



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **135687** (13) **U**
(51) МПК (2019.01)
C07D 487/00
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

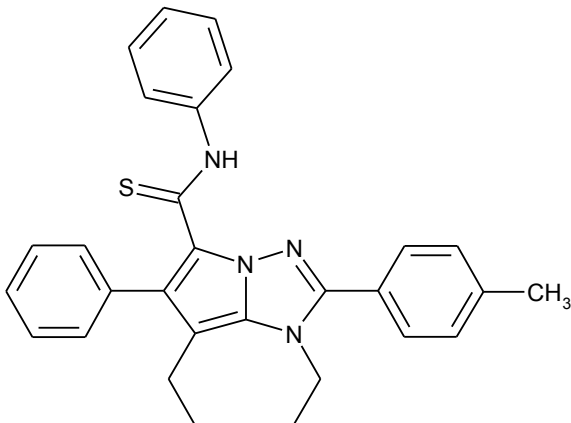
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 01415	(72) Винахідник(и): Демченко Сергій Анатолійович (UA), Федченкова Юлія Анатоліївна (UA), Суховєєв Володимир Володимирович (UA), Демченко Анатолій Михайлович (UA)
(22) Дата подання заявки: 12.02.2019	(73) Власник(и): НІЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ МИКОЛИ ГОГОЛЯ, вул. Графська, 2, м. Ніжин, 16602 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2019	(74) Представник: Москаленко Олег Вадимович
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2019, Бюл.№ 13	

(54) **ФЕНІЛАМІД 1-(ПАРА-ТОЛІЛ)-4-ФЕНІЛ-5,6,7,8-ТЕТРАГІДРО-2,2А,4А-ТРИАЗАЦИКЛОПЕНТА[сd]АЗУЛЕН-3-КАРБОТІОНОВОЇ КИСЛОТИ, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИВІРУСНУ АКТИВНІСТЬ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ВІРУСУ FLU A H1N1 CALIFORNIA/07/2009**

(57) Реферат:

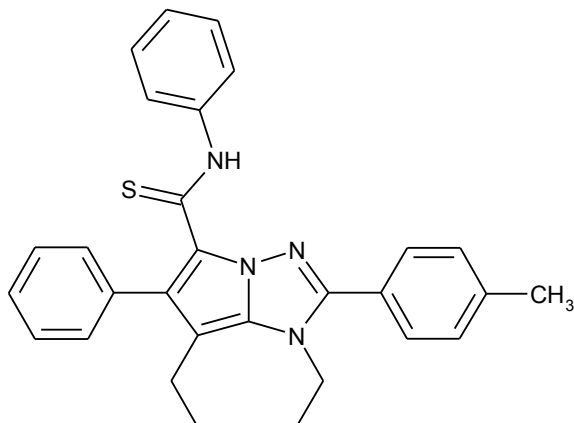
Феніламід 1-(пара-толil)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,4а-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти:



що проявляє противірусну активність по відношенню до вірусу Flu A H1N1 California/07/2009.

UA 135687 U

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії та медицини, а саме до фармакології засобів, зокрема, одержання біологічно активного феноламіду 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a, 4a-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти формули:



5 який виявляє антивірусну активність, що дозволяє передбачити його використання як антивірусний лікарський засіб, а саме для лікування грипу, викликаного вірусом California/07/2009/H1N1/.

H1N1 - штам так званого "свинячого" або "мексиканського" вірусу підтипу А, який досі до кінця не вивчений, та який поширюється як повітряно-крапельним, так і контактно-побутовим шляхами [1-4]. Підтип вірусу грипу А викликав епідемію іспанки в 1918 році [5].

10 На сьогодні ця небезпечна хвороба відома багатьом країнам Світу. За даними Центру контролю та профілактики захворювань Сполучених Штатів Америки вперше штам H1N1 був виявлений в США в квітні 2009 року [6]. Цей вірус мав унікальну комбінацію генів, раніше не ідентифікованих ні у тварин, ні у людей. Проведені дослідження виявили схожість генів вірусу H1N1 з вірусом, який ідентифікували у свиней в Північній Америці. Через це в початкових повідомленнях вірус називався вірусом грипу свинячого походження [7, 8]. Згодом, дослідження первинних випадків захворювання людей не виявили впливу на свиней, що свідчило про відсутність взаємозв'язку між цими випадками.

