



СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГОСУДАРСТВЕННОМ КОМИТЕТЕ СССР ПО НАУКЕ И ТЕХНИКЕ
(ГОСКОМИЗОБРЕТЕНИЙ)

АВТОРСКОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

№

1759840

На основании полномочий, предоставленных Правительством СССР, Госкомизобретений выдал настоящее авторское свидетельство на изобретение:
"4-*N*-(1-Бензил-7-хлоримидазо [4,5-*d*]-придазинил)-
диаза-18-краун-6, обладающий противовирусной активностью
в отношении вируса гриппа *A2 Victoria* при профилакти-
Автор (авторы): чешском введении
Федорова Галина Владимировна
и другие, указанные в описании

Заявитель: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. А. В. БОГАТСКОГО

Заявка № 4885764 Приоритет изобретения 22 ноября 1990 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений СССР
8 мая 1992 г.

Действие авторского свидетельства распро-
страняется на всю территорию Союза ССР.

Председатель Комитета

Начальник отдела

Расс
Зинин





СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1759840 A1

(51)5 C 07 D 413/14, A 61 K 31/415

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

2

(21) 4885764/04

(22) 22.11.90

(46) 07.09.92. Бюл. № 33

(71) Физико-химический институт им. А.В.Богатского

(72) О.Г.Ясинская, Э.И.Иванов, Г.В.Федорова, Н.Я.Головенко, В.В.Иванова и Ю.Е.Шапиро

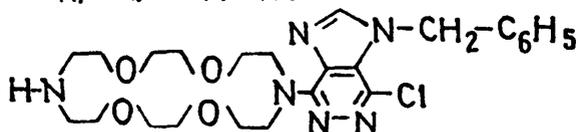
(56) Kimura E., Kagaku no Ryoiki, 29, 413, 1974.

Машковский М.Д. Лекарственные средства. Ч. II, М., Медицина, 1984, с. 380.

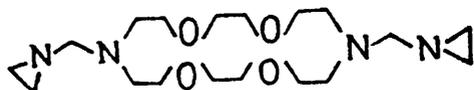
(54) 4-N-(1-БЕНЗИЛ-7-ХЛОРИМИДАЗО[4,5-d]ПИРИДАЗИНИЛ)-ДИАЗА-18-КРАУН-6, ОБЛАДАЮЩИЙ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГРИППА A₂ VICTORIA ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ

(57) Соединение получают взаимодействием 1-бензил-4,7-дихлоримидазо[4,5-d]пиридазина и диана-18-краун-6 в спирте в автоклаве при 150–160°C в течение 30 ч при соотношении компонентов 1:1. БФ C₂₄H₃₂ClN₆O₄, выход 82%, т.пл. 194°C, LD₅₀ 271,43 мг/кг. 2 табл.

Изобретение относится к химии биологически активных веществ, а именно к 4-N-(1-бензил-7-хлоримидазо[4,5-d]пиридазинил)-диаза-18-краун-6 (I), обладающему противовирусной активностью в отношении вируса гриппа A₂ Victoria при профилактическом введении, что может быть использовано в медицине и фармакологии. Вещество имеет следующую структуру

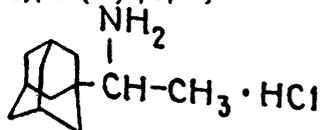


Наиболее близким по структуре к предлагаемому соединению является N,N'-диазиридинометилдиаза-18-краун-6 (II), проявляющий антивирусную активность против вируса A₂ Victoria. формулы



Однако, аналог токсичнее предлагаемого соединения более чем в 2 раза, а его активность в 6 раз ниже, чем у 4-N-(1-бензил-7-хлоримидазо[4,5-d]пиридазинил)-диаза-18-краун-6.

Известен противовирусный препарат ремантадин (III) формулы

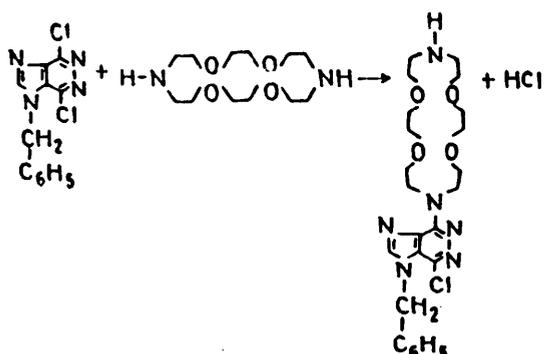


Недостатком данного соединения является его повышенная токсичность по сравнению с предлагаемым соединением (в 1,8 раза). Активность предлагаемого препарата выше, чем у ремантадина, в 1,4 раза.

Предлагается новый краунированный имидазо[4,5-d]пиридазин, обладающий высокой активностью при малой токсичности.

