



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46163 (13) C2

(51) 6 C07D239/60, A61K31/505

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) N, N'-(СУЛЬФОНІДИ-1,4-ФЕНІЛЕН)БІС(N,N'-ДИМЕТИЛФОРМАМІДИН)-1,2,3,4-ТЕТРАГІДРО-6-МЕТИЛ-2,4-ДІОКСО-5-ПРИМІДИНСУЛЬФОНАТ, ЩО СТИМУЛЮЄ КЛІТИННИЙ МЕТАБОЛІЗМ І МАЄ ІМУНОТРОПНУ ТА АНТИМІКОБАКТЕРІАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ, І СПОСІБ ЙОГО ОТРИМАННЯ

1

(21) 2000052577  
(22) 05 10 1998  
(24) 15 05 2002  
(86) PCT/RU98/00314, 05 10 1998  
(31) 97117514  
(32) 07 10 1997  
(33) RU  
(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р.

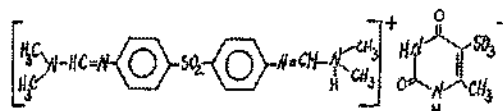
(72) Решетов Александр Леонидович, RU, Голощапов Николай Михайлович, RU, Мичурна Елена Андреевна, RU, Филиппих Тамара Петровна, RU, Голощапова Елена Николаевна, RU, Костюк Любовь Елизаровна, RU, Сударева Татьяна Тимофеевна, RU, Хагтов Рахим Мусаевич, RU, Цивкина Галина Ивановна, RU

(73) Решетов Александр Леонидович, RU

(56) SU 687074, 28 09 1979 RU 20044724, 27 09 1995 GB 1511517, 17 05 1978

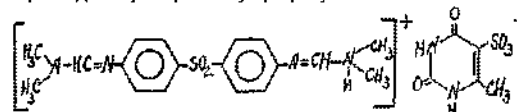
(57) 1 N,N'-(Сульфони́ди-1,4-фени́лен)біс(N,N'-диметилформамідин)-1,2,3,4-тетрагідро-6-метил-2,4-діоксо-5-пиримідинсульфонат формули

2



який стимулює клітинний метаболізм і має імунотропну та антимікобактеріальну активність

2 Спосіб одержання N,N'-(сульфоніди-1,4-фенілен)біс(N,N'-диметилформамідин)-1,2,3,4-тетрагідро-6-метил-2,4-діоксо-5-пиримідинсульфонату формули



по п. 1, який відрізняється тим, що нагрівають еквімолекулярну кількість діамінодифенілсульфону та 6-метил-5-урацилсульфохлориду в диметилформаміді

Винахід належить до органічної хімії, а точніше, стосується нової біологічно активної хімічної сполуки N,N'-(сульфоніди-1,4-фенілен) біс (N,N'-диметилформамідин)-1,2,3,4-тетрагідро-6-метил-2,4-діоксо-5-пиримідинсульфонату, що стимулює клітинний метаболізм і має імунотропну та антимікобактеріальну активність, та способу її одержання

Широко відомі лікарські препарати, які належать до групи сульфонопіримідинів, такі як діуцифон і димоцифон (М.А. Машковский, "Лекарственные средства", Москва, "Медицина", 1993г., с. 387, Н.М. Голощапов и другие, "Изобретательство и рационализация в медицине" Республиканский вестник научных трудов", Москва, 1979г., с. 129-130, Н.М. Голощапов и другие, "Применение препарата "Димоцифон" в терапии больных лепрой, аллергодерматозами, нейродерматозами и герпетическим дерматитом Дюринга", Методические рекомендации, Москва, 1978г.)

