



(51) МПК
C07C 235/66 (2006.01)
A61K 31/609 (2006.01)
A61P 33/10 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011152686/04, 22.12.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 22.12.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.12.2011

(45) Опубликовано: 27.02.2013 Бюл. № 6

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 4310682 A, 12.01.1982. US 2703332 A, 01.03.1955. US 3074848 A, 22.01.1963. RU 2370484 C1, 20.10.2009. Трусов С.Н. и др. Спектр антигельминтной активности ронتانокса // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 2007, №4, с.50-51. Михайлицын Ф.С. и др. Нарботка опытного образца препарата ниброна и его эффективность при (см. прод.)

Адрес для переписки:

197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора
 Попова, 14, лит. А, ГБОУ ВПО СПбХФА
 Минздравсоцразвития России, Патентно-
 лицензионный отдел

(72) Автор(ы):

Севбо Дмитрий Петрович (RU),
 Трусов Сергей Николаевич (RU),
 Михайлицын Феликс Семенович (RU),
 Гицу Галина Александровна (RU),
 Бурякина Анна Вениаминовна (RU),
 Малахова Анна Юрьевна (RU),
 Сафарова Арзу Яшаровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

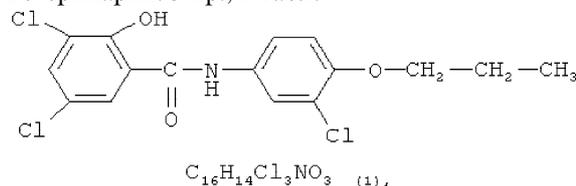
Государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования "Санкт-
 Петербургская государственная химико-
 фармацевтическая академия" Министерства
 здравоохранения и социального развития
 Российской Федерации (ГБОУ ВПО
 СПбХФА Минздравсоцразвития России) (RU)

(54) N-(3-ХЛОР-4-ПРОПИЛОКСИФЕНИЛ)-3,5-ДИХЛОРСАЛИЦИЛАМИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АНТИГЕЛЬМИНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Предложено новое биологически активное производное салициланилида, а именно N-(3-хлор-4-пропилоксифенил)-3,5-дихлорсалициламид, проявляющий высокую антигельминтную активность при низкой токсичности, что позволяет применять

заявляемое соединение в медицине и ветеринарии. 3 пр., 1 табл.



(56) (продолжение):

гельминтозах овец // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 2011, №1, с.51-52. Трусов С.Н. и др. Получение соединения МСТ-01 и его противогименолепидиозная активность. - Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 2011, №3, с.43.

RU 2 4 7 6 4 2 4 C 1

RU 2 4 7 6 4 2 4 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07C 235/66 (2006.01)
A61K 31/609 (2006.01)
A61P 33/10 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2011152686/04, 22.12.2011**

(24) Effective date for property rights:
22.12.2011

Priority:

(22) Date of filing: **22.12.2011**

(45) Date of publication: **27.02.2013 Bull. 6**

Mail address:

**197376, Sankt-Peterburg, ul. Professora Popova,
14, lit. A, GBOU VPO SPKhFA
Minzdravsotsrazvitija Rossii, Patentno-
litsenzionnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Sevbo Dmitrij Petrovich (RU),
Trusov Sergej Nikolaevich (RU),
Mikhajlitsyn Feliks Semenovich (RU),
Gitsu Galina Aleksandrovna (RU),
Burjakina Anna Veniaminovna (RU),
Malakhova Anna Jur'evna (RU),
Safarova Arzu Jasharovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

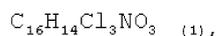
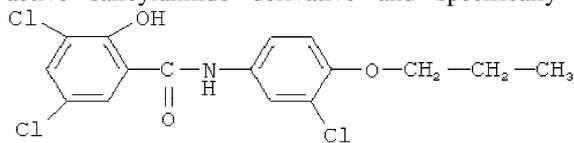
**Gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe
uchrezhdenie vysshego professional'nogo
obrazovanija "Sankt-Peterburgskaja
gosudarstvennaja khimiko-farmatsevticheskaja
akademija" Ministerstva zdravookhraneniya i
sotsial'nogo razvitija Rossijskoj Federatsii
(GBOU VPO SPKhFA Minzdravsotsrazvitija
Rossii) (RU)**

