УКРАЇНА

(19) UA (11) 99119 (13) U

(51) МПК (2015.01)
C07D 249/00
A61K 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 09926**

(22) Дата подання заявки: **10.09.2014**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.05.2015**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.05.2015, Бюл.№ 10**

(72) Винахідник(и):
Панасенко Олександр Іванович (UA),
Книш Євгеній Григорович (UA),
Гоцуля Андрій Сергійович (UA),
Ткаченко Олексій Андрійович (UA),
Зажарський Володимир Володимирович (UA),
Давиденко Павло Олександрович (UA),
Білан Марина Володимирівна (UA)

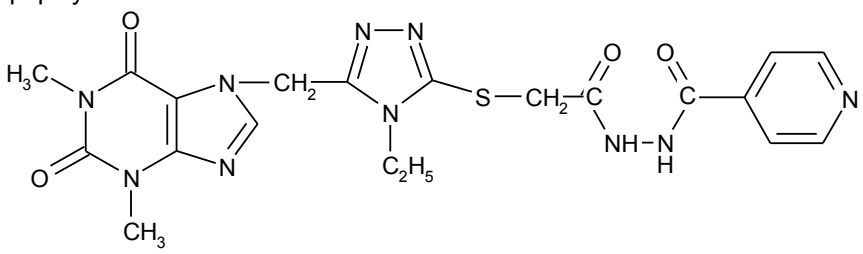
(73) Власник(и):
Панасенко Олександр Іванович,
вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 146, м. Запоріжжя, 69121 (UA),
Книш Євгеній Григорович,
вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 152, м. Запоріжжя, 69121 (UA),
Гоцуля Андрій Сергійович,
вул. Товарищеська, 64, кв. 77, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Ткаченко Олексій Андрійович,
вул. 8 Березня, 13, кв. 90, смт Ювілейне, 49000 (UA),
Зажарський Володимир Володимирович,
пр. Героїв, 12, кв. 52, м. Дніпропетровськ, 49000 (UA),
Давиденко Павло Олександрович,
вул. Моніторна, 10, кв. 571, м. Дніпропетровськ, 49000 (UA),
Білан Марина Володимирівна,
пр. Героїв, 1, кв. 34, м. Дніпропетровськ, 49000 (UA)

UA 99119 U

(54) N'-(2-(5-((ТЕОФІЛІН-7-ІЛ)МЕТИЛ)-4-ЕТИЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТИЛ)ІЗОНІКОТИНОГІДРАЗИД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ

(57) Реферат:

N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)-ізонікотиногідразид формули:



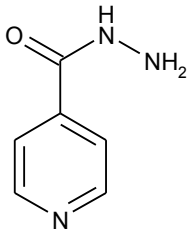
,

який проявляє протитуберкульозну активність.

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії та медицини, і може бути використана у створенні нових біологічно активних сполук, а також оригінальних лікарських засобів у ряду похідних 1,2,4-триазолу і застосована для фармакокорекції туберкульозу.

На сьогодні третина населення земної кулі інфікована мікобактеріями туберкульозу. Щорічно в світі на туберкульоз захворюють 7-10 млн. чоловік. Загальна кількість хворих у світі досягає 50-60 млн. Один хворий на туберкульоз може інфікувати в середньому 10-15 здорових осіб, а якщо він буде знаходитись в навчальному закладі чи в громадському транспорті, то ще більше. Це сприяє значному поширенню туберкульозу. Протитуберкульозна терапія, яка зараз застосовується в медицині, потребує удосконалення. Перед усім, за рахунок нових лікарських засобів.

Прототипом речовини, що заявляється, є препарат "Ізоніазид", формули:



,

що використовується як протитуберкульозний засіб (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 2002. - Т. 2. - 608 с. (С. 306-307)).

Суттєві ознаки прототипу і корисної моделі, що збігаються, є такі:

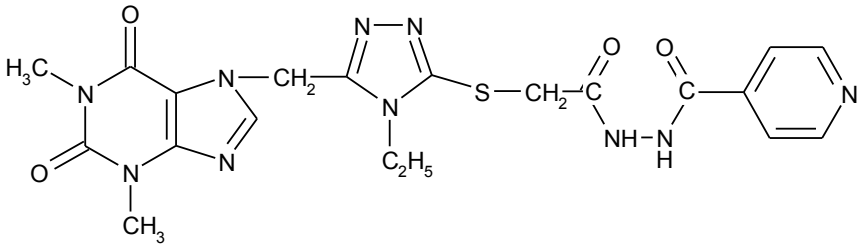
- в структурі прототипу і корисної моделі присутні групи C-N, C-N.

Корисна модель у порівнянні з прототипом дещо активніше проявляє протитуберкульозну активність відносно Mycobacterium bovis.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення нових біологічно активних сполук, які можуть застосовуватись як оригінальні лікарські засоби у ряду 1,2,4-триазолу і проявляють протитуберкульозну активність.