Відомі структурні аналоги гідрат діуцифону та діуцифон (авторське свідоцтво СРСР №322325), вони мають протилепрозну (авторське свідоцтво СРСР №459228, US, 3937829, GB, 1396667, Fr, 7337063) та імунотропну активність (авторське свідоцтво СРСР №938442). Проте, протитуберкульозна активність у них відсутня. Крім того, зазначені речовини мало або зовсім не розчиняються у воді, а це знижує їх біологічну доступність і, отже, біологічну активність. У зв'язку з цим лікувальні дози цих лікарських препаратів повинні бути достатньо високими.

Плоха розчинність і низка біологічна доступність діуцифонів не дає їм змоги проникати крізь клітинну мембрану, де, як правило, знаходяться збудники мікобактеріозів, та брати участь в їх життєдіяльності.

Винахід, що заявляється, є новим і в літературі не описаний.

В основу винаходу покладено завдання створення

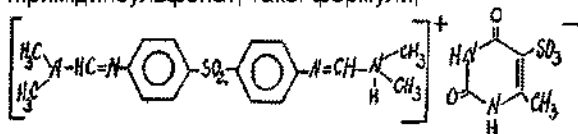
(13) C2

(11) 46163

(19) UA

рення нової сполуки, легко розчинної у гарячій воді та 0,25% - 0,5% розчині новокаїну, і здатної впливати на функцію клітини, збільшуючи в ній вміст дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), рибонуклеїнової кислоти (РНК) та білка, що має більш виражену протилепрозну й імунотропну активність, а також активного відносно до мікобактерій лепри, туберкульозу й атипових мікобактерій, а також розробка способу одержання цієї сполуки, яка стимулює клітинний метаболізм і має імунотропну й антимікобактеріальну активність.

Задача вирішується тим, що згідно з винаходом заявляється нова сполука N,N'-(сульфоніди-1,4-фенілен) біс (N,N''-диметилформамідин)-1,2,3,4-тетрагідро-6-метил-2,4-діоксо-5-пиримідинсульфонат, такої формули,



яка стимулює клітинний метаболізм і має імунотропну й антимікобактеріальну активність.

Спосіб одержання цієї сполуки, згідно з винаходом, полягає в тому, що нагрівають еквімолекулярну кількість діамінодифенілсульфону та 6-метил-5-урацилсульфохлориду в диметилформаміді.

Ця сполука стимулює клітинний метаболізм (обмін речовин), що виявляється у збільшенні кількості ДНК, РНК, білка. У цьому відношенні він перевершує стимулюючу дію гідрату діуцифону, діуцифону та похідних пиримідинових основ. Також дана сполука виявляє антимікобактеріальну дію як відносно мікобактерій лепри, мікобактерій туберкульозу та ґрунтових мікобактерій. Її антимікобактеріальна активність значно перевершує таку гідрату діуцифону та діуцифону за рахунок бактеріцидних властивостей, які певною мірою, ймовірно, можна пояснити її участю в обміні речовин самої мікобактерії. У реакціях клітинного, гуморального імунітету та функції макрофагів зазначена вище сполука виявила значно більшу активність, ніж гідрат діуцифону та діуцифон, що свідчить про її високу імунотропну активність.

Сполука, що заявляється, являє собою аморфний порошок зеленувато-жовтого кольору, температура плавлення 245 - 247°C. Легко розчинна у гарячій воді, розчинна в диметилформаміді, диметилсульфоксиді, не розчинна у звичайних органічних розчинниках. Структура підтверджується даними ІЧ та ПМР спектроскопії.

Дану сполуку одержують нагріванням еквімолекулярних кількостей діамінодифенілсульфону та 6-метил-5-урацил-сульфохлориду в диметилформаміді. У цих умовах не утворюється, як можна було б очікувати, сульфонамідна похідна діамінодифенілсульфону (ДДС), а в першу чергу йде взаємодія діамінодифенілсульфону з диметилформамідом (US, 3 133 078, 30 GR Pettit, L R Garson, Can J chem, 1965, v 43, N 9, p 2640).

