



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87329** (13) **U**  
(51) МПК (2014.01)  
**C07D 219/00**  
**A61K 31/435** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

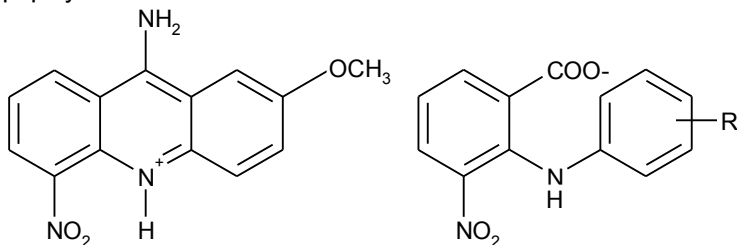
**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: <b>u 2013 05350</b>	(72) Винахідник(и): <b>Ісаєв Сергій Григорович (UA), Бризицький Олексій Аркадійович (UA), Єрьоміна Ганна Олександрівна (UA), Шевельова Наталія Юхимівна (UA), Жегунова Галина Петрівна (UA), Костіна Тетяна Анатоліївна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>25.04.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.02.2014</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.02.2014, Бюл.№ 3</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)</b>

**(54) МЕТОКСИЗАМІЩЕНІ 3-НІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛАТИ 9-АМІНО-2-МЕТОКСИ-5-НІТРОАКРИДИНІЮ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ АНТИМІКРОБНУ, ПРОТИГРИБКОВУ, ПРОТИЗАПАЛЬНУ, АНАЛЬГЕТИЧНУ, ДІУРЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТА ПОТЕНЦІЮЮЧУ ДІЮ ВІДНОСНО ДО БЕНЗИЛПЕНІЦИЛІНУ НАТРІЄВОЇ СОЛІ**

**(57) Реферат:**

Метоксизаміщені 3-нітро-N-фенілантранілати 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію загальної формули:



що проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно до бензилпеніциліну натрієвої солі.

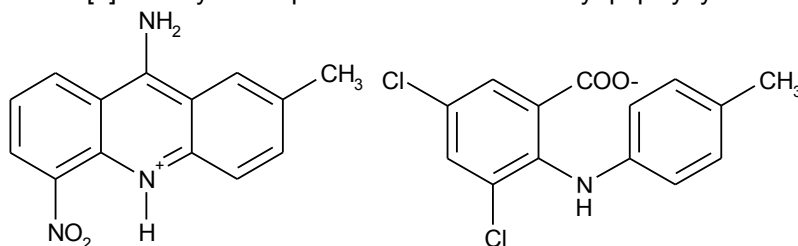
**UA 87329 U**



Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до індивідуальних хімічних сполук, а саме метоксизаміщених-3-нітро-N-фенілантранілатів 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію, які проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно 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), гіпотіазид (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.

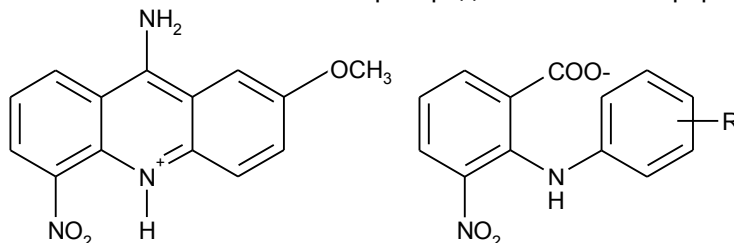
За прототип вибраний 9-аміно-2-метил-5-нітроакридинію 3,5-дихлор-N-(4'-хлорфеніл)антранілат, що виявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність [2]. Сполука за прототипом має загальну формулу:



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 антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно 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=3'-OCH<sub>3</sub> (1) або R=4'-OCH<sub>3</sub>, (2)

які проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Речовини 1 та 2, які заявляються, утворені взаємодією 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію з 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антраніловою кислотою або 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антраніловою кислотою в етанольному середовищі.

Заявлені 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (2) - 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-нітроакридинію розчиняють при нагріванні у 15 мл етанолу (розчин № 1); 2,78 г (0,01 моль) 3-нітро-N-(3'-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)антранілату.

Вихід 5,01 г (90 %), T<sub>топл.</sub> 172-174° С, М.м. 557,521.

Брутто-формула C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>.

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

Знайдено: С, % 61,25; N, % 12,51; H, % 4,25.

ІЧ-спектр у KBr,  $\text{cm}^{-1}$ : 3360, 3232, 2925, 2839, 2630, 1628, 1600, 1515, 1518, 1420.

Rf: 0,59 в системі діоксан-хлороформ-гексан (1:1:3).

Приклад 2. 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-(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-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату.

Вихід 5,12 г (92 %),  $T_{\text{топл.}}$  247-248° С, М.м. 557,521.

Брутто-формула  $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_8$ .

