



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87326** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
C07D 219/00
A61K 31/435 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

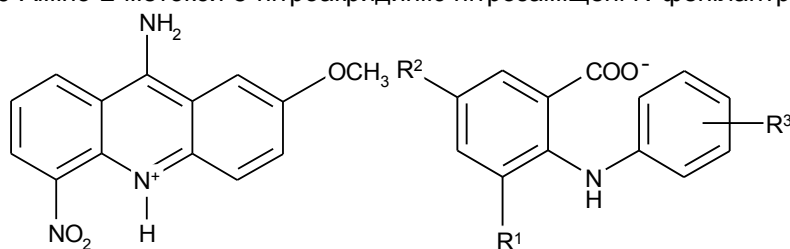
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 05125	(72) Винахідник(и): Ісаєв Сергій Григорович (UA), Бризицький Олексій Аркадійович (UA), Єрьоміна Ганна Олександрівна (UA), Шевельова Наталія Юхимівна (UA), Кленіна Олена Валеріївна (UA), Жегунова Галина Петрівна (UA), Друговіна Валентина Василівна (UA), Лега Валерія Олегівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.04.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.02.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2014, Бюл.№ 3	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(54) 9-АМІНО-2-МЕТОКСИ-5-НІТРОАКРИДИНІУ НІТРОЗАМІЩЕНІ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛАТИ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ БАКТЕРІОСТАТИЧНУ, ФУНГІСТАТИЧНУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, АНАЛГЕТИЧНУ, ДІУРЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ПОТЕНЦІЮЮЧУ ДІЮ У ВІДНОШЕННІ ДО БЕНЗИЛПЕНІЦИЛІНУ НАТРІЄВОЇ СОЛІ

(57) Реферат:

9-Аміно-2-метокси-5-нітроакридиніу нітрозаміщені N-фенілантранілати загальної формули:



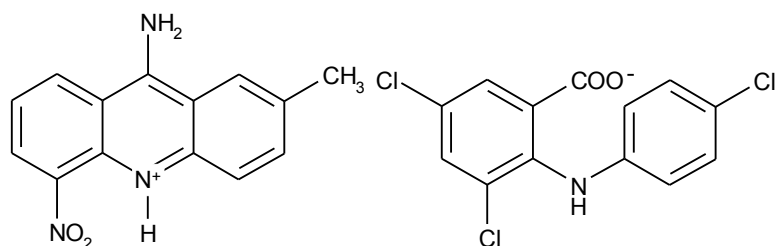
де: R¹=NO₂, R²=H, R³=2'-OCH₃ (I) або R¹=R²=NO₂, R³=4'-OCH₃ (II),
що проявляють бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, аналгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

UA 87326 U

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до індивідуальних хімічних сполук, а саме 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію нітрозаміщених N-фенілантранілатів, які проявляють бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу 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 (анальгетична дія), гіпотиазид (діуретична дія) [1]. 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.

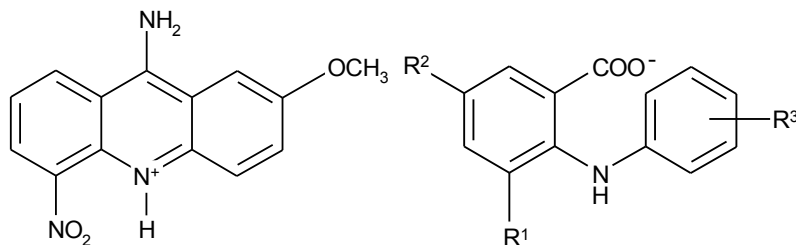
За найближчий аналог вибраний 9-аміно-4-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат, що виявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність [2]. Сполука за найближчим аналогом має загальну формулу:



та проявляє високу антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну та діуретичну дію, проте діапазон та ступінь фармакологічної активності може бути реально підвищений.

В основу корисної моделі поставлено задачу по створенню нових хімічних сполук, що проявляють високу бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні бензилпеніциліну натрієвої солі.

Поставлена задача вирішується шляхом синтезу нових хімічних сполук метоксизаміщених-3-нітро-N-фенілантранілатів 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію загальної формули:



де: $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = 2'\text{-OCH}_3$ (I) або $R^1 = R^2 = \text{NO}_2$, $R^3 = 4'\text{-OCH}_3$ (II), які проявляють бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Речовини I та II, які заявляються, утворені взаємодією 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридину з 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антраніловою кислотою або 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антраніловою кислотою в етанольному середовищі.