Диметилформамідин, що утворився, далі утворює сіль з 6-метил-урацил-5-сульфокислотою. Сполуку, що заявляється, було випробувано в експерименті на тваринах. Переваги сполуки, що заявляється, в порівнянні з діуцифоном ілюструє

таблиця 1

Таблиця 1

Переваги сполуки, що заявляється, в порівнянні з діуцифоном

Показник ефективності	Сполука, що заявляється	Діуцифон
Токсичність	3150мг/кг (2820-3410)	2600мг/кг (2166-3042)
Протилепозна активність (кількість мікобактерій в лапці $\times 10^6$ )	0,014	0,558
Протитуберкульозна активність в дозі 4мг/мл	цілком знищує мікобактерії збудника	близько 50% мікобактерій зберігається
Індекс стимуляції імунної відповіді	3,8 (В/ч), 4,8 (п/о)	1,3 (В/ч), 1,6 (п/о)
Фагоцитарний індекс	7,45 (в/ч), 7,8 (п/о)	4,92 (в/ч), 5,0 (п/о)
Участь в обміні клітини		
а) зміна кількості білка в органах у мг %		
селезінка	19,7 $\pm$ 0,3	16,9 $\pm$ 0,3
печінка	25,7 $\pm$ 0,1	20,1 $\pm$ 0,1
б) зміна кількості ДНК (мг %) у клітинах різних органів		
селезінка	7,1 $\pm$ 0,3	6,21 $\pm$ 0,1
печінка	23,9 $\pm$ 0,7	16,9 $\pm$ 0,3
в) зміна кількості РНК(мг %) в клітинах селезінки		
	81,1 $\pm$ 1,7	67,2 $\pm$ 1,7
г) включення ЗН-іридину в РНК селезінки (% від контролю)	150	120

З таблиці 1 випливає, що сполука, яка заявляється, має переваги порівняно з діуцифоном: вона є менш токсичною, активною відносно мікобактерій лепри, туберкульозу та умовно патогенних атипових мікобактерій, має високу імунотропну дію на макроорганізм (індекс стимуляції в 3 рази вищий, ніж у діуцифону). Крім того, вона бере участь в обміні клітини, стимулює її функцію в 1,5-2 рази краще, ніж діуцифон. Враховуючи високу дію на мікобактерії лепри, туберкульозу та інших збудників, що знаходяться усередині клітини, а також успішні клінічні випробування на носіях ВІЛ-інфекції, можна припустити участь запропонованої речовини в обміні речовин різноманітних збудників, що знаходяться всередині клітини та є малодоступними для впливу інших препаратів, проникненню яких всередину клітини перешкоджає оболонка клітини.

Токсичність сполуки визначали на білих безпородних мишах вагою 18 - 20г у гострому досліді за методом Лтчфілда-Уілкоксона (1).

Вивчали вплив сполуки, що заявляється, на обмін клітини тварини. Вивчення впливу запропонованого препарату на обмін клітини тварини про-

водилося в порівнянні з 6-метилдрацилом (метацилом), діуцифоном і підратом діуцифону

Тварин (самці білих щурів) розподіляли на 4 групи по 12 щурів у кожній. Препарати розчиняли в дистильованій воді та вводили внутрішньочеревно по 100мг/кг щоденно протягом 6 днів. На 7-й день їх забивали декапітацією, виділяли органи (нирки та надниркові залози, селезінку і печінку), зважу-

вали та брали шматочки тканин для дослідження РНК і ДНК визначали за методом Р.Г. Цанєва і Г.Г. Маркова (2), білок за методом Lowry (3)

Тварин і виділені органи зважували до і після дослідів. Результати проведених досліджень наведені в таблицях 2, 3, 4, 5, 6

Таблиця 2

Вага внутрішніх органів щурів в кінці дослідів (через 6 днів)