(54) N-(3-CHLORO-4-PROPYLOXYPHENYL)-3,5-DICHLOROSALICYLAMIDE HAVING ANTHELMINTIC ACTIVITY

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: disclosed is a novel biologically active salicylanilide derivative and specifically

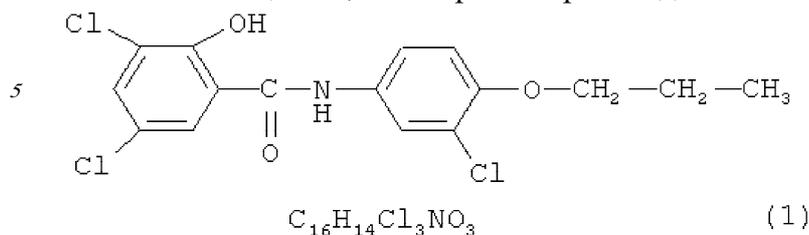


N-(3-chloro-4-propyloxyphenyl)-3,5-dichlorosalicylamide.

EFFECT: obtaining a compound having high anthelmintic activity with low toxicity, which enables to use the disclosed compound in medicine and veterinary.

1 cl, 3 ex, 1 tbl

Изобретение относится к органической химии и касается нового биологически активного вещества, а конкретно производного салициланилида формулы 1 (С-1):



10 обладающего антигельминтной активностью.

Известны салициланилиды, обладающие противогрибковой и бактерицидной активностью [см., например: Pat. 2.703.332 US. Poly Halo-salicylanilides; Pat. 2.802.029 US. Bromsalicyloyl-chloranilide; Pat. 4.310.682 US. Halo-salicylanilide].

15 Заявлены салициланилиды для лечения заболеваний, при которых полезно увеличение респирации митохондрий [Заявка 2006116421 РФ, 8 МПК С07С 235/64. Анилиды салициловой кислоты; отозвана].

20 Описан класс ароматических производных салициланилидов с различными заместителями, их солей, в том числе с аминами, эффективных в отношении паразита печеночной двуустки [Pat. 3.914.418 US. Method of controlling liver fluke infection].

Предложены композиции с салициланилидами для борьбы с трематодами и нематодами [Pat. 3.989.826 US. Method of killing internal Parasites using salicylanilides].

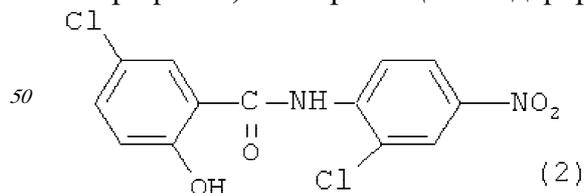
25 Известно антибактериальное средство, представляющее собой 3,5-дихлорсалициловую кислоту, применявшуюся ранее как полупродукт при производстве антибактериальных средств [Pat. 1081173 DE. Antibacterial detergent compositions; GB 848,306 (A)].

Известны замещенные салициланилиды, обладающие антигельминтной активностью [Pat. 4.025.647 US. Salicylanilide derivatives having anthelmintic activity].

30 Структуры Маркуша для салициланилидов, приведенные в указанных документах и других доступных авторам источниках, не включают предлагаемое авторами соединение.

35 В настоящее время в медицине и ветеринарии широко используют антигельминтный препарат НИКЛОЗАМИД (Германия) [см., например: Pat. 3.074.848 US; claims priority, application Germany 1960.02.02. 2-Hydroxy-5,2'-dichloro-4'-nitrobenzanilide for combating tapeworms; Pat. 2557615 DE, Int. Cl.² A61K 31/165, 47/00. Neue Niclosamide Suspensionsfor-mulierungen]. В России препарат того же действующего вещества известен под торговым названием ФЕНАСАЛ (СССР) [Лебедева М.Н., Михайлицын Ф.С., Сергиев В.П. Создание отечественных противопаразитарных препаратов [Текст] / М.Н.Лебедева и [др.] // Мед. паразитология и паразитарные болезни. 2001. №4. С.13-16; Патент РФ 1166370, 7 МПК А61К 9/16. Антигельминтное средство; Патент РФ 2276983, 8 МПК А61К 31/609, А61К 9/08, А61К 47/46, А61Р 33/10. Цестоцидная композиция для животных].

