



(51) МПК
C07F 9/40 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011115502/04, 19.04.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 19.04.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 19.04.2011

(45) Опубликовано: 27.07.2012 Бюл. № 21

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: RU 2137750 C1, 20.09.2009. RU 2008902 C1,
 15.03.1994.

Адрес для переписки:

420088, Республика Татарстан, г.Казань, ул.
 ак. Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова
 КазНЦ РАН, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Бузыкин Борис Иванович (RU),
 Набиуллин Вазих Нурулаевич (RU),
 Миронов Владимир Федорович (RU),
 Честнова Регина Валерьевна (RU),
 Гараев Рамил Суфияхметович (RU),
 Кашапов Ленар Рамилович (RU),
 Миронова Екатерина Владимировна (RU),
 Татаринов Дмитрий Анатольевич (RU),
 Костин Антон Алексеевич (RU)

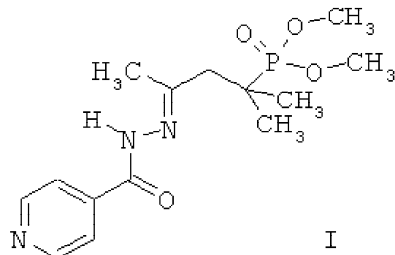
(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 учреждение науки Институт органической и
 физической химии им. А.Е. Арбузова
 Казанского научного центра Российской
 академии наук (RU)

(54) ИЗОНИКОТИНОИЛГИДРАЗОН ДИМЕФОСФОНА, ОБЛАДАЮЩИЙ
 ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к соединению с противотуберкулезной активностью - изоникотиноилгидразону димефосфона формулы I для применения в медицине и ветеринарии.



Предложено новое биологически активное соединение, обладающее высокой противотуберкулезной активностью (МИК=10 мкг/мл), низкой токсичностью (2005±59,6 мг/кг) и не проявляющее симптомов нейротоксического действия. 1 з.п. ф-лы, 2 ил., 2 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07F 9/40 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2011115502/04, 19.04.2011

(24) Effective date for property rights:
19.04.2011

Priority:

(22) Date of filing: 19.04.2011

(45) Date of publication: 27.07.2012 Bull. 21

Mail address:

420088, Respublika Tatarstan, g.Kazan', ul. ak.
Arbuzova, 8, IOFKh im. A.E. Arbuzova KazNTs
RAN, patentnyj otdel

(72) Inventor(s):

**Buzykin Boris Ivanovich (RU),
Nabiullin Vazikh Nurulaevich (RU),
Mironov Vladimir Fedorovich (RU),
Chestnova Regina Valer'evna (RU),
Garaev Ramil Sufiakhmetovich (RU),
Kashapov Lenar Ramilovich (RU),
Mironova Ekaterina Vladimirovna (RU),
Tatarinov Dmitrij Anatol'evich (RU),
Kostin Anton Alekseevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

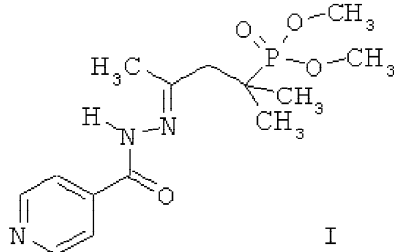
**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut organicheskoy i
fizicheskoy khimii im. A.E. Arbuzova Kazanskogo
nauchnogo tsentra Rossijskoj akademii nauk (RU)**

(54) DIMEPHOSPHONE ISONICOTINOYLHYDRAZONE WITH ANTI-TUBERCULOSIS ACTIVITY

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

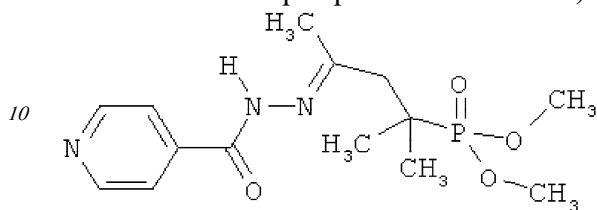
SUBSTANCE: present invention refers to a compound with anti-tuberculosis activity - dimephosphone isonicotinoylhydrazone of formula I to be applied in medicine and veterinary science.