20 За період епідемії 2009-2010 р. в Україні на грип та ГРВІ перехворіло майже 17 % населення країни. Зазначалося [9], що рівень госпіталізації дітей під час епідемії значно вищий за дорослих людей (відповідно 84 % до 93 %).

25 Під час пандемічного сезону грипу 2009-2010 рр. спостерігалася значна кількість летальних випадків (до 200 померлих за тиждень). Слід зауважити, що пацієнти зверталися до лікувальних закладів у край тяжкому стані, що призводило до реєстрації добової летальності у 31,6 % випадках.

Дослідження тяжких випадків грипу 2009-2010 рр. показало, що частіше хворіли чоловіки, ніж жінки [10].

Перелічене вище зумовило потребу у проведенні необхідних запобіжних заходів на глобальному та національному рівнях [11].

30 В Україні зареєстровані та дозволені до медичного застосування ряд лікарських засобів, які безпосередньо порушують реплікацію вірусу, а саме: Амізон, Амантадин, Арбідол, Занамівір, Інозин Пранобекс, Озельтамівір, Римантадин та інші [12-16].

35 Відомий протівірусний засіб щодо штаму вірусу California/07/2009 /H1N1/ 4-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній іодид (Амізон) - розробка ДУ „Інституту фармакології та токсикології НАМІ України" [13], який має протизапальні, анальгезуючі та жарознижуючі властивості. Анальгезуючий ефект реалізується за участі ретикулярної формації стовбура мозку [14]. Амізон має інтерференогенні властивості, що робить його перспективним для профілактики та лікування різних захворювань вірусної етіології [15], чинить інгібуючий вплив на віруси грипу, підвищує резистентність організму до вірусних інфекцій [16].

40 Але одноставної думки щодо доведеної ефективності деяких препаратів (Арбідол, Аміксин, Амізон, Кагоцел, Імунофан тощо) як імуномодуляторів з протигрипозною активністю з позицій доказової медицини нині немає [12].

45 Для дослідження нами було вибрано відомий протівірусний препарат Рибавірин, що володіє широким спектром активності проти різних ДНК і РНК вірусів, а також має активність щодо вірусного гепатиту С. Цей лікарський засіб має безліч протипоказань та побічних ефектів, серед яких: гіперчутливість, вагітність, період лактації, хронічна серцева недостатність, інфаркт міокарда, ниркова недостатність, тяжка анемія, печінкова недостатність, декомпенсований

цироз печінки, аутоімунні захворювання (включаючи аутоімунний гепатит), депресивний стан та вікові обмеження у застосуванні. Тому, застосування цього препарату можливе лише після ретельного обстеження [17].

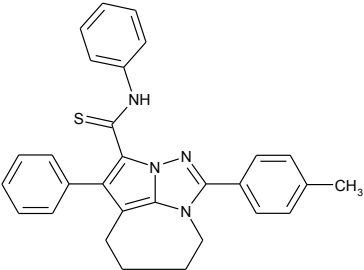
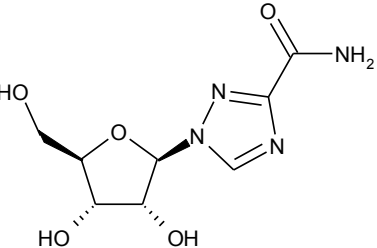
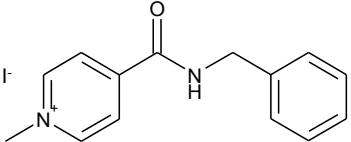
Отже, створення нових противірусних лікарських засобів є актуальною задачею фармації.

5 В основу корисної моделі поставлена задача пошуку нових біологічно активних сполук з противірусною активністю, що перешкоджають реплікацію вірусу, та які здатні лікувати грип, викликаний вірусом Flu A H1N1.