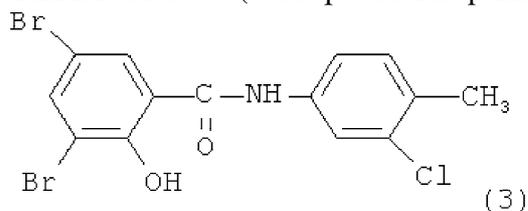
45 ФЕНАСАЛ (Phenasalum) - 5,2'-Дихлор-4'-нитросалициланилид или N-(2-хлор-4-нитрофенил)-3-хлорсалициламид формулы 2 (С-2):



Синонимы: Йомезан, Йомесан, Aten, Atenase, Biomesan, Cestocid, Copharten, Devermin, Grandal, Helmiantin, Jometan, Kontal, Lintex, Niclosamidum, Radeverm, Teniarene, Vermitin, Yomesan и др. ФЕНАСАЛ обладает противоцестодозной активностью, он является протоплазматическим ядом, полностью денатурирующим структуру клеток, парализует нервно-мышечную систему, разрушает ее покровные ткани, нарушает энергетический обмен гельминтов. ФЕНАСАЛ - нетоксическое вещество (класс IV), его препараты не проявляют эмбриотропные, канцерогенные свойства.

К недостаткам препарата следует отнести трудоемкий синтез промежуточного продукта ФЕНАСАЛА 5-хлорсалициловой кислоты, для получения которой используют газообразный хлор, а полноту реакции контролируют по привесу реакционной массы.

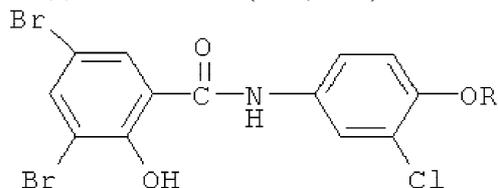
Ранее авторами был синтезирован близкий по принципиальной структуре ФЕНАСАЛУ N-(3-хлор-4-метилфенил)-3,5-дибромсалициламид формулы 3:



Соединение 3 (С-3) под условным названием РОНТАНОКС было испытано на сельскохозяйственных животных - овцы, крупный рогатый скот (КРС) во ВНИИ гельминтологии им. К.И.Скрябина (ВИГИС, Москва) [Севбо Д.П. Антигельминтное средство на основе N-(3-хлор-4-метилфенил)-3,5-ди-бромсалициламида: патент РФ №2370484 / Д.П.Севбо, Е.И.Саканян, С.Н.Трусов и др.; Трусов, С.Н. Спектр антигельминтной активности РОНТАНОКСА / С.Н.Трусов, Ф.С.Михайлицын, Д.П.Севбо, И.А.Архипов, А.В.Родионов, Н.И.Кошеваров // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2007. №4. С.50-51].

К недостаткам С-3 следует отнести то, что он является более токсичным веществом ($LD_{50}=178$ мг/кг) при внутрибрюшинном введении по сравнению с ФЕНАСАЛОМ [Бурякина А.В. Острая токсичность ронтанокса, обладающего антигельминтной активностью / А.В.Бурякина, Ф.С.Михайлицын, Д.П.Севбо, А.Ю.Малахова, С.Н.Трусов // Российский паразитологический журнал. 2011. №1. С.108-111]. Следует отметить, антигельминтную активность оценивают при пероральном введении (пример 3), однако при аналогичном введении острую токсичность (LD_{50}) для различных галогензамещенных фенилсалициламидов, включая фенасал, рассчитать не удастся из-за ограничения введения предельно допустимых объемов жидкости. Поэтому для сравнительной оценки острой токсичности (LD_{50}) галогензамещенных фенилсалициламидов изменили путь введения на внутрибрюшинное в 1%-ном крахмальном клейстере (пример 2).