EFFECT: what is offered is a new biologically active compound possessing high anti-tuberculosis activity (MIC=10 mcg/ml), low toxicity (2005±59,6 mg/kg) and manifesting no signs of neurotoxic action.

2 cl, 2 dwg, 2 tbl

Изобретение относится к области органической химии, в частности к синтезу новых химических соединений с практически полезными свойствами, конкретнее к новым производным известных лекарственных препаратов изониазида и димефосфона. В данной заявке предлагается изоникотиноилгидразон димефосфона формулы I (название по системе ИЮПАК - изоникотиноилгидразон диметилового эфира 4-кето-2-метилпент-2-илфосфоновой кислоты):



I,

обладающий низкой токсичностью и достаточно высокой противотуберкулезной активностью. Заявляемое соединение может найти применение в медицине и ветеринарии. Его свойства и способ получения в литературе не описаны.

Туберкулез является социальной проблемой, отражающей, прежде всего, социально-экономический уровень жизни населения страны, а также степень развития здравоохранения. Ежегодно он уносит 2,9 миллиона человеческих жизней. Распространение туберкулеза набирает темпы, и эпидемическая ситуация ухудшается во всем мире. Легочный туберкулез у взрослых людей ответственен за 80% клинических случаев и почти 100% за передачу инфекции. По данным медицинской статистики к 2020 году будет инфицировано около 1 млрд. людей, причем 200 млн. заболеют и 70 млн. умрут, если не усилить контроль над распространением этого социально-опасного заболевания [1. В.В. Маньковский, Е.Г. Щекина.

Туберкулостатики - сегодня и завтра. Провизор, 2002, 10; 2. R.L. Hunter, L. Armitige, C. Jagannath, J.K. Actor. TB Research at UT-Houston - A review of cord factor: new approaches to drugs, vaccines and the pathogenesis of tuberculosis. Tuberculosis, 2009, vol.89, S1, S18-S25; 3. Z.C. Chroneosa, K. Middea, Z.S. Chroneosa, C. Jagannath. Pulmonary surfactant and tuberculosis. Tuberculosis, 2009, vol.89, S1, S10-S14; 4. J.E. Galagan, P. Sisk et al. TB database 2010: Overview and update. Tuberculosis, 2010, vol 90, 225-235].

Туберкулез остается большой угрозой, в то время как устойчивость микобактерий к лекарствам продолжает увеличиваться. Известно, что микобактерии отличаются сложным строением клеточной мембраны, препятствующей проникновению терапевтических агентов, существованием латентных, «дремлющих», форм, а также способностью вырабатывать резистентность. Поэтому, несмотря на усилия многочисленной армии исследователей во всем мире, в настоящее время задача поиска новых антитуберкулезных препаратов остается нерешенной. Это приводит к тому, что туберкулез занимает первое место в структуре смертности больных с инфекционными заболеваниями [5. Л.А. Каюкова, К.Д. Пралиев. Основные направления поиска новых противотуберкулезных средств. Хим.-фарм. журнал, 2000. Т.34, №1. стр.12-19; 6. К.Е.А. Loughed, D.L. Taylo, S.A. Osborne, J.S. Bryans, R.S. Buxton. New anti-tuberculosis agents amongst known drugs. Tuberculosis, 2009, vol 89, S1, S5-S9].

Особую угрозу для больных представляют резистентные и мультирезистентные (MDR) штаммы, последние устойчивы одновременно к нескольким лекарственным препаратам. Заболевания, вызванные MDR-штаммами M. tuberculosis, имеют остро прогрессирующий характер и плохо поддаются лечению

существующими препаратами, поэтому необходим поиск новых соединений обладающих противотуберкулезной активностью.