10 Як біологічно активну сполуку запропоновано феніламід 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти, ефективність якого підтверджено експериментально. Противірусну активність заявленої сполуки по відношенню до вірусу Flu A H1N1 California/07/ 2009 досліджено в Південному дослідному інституті США (Southern Research Institute-SRI, Birmingham, Alabama). Ефективність зазначеної сполуки виражали показниками EC_{50} , IC_{50} та SI, які визначали в досліді in vitro при дії сполук, що попередньо розчиняли в ДМСО в діапазоні концентрацій від 0,1 до 100 мкг/мл. Разом із заявленою сполукою для вивчення противірусної дії нами було передано до Південного дослідного інституту США діючу речовину препарату Амізон - іодид 4-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридинію. Проведені дослідження виявили активність цієї субстанції саме проти вірусу Flu A H1N1 California/07/ 2009. В умовах експерименту заявлена сполука виявила високу противірусну активність щодо вірусу Flu A H1N1 California/07/2009 (результати наведено в табл.).

Таблиця

Противірусна активність феніламіду 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти щодо вірусу Flu A H1N1 California/07/2009

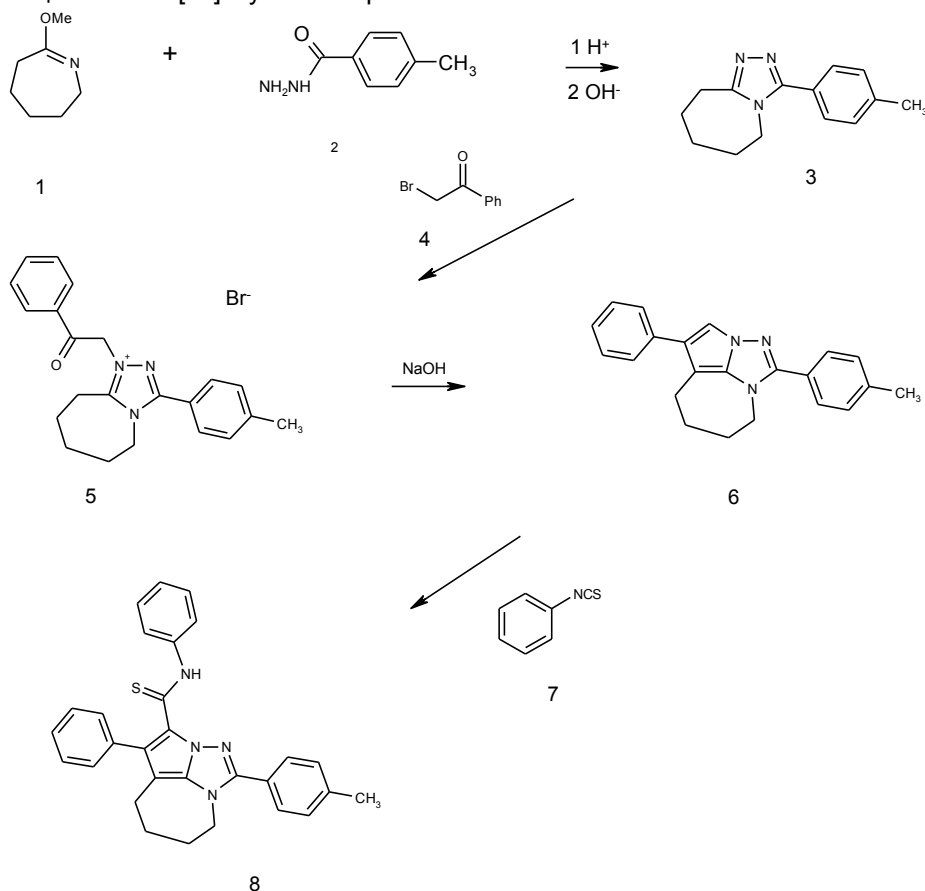
Сполука	Структура	Тип вірусу	EC_{50} , мкг/мл	IC_{50} , мкг/мл	SI
		Flu A (H1N1) California/07/2009	0.47	97	200
Рибавірин		Flu A (H1N1) California/07/2009	8.7	>320	>37
Амізон		Flu A (H1N1) California/07/2009	47	>100	>2.1

Примітки:

1. EC_{50} - ефективна концентрація, що визначається з кривої доза/ефект і є концентрацією речовини, при якій ефект спостерігається для 50 % популяції після проходження певного часу дії. Виражається у мкг/мл.
2. IC_{50} - концентрація, при якій інгібування клітин речовиною складає 50 %. Виражається у мкг/мл.
3. SI - індекс селективності, що є показником ефективності препарату і виражається співвідношенням IC_{50} до EC_{50} .