Заявлені 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілат (I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілат (II) - порошки жовтого кольору, розчинні у воді (1:100), етанолі, ДМСО, ДМФА. Будову сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а індивідуальність - методом тонкошарової хроматографії.

Корисна модель ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. 2,69 г (0,01 моль) 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридину розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 2,78 г (0,01 моль) 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу (розчин № 2). Потім гарячі розчини № 1 та № 2 змішують. Осад, що випав відфільтровують, промивають водою та сушать.

Одержано сполуку: 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілат.

Вихід 5,19 г (93 %), $T_{\text{топл.}}$ 210-213 °C, М.м. 557,521.

Бруто-формула $C_{28}H_{23}N_5O_8$.

5 Розраховано: С, % 61,32; N, % 12,56; H, % 4,16.

Знайдено: С, % 61,35; N, % 12,59; H, % 4,05.

ІЧ-спектр у KBr, см^{-1} : 3371, 3240, 2937, 2841, 2634, 1630, 1602, 1518, 1425, 1322.

Rf: 0,57 в системі діоксан-хлороформ-гексан (1:1:3).

10 Приклад 2. 2,69 г (0,01 моль) 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридину розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 3,45 г (0,01 моль) 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу (розчин № 2). Потім гарячі розчини № 1 та № 2 змішують. Осад, що випав відфільтровують, промивають водою та сушать.

Одержано сполуку: 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілат.

15 Вихід 5,42 г (90 %), $T_{\text{топл.}}$ 237-239 °C, М.м. 602,519.

Бруто-формула $C_{28}H_{22}N_6O_{10}$.

Розраховано: С, % 55,82; N, % 14,01; H, % 3,70.

Знайдено: С, % 55,78; N, % 14,01; H, % 3,70.

ІЧ-спектр у KBr, см^{-1} : 3360, 3241, 2924, 2830, 2628, 1622, 1600, 1526, 1422, 1324.

20 Rf: 0,37 в системі діоксан-хлороформ-гексан (1:1:3).

Приклад 3. Визначення бактеріостатичної активності заявлених сполук проводилося за методом двократних серійних розведень у рідких харчових середовищах [3].

25 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.

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 dublin.

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

35 Результати вивчення антимікробної активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілат (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілат (сполука II) у порівнянні з 9-аміно-2-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілатом (найближчий аналог) та рефренс-препаратом етакридину лактатом наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Антимікробна активність і токсичність заявлених сполук I та II у порівнянні з найближчим аналогом та етакридину лактатом

Сполука	МПК (мкг/мл)								LD ₅₀ (внутрішньошлунково), мг/кг	LD ₅₀ (внутрішньочеревинно), мг/кг
	Штами мікроорганізмів									
	1	2	3	4	5	6	7	8		
I	1,5	1,4	1,7	1,6	4,4	8,5	5,0	5,5	>6500	>3500
II	1,5	1,4	1,7	1,6	4,4	8,5	5,0	5,5	>6500	>3500
Найближчий аналог	1,7	1,7	2,0	1,8	4,7	10,0	5,3	6,2	>6200	>2500
Етакридину лактат	31,2	31,2	15,6	62,5	125	250	125	250	-	21*

40 За даними таблиці 1, сполуки I та II активніше етакридину лактату у відношенні до Staphylococcus aureus (1) у 20,8 рази, Bacillus subtilis (3) у 9,18 рази, у відношенні до Escherichia coli (2) у 22,29 рази, у відношенні до Pseudomonas aeruginosa (4) у 39,06 рази та у відношенні до мікроорганізмів роду Salmonella (5-8) у 25,00-45,45 разів. Сполуки I та II також перевищують в аналогічних умовах основні характеристики найближчого аналога у відношенні до Staphylococcus aureus (1) у 1,13 рази, у відношенні до Escherichia coli (2) у 1,21 рази, Bacillus

subtilis (3) у 1,18 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* (4) у 1,13 рази та у відношенні мікроорганізмів роду *Salmonella* (5-8) у 1,06-1,18 рази.