Получают соединение I взаимодействием 1-бензил-4,7-дихлоримидазо[4,5-d]пиридазина и диаза-18-краун-6 в спирте в автоклаве при 150–160°C в течение 30 ч при соотношении компонентов 1:1 по схеме

(19) SU (11) 1759840A1



Синтез соединения I иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. В автоклав из нержавеющей стали загрузили 0,279 г (0,001 моль) 1-бензил-4,7-дихлоримидазо[4,5-d]пиридазина в 20 мл абсолютного этанола и 0,262 г (0,001 моль) диаза-18-краун-6. Нагревали при 160°C 30 ч. Охлаждали до комнатной температуры. Отгоняли спирт на роторном испарителе и отфильтровывали белое кристаллическое вещество, промывали охлажденным спиртом и эфиром, $m = 0,41$ г, т.пл. 194°C. Дополнительно из маточника после его охлаждения и затвердевания путем перекристаллизации из этанола можно получить еще 0,07 г продукта. Выход 82%. Структура полученного соединения подтверждена данными ПМР-спектроскопии (CF_3COOD): δ 4,30–4,55 (м, 25H, краун); δ 5,78 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$); δ 7,28–7,39 (м, 5H, C_6H_5); δ 8,7 (с, 1H, CH); ИК-спектроскопии (KBr), ν , см^{-1} : 3350 (NH), 3000 (CH), 1640 (C=N), 1050 (C-O), элементным анализом. Рассчитано, %: C 57,09; H 6,54; N 16,65; Cl 7,04.

Найдено, %: C 57,12; H 6,05; N 17,01; Cl 7,2.

Пример 2. Острую токсичность нового соединения определяли по методике Бернса на неимбредных белых мышах массой 14–20 г. Значение LD_{50} при внутривентральном введении составило 271,43 мг/кг. Результаты исследования острой токсичности соединения I в сравнении с аналогом по структуре – N,N'-диазиридинометилдиазо-18-краун-6 (II) и ремантадином (III) приведены в табл. 1.

Пример 3. Противовирусную активность соединения I относительно вируса гриппа A2 Victoria определяли в сравнении с соединениями II и III на развивающихся 10-дневных куриных эмбрионах (КЭ), зараженных вирусом гриппа в разведении 10^{-3} .

Соединения растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) и вводили в хорионаллантоисную полость куриных эмбрионов однократно в объеме 0,1 мл, что соответствует концентрации 2,1 мг/мл. Вещества I–III

вводили за 1 ч до введения вируса (профилактическое введение). Контролем служили эмбрионы, в которые вводили вирус в разведении 10^{-3} в DMSO в объеме 0,1 мл, что соответствует таковому при опытном заражении.

Куриные эмбрионы инкубировали в термостате при 34°C 48 ч. Наличие вируса в эмбрионах проверяли по реакции гемагглютинации (РГА) с 1%-ными куриными эритроцитами. Оценку эффективности соединений проводили по индексу защиты и среднему геометрическому титру вируса (СГТ) по РГА в аллантоисной жидкости контрольных и опытных эмбрионов. Индекс защиты (I_3) вычисляли по формуле

$$I_3 = \frac{K_3 - 1}{K_3} \cdot 100,$$

где K_3 – коэффициент защиты;

$$K_3 = \frac{\text{процент эмбрионов с вирусом в контроле}}{\text{процент эмбрионов с вирусом в опыте}}$$

Соединение оценивали как активное, если индекс защиты превышал 50%.

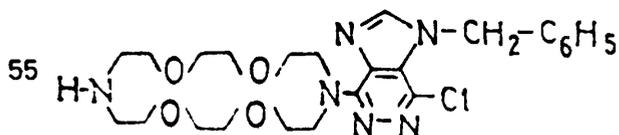
Результаты исследования биологического действия нового соединения I в сравнении с соединениями II (аналог) и III (базовое соединение) приведены в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что в то время как аналог обладает незначительной противовирусной активностью ($I_3 = 16,67\%$), предлагаемое соединение I имеет $I_3 = 100\%$, что в 6 раз превышает активность аналога и в 1,4 раза превышает активность ремантадина (III).

Из данных табл. 1 следует, что при внутривентральном введении LD_{50} соединения I в 2 раза ниже, чем у аналога (соединение II), и в 1,8 раза ниже такового у базового соединения (III).

Таким образом, соединение I имеет следующие преимущества: высокую противовирусную активность в отношении вируса гриппа A2 Victoria, значительно меньшую токсичность по сравнению с известным противовирусным препаратом ремантадином (III) и аналогом по структуре и биологической активности (II).

Формула изобретения
4-N-(1-бензил-7-хлоримидазо[4,5-d]пиридазинил)-диазо-18-краун-6 формулы



обладающий противовирусной активностью в отношении вируса гриппа А₂

Victoria при профилактическом введении.

Таблица 1

Сравнительное изучение острой токсичности при внутрибрюшинном введении

Соединение	LD ₅₀ , мг/кг
I	271,43
II	132,9
III	150

Таблица 2

Сравнительное изучение влияния соединений I-III на вирус гриппа А₂ Victoria в развивающихся куриных эмбрионах при профилактическом введении

Соединение	Концентрация вещества, мг/мл	Количество эмбрионов с вирусом		К ₃	И ₃	СГТ
		шт.	%			
-	-	12	100	-	-	1:1780
I	2,1	0	0	-	100	-
II	2,1	10	83,33	1,2	16,67	1:558
III	2,1	3	25	3,67	72,75	1:21,1

Примечание. Разведение вируса 10⁻⁵, количество КЭ 12.

Редактор Е.Хорина

Составитель Т.Раевская
Техред М.Моргентал

Корректор Л.Филь

Заказ 3154

Тираж

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г.Ужгород, уд. Гагарина, 101