-Triazine Derivatives. Part-1 nst. Chem., 1981, 53, №2, 69-70.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

2-(4,6-Біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-ілсульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорфеніл)ацетамід структурної формули:



який проявляє антивірусну активність відносно до вірусу H1N1.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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