



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 101531

(13) C2

(51) МПК

C07D 219/08 (2006.01)

A61K 31/473 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 07058

(22) Дата подання заявки: 06.06.2011

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 10.04.2013(41) Публікація відомостей
про заяву: 10.12.2012, Бюл.№ 23(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 10.04.2013, Бюл.№ 7

(72) Винахідник(и):

Ісаєв Сергій Григорович (UA),
Сулейман Маргарита Мохеддінівна (UA),
Бризицький Олексій Аркадійович (UA),
Динник Катерина Віталіївна (UA),
Шевельова Наталія Юхимівна (UA),
Крючкова Тетяна Миколаївна (UA)

(73) Власник(и):

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

UA 50388; 15.10.2002

Машковский. М.А. Лекарственные средства.
-Минск "Беларусь", 1988. - Том 1. С. 159, С.
172, С. 419, Том 2. С. 264, С. 316, С. 362

UA 10454 A; 25.12.1996

UA 80213 C2; 27.08.2007

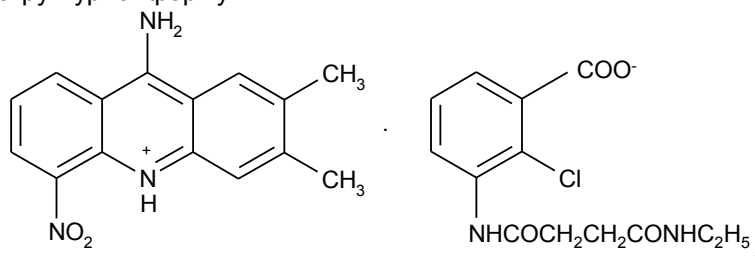
SU 724505; 30.03.1980

(54) 9-АМІНО-2,3-ДИМЕТИЛ-5-НІТРОАКРИДИНІУ ЕТИЛАМІДУ 3-КАРБОКСИ-2-ХЛОСУКСИНАНИЛАТ, ЩО ПРОЯВЛЯЄ БАКТЕРІОСТАТИЧНУ, ФУНГІСТАТИЧНУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, АНАЛГЕТИЧНУ, ДІУРЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ПОТЕНЦІОВАЛЬНУ ДІЮ У ВІДНОШЕННІ ДО БЕНЗИЛПЕНІЦИЛІНУ НАТРІЄВОЇ СОЛІ

(57) Реферат:

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до синтезу нових хімічних сполук.

Синтезований 9-аміно-2-метил-5-нітроакридиніу етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинанілат структурної формули



що проявляє бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціовальну дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

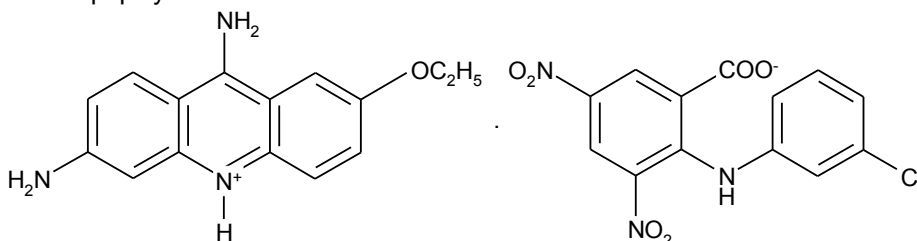
UA 101531 C2

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до синтезу 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинанілату, який проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціувальну дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Пошук нових засобів з широким спектром фармакологічної дії є актуальною проблемою сучасної медицини. Відомий цілий ряд лікарських засобів синтетичного походження, кожен з яких має свою домінуючу дію: етакридину лактат (антимікробна дія), фурацилін та грізеофульвін (протигрибкова дія), вольтарен (протизапальна дія), анальгін (аналгетична дія), гіпотіазид (діуретична дія) (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2005. - 1200 с: ил. - С. 951, 852, 913, 170, 159, 499).

До недоліків зазначених засобів можна віднести, зокрема, наявність у тій чи іншій мірі негативної побічної дії. У комплексному лікуванні виникає необхідність призначення хворому одночасно декількох лікарських засобів з моноспрямованою фармацевтичною дією, внаслідок чого загальна побічна дія підсилюється.