С целью снижения токсичности были синтезированы алкоксианалоги ронтанокса - соединения 4 и 5 (С-4; С-5):



R=CH₃ (соединение 4); -CH₂-CH₂-CH₃ (соединение 5).

Оба соединения проявляют более высокую антигельминтную активность при

гименолепидозе по сравнению с фенасалом [Севбо Д.П. Получение и изучение противогименолепидозной активности соединения МСТ-13 / Д.П.Севбо, С.Н.Трусов, А.Ю.Малахова, Г.А.Гицу, Ф.С.Михайлицын // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2010. №2. С.45; Севбо Д.П. Получение и изучение
5 противогименолепидозной активности соединения МСТ-25 / С.Н.Трусов, Ф.С.Михайлицын, Д.П.Севбо, А.Ю.Малахова, В.Ю.Подушкин // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2011. №2. С.43], но имеют более низкую токсичность по сравнению с РОНТАНОКСОМ (С-4: ЛД₅₀>250 мг/кг; С-5: ЛД₅₀>700
10 мг/кг).

Соединение 5 (прототип) является наиболее близким по структуре и активности заявляемому соединению 1 (С-1).

Задачей изобретения является увеличение антигельминтной активности при гименолепидозе при сохранении достаточно низкой токсичности и расширение
15 арсенала средств воздействия на живой организм.

Поставленная задача реализуется новым производным салициланилида формулы 1. Соединение 1 получают следующим образом.

Пример 1. Получение N-(3-хлор-4-пропилоксифенил)-3,5-дихлор-салициламида.

20 1.1. Получение 3-хлор-4-пропилоксанилина:

К раствору 10 г 3,4-дихлорнитробензола в 50 мл пропанола-1 при температуре от 40 до 45°C и перемешивании в течение пяти часов постепенно прибавляют раствор пропилата натрия, полученного из 1,2 г металлического натрия и 20 мл пропанола-1. Полноту прохождения реакции контролируют определением значения рН пробы
25 реакционной массы водой 1:1 (рН должно быть в пределах от 7,5 до 8). Критерием окончания реакции является отсутствие 3,4-дихлорнитробензола при хроматографическом контроле реакционной массы. После окончания реакции массу отфильтровывают от остатков натрия хлорида и отгоняют пропиловый спирт под вакуумом. К оставшейся густой желто-оранжевой жидкости прибавляют 20 мл
30 толуола и вновь отгоняют под вакуумом. Продукт представляет собой маслянистую массу. По данным анализа ГЖХ с масс-селективным детектором масс-спектр, m/z 215 (M⁺), соответствует 3-хлор-4-пропилоксинитробензолу с содержанием не менее 96,5%. Содержимое емкости растворяют в 50 мл толуола, смешивают этот раствор с 50,0 г
35 чугунных стружек и раствором 35 г аммония хлорида в 100 мл воды и нагревают при перемешивании в течение 6 часов. Окончание реакции определяют методом ТСХ по исчезновению исходного нитропроизводного в толуольном слое. Затем массу охлаждают, отделяют слой толуола, а оставшуюся реакционную массу фильтруют под
40 вакуумом, отделяют толуольный раствор аминопроизводного от водного слоя на воронке. Полученные толуольные вытяжки объединяют и фильтруют в колбу для отгонки. Толуол удаляют в вакууме, а остаток переносят кипящим бензолом в стакан для кристаллизации. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают бензолом и сушат при 40-50°C, получают 5,14 г 3-хлор-4-пропилоксанилина, хроматографически
45 однородного с т.пл. 52-53°C. Общий выход по стадиям 65,0%.

Анализ выполняют методом ГЖХ с масс-селективным детектором. Масс-спектр, m/z: 185(M⁺), соответствует полученному соединению.