Група тварин	Кількість тварин	Печінка, гр	Селезінка, гр	Надниркові залози, гр	Нирки, гр
Контрольна група	12	7,001	1,181	35,7	1,601
Тварини, які одержували метацил	11	7,801	1,497	36,1	1,671
Тварини, які одержували діуцифон	12	7,947	1,430	36,2	1,701
Тварини, які одержували підрат діуцифону	12	8,947	2,898	41,1	2,021
Тварини, які одержували випробовувану сполуку	12	10,389	3,147	52,9	2,787

При аналізі отриманих даних ясно видно, що випробовувана сполука значно сприяє збільшенню ваги печінок, нирок, надниркових залоз і селезінки порівняно з контролем, метацилом і діуцифоном. У той самий час при гістологічному дослідженні даних органів не відзначається жодних патологічних

(набряк клітин, переродження білкового, жирового тощо) змін в кожному органі. Таким чином, функція органу під дією досліджуваної сполуки збільшувалась в середньому у півтора і більше разів

Таблиця 3

Зміна кількості білка (мг %) в органах при введенні різних сполук

Група 14 голів	Печінка	Нирки	Селезінка	М'яз	Кров	Надниркові залози
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	19,1 ± 0,7	15,9 ± 0,4	150 ± 0,6	8,1 ± 0,1	7,4 ± 0,3	14,0 ± 0,7
Метацил	20,9 ± 0,7	16,8 ± 0,3	17,1 ± 0,4	8,6 ± 0,2	8,2 ± 0,1	15,1 ± 0,4
Діуцифон	20,1 ± 0,1	16,2 ± 0,2	16,9 ± 0,3	8,2 ± 0,2	8,1 ± 0,3	14,9 ± 0,3
Гідрат діуцифону	22,9 ± 0,7	18,7 ± 0,3	18,4 ± 0,4	10,9 ± 0,1	9,2 ± 0,2	15,7 ± 0,1
Сполука, що заявляється	25,7 ± 0,1	21,3 ± 0,3	19,7 ± 0,3	11,9 ± 0,2	10,3 ± 0,4	17,9 ± 0,4
P < відносно до контролю	0,01	0,01	0,001	0,01	0,03	0,03

При аналізі даних таблиці 3 ясно простежується збільшення кількості білка в кожному органі при прийомі досліджуваної сполуки в середньому більше, ніж на 30%. Досліджували кількість ДНК і

РНК в клітинах органів, оскільки від їх кількості в клітині залежить її діяльність та функція (фагоцитоз, можливість трансформації клітини при появі необхідності в організмі тощо)

Таблиця 4

Зміна кількості ДНК (мг %) в клітинах різних органів під дією сполук

Група тварин	Печінка	Нирки	Селезінка	М'яз	Кров	Надниркові залози
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	15,5 ± 0,7	19,4 ± 0,4	59,9 ± 0,2	4,9 ± 0,3	1,5 ± 0,1	20,1 ± 0,7
Метацил	17,2 ± 0,1	22,1 ± 0,1	63,4 ± 0,4	5,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1	19,9 ± 0,2
Діуцифон	16,9 ± 0,3	21,9 ± 0,2	62,1 ± 0,1	5,7 ± 0,2	1,4 ± 0,2	19,7 ± 0,3
Гідрат діуцифону	18,9 ± 0,4	24,7 ± 0,3	65,1 ± 0,2	6,3 ± 0,3	1,7 ± 0,1	20,2 ± 0,4
Сполука, що заявляється	23,9 ± 0,7	31,4 ± 0,3	71,1 ± 0,3	7,9 ± 0,1	1,9 ± 0,2	22,3 ± 0,1
P < відносно до контролю	0,01	0,001	0,001	0,001	0,01	0,1

При аналізі таблиці 4 ясно простежується збільшення ДНК при прийомі різних сполук, але найбільшою мірою при призначенні досліджуваної сполуки

Таблиця 5

Зміна кількості РНК (мг %) в клітинах органів при прийомі в порівнянні з сполукою, що заявляється

