



УКРАЇНА

(19) UA (11) 23806 (13) A

(51)6 C 07 C 109/04; A 61 K 31/15

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23 XII 1993 рПублікується
в редакції заявника

(54) НАТРІЙНА СІЛЬ ФЛУОРЕНІЛІДЕНГІДРАЗИДУ, ЯКА ВІЯВЛЯЄ ПРОТИМІКРОБНУ ДІЮ

(21) 97020656

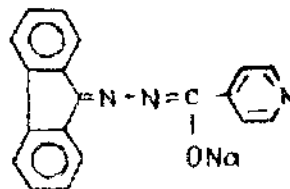
(22) 14.02.97

(24) 16.06.98

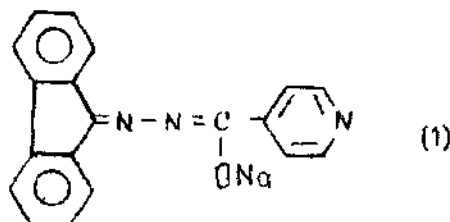
(46) 31.08.98. Бюл. № 4

(47) 16.06.98

(72) Петрух Любов Іванівна, Ткач Олена Андріївна, Виноград Наталія Олексіївна, Петрух Андрій Васильович, Безкопильний Іван Никифорович, Андрейко Олена Юріївна, Коваленко Марія Миколаївна, Михалік Оляна Іванівна

(73) Львівський державний медичний університет, Львівський науково-дослідний інститут епідеміології та гігієни, Петрух Любов Іванівна, Ткач Олена Андріївна
(57) Натрійна сіль флуореніліденгідрозиду, яка виявляє протимікробну дію, формули

Вінахід належить до розділу органічної хімії, до нової хімічної сполуки, а саме до натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду формули 1,



яка виявляє протимікробну, зокрема, протитуберкульозну і антихламідійну дію щодо мікобактерій туберкульозу штаму H37Rv і хламідій штаму L2 (венерична лімфогранульома)

Туберкульоз останнім часом набрав масштабів небезпечного лиха

20 тисяч громадян України щорічно хворіють на туберкульоз і приблизно 5 тисяч осіб умирає [Фещенко Ю. Двобій з туберкульозом // Медична газета України. - 1996 лютий, - № 5(97) - С. 7; Фещенко Ю.І. Актуальні питання фтизіатрії та пульмонології в Україні // Український пульмонологічний журнал. - 1993. - № 1 - С. 8-10].

Відомі протитуберкульозні препарати, які ефективні у фтизіатричній практиці, належать до похідних гідрозиду ізонікотинової кислоти (ГІНКА або ізоніазид, фтивазид, салюзид, салюзид розчинний та метазид) і вже півстоліття широко використовуються для лікування різних форм туберкульозу легень та інших органів. Найефективнішим є ізоніазид [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1986 - Ч. 2. - С. 221-226; С. 246-247; С. 273-281; Маслова Л.І., Хоменко А.Г., Парновский В.Л., Калмикова Г.Н. Лекарственные препараты для ле-

(19) UA (11) 23806 (13) A

чення туберкулеза. – Информационное письмо для врачей-фтизиатров и провизоров. – Львов, 1987. – 45 с]

Недоліком ізоніазиду та його похідних, за даними вітчизняних і зарубіжних авторів, є небажані побічні реакції (токсичні, алергічні і змішаного типу) у хворих [Маслова Л.І., Хоменко А.Г., Парновский В.Л., Калмикова Г.Н. Лекарственные препараты для лечения туберкулеза. – Информационное письмо для врачей-фтизиатров и провизоров. – Львов, 1987. – 45 с.; Фирсова Н.А. Побочное действие туберкулостатических препаратов. – Минск, 1971.; Шмелев Н.А., Степанян Е.С. Побочное действие противотуберкулезных препаратов. – М., 1977.; Скакун Н.П., Шманыко В.В. К вопросу о гепатотоксичности изониазида. – Проблемы туберкулеза, 1985. – № 4 – С. 51–54.; Munch E., Eichelbaum M., Weng J. et al. – Klin. Nschr. – 1982. – Bd. 60. – S. 513–519]. У хіміотерапії туберкульозу має місце лікарська стійкість бактерій, зокрема, збільшення ізоніазидостійких форм, особливо у вперше виявлених хворих [Приймак А.А., Должанский В.М., Сагалович В.Я., Ельмурзаева А.А. Тенденции в развитии лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – 1985. – № 8. – С. 49–52].

Урогенітальні хламідіози – це група 30 хвороб (синдромів), які викликані патогенним облигатним мікроорганізмом *Chlamydia trachomatis*. Вони дуже поширені і передаються статевим шляхом. За даними ВООЗ (1992) хламідійними інфекціями у світі уражено 50 млн. людей. При цьому найвищий показник розповсюдження інфекції реєструється у молодих людей віком 15–29 років. [Пирогова В.І. Проблема генітальних сексуально-трансмисивних інфекцій в акушерстві та гінекології // Автореферат дис. ... докт. мед. наук. – Київ, 1995. – 42 с.].