За прототип вибраний 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 3,5-динітро-N-(3'-хлорфеніл)антранілат загальної формули

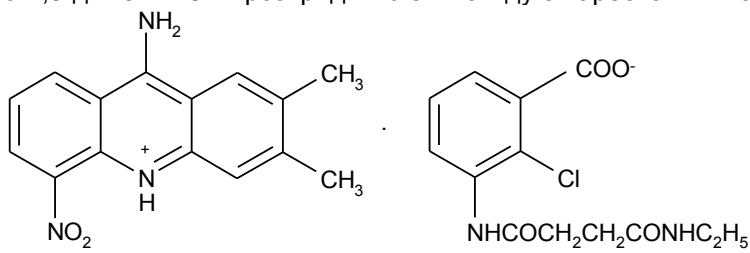


що виявляє антимікробну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціувальну дію у відношенні бензилпеніциліну натрієвої солі (декларацийний патент на винахід № 50388 А, Україна, МПК: C07D 219/08, A61K 31/435. Заявлено 29.12.2001. Опубліковано 15.10.2002. Бюл. № 10).

Сполука за прототипом має широкий спектр дії, проте цей спектр можна розширити, а ступінь фармацевтичної активності може бути реально підвищений.

В основу винаходу поставлена задача по створенню нової хімічної сполуки, що проявляє підвищену бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціувальну дію у відношенні бензилпеніциліну натрієвої солі.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу нової індивідуальної хімічної сполуки 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинанілату формули



який проявляє бактеріостатичну, фунгіцидну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціувальну дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Речовина, яка заявляється, утворена взаємодією 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридину та етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинілової кислоти у етанольному середовищі.

9-Аміно-2,3-диметил-5-нітроакридиній етиламіду 3-карбокси-2-хлор-сукцинанілат - порошок жовтого кольору, розчинний у воді (1:100), етанолі, ДМСО, ДМФА. Будова сполуки підтверджена за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а індивідуальність - методом тонкошарової хроматографії.

Винахід ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1

2,67 г (0,01 моль) 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридину розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 2,99 г (0,01 моль) етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинілової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу (розчин № 2). Потім розчин № 1 та № 2 змішують. Осад, що випав, відфільтровують, промивають водою та сушать.

Вихід 5,32 г (94 %), $T_{\text{плав.}}$ 248-251 °С, М. м. 566,011.

Бруто-формула $C_{28}H_{28}ClN_5O_6$.

Розраховано: С, % 59,42; N, % 12,37; H, % 4,98.

Знайдено: С, % 59,37; N, % 12,30; H, % 5,05.

ІЧ-спектр у KBr, cm^{-1} : 3340 ($\nu_{\text{NH}_2\text{NH}_2}$), 2632 (ν_{N^+}), 1625 ($\nu^{\text{as}}_{\text{COO}^-}$), 1430 ($\nu^{\text{s}}_{\text{COO}^-}$), 1600 ($\nu_{\text{C-Ph}}$), 1572 (δ_{NH}), 1514 ($\nu^{\text{as}}_{\text{NO}_2}$), 1410 (δ_{CH_2}), 1315 ($\nu^{\text{s}}_{\text{NO}_2}$), 738 (ν_{Cl}).

R_f : 0,39 в системі етанол-хлороформ-гексан (2:1,5:1).

5 Приклад 2

Визначення бактеріостатичної активності заявленої сполуки проводилося за методом двократних серійних розведень у рідких харчових середовищах (Навашин С.И., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: Медицина, 1982. - С. 40-42).

10 Для культивування бактерій використовувався амінопептид, попередньо розведений у два рази дистильованою водою, рН 7,2. Мікробне навантаження склало 10^5 - 10^6 мікробних тіл в 1 мл середовища.

15 Для випробування використовувалися 8 штамів мікроорганізмів: 1 - *Staphylococcus aureus*, штам ATCC 25923; 2 - *Escherichia coli*, штам ATCC 7241; 3 - *Bacillus subtilis*, штам ATCC 25922; 4 - *Pseudomonas aeruginosa*, штам ATCC 27853, 5 - *Salmonella choleraesuis*; 6 - *Salmonella thyphimurium*; 7 - *Salmonella thyphisuis*, 8 - *Salmonella duplin*.

Як критерій фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) та рівень гострої токсичності (DL_{50}).

20 Результати вивчення антимікробної активності та токсичності 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинілату (сполука № 1), у порівнянні з 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 3,5-динітро-N-(3'-хлорфеніл) антранілатом (прототип) та етакридину лактатом наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Бактеріостатична активність і токсичність заявленої сполуки (№ 1) у порівнянні з прототипом та етакридину лактатом

Сполука	МПК (мкг/мл)								DL ₅₀ (внутрішньошлунково), мг/кг
	Штами мікроорганізмів								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
№ 1	1,8	1,8	2,0	1,9	4,8	11,0	5,5	6,5	>6800
Прототип	2,8	2,5	2,8	3,8	7,8	31,2	10,0	12,5	4800
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	250	21*

Примітка. * DL_{50} - при внутрішньочеревинному введенні.