Група тварин	Печінка	Нирки	Селезінка	М'яз	Кров	Надниркові залози
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	49,9 ± 1,7	29,8 ± 1,3	68,8 ± 1,9	9,7 ± 0,2	3,4 ± 0,1	39,9 ± 1,7
Метацил	70,1 ± 1,8	37,9 ± 1,7	77,7 ± 0,4	14,3 ± 0,1	4,9 ± 0,3	46,4 ± 2,1
Діуцифон	67,2 ± 1,7	36,4 ± 1,9	78,1 ± 0,2	14,4 ± 0,3	4,7 ± 0,2	44,7 ± 1,7
Гідрат діуцифону	75,5 ± 1,9	49,9 ± 2,1	91,2 ± 1,4	19,7 ± 0,4	5,8 ± 0,1	52,2 ± 0,4
Сполука, що заявляється	81,1 ± 1,7	57,7 ± 1,3	98,7 ± 1,3	23,7 ± 0,9	7,7 ± 0,7	61,9 ± 0,7
P < відносно до контролю	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

З аналізу даних таблиці 5 випливає, що кількість РНК при введенні досліджуваної сполуки збільшувалася більше ніж на 50%, що сприяло різкому збільшенню функціональної активності клітини, що було підтверджено у наступному досліді

Таблиця 6

Результати визначення включення 3Н-уридину в РНК клітин селезінки щура

	Умови експерименту	Включення імпульс/хвип	% від контролю
Контроль	Суспензія лімфоцитів + 0,3 мл розчину Хенкса	18547	100
Дослід	Суспензія лімфоцитів + метацил	21647	116,6
	Суспензія лімфоцитів + гідрат діуцифону	23721	128,0
	Суспензія лімфоцитів + досліджувана сполука	28490	150,0

З даних досліді випливає, що під дією сполуки, що заявляється, кількість РНК в клітині, яку тестують за включенням 3Н-уридину, збільшувалася більше ніж на 50%, що природно, і підсилювало функціональну активність клітини, та свідчить

про те, що вона бере активну участь в обміні лімфоцитів. Антимікобактеріальна активність сполуки, що заявляється, досліджувалася на 3 видах мікобактерій збудники лепри - *Micobacterium leprae*, збудники туберкульозу - *Micobacterium tuberculosis*, атипівих мікобактеріях - *Micobacterium lufu*, потенційно патогенних.

Проводилося визначення протилепрозної активності сполуки, що заявляється. Її протилепрозна активність порівняно з діуцифоном і гідратом діуцифону вивчалася на мишах гібридів F<sub>1</sub> (СВА х С<sub>57</sub>В<sub>1</sub>), заражених лабораторним штамом К-1 мікобактерій лепри, взятими в кількості 5000 мікробних тп і введенними інтраплантарно за методом Шепарда (4). Спостерігали за 4 групами мишей, всіх утримували в однакових умовах виварію по 20 мишей у групі. Перша група є контрольною протягом 6 місяців миші цієї групи одержували через зонд 5 разів на тиждень 0,5мл крохмальної суспензії. Дослідні групи тварин одержували протягом строку досліді досліджувані препарати в дозі 50мкг в 0,5мл крохмальної суспензії 5 разів на тиждень. Через 6 місяців тварин забивали цервікальним зсувом хребта, органи піддавали бактеріоскопічному дослідженню, жодних патологічних відхилень, характерних для будь-якої групи, не було виявлено. При бактеріоскопічному дослідженні місця зараження лапку розтирали в 2мл 0,1% розчину альбуміну, з 0,01мл суспензії робили мазок, забарвлювали за Ципем-Нільсеном, (5) та підраховували кількість мікобактерій лепри в 60 полях зору, і визначали кількість мікобактерій на одну мишу у кожній групі. Результати досліджень подані в таблиці 7.