Відомі такі препарати для лікування хламідіозу: тетрациклін, окситетрациклін, еритроміцин або сульфаніламідні препарати.

Недоліком цих препаратів є їх низька ефективність і велика частота побічних реакцій на організм [Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 1986. – Часть 1, 2].

У зв'язку з викладеним вище, дуже актуальною є проблема пошуку препаратів специфічної протитуберкульозної та антихламідійної дії.

Технічне завдання полягає у пошуку протимікробних засобів, зокрема, протитуберкульозної та антихламідійної дії серед похідних флуореніліденгідразидів.

Поставлену задачу вирішують таким чином, що одержують натрійну сіль N-(9-

флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразиду, яка виявляє протитуберкульозну та антихламідійну дію і характеризується низькою токсичністю.

5 Сполука формули 1 у літературі не описана.

Спосіб синтезу речовини формули 1 10 полягає у взаємодії еквімолекулярних кількостей N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразиду й металічного натрію у диметилформаміді.

П р и к л а д. 2.99 г (0.01 моль) N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразиду розчиняють у 50.0 мл диметилформаміду при нагріванні, додають 0.23 г тонко порізаного натрію металічного і кип'ять протягом 2 год. Потім до гарячого розчину додають при перемішуванні 100.0 мл толуолу і продовжують нагрівати ще 30 хв. Охолоджують до кімнатної температури. Викристалізований осад відфільтровують, промивають толуолом та ефіром, висушують.

Одержують 3,1 г (96,6%) натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразиду у вигляді оранжевих кристалів, т.пл. >300°C.

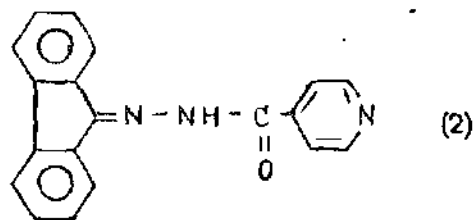
25 Знайдено, %: С 71,27 Н 3,79 N 13,26 Na 7,42

Вирахувано, %: С 71,02 Н 3,76 N 13,08 Na 7,16

30 $C_{19}H_{12}N_3ONa$ М. м 321,3173

УФ спектри в етанолі, λ макс., нм: 260 (lg ε 4,69), 340–345 (lg ε 4,21)

Найближчим структурним аналогом заявленої речовини є N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразид формули 2, метод одержання якого описаний у патенті Великобританії № 722679 від 26.01.55 р., але який не вивчений з точки зору утилітарних властивостей.



Протитуберкульозна дія заявленої натрійної солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідразиду вивчена щодо *Myc. tuberculosis hominis H₃₇R_v* при проведенні експерименту з зависсю культури *Myc. tuberculosis hominis H₃₇R_v* методом дворазових серійних розведень на густому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена.

Густина мікробної суспензії дорівнювала 50 млн. кл./мл.

Встановлено мінімальну інгібуючу концентрацію досліджуваної нової речовини щодо штаму *Myc. tuberculosis hominis H₃₇R_v*, який чутливий до протитуберкульозних препаратів. Вона становить 0 078 мкг/мл.

За еталон порівняння взято найактивніший туберкулостатик Ізоніазид.

Порівняльні дані туберкулостатичної активності досліджуваних речовин подані в табл. 1

Результати досліджень, подані в табл. 1, свідчать про те, що нова речовина – натрійна сіль N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду – у двічі перевищує активність відомого протитуберкульозного засобу Ізоніазиду в досліді на густому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена.

Протихламідійна активність заявленої речовини вивчена при експериментальній хламідійній інфекції (штам L₂, венерична лімфогранульома) в досліді на курячих ембріонах, які розвиваються.

Зараження проводили у жовточний мішок 7-денних курячих ембріонів в дозі 10 ЛД₅₀/емб., викликавши при цьому загибель 80% контрольних ембріонів. Досліджувану речовину вводили одночасно із збудником в об'ємі 0,5 мл/емб. На кожну експериментальну умову використовували не менше 20 ембріонів.

Термін спостереження за ембріонами становив 12 днів.

Для порівняння ефективності дії використовували відомий сульфаніламідний препарат етазол-натрій, яким лікують хламідіози.

Активність досліджуваної речовини оцінювали за ступенем захисту, який визначають за різницею у виживанні між дослідною і контрольною групами, а також середньою тривалістю життя ембріонів.

Статистичну достовірність одержаних результатів визначено за методом Фішера-Стьюдента.

Отримані результати подані в табл. 2

Дані табл. 2 свідчать про те, що заявлена речовина має протихламідійну дію, ступінь якої залежить від дози препарату. Так, одноразове її введення разом із збудником у дозах 5,0 та 2,5 мг/емб. забезпечує повне попередження загибелі курячих ембріонів, які розвиваються (процент захисту дорівнює 90). Введення нового препарату в дозі 1,25 мг/емб. підвищувало резистентність до хламідійної інфекції у 20% ембріонів.