1. 2. Получение N-(3-хлор-4-пропилоксифенил)-3,5-дихлорсалицил-амида(С-1):

50 К смеси 6,8 г 3,5-дихлорсалициловой кислоты, 150 мл толуола, 3,4 г 3-хлор-4-пропилоксанилина добавляют 0,96 мл треххлористого фосфора. Реакционную массу кипятят в течение 2 часов, затем упаривают на 1/2 объема, а остаток переливают в стакан для кристаллизации. Выделившийся осадок отфильтровывают и

промывают 5%-ным раствором натрия гидрокарбоната для удаления остатков 3,5-дихлорсалициловой кислоты. Получают 4,5 г вещества С-1 (выход 66%).

Таким образом, из известной 3,5-дихлорсалициловой кислоты и 3-хлор-4-пропилоксианилина получают фенилсалициламид (С-1) с т.пл. 153-154°C (из бензола), который содержит не менее 96% основного вещества (по данным ВЭЖХ).

ВЭЖХ-анализ выполнялся на приборе Shimadzu LC-20 в режиме градиентного элюирования смесью 0,1% фосфорная кислота - ацетонитрил на колонке Zorbax Eclips SB-C182.1* с параметрами: 155 mm, 5 mkm, 40°C, автосамплер, SU-20А, объем пробы 10 мкл. Время удерживания в этих условиях составило 16,4 минуты - характерное для большинства фенилалкиламидов. В ИК-спектре (снимали в таблетках калия бромида) данного образца имеются полосы поглощения, характерные для фенольного гидроксила $\nu_{\text{O-H}}=3420 \text{ см}^{-1}$; $\nu_{\text{N-H амид}}=3310 \text{ см}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O амид}}=1630 \text{ см}^{-1}$. ПМР-спектр, снятый на приборе $^1\text{H NMR}$ (400 МГц, DMSO) полностью соответствует строению (С-1): $\delta=12,92$ м.д. (s, 1H) от фенольного гидроксила; $\delta=10,55$ м.д. (s, 1H) N-H амидный; $\delta=8,12$ м.д. (d, J=2,0 Hz 1H) и $\delta=7,8$ м.д. (d, J=2,2 Hz 1H) - два метапротона 3,5-дихлорсалицилата; $\delta=7,7$ м.д. (s, 1H), $\delta=7,57$ м.д. (dd, J=8,9; 2,2 Hz 1H), $\delta=7,12$ м.д. (d, J=9,0 Hz, 1H) - три протона фениламида; $\delta=4,02$ м.д. (t, J=6,3 Hz, 2H), $\delta=1,86-1,75$ м.д. (m, 2H), $\delta=1,05$ м.д. (t, J=7,4 Hz, 3H) - протоны пропилоксигруппы.

Полученный таким образом салициламид (С-1), представляющий собой белый порошок, растворимый в диоксане, умеренно в спирте, толуоле, нерастворимый в воде, непосредственно использовался для определения острой токсичности и антигельминтной активности (см. примеры 2, 3).

Фармакологические исследования.

Пример 2. Оценка острой токсичности.

Определение острой токсичности (расчет однократной полулетальной дозы - ЛД₅₀) проводили на мышах по экспресс-методу Прозоровского [Прозоровский В.Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В.Б.Прозоровский, М.П.Прозоровская, В.М.Демченко // Фармакология и токсикология, 1978. №4. С.497-502].

Термин «эффективная доза» относится к количеству средства для лечения или профилактики состояния, которое может лечиться введением композиции на основе данного вещества. Указанное количество является количеством, достаточным для проявления заметного терапевтического, профилактического или облегчающего эффекта. Конкретное эффективное количество для субъекта будет зависеть от массы тела, природы и тяжести состояния, подлежащего лечению. Для корректного сравнения с базовым препаратом предлагаемое средство задавали однократно в сравнимых дозах от 0,5 г/кг до 0,063 г/кг.

В эксперименте были использованы беспородные белые мыши массой тела 19-22 г в возрасте 10-12 недель к моменту введения исследуемого соединения. В опытные группы отбирали по 3-6 мышей без отклонений во внешнем виде и с отклонениями по массе. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер.