Таблиця 7

Вплив діуцифону, гідрату діуцифону та сполуки, що заявляється, на кількість мікобактерій в лапці заражених тварин

	Кількість мишей у групі	Кількість мікобактерій в лапці x 10 <sup>6</sup>	% інфікованих тварин	P < відносно контролю
Контроль	20	1,46 ± 0,120	100	
Діуцифон	20	0,556 ± 0,115	80	0,001
Гідрат діуцифону	20	0,423 ± 0,128	75	0,001
Сполука, що заявляється	20	0,014 ± 0,007	50	0,001

Як випливає з наведених даних, сполука, що заявляється, має високу бактеріостатичну активність відносно до мікобактерій лепри, що перевершує антимікобактеріальну активність як діуцифону,

так і гідрату діуцифону. Крім цього, слід відзначити, що у 50% тварин у групі, яка одержувала лікування сполукою, що заявляється, не спостерігалось мікобактерій, що свідчить про її бакте-

рицидні властивості

Протитуберкульозна активність сполуки, що заявляється, порівняно з метацилом, діуцифоном і гідратом діуцифону досліджувалася на мікобактеріях штаму "Academia" Мікобактерій туберкульозу культивували у рідкому середовищі Шкільникової (6) с 10% плазмою людини. В кожну пробірку, що містить 2мл середовища з досліджуваними речовинами в різній концентрації, засівали по 0,2мл зависі мікобактерій туберкульозу, яку готували за бактеріальним стандартом мутності №5 та розводили в 10 разів. Інкубували 10 днів при 37°C. Мінімальну інгібувальну концентрацію визначали за відсутністю колоній мікобактерій туберкульозу у пробірці з найменшим вмістом досліджуваної речовини. З цією метою робили мазок, забарвлювали його за Цилем-Нільсеном, спостерігали при збільшенні 7 x 8 100 полів зору, визначали морфологічні структури ("коси"), які свідчать про ріст мікобактерій туберкульозу, що помічати знаком +, відсутність росту - знаком -, одиничні "коси" в кількох полях зору знаком ±. Одержані результати наведені в таблиці 8.

Таблиця 8

Вплив діуцифону, гідрату діуцифону та сполуки, що заявляється, на ріст мікобактерій туберкульозу

Концентрація у мг/мл Препарати	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
-----------------------------------	-----	-----	-----	-----	------

1	2	3	4	5	6
Метацил	+	+	+	+	+
Діуцифон	+	+	+	+	+
Гідрат діуцифону	±	+	+	+	+
Сполука, що заявляється	-	±	±	+	+

Аналіз даних таблиці 8 показує, що сполука, яка заявляється, має протитуберкульозну активність, виражену більшою мірою, ніж активність гідрату діуцифону. Проводилося дослідження впливу сполуки, що заявляється, на атипові мікобактерії. Антимікобактеріальна активність досліджуваних препаратів досліджувалася на *Mycobacterium lufu* M. lufu, вирощену на середовищі Левенштейна-Йенсена (7), розтирають у фарфоровій ступці та готують суспензію, яка відповідає 10 стандарту мутності. Суспензію розводять в 1000 разів і по 0,2мл додають у пробірки з розтигрованими по 2мл розчинами досліджуваних препаратів у концентрації від 128мг/мл до 0,25мг/мл. Посіви витримуються при 34°C протягом 10 діб, потім центрифугуються 5 хвилин при 1500 оборотах. Надосадову рідину зливають через край осад, наносять на скло, рівномірно розмазують, фіксують, забарвлюють за Мурахаці (8).

Скло розглядають при збільшенні 7 x 8. Результат виражають у мінімальній інгібувальній концентрації препарату (МІК), при якій кількість зелених (живих) колоній порівняно з червоними (мертвими) в 2 рази менша, ніж у контролі.