Крім цього, заявлені сполуки є дещо менш токсичними ніж найближчий аналог і значно менш токсичними ніж етакридину лактат.

5 Приклад № 4. Визначення фунгістатичної активності проводилось за відомою методикою [4].

Для вирощування грибів використовувалось середовище Сабуро (pH=6,5-6,7). Навантаження складало 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.

10 Результати вивчення протигрибкової активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілату (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука II) у порівнянні з фурациліном та грізеофульвіном наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Фунгістатична активність та токсичність сполук 1 та 2
у порівнянні з фурациліном та грізеофульвіном

Сполука	Штами грибів, ММК (мкг/мл)		DL ₅₀ (внутрішньочеревинно) мг/кг
	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	
I	8,5	13,0	>3500
II	8,5	13,0	>3500
Найближчий аналог	10,0	18,5	>2500
Фурацилін (нітрофурал)	64,0	-	82,5
Грізеофульвін	-	50,0	-

15

За результатами дослідження, наведеними у таблиці 2, сполуки I та II інгібують ріст *Candida albicans* у концентрації у 7,53 рази меншій ніж фурацилін. Крім цього сполуки I та II у 42,42 рази менш токсичні ніж фурацилін при внутрішньочеревному введенні. Також сполуки I та II проявляють фунгістатичну дію у відношенні *Trichophyton rubrum* у концентрації 13,0 мкг/мл відповідно і перевищують за активністю грізеофульвін у 3,85 рази. Найближчий аналог проявляє фунгістатичну дію у відношенні *Trichophyton rubrum* в концентрації 10,0 мкг/мл і є менш активною сполукою ніж сполуки I та II. В результаті експерименту встановлено також, що заявлені сполуки є менш токсичними, ніж наведені препарати порівняння та найближчий аналог.

20

25 Таким чином, заявлені сполуки перевищують найближчий аналог та препарати порівняння за широтою протигрибкової дії.

Приклад 5. Вивчення протизапальної активності проводилося на моделі карагенінового набряку [5].

30

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоефективну дозу (DE₅₀), при якій фармакологічний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (LD₅₀); терапевтичний індекс TI (показник відношення LD₅₀/ED₅₀); відносний терапевтичний індекс.

35

Результати вивчення протизапальної активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілату (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука II) у порівнянні з найближчим аналогом та диклофенаком натрію наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Протизапальна активність та токсичність заявлених сполук I та II
у порівнянні з найближчим аналогом та диклофенаком натрію

Сполука	ED ₅₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс LD ₅₀ /ED ₅₀	Відносний Т.І. по диклофенаку натрію
I	5,1	>6500	>1274,51	28,32
II	5,2	>6500	>1250,00	27,77
Найближчий аналог	5,5	>6200	>1127,27	25,05
Диклофенак натрію	8,0	360	45	1

Як видно за даними таблиці 3, сполуки I та II мають виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищують диклофенак натрію у 27,77-28,32 рази. Найближчий аналог протизапальну активність проявляє у дозі більшій ніж сполуки I та II та є більш токсичною речовиною.

Приклад 6. Вивчення анагетичної активності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілату (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл) антранілату (сполука II) проводилося за методом "оцтових корчів" у білих лабораторних щурів масою 150-180 г [6]. Корчі були викликані внутрішньочеревним 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 ізоелективну дозу (ED₅₀), при якій анагетичний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (LD₅₀); терапевтичний індекс (TI); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення анагетичної активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілату (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл) антранілат (сполука II) у порівнянні з найближчим аналогом та анальгіном наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Анагетична активність та токсичність сполук I та II
у порівнянні з найближчим аналогом та анальгіном

Сполука	ED ₅₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс (TI)	Відносний TI по анальгіну
I	11,0	>6500	>590,91	27,16
II	11,2	>6500	>580,36	26,67
Найближчий аналог	12,2	>6200	>508,2	23,31
Анальгін	55,0	1197	21,76	1

Як видно за даними таблиці 4, сполуки I та II за широтою терапевтичної дії перевищують анальгін в 25,58-25,80 рази, а найближчий аналог в 1,23-1,32 рази.