Поставлена задача вирішується тим, що створено N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)ізонікотиногідразид, який проявляє протитуберкульозну дію.

N'-(2-(5-((Теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)-ізонікотиногідразид містить при N_4-атомі ядра 1,2,4-триазолу етиловий замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з теофіліном, двовалентний атом Сульфуру, синтон гідразиду ізонікотинової кислоти, і має формулу:



.

Сполуку, що заявляється, отримують шляхом взаємодії метилового естеру (2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти з гідразидом кислоти ізонікотинової у середовищі пропан-1-олу.

Приклад.

У круглодонну колбу, обладнану змішувачем, холодильником та термометром, завантажують 395 г (1 моль) метилового естеру (2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти, 1500 мл етанолу та 137 г (1 моль) гідразиду ізонікотинової кислоти. Суміш при постійному перемішуванні кип'ятять 8 год. Розчинник відганяють. Продукт реакції промивають водою та гексаном. Сушать. Вихід N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)ізонікотиногідразиду 78 % в розрахунку на метиловий естер (2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти.

Біла кристалічна речовина з температурою плавлення 103-105 °С (кристалізовано з етанолу), розчинна у ДМФА та 1,4-діоксані, малорозчинна в діетиловому ефірі та хлороформі, нерозчинна у воді.

Елементний аналіз

Знайдено, %: C 48,19, H 4,45, N 28,10, S 6,43.

Вирахувано, %: C 48,08, H 4,46, N 28,15, S 6,42.

В ІЧ-спектрі N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)ізонікотиногідразиду присутні характеристичні полоси поглинання валентних коливань NH-групи середньої інтенсивності при 3410 $см^{-1}$, карбонілу NHC=O-групи при 1690 $см^{-1}$ та при 1655 $см^{-1}$, C=N-зв'язку у циклі при 1640-1610 $см^{-1}$ та C-C і C-N-зв'язків піридинового кільця - при 1540-1435 $см^{-1}$.

В ^{1}H ЯМР-спектрі сигнали метильних груп проявляються у вигляді синглетів при 3,15-3,35 м.ч., сигнали метиленових груп - у вигляді синглетів при 3,85 та при 5,75 м.ч., протони піридинового кільця у вигляді двох дублетів при 7,50-8,65 м.ч. з КССВ $J_{орто}$ = 5,85, $J_{мета}$ = 1,2 Гц. Сигнал NH проявляється у межах 9,20-9,65 м.ч. у вигляді синглету.

Спектр ЯМР ^{1}H, δ, м.ч.: 3,15-3,35 (3H, с, CH_3), 3,85 (2H, с, CH_2), 5,75 (2H, с, CH_2), 7,83-8,70 (4H, м, C_6H_5), 8,32 (1H, с, CH), 9,20-9,65 (1H, с, NH), 7,50-8,65 (4H, дд, піридин).

Культивування та накопичення біомаси досліджуваних штамів M. bovis проводили на яєчному живильному середовищі, яке за складом було ідентичним стандартному, виготовленому ДП "Ветеринарна медицина" (м. Харків, Україна). До середовища додавали N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)ізонікотиногідразид для отримання концентрацій 0,1 %; 0,5 %; 1 %.

Дослідження проводили зі встановленням двох рівнів pH: 6,5 та 7,1. Відмірювання необхідної кількості препарату проводили згідно з ГОСТ 27025-86. Розчини готували згідно з методиками, описаними у ГОСТ 4212-76 та ГОСТ 4517-87.

Висів мікобактерій, накопичених за температури культивування 3 °C, у кількості двох бактеріологічних петель проводили на скошене живильне середовище в 10 пробірок з наступною інкубацією в термостаті (ТС-1/80 СПУ та ТСО-1/80 СПУ, Росія) впродовж трьох місяців за різних температур (3 та 37 °C), зі щоденним спостереженням.

У виділених та накопичених мікобактерій вивчали тинкторіальні властивості, морфологічні ознаки, а також строки появи первинного росту, його інтенсивність і характер субкультури. Аналіз та оцінку колоній проводили за кількістю, величиною, формою, поверхнею, консистенцією, пігментоутворенням, прозорістю, блиском та емульгованістю у фізіологічному розчині (В.М. Манченко, З.Р. Троценко, М.С Павленко та ін., 1994; О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський, Л.О. Ковальова, 2010).

Тинкторіальні властивості мікобактерій визначали, готуючи мазки із колоній (культур), зафарбованих за методом Ціля-Нільсена та досліджуючи їх під імерсією мікроскопа "SUNNY" серії XS із цифровим мікроскопічним комплексом "Микмед-2-1600" (Санкт-Петербург, Росія).