Таблиця 9

Мінімальна інгібувальна концентрація досліджуваних препаратів, що впливають на M. lufu

Концентрація мкг/мл Препарати	128	64	32	16	8	4	2,1	0,5	0,25
Метацил	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Діуцифон	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Гідрат діуцифону	±	±	+	+	+	+	+	+	+
Сполука, що заявляється	-	±	+	+	+	+	+	+	+

У таблиці 9 позначено

+ наявність росту  
- відсутність росту  
± одиничні мікобактерії в кількох полях зору

МІК досліджуваної сполуки, що заявляється, менша, ніж МІК препаратів порівняння, а в найбільшій її досліджуваній концентрації справляє бактеріцидний ефект на M. lufu.

Таким чином, можна зробити висновок, що запропонована сполука має антимікобактеріальну дію, як на патогенні мікобактерії, що є збудниками таких соціально небезпечних хвороб, як лепра і туберкульоз, так і на атипові мікобактерії, які часто під дією екологічних чинників трансформуються в умовно патогенні та патогенні штами. Також про-

водилося визначення імунотропної активності. Вплив на гуморальний імунітет вивчали за допомогою методу локального гемолізу в гелі (реакція Ерне та Нордін) (9). Мишей пбридів F<sub>1</sub> (CBA x C<sub>57</sub>B<sub>1</sub>) імунізували еритроцитами барана в дозі 5 x 10<sup>6</sup> і відразу після цього вводили досліджувані препарати перорально або внутрішньочеревно. На 5-у добу підраховували кількість антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці мишей та визначали індекс стимуляції відносно до числа АУК в контрольній групі. Дані подані в таблиці 10 і 11.

Таблиця 10

Визначення числа антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці мишей при внутрішньочеревному введенні препарату

Назва препарату	Доза в мкг/миша	Кількість АУК у селезінці	Кількість тварин	Індекс стимуляції імунної відповіді	Вірогідність Р <
Контроль	0,5мл фізрозчину	280 ± 20	12	1,0	
Діуцифон	100	420 ± 35	12	1,3	0,01
Гідрат діуцифону	100	620 ± 50	12	2,2	0,01
Сполука, що заявляється	100	1060 ± 80	12	3,8	0,01

Таблиця 11

Вплив досліджуваних препаратів на накопичення антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці мишей при пероральному введенні

Назва препарату	Доза в мкг/миша	Кількість АУК у селезінці	Кількість тварин	Індекс стимуляції імунної відповіді	Вірогідність Р<
Контроль	0,5мл крохмальної суспензії	440 ± 40	12	1,0	
Діуцифон	500	700 ± 60	12	1,0	0,01
Гідрат діуцифону	500	1150 ± 100	12	1,0	0,01
Сполука, що заявляється	500	2100 ± 180	12	4,8	0,01

Таким чином, сполука, що заявляється, збільшує кількість АУК (залежно від способу введення) в 3,8 та 4,8 разів, гідрат діуцифону майже в 2 рази менш ефективний, а чистий діуцифон справляє слабку стимулюючу дію

Вплив випробовуваних препаратів на фагоци-

тарну активність макрофагів досліджували за кліренсом туші з крові, взятої з ретроорбітального синуса у мишей, які одержували препарати внутрішньочеревно (в/ч) і перорально (п/о). Результати оцінювали за фагоцитарним індексом (див таблицю 12)

Таблиця 12

Вплив досліджуваних препаратів на фагоцитарну активність макрофагів

Назва препарату	Доза в мкг/миша і спосіб введення	Фагоцитарний індекс, абсолютне значення		Кількість тварин	Вірогідність Р <
Контроль	0,5мл фізрозчину в/ч	4,9 ± 0,3	100	10	
	0,5мл крохмальної суспензії п/о	4,7 ± 0,2	100	10	
Діуцифон	100 в/ч	4,92 ± 0,2	100	12	0,001
	500 п/о	5,0 ± 0,3	102	12	
Гідрат діуцифону	100 в/ч	5,49 ± 0,1	112	10	0,05
	500 п/о	5,52 ± 0,2	117	10	
Сполука, що заявляється	100 в/ч	7,45 ± 0,3	152	10	0,05
	500 п/о	7,8 ± 0,2	165	10	