По рекомендации ВОЗ основу антимикобактериальной терапии составляет специальный направленный краткосрочный курс химиотерапии (DOTS), ключевыми противотуберкулезными препаратами которого являются изониазид, рифампицин, пиразинамид, стрептомицин и этамбутол. Однако необходимо иметь в виду факторы, ограничивающие применение существующих терапевтических средств: (1) устойчивость некоторых штаммов микобактерий к применяемым противотуберкулезным препаратам, в том числе и к изониазиду; (2) серьезные побочные эффекты, вызываемые при продолжительном лечении данными препаратами; и (3) отсутствие эффективного лечения туберкулеза у ВИЧ-инфицированных пациентов [7. Пресс-релиз международной конференции "Разработка противотуберкулезных терапевтических агентов нового поколения. Проблемы, подходы, перспективы" ЦВТ ХИМРАР, Химки, Московская обл., 28.12.2006, chemrar.ru; 8. R.C. Goldman, B.E. Laughon. Discovery and validation of new antitubercular compounds as potential drug leads and probes. Tuberculosis. 2009, vol 89, 331-333; 9. D.A. Mitchison, P.B. Fourie. The near future: Improving the activity of rifamycins and pyrazinamide. Tuberculosis 2010, vol 90, 177-181].

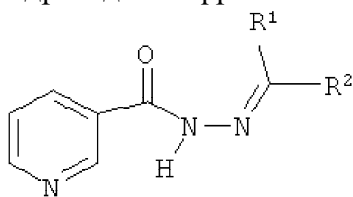
Существует большое количество противотуберкулезных препаратов, и их современная классификация основана на эффективности их влияния на возбудителя: наиболее эффективные препараты: изониазид (ГИНК, тубазид) и антибиотик рифампицин; препараты средней эффективности: антибиотики стрептомицин, канамицин, флоримицин (виомицин), циклосерин, химиопрепараты этамбутол, этионамид, протионамид, пиразинамид (тизамид) и препараты умеренной эффективности: ПАСК (пара-амино-салициловая кислота), тибон (тиоцетазон).

Кроме монотерапии широкое распространение получили комбинированные методы лечения туберкулеза, когда проводят комбинацию противотуберкулезных препаратов или добавляют вещества, сами не обладающие антитуберкулезной активностью, но дающие положительный эффект или за счет снижения токсичности [10. A.M.Ginsberg. Tuberculosis drug development: Progress, challenges, and the road ahead. Tuberculosis, 2010, vol 90, 162-167] или за счет других факторов. Например, димефосфон улучшает кровоснабжение сосудов легких [11. В.Г. Малышев, И.В. Федоскин. Влияние димефосфона на гомеостаз организма. М.: Наука. 2007. 215 с.; 12. В.Г. Малышев, И.В. Федоскин. Применение димефосфона в медицине (фармаколитические, патогенетические и клинические аспекты). М.: Наука, 2008, 172 с.]. Кроме того, димефосфон усиливает рост микобактерий туберкулеза, снижая при этом устойчивость микобактерий к антибиотику рифампицину и тем самым помогая лечению [13. Патент РФ 2008902, опубл. 15.03.1994].

Несмотря на наличие большого количества противотуберкулезных средств изониазид (тубазид), представляющий собой гидразид изоникотиновой кислоты, является лучшим из существующих препаратов и входит в состав практически всех схем профилактики и лечения туберкулеза животных и людей [10, 14. А.А. Визель. Лечение туберкулеза органов дыхания. Казань, ГПВЭО «Саламат», 1998, 119 с.; 15. М.Д. Машковский. Лекарственные средства. Т.2. Харьков, 1998, с.331-333; 16. Ю.И. Смолянинов, Н.Н. Кошечев Специфическая профилактика туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота. // Сб. науч. тр. ВНИИБТЖ. - Омск, 2001: Инфекционная патология животных, с.168-170].