Морфологію мікобактерій визначали за: довжиною, товщиною, формою, характером країв клітин, зернистістю та розташуванням.

Гравіметричні вимірювання виконували на лабораторних електронних аналітичних вагах моделі ESJ-200-4 (США).

Результати наведені в таблицях 1-4.

Таблиця 1

Характеристика культуральних властивостей M. bovis 100 пасажу, культивованих на середовищі з pH 7,1 за температури 37 °C

7-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт	Слизовий наліт жовтуватого кольору	Слизовий наліт	Ріст відсутній
14-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

Продовження таблиці 1

Характеристика культуральних властивостей M. bovis 100 пасажу, культивованих на середовищі з pH 7,1 за температури 37 °C

Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Без змін	Без змін	Поодинокі гладенькі колонії	Ріст відсутній
30-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Без змін
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Численні колонії білого кольору	Поодинокі колонії білуватого кольору	Дрібні колонії білого кольору	Ріст відсутній
60-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Дрібні колонії білого кольору	Ріст відсутній
90-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній

Таблиця 2

Характеристика культуральних властивостей M. bovis 100 пасажу, культивованих на середовищі з pH 6,5 за температури 37 °C

7-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт	Поодинокі колонії білуватого кольору	Шорсткий наліт	Ріст відсутній

Продовження таблиці 2

Характеристика культуральних властивостей M. bovis 100 пасажу,
культивованих на середовищі з pH 6,5 за температури 37 °C

14-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Поодинокі дрібні колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії білуватого кольору	Без змін	Поодинокі гладенькі колонії	Ріст відсутній
30-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст росинчатих біло-жовтих колоній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Численні колонії білого кольору	Поодинокі колонії білуватого кольору	Дрібні колонії білого кольору	Поодинокі дрібні колонії за лінією посіву
60-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст білуватих, поодиноких гладеньких колоній	Ріст білуватих, поодиноких гладеньких колоній	Без змін
90-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст крупних шорсткуватих R-форм, які потім перетворюються в білуваті гладенькі колонії S-форми	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній

Таблиця 3

Характеристика культуральних властивостей M. bovis 117 а варіанта, культивованих на середовищі з pH 7,1 за температури 3 °С

3-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сіруватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сіруватого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору за лінією посіву	Ріст слабкий. Поодинокі колонії помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору за лінією посіву
7-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сірувато-жовтого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сірувато-жовтого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній блідо-помаранчевого кольору	Ріст слабкий. Поодинокі колонії сірувато-помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору за лінією посіву
14-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого	Шорсткий наліт за лінією посіву ярко вираженого помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній блідо-помаранчевого кольору	За лінією посіву збільшилась кількість дрібних колоній сірувато-помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору за лінією посіву
30-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній помаранчевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого кольору
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву збільшилась кількість дрібних колоній сірувато-помаранчевого кольору	Ріст слабкий. Поодинокі колонії блідо-помаранчевого кольору

Таблиця 4

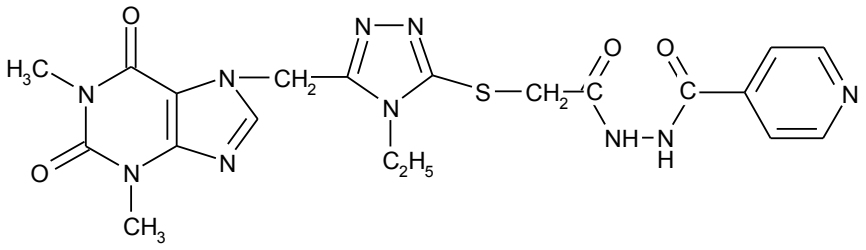
Характеристика культуральних властивостей M. bovis 117 а варіанта, культивованих на середовищі з pH 6,5 за температури 3 °С

3-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сіруватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт, поодинокі колонії сірувато-гірчичного кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору
7-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт сірувато-жовтого кольору	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизовий наліт, поодинокі колонії сірувато-гірчичного кольору	За лінією посіву колонії помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору
14-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній блідо-рожевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого кольору	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній гірчичного кольору	За лінією посіву колонії помаранчевого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору	Слизовий наліт сіруватого кольору
30-а доба досліджень			
Контроль	Концентрація досліджуваної сполуки		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого кольору
Контроль	Концентрація препарату "Ізоніазид"		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній сірувато-помаранчевого кольору	Слизовий наліт сірувато-помаранчевого кольору

Таким чином, N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)ізонікотиногідразид у порівнянні з прототипом дещо активніше проявляє протитуберкульозну активність.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

N'-(2-(5-((теофілін-7-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетил)-ізонікотиногідразид формули:



,

який проявляє протитуберкульозну активність.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601