Заявлений феніламід одержано з високим виходом при взаємодії 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулену та фенілізотіоціанату в сухому бензені.

5 Схеми синтезу феніламіду 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти:



Приклади виконання.

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепін 1 одержано алкілуванням капролактаму диметилсульфатом за методикою [18]. 3-(Пара-толіл)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепін 3 був одержаний за методикою [19]. 1-(Пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулен 6 одержаний за методикою [20].

15 Приклад 1. Синтез феніламіду 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти 8. Суміш 1.64 г (0.005 моль) 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулену 6 та 0.676 г (0.005 моль) фенілізотіоціанату 7 в 50 мл сухого бензену кип'ятили із зворотним холодильником. Після охолодження осад, що утворився, відфільтровували, промивали бенzenом, сушили. Кристалізували з етанолу. Вихід 1.69 г (73 %). Т_{пл...}=196-198 °С. Знайдено, %: N 12.4, C₂₉H₂₆N₄S. Розраховано, %: N 12.1. ЯМР ¹H (δ, м.ч., DMSO-d₆): 1.97 (м, 2H, CH₂), 2.09 (м, 2H, CH₂), 2.44 (с, 3H, CH₃), 4.19 (т, 2H, CH₂), 6.97 (с, 1H, NH), 7.10-7.76 (м, 14H, C₆H₅+C₆H₅+C₆H₄), 10.7 (с, 1H, NH).

20 Приклад 2. Вивчення протівірусної активності феніламіду 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти 8. Моношар культури клітини MDCK вирощували в 96-лунковому мікропланшеті до того часу, поки дно кожної лунки не покриється клітинами. Залишкове культуральне середовище повністю видаляли, і кожну лунку двічі промивали фосфатним буфером. У кожну лунку додавали розчин вірусу Flu A H1N1, скорегованого до необхідної концентрації, сполуку 8 та протівірусний засіб - Рибавірин (Sigma), що розчинені в диметилсульфоксиді, додавали у кожну лунку до кінцевої концентрації від 0,1 до 10 мкг/мл. Культивували протягом 48 годин, клітини MDCK спостерігали за допомогою мікроскопу. Після додавання 100 мкл 70 % ацетону кожну лунку витримували при -20 °С протягом 1 год. Після висушування в сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну Б), розчиненого в 1 % (v/v) ацетатній кислоті. Після 30 хвилин фарбування, розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) ацетатною кислотою. Після висушування в кожну лунку додавали 100 мкл 10 mM розчину Tris (pH 10,5) для

розчинення забарвлюючої речовини на дні лунки. Для оцінки протівірусної активності вимірювали оптичну густину.

Як видно з результатів таблиці, протівірусна активність феніламід 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 4а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти 8 спостерігається при введенні меншої в 18.5 рази за концентрацію дози ЕС₅₀ У порівнянні із Рибавірином, та в 10 разів - у порівнянні з Амізоном. Індекс селективності досліджуваної речовини становить SI=200. В той час, як у Рибавірину SI>37, а у Амізону SI>2.1.

Таким чином, запропонована нова сполука, яка може бути використана при створенні нового препарату, активного проти вірусу Flu A H1N1 California/07/2009, який передбачає більш високу протівірусну активність, ніж препарати порівняння Амізон та Рибавірин.

Джерела інформації:

1. Dacso C.C. et al. Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections // J Clin Microbio. - N 20. - 1984. - P. 833-835.

2. Bartlett J.G. 2009 H1N1 Influenza-Just the Facts: What's New and What to Expect // Published: 09/25/2009 Available at <http://www.medscape.com/>.

3. Emergence of novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in human. Novel swine-origin influenza A (H1N1) virus investigation team. The New England Journal of Medicine 2009; 10:1-10.

4. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). N 58. - 2009. - P. 433-435.