Наиболее близкими по структуре, по способу получения и по биологической

активности к заявляемому изоникотиноилгидразону димефосфона являются производные изониазида общей формулы (II), такие как фтивазид (IIa), салюзид (IIб), ИНГА-17 (IIв) и ларусан (IIг), содержащие при терминальном атоме азота гидразидного фрагмента остаток соответствующего карбонильного соединения:



II а-г

фтивазид (IIa), $R^1=H$, $R^2=4\text{-HO-3-H}_3\text{COC}_6\text{H}_3$;

салюзид (IIб), $R^1=H$, $R^2=2\text{-HOOC-3,4-(H}_3\text{CO)}_2\text{C}_6\text{H}_2$;

ИНГА-17 (IIв), $R^1=H$, $R^2=4\text{-H}_3\text{C(=O)NHC}_6\text{H}_4$;

ларусан (IIг), $R^1=\text{CH}_3$, $R^2=-\text{CH}=\text{CH-Furyl-2}$

Фтивазид (IIa), салюзид (IIб), ИНГА-17 (IIв) и ларусан (IIг) ранее были предложены как антитуберкулезные препараты с меньшей токсичностью, чем у изониазида [1, 14, 15]. Однако с уменьшением токсичности у приведенных производных изониазида IIa-г уменьшилась и антитуберкулезная активность и наибольшее применение из них получил только фтивазид (IIa), близкий по активности к изониазиду. Например, для ларусана МИК составляет 1.57 мкг/мл [17. Г.П. Беспямятнов, Ю.А. Кротов.

Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. Ленинград, «Химия», Ленинградское отделение, 1985, с.157] по сравнению с 0.1-0.6 мкг/мл для изониазида. Для фтивазида МИК оценивается около 1 мкг/мл, а токсичность его мене 100 мг/кг [18. А.В. Сыроешкин, Н.А. Степанова, П.И. Попов, А.В. Балышев, Т.В. Плетнева. Прогнозирование токсичности химических соединений группы противотуберкулезных лекарственных средств методом количественных корреляций структура-активность. СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА, 2009, №4, 28-31].

Изониазид продолжает широко использоваться в химиотерапии туберкулеза, хотя он и является токсичным препаратом, а некоторые штаммы, например H_{37}R_v , быстро приобретают резистентность к нему. Так С.П. Булавин относит его к высокотоксичным соединением (для мышей - LD_{50} равна 178.0 ± 6.79 мг/кг массы) [19. С.П. Булавин. Фармакологическая характеристика тубазида. // Бюл. ВИЭВ. М., 1982. Вып.48, с.61-62], а в справочнике Г.П. Беспямятнова и Ю.А. Кротова токсичность изониазида оценивается как LD_{50} 150 мг/кг [17].

Известно, что изониазид и его производные IIa-г, используемые для профилактики и лечения туберкулеза, не только токсичны, но и не свободны от ряда побочных эффектов [15, 20. A. Lee, et al. Novel mutations in isoniazidresistant Myco-bacterium tuberculosis isolates. Antimicrob Agents Chemother, 200, vol. 145, 2157-2159; 21. Isoniazid. Tuberculosis 2008, vol 88, n 2, 112-116]. Как фармакологические средства они способны вызывать изменение показателей обмена веществ и структурно-функционального состояния органов и систем, а при передозировке могут приводить к отравлениям и даже к летальному исходу [22. Л.А. Саджа. Биохимическое обоснование путей снижения гепатотоксичности изониазида на основе сочетания с полисахаридами: Автореф. дис. канд. фарм. наук., Пятигорская гос. фарм. академия. Пятигорск, 1999, 21 с.]. Важно отметить, что токсичность изониазида связана в основном с его метаболитами [23. Н.П. Скакун, В.В. Шманько. Сущность гепатотоксического

действия изониазида. [Врачебное дело, 1984, №1, с.49-52], поэтому синтез аналога изониазида, возможно, с другим типом метаболизма, приводящим