Розраховано: С, % 61,37; N, % 12,55; H, % 4,28.

Знайдено: С, % 55,42; N, % 7,25; H, % 3,31.

ІЧ-спектр у KBr,  $\text{cm}^{-1}$ : 3352, 3228, 2920, 2834, 2625, 1625, 1595, 1524, 1418, 1320.

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

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

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.

Як критерій фармакологічної активності вибрано рівень мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) та рівень гострої токсичності ( $\text{LD}_{50}$ ).

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

Таблица 1

Антимікробна активність і токсичність заявлених  
сполук 1 та 2 у порівнянні з прототипом та етакридину лактатом

Сполука	МПК (мкг/мл)								LD <sub>50</sub> (внутрішньо- шлунково), мг/кг	LD <sub>50</sub> (внутрішньо- черевинно), мг/кг
	Штами мікроорганізмів									
	1	2	3	4	5	6	7	8		
1	1,6	1,5	1,8	1,7	4,5	9,0	5,1	6,0	>6400	>3000
2	1,6	1,5	1,8	1,7	4,5	9,0	5,2	6,0	>6400	>3000
Прототип	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*

За даними таблиці 1, сполуки 1 та 2 активніше етакридину лактату відносно до Staphylococcus aureus (1) у 19,5 разу, Bacillus subtilis (3) у 8,67 разу, відносно до Escherichia coli (2) у 20,8 разу, відносно до Pseudo-monas aeruginosa (4) у 36,76 разу та відносно до мікроорганізмів роду Salmonella (5-8) у 24,04-41,67 разів. Сполуки 1 та 2 також перевищують в аналогічних умовах основні характеристики прототипу відносно до Staphylococcus aureus (1) у 1,06 разу, відносно до Escherichia coli (2) у 1,13 разу, Bacillus subtilis (3) у 1,11 разу, відносно до Pseudomonas aeruginosa (4) у 1,06-1,18 разу та відносно мікроорганізмів роду Salmonella (5-8) у 1,04-1,11 рази.

Крім того, заявлені сполуки є дещо менш токсичними, ніж прототип і значно менш токсичними, ніж етакридину лактат.

Приклад № 4. Визначення протигрибкової активності проводили in vitro методом серійних розведень у щільному живильному середовищі - агарі Сабуро (рН = 6,5-6,7) з глюкозою. Як

розчинник використали диметилсульфоксид у концентрації, яка не впливає на ріст та розвиток тест-культур грибів [4]. Навантаження склало 500-600 репродуктивних тілець штамів *Candida albicans* або *Trichophyton rubrum* в 1 мл середовища. Протигрибкову дію оцінювали за мінімальною мікостатичною концентрацією (ММК), вираженою в мкг/мл.

- 5 Результати вивчення протигрибкової активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) у порівнянні з фурациліном, грізеофульвіном та прототипом наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Протигрибкова активність та токсичність  
сполук 1 та 2 у порівнянні з фурациліном, грізеофульвіном та прототипом

Сполука	Штами грибків,	ММК (мкг/мл)	DL <sub>50</sub> (внутрішньо-черевинно) мг/кг
	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	
1	9,0	15,6	>3000
2	9,0	15,6	>3000
Прототип	10,0	18,5	>2500
Фурацилін (нітрофурал)	64,0	-	82,5
Грізеофульвін	-	50,0	-

10

За результатами дослідження, наведеними у таблиці 2, сполуки 1 та 2 інгібують ріст *Candida albicans* у концентрації у 7,11 разу меншій ніж фурацилін. Крім того, сполуки 1 та 2 у 36,4 разу менш токсичні ніж фурацилін при внутрішньочеревному введенні. Також сполуки 1 та 2 проявляють протигрибкову дію відносно *Trichophyton rubrum* у концентрації 15,6 мкг/мл відповідно і перевищують за активністю грізеофульвін у 3,21 разу. Прототип проявляє протигрибкову дію відносно *Trichophyton rubrum* в концентрації 10,0 мкг/мл і є менш активною сполукою, ніж сполуки 1 та 2. В результаті експерименту встановлено також, що заявлені сполуки є менш токсичними, ніж наведені препарати порівняння та прототип.

15

Таким чином, заявлені сполуки перевищують прототип та препарати порівняння за широтою протигрибкової дії.

20

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

Як критерії фармакологічної активності вибрано ізоелективну дозу (DE<sub>50</sub>), при якій фармакологічний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності (LD<sub>50</sub>); терапевтичний індекс ТІ (показник відношення LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>); відносний терапевтичний індекс.

25

Результати вивчення протизапальної активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) у порівнянні з прототипом та диклофенаком натрію наведені в таблиці 3.