5. H1N1. Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/H1N1>.

6. The 2009 H1N1 Pandemic: Summary Highlights, April 2009-April 2010. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <https://www.cdc.gov/H1N1FLU/cdcresponse.htm>

7. Myers K.P. et al. Are swine workers in the United States at increased risk of infection with zoonotic influenza virus? // Clin Infect Dis. - N 42. - 2006. - P. 14-20.

8. Shope R.E. Swine influenza. III. Filtration experiments and etiology // J ExpMed, 1931; 54: 373-385.

9. В Україні чекають щонайменше три штами грипу. Режим доступу: <https://www.unian.ua/society/409702-v-ukrajini-cheKayut-schonaYmenshe-tri-shtami-gripu.html>.

10. Голубка О.С. Оцінка наслідків тяжких форм грипу та летальності серед осіб груп ризику в пандемічному сезоні 2009-2010 років в Україні / О.С. Голубка, О.В. Онищенко, А.П. Міроненко // Профілактична медицина. - 2013. - № 3-4 (21). - С. 55-58.

11. Вікторов О.П. Протівірусні лікарські засоби при лікуванні грипу: ефективність та безпека / О.П. Вікторов, В.П. Широбоков, О.В. Матвеева та ін. // Український медичний часопис № 2(76). - 2010. - С 7-12. Режим доступу: <https://www.umj.com.ua/article/3006/protivirusni-likarski-zasobi-pri-likuvanni-gripu-efektivnist-ta-bezpeka>

12. Москалюк В.Д. Діагностика та лікування грипу: сучасні клініко-патогенетичні аспекти / В.Д. Москалюк, А.С. Сидорчук // Інфекційні хвороби. - № 2(84). - 2016. - С. 5-14.

13. Патент на винахід UA 6752. 4-(п-Бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній йодид - знеболюючий засіб з інтерферогенними, протизапальними та жарознижуючими властивостями / Трінус Ф.П., Даниленко В.П., Бухтіарова Т.А. та інш. Опубл. 29.12.1994. Бюл. № 8-1.

14. Амізон. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.ift.org.ua/uk/node/91>

15. Эффективность Амизона в лечении и профилактике вирусных инфекций (к 10-летию применения препарата в клинической практике). [Електронний ресурс]. - Режим доступу: http://farmak.ua/publication/effektivnost-amizona_v_lechenii_i_profilaktike_virusnyh_infektsiy_k_10-etiyu_primeneniya_preparata_v_klinicheskoy_praktike

16. Нормативно-директивні документи МОЗ України, Амізон. - [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=20298>

17. Рибавірин - официальная инструкция по применению - [Електронний ресурс]. - Режим доступу: https://medi.ru/instrukciya/ribavirin_1672/

18. Граник В.Г. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом / В.Г. Граник, А.М. Жидкова, Н.С. Курятов и др. // ХГС. - 1973. - №11. - С. 1532-1535.

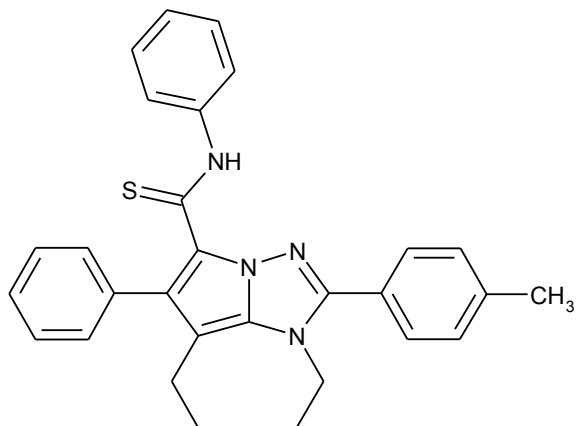
19. S. Petersen, E. Tietze. Reaktionen cyclischer lactimather mit acylierten hydrazinderivaten // Chem. Ber. - 1957. - V. 90, Is. 6. - P. 909-921.

20. Демченко А.М. Производные 1,4-диарил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а, 8а-триазаціклопента [сd]азулена // ХГС. - 2000. - №8. - С. 1123-1127.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Феніламід 1-(пара-толіл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,4а-триазациклопента[сd]азулен-3-карботіонової кислоти:

5



що проявляє протівірусну активність по відношенню до вірусу Flu A H1N1 California/07/2009.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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