25 За даними табл. 1, сполука № 1 активніше етакридину лактату у відношенні до *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* у 16,42 разу, у відношенні до *Escherichia coli* у 7,8 разу, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* у 32,85 разу та у відношенні до мікроорганізмів роду *Salmonella* у 25,73-38,48 разу. Сполука № 1 також перевищує в аналогічних умовах основні характеристики прототипу у відношенні до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* та у відношенні до організмів роду *Salmonella* тощо.

30 Доведено, що заявлена сполука проявляє виражену бактеріостатичну дію у відношенні широкого переліку патогенних мікроорганізмів. Крім того, заявлена сполука є дещо менш токсичною, ніж прототип, і значно менш токсичною, ніж етакридину лактат.

Приклад № 3

35 Визначення фунгістатичної активності проводилось за відомою методикою (Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Бригера - 3-е изд. перераб. и доп. - М.: Медицина, 1982. - С. 392-417).

40 Для вирощування грибів використовувалось середовище Сабуро (рН=6,5-6,7). Навантаження склало 500-600 репродуктивних тілець штамів *Candida albicans* або *Trichophyton rubrum* в 1 мл середовища. Фунгістатичну дію оцінювали за мінімальною мікостатичною концентрацією (ММК), вираженою в мкг/мл.

Результати вивчення фунгістатичної активності та токсичності 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіду 3-карбокси-2-хлорсукцинілат (сполука № 1) у порівнянні з прототипом, фурациліном та гризеофульвіном наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Фунгістатична активність та токсичність заявленої сполуки (№ 1) у порівнянні з прототипом, фурациліном та грізеофульвіном

Сполука	Штами грибків,	ММК (мкг/мл)	DL ₅₀ (внутрішньоочеревинно) мг/кг
	Candida albicans	Trichophyton rubrum	
Сполука № 1	10,7	20,0	>2300
Прототип	30,0	-	1020
Фурацилін	64,0	-	82,5
Грізеофульвін	-	50	немає даних

За результатами дослідження, наведеними у таблиці 2, сполука № 1 інгібує ріст *Candida albicans* у концентрації у 5,98 разу меншій, ніж фурацилін. Крім того, сполука № 1 у 27,9 разу менш токсична, ніж фурацилін при внутрішньоочеревному введенні. Сполука № 1 активніше за грізеофульвін у відношенні *Trichophyton rubrum* в 2,5 рази. Прототип не проявляє фунгістатичну дію у відношенні *Trichophyton rubrum*. В результаті експерименту встановлено також, що заявлена сполука є менш токсичною, ніж наведені препарати порівняння та прототип.

Таким чином, заявлена сполука перевищує прототип та препарати порівняння за широтою фунгістатичної дії.

Приклад 4

Вивчення протизапальної активності проводилося на моделі карагенінового набряку у дослідках на мишах (Яковлева Л.В., Зупанец І.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств. // Деп. в УкрНИИТИ 07.07.87. - № 1908. - Ук. 87).

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоєфективна доза (DE₅₀), при якій фармакологічний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL₅₀); терапевтичний індекс ТІ (показник відношення DL₅₀/DE₅₀); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення протизапальної активності та токсичності 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіді 3-карбокси-2-хлорсукцинанілату (сполука № 1) у порівнянні з прототипом та вольтареном наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Протизапальна активність та токсичність заявленої сполуки (№ 1) у порівнянні з прототипом та вольтареном

Сполука	DE ₅₀ , мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс	Відносний ТІ по вольтарену
Сполука № 1	5,7	>6000	1052,6	23,39
Прототип	6,25	>4800	768	17,07
Вольтарен	8,0	360	45	1

За даними таблиці 3 сполука № 1 має виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищує вольтарен у 23,39 разу, а прототип у 1,37 разу.

Приклад 5

Вивчення анагетичної активності 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламіді 3-карбокси-2-хлорсукцинанілату (сполука № 1) проводилося за методом "оцтових корчів" у білих лабораторних щурів масою 150-180 г (Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За редакцією член.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 307-320). Корчі були викликані внутрішньоочеревним введенням розчину 0,75 % оцтової кислоти у дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини. Підрахунок кількості корчів проводили через 15 хвилин після введення розчину оцтової кислоти протягом 30 хвилин.