30

Таблиця 3

Протизапальна активність та токсичність заявлених  
сполук 1 та 2 у порівнянні з прототипом та диклофенаком натрію

Сполука	ED <sub>50</sub> , мг/кг	LD <sub>50</sub> , мг/кг	Терапевтичний індекс LD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>	Відносний Т.І. по диклофенаку натрію
1	5,2	>6400	1230,77	27,35
2	5,4	>6400	1185,19	26,34
Прототип	5,5	>6200	1127,27	25,05
Диклофенак натрію	8,0	360	45	1

Як видно за даними таблиці 3, сполуки 1 та 2 мають виражену протизапальну активність, за широтою терапевтичного ефекту перевищують диклофенак натрію у 26,34-27,35 разу. Прототип

протизапальну активність проявляє у дозі більшій, ніж сполуки 1 та 2 та є більш токсичною речовиною.

Приклад 6. Вивчення анальгетичної активності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) 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 ( $ED_{50}$ ), при якій анальгетичний ефект набуває 50 % випадків у експериментальній групі тварин; рівень гострої токсичності ( $LD_{50}$ ); терапевтичний індекс (ТІ); відносний терапевтичний індекс.

Результати вивчення анальгетичної активності та токсичності 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) у порівнянні з прототипом та анальгіном наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Анальгетична активність та токсичність сполук 1 та 2 у порівнянні з прототипом та анальгіном

Сполука	$ED_{50}$ , мг/кг	$LD_{50}$ , мг/кг	Терапевтичний індекс (ТІ)	Відносний ТІ по анальгіну
1	11,4	>6400	> 561,4	25,80
2	11,5	>6400	> 556,52	25,58
Прототип	12,2	>6200	> 508,2	23,31
Анальгін	55,0	1197	21,76	1

Як видно за даними таблиці 4, сполуки 1 та 2 за широтою терапевтичної дії перевищують анальгін в 25,58-25,80 рази, а прототип 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 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.

Результати вивчення діуретичної дії сполук 1 та 2, прототипу та гіпотіазиду наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Діуретична активність сполук 1 та 2 у порівнянні з прототипом та гіпотіазидом.

Сполука	Діуретична активність, в % к контролю
1	370
2	365
Прототип	350
Гіпотіазид	212

Як видно за даними таблиці 5, сполуки 1 та 2 за діуретичною дією перевищують гіпотіазид на 153-158 %, а прототип на 15-20 %.

Приклад №8. Визначення потенціюючої дії 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) проводилося у суббактеріостатичній концентрації як мікродобавка до бензилпеніциліну натрієвої солі. За тест-модель вибрані 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*.

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

Результати описаного мікробіологічного дослідження наведені у таблиці 6.

Таблиця 6

Потенціююча дія сполук 1 та 2 у порівнянні з прототипом у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі.

Сполука	Штам мікроорганізмів, МПК мкг/мл	
	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa
Бензилпеніциліну натрієва сіль (БПН)	0,9	15,6
БПН + сполука 1	0,18	1,30
БПН + сполука 2	0,20	1,35
БПН + прототип	0,20	1,40

За даними таблиці 6, сполуки 1 та 2 в суббактеріостатичній концентрації підвищують активність антибіотика відносно до Staphylococcus aureus в 4,5-5,0 разу, відносно до Pseudomonas aeruginosa в 11,56-12,00 разу. Потенціююча дія прототипу у даному випадку нижча.

Таким чином, заявлені сполуки 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(3'-метоксифеніл)антранілату (сполука 1) та 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію 3-нітро-N-(4'-метоксифеніл)антранілату (сполука 2) 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.

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.

2. Патент на корисну модель № 70689 (Україна), МПК: С 07 D 219/00, А 61 К 31/435. Заявлено 16.11.2011. Опубліковано 25.06.2012. Бюл. № 12.

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

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.

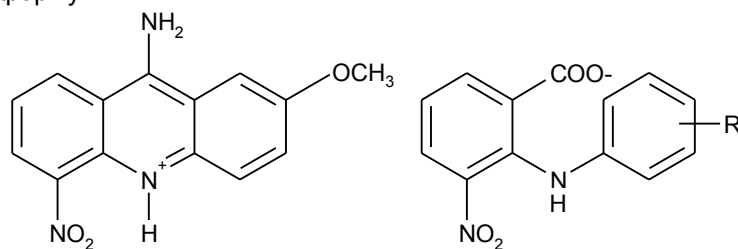
5. Яковлева Л.В., Зупанец И.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств. // Деп. в УкрНИИНТИ 07.07.87.- №1908. - Ук. 87.

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

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

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Метоксизаміщені 3-нітро-N-фенілантранілати 9-аміно-2-метокси-5-нітроакридинію загальної формули:



де: R=3'-OCH<sub>3</sub> (1) або R=4'-OCH<sub>3</sub> (2),

що проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію відносно до бензилпеніциліну натрієвої солі.

---

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

---

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