При тих самих умовах досліді етазол-натрій в дозі 2,5 мг/емб. викликав 40%-ий захист курячих ембріонів, які розвиваються, більш ніж у два рази нижче від відповідного показника заявленої речовини. Введення етазол-натрію в дозі 1,25 мг/емб. і нижче не проявляло протихламідійної дії.

Таким чином, одержані дані свідчать про виражену антихламідійну активність нової речовини, яка при зараженні курячих ембріонів, які розвиваються (штам L₂, венерична лімфогранульома) в дозі 10 ЛД₅₀/емб. забезпечувала 90% захисту при дозах 5,0 та 2,5 мг/емб. і 20% захисту при дозі 1,25 мг/емб., що вище від аналогічного показника для етазол-натрію, який застосовується при хламідіозах.

Визначення гострої токсичності нової сполуки проводили на білих безпородних мишах при внутрішньочеревному введенні 5 концентрацій препарату, приготованих шляхом дворазового розведення. Речовину розчиняли в дистильованій воді. На кожну концентрацію використовували по 10 мишей. Загибель тварин реєстрували протягом 14 днів. Розрахунок ЛД₅₀ проводили за методом І.А. Ашмарина, А.А. Воробйова (1962). Вивчення гострої токсичності показало, що ЛД₅₀ при внутрішньочеревному введенні становить для нового препарату 1500 мг/кг маси тварини.

Верхні параметри токсичності натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду вивчено на трьох видах лабораторних тварин, а саме: білих мишах, білих щурах, морських свинках.

Речовини вводили внутрішньощлунково натще в рослинній олії. Середньосмертельна доза для білих мишей розрахована за методом пробіт-аналізу В.Б. Прозоровського становить 9660 мг/кг.

Гостру токсичність натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду на білих щурах і морських свинках визначали за методом Дейхмана і Ле Бланка; ЛД₅₀ для білих щурів дорівнює 12000 мг/кг, для морських свинок – 10600 мг/кг.

Результати досліджень подані в табл. 3.

Результати проведених досліджень дозволяють кваліфікувати нову речовину як малотоксичну, що належить до IV класу небезпеки за ГОСТ 12.1.007-76.

Перевагою натрієвої солі N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду над відомими протимікробними засобами, зокрема, протитуберкульозної (Ізоніазид) і антихламідійної (етазол-натрію) дії є те, що запропонована речовина виявляє високу туберкулостатичну і антихламідійну дію при низькій токсичності.

Після поглибленого токсикологічного та фармакологічного дослідження натрієву сіль N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду можна рекомендувати для клінічних досліджень у різних лікарських формах (порошок, таблетки, ін'єкційні розчини).

Нова речовина як засіб специфічної протитуберкульозної та антихламідійної дії

замінити препарати ряду ГІНК, антибіотики-макроліди, антибіотики тетрациклінового та цефалоспоринового ряду й сульфаніламідні

препарати. Вона належить до оригінальних субстанцій, які спроможна випускати хіміко-фармацевтична промисловість України.

Таблиця 1

Туберкулостатична дія натрієвої солі N-(9-флуоренілден)-N'-ізонікотиногідрозиду порівняно з Ізоніазидом у дослідах *in vitro*

Препарати	Активність щодо штаму <i>Myc. tuberculosis hominis</i> H ₃₇ R _v									
	в мкг/мл (розведення речовин)									
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,156	0,078
Ізоніазид	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Натрієва сіль N-(9-флуоренілден)-N'-ізонікотиногідрозиду	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

П р и м і т к а: - повна відсутність росту мікобактерій туберкульозу;
+ наявність 1-20 колоній.

Таблиця 2

Порівняльна антихламідна активність натрієвої солі N-(9-флуоренілден)-N'-ізонікотиногідрозиду та етазолу-натрію на моделі експериментальної інфекції у курячих ембріонах, які розвиваються (штам L₂, венерична лімфогранульома)

Препарати	Доза, мг/ембріон	Середні терміни загибелі, дні	Повне попередження загибелі, %	% захисту
Контроль хламідій	-	6,8	10	-
Етазол-натрій	5,00	-	100	90
	2,50	7,9	50	40
	1,25	7,4	10	0
	0,62	6,8	5	0
Заявлена речовина	5,00	-	100	90
	2,50	-	100	90
	1,25	7,0	30	20
	0,62	7,0	10	0

Таблиця 3

Гостра токсичність натрієвої солі N-(9-флуоренілден)-N'-ізонікотиногідрозиду при одноразовому внутрішньошлунковому введенні

Вид тварин	ЛД ₅₀ , мг/кг
Білі миші	9660
Білі щурі	12000
Морські свинки	10600

23806

Упорядник	Техред М.Келемеш	Коректор О Кравцова
Замовлення 4559	Тираж	Підписне
	Державне патентне відомство України, 254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8	

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