Приклад № 7. Вивчення діуретичної активності проводили за методою Е.Б. Берхіна [7] на білих щурах лінії Вістар масою 120-160 г. Кожна серія складалася з 7 тварин. Кожну з досліджених сполук (заявлена сполука, сполука за найближчим аналогом, 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.

Результати вивчення діуретичної дії сполук I та II, найближчого аналога та гіпотіазиду наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Діуретична активність сполук I та II у порівнянні з найближчим аналогом та гіпотіазидом

Сполука	Діуретична активність, в % к контролю
I	380
II	375
Найближчий аналог	350
Гіпотіазид	212

Як видно за даними таблиці 5, сполуки I та II за діуретичною дією перевищують гіпотіазид на 163-168 %, а найближчий аналог на 25-30 %.

5 Приклад № 8. Визначення потенціюючої дії 9-аміно-2-метокси-5-нітро-акридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілату (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука II) проводилося у суббактеріостатичній концентрації в якості мікродобавки до бензилпеніциліну натрієвої солі. За тест-модель обрані серійні двократні розведення у рідкому живильному середовищі. Як розчинник використовувалася вода для ін'єкцій.

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

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

15 Результати описаного мікробіологічного дослідження наведені у таблиці 6.

Таблиця 6

Потенціююча дія сполук I та II
у порівнянні з найближчим аналогом у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Сполука	Штам мікроорганізмів, МПК мкг/мл	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Бензилпеніциліну натрієва сіль (БПН)	0,9	15,6
БПН + сполука I	0,16	1,25
БПН + сполука II	0,17	1,28
БПН + найближчий аналог	0,20	1,40

20 За даними таблиці 6, сполуки I та II в суббактеріостатичній концентрації підвищують активність антибіотика у відношенні до *Staphylococcus aureus* в 5,29-5,63 рази, у відношенні до *Pseudomonas aeruginosa* в 12,19-12,48 рази. Потенціююча дія найближчого аналога даному випадку нижча.

25 Таким чином, заявлені сполуки 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(2'-метоксифеніл)антранілат (сполука I) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3,5-динітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілат (сполука II) проявляють широкий спектр фармакологічної дії: антимікробну, протигрибкову, протизапальну, аналгетичну, діуретичну та потенціюючу до бензилпеніциліну натрієвої солі. За окремими видами активності вони перевищують дію препаратів порівняння: етакридину лактату, фурациліну, грізеофульвіну, диклофенаку натрію, анальгіну, гіпотіазиду.

30 Заявлені сполуки можуть 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.

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: ООО "Издательство Новая Волна", 2005. - 1200 с.

35 2. Патент на корисну модель № 70689 (Україна), МПК: C07D 219/00, A61K 31/435. Заявлено 16.11.2011. Опубліковано 25.06.2012. Бюл. № 12.

3. Навашин С.И., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. - М.: Медицина, 1982. - С. 40-42.

40 4. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Бригера - 3-е изд. перераб. и доп. - М.: Медицина, 1982. - С. 392-417.

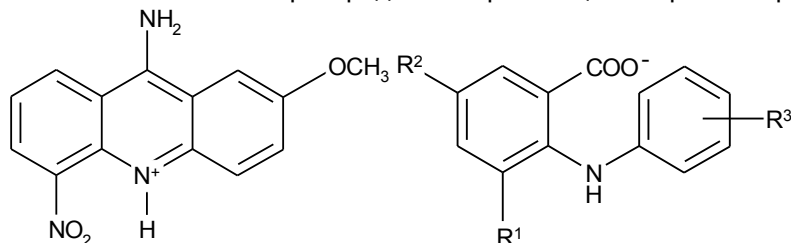
5. Яковлева Л.В., Зупанец И.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств. // Деп. в УкрНИИНТИ 07.07.87. - № 1908. - Ук. 87.

6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За редакцією член. - кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 307-320.

5 7. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Хим. - фармац. журн. - 1977. - Т. 11, № 5. - С. 3-11.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 9-Аміно-2-метокси-5-нітроакридинію нітрозаміщені N-фенілантранілати загальної формули:



де: $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = 2'\text{-OCH}_3$ (I) або $R^1 = R^2 = \text{NO}_2$, $R^3 = 4'\text{-OCH}_3$ (II),

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

15

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

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