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоєфективна доза (DE₅₀), при якій анагетичний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (DL₅₀); терапевтичний індекс (ТІ); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення анагетичної активності та токсичності сполуки № 1 у порівнянні з прототипом та анальгіном наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Аналгетична активність та токсичність заявленої сполуки (№ 1) у порівнянні з прототипом та анальгіном

Сполука	DE ₅₀ , мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс (ТІ)	Відносний ТІ по анальгіну
Сполука № 1	12,9	>6000	>465,51	21,34
Прототип	20,6	>4800	233	10,69
Анальгін	55,	1197	21,8	1

Як видно за даними таблиці 4, сполука № 1 за широтою терапевтичної дії перевищує анальгін в 21,34 разу, а прототип - майже у 2 рази.

5 Приклад 6

Вивчення діуретичної активності проводили за методом Е.Б. Берхіна (Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Хим.-фармац. журн. - 1977. - Т. 11, № 5. - С. 3-11) на білих щурах лінії Вістар масою 120-160 г. Кожна серія складалася з 7 тварин. Кожну з досліджених сполук (заявлена сполука, сполука за прототипом, препарат порівняння гіпотіазид) вводили у дозі 50 мг/кг у водному розчині з розрахунку 3 мл води на 100 г ваги тварини. Тварини контрольної групи одержували лише воду. Сечу збирали кожну годину протягом 4 годин.

Як критерій фармакологічної активності вибрано об'єм сечі досліджених тварин, розрахований у відсотках у порівнянні з контролем.

15 Результати вивчення діуретичної дії сполуки № 1, прототипу та гіпотіазиду наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Діуретична активність заявленої сполуки (№ 1) у порівнянні з прототипом та гіпотіазидом

Сполука	Діуретична активність, у % до контролю
Сполука № 1	315
Прототип	242
Гіпотіазид	212

20 Як видно за даними таблиці 5, сполука № 1 за діуретичною дією перевищує гіпотіазид на 103 %, а прототип на 73 %.

Приклад 7

25 Визначення потенціовальної дії 9-аміно-2-метил-5-нітроакридинію етиламід у 3-карбокси-2-хлорсукцинілату (сполука № 1) проводилося у суббактеріостатичній концентрації як мікродобавки до бензилпеніциліну натрієвої солі. Тест-моделлю були серійні двократні розведення у рідкому живильному середовищі. Як розчинник використовувалася вода для ін'єкцій.

Для випробування використовувалися 2 штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*.

30 Як критерій фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК).

Результати дослідження наведені у таблиці 6.

Таблиця 6

Потенціовальна дія сполуки № 1 та прототипу у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі

Сполука	Штам мікроорганізмів, МПК мг/мл	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Бензилпеніциліну натрієва сіль (БПNa)	0,9	15,6
БПNa + сполука № 1	0,22	1,50
БПNa + прототип	0,4	2,5

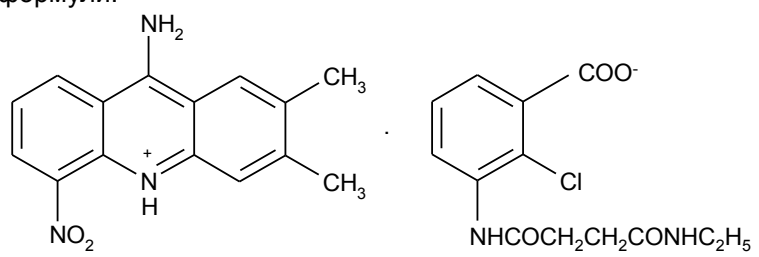
За даними таблиці 6, сполука № 1 в суббактеріостатичній концентрації підвищує активність антибіотика у відношенні до *Staphylococcus aureus* в 4,09 разу, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* в 10,40 разу. Потенціувальна активність прототипу у даному випадку нижча.

Таким чином, заявлена сполука 9-аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламід 3-карбокси-2-хлорсукцинанілат проявляє широкий спектр фармакологічної дії: бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну та потенціувальну дію у відношенні бензилпеніциліну натрієвої солі. За окремими видами активності вона перевищує дію препаратів порівняння етакридину лактату, фурациліну, грізеофульвіну, вольтарену, анальгіну, гіпотіазиду. Крім того, собівартість одержання заявленої сполуки нижча за собівартість сполуки за прототипом.

Заявлена сполука може знайти застосування у медичній практиці при створенні лікарських засобів у різних лікарських формах для лікування інфекційних та запальних процесів різної етіології, а також середньої сили больових синдромів.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

9-Аміно-2,3-диметил-5-нітроакридинію етиламід 3-карбокси-2-хлорсукцинанілат структурної формули:



що проявляє бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціувальну дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.