Таким чином, фагоцитарна активність макрофагів під дією сполуки, що заявляється, збільшується більш ніж в 1,5 рази, а при прийомі гідрату діуцифону на 12 - 17% і майже не змінюється при введенні чистого діуцифону. Можливо, це пояснюється практично повною нерозчинністю чистого діуцифону у воді.

Також вивчали вплив діуцифону, гідрату діуцифону та сполуки, що заявляється, на клітинний імунитет у реакції бласттрансформації лімфоцитів під впливом Т-клітинних мітогенів. Метод ґрунтується на тому, що культивуючи *in vitro* лімфоцити

тварини в присутності мітогенів-фтогеммаглютиніну (ФГА) і конканаваліну А (Кон А), можна спричинити їх трансформацію у бласти та поділ. Чим більше при підрахунку утворюється бластів, тим більшу імуномодулюючу активність має препарат. Індекс стимуляції (ІС) розраховують за відношенням числа бластів в дослідній групі до числа бластів у контрольній групі. Таким чином, всі досліджувані препарати стимулюють проліферацію лімфоцитів (утворення бластів), але дуже високий індекс стимуляції у сполуки, що заявляється, (ІС = 23,5), потім у гідрату діуцифону (ІС = 20,2) і найнижчий - у діуцифону.

Для кращого розуміння даного винаходу нижче наведено приклад одержання сполуки, що заявляється

#### Приклад 1

У колбу, що містить 24,8г (0,1моль) 4,4<sup>1</sup> - діамінодіфенілсульфону в 300мл сухого диметилформаміду, при перемішуванні та при температурі 25 - 30°C присипають - 47,3г (0,2моль) 6-метилпурацил-5-сульфохлориду. Перемішують 1 годину при температурі 50 - 53°C, охолоджують і відфільтровують осад, що випав. Сирий продукт 2 години перемішують при кімнатній температурі в 200мл хлороформу, фільтрують, сушать на повітрі. Порошок жовтого кольору кип'ятять 1 годину в 250мл спирту, фільтрують гарячим, на фільтрі промивають 20мл спирту. Сушать на повітрі. Аморфний порошок зеленувато-жовтого кольору, температура плавлення 245 - 247°C. Легко розчинний у гарячій воді, розчинний у диметилформаміді

(ДМФА), диметилсульфоксиді (ДМСО), нерозчинний у звичайних органічних розчинниках. УФ спектр (у воді)  $\lambda_{\text{max}}$  265nm,  $\lg \epsilon$  3,72. ПМР спектр в ДМСО (м.ч.), зовнішній еталон тетраметилсилан (3H, урацил) 2,46 (с), (6HNCH<sub>3</sub>) 3,35 (с), (6HNCH<sub>3</sub>) 3,42 (с), (8H, феніл) 7,4 (д) 7,95 (д) (2H=CH) 8,3 (с). ІЧ спектр (таблетка KBr), 3420 (OH), 1710 (C=O), 1340,1200, 1160,1040 (SO<sub>2</sub>) 2790 (NR<sub>2</sub>), 3065 (NHR<sub>3</sub>), 3215(NH)

Сполука, що заявляється, N,N'-(сульфонілди-1,4-фенілен) біс (N'',N''-диметилформамідин) - 1,2,3,4-тетрагідро-6-метил-2,4-діоксо-5-пirimідинсульфонат, стимулює клітинний метаболізм і має імунотропну та антимікобактеріальну активність та може застосовуватись у медицині в якості засобу для лікування лепри, туберкульозу та інших імунodefіцитних захворювань, часто ускладнених мікобактеріальними інфекціями

---

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

---

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71