Острую токсичность соединения 1 исследовали в широком диапазоне доз от 100 до 1580 мг/кг при введении суспензии С-1 в 1%-ном крахмальном клейстере однократно внутрибрюшинно. При выборе доз ориентировались на максимальный объем жидкости, допустимый при внутрибрюшинном введении мышам. Состояние мышей оценивали в течение первого часа, а также через 1, 3 и 7 суток после введения. Критериями оценки острой токсичности служили: число павших животных, сроки их гибели, ЛД₅₀ через 24-72 часа, картина интоксикации. Учет гибели и общего состояния

животных проводили один раз в день ежедневно на протяжении всего опыта.

Токсичность заявляемого соединения ($LD_{50} > 500$ мг/кг), что значительно ниже, чем у С-3 ($LD_{50}=178$ мг/кг) [Бурякина А.В. Острая токсичность ронтанокса, обладающего антигельминтной активностью / А.В.Бурякина, Ф.С.Михайлицын, Д.П.Севбо, А.Ю.Малахова, С.Н.Трусов // Российский паразитологический журнал. 2011. №1. С.108-111].

Пример 3. Оценка антигельминтной активности:

Оценка антигельминтной активности заявляемого соединения С-1 была проведена на экспериментальной модели цестодозов - гименолепидоза (белые мыши, инвазированные *Hymenolepis nana* в дозе 200 инвазированных яиц на животное), соединения использовали в микронизированном виде с величиной частиц 10-15 мкм (получено методом размола). На каждую испытываемую дозу веществ использовали по 8 мышей, вводили в крахмальном клейстере перорально, однократно на 13 день после заражения. Результаты опыта учитывали через сутки после лечения по числу животных, полностью освободившихся от инвазии (см. таблицу).

Результаты исследований

Результаты испытаний антигельминтной активности заявляемого соединения С-1 при цестодозе на экспериментальной модели *Hymenolepis nana* свидетельствуют о том, что препарат высокоэффективен в исследуемом диапазоне доз (см. таблицу).

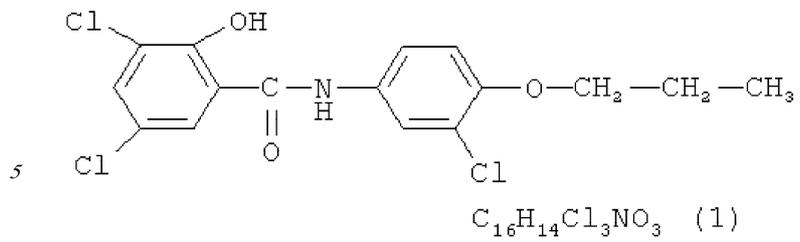
Базовый препарат - ФЕНАСАЛ не обладает противоцестодозной активностью в дозе 250 мг/кг, 125 мг/кг, а заявляемое соединение 1 (С-1) в таких же дозах показал 100%-ную эффективность и проявил достоверную активность в дозе 0,063 мг/кг. Таким образом, результаты оценки антигельминтного действия заявляемого средства показывают, что С-1 значительно эффективнее по антигельминтному действию по сравнению с препаратом ФЕНАСАЛ. Заявляемое соединение 1 является менее токсичным по сравнению с С-3, С-4 и более эффективным по сравнению с С-3, С-4 и С-5.

Указанное свойство позволяет предполагать возможность применения заявляемого соединения в медицине и ветеринарии.

Таблица		
Результаты испытаний антигельминтной активности (модель <i>Hymenolepis nana</i>) соединения С-1 в сравнении с С-3, С-4, С-5 и с фенасалом (препаратом сравнения).		
Соединение	Доза, г/кг	Эффективность лечения - % животных (мыши), полностью освободившихся от цестод
Фенасал (С-2)	1,0	100
	0,5	62
С-4	0,5	100
	0,25	0
С-3	0,5	Гибель всех животных
	0,25	100
	0,125	83
Прототип (С-5)	0,5	100
	0,25	100
	0,125	0
Заявляемое соединение (С-1)	0,25	100
	0,125	100
	0,063	40,8

Формула изобретения

N-(3-Хлор-4-пропилоксифенил)-3,5-дихлорсалициламид формулы 1



обладающий антигельминтной активностью.

10

15

20

25

30

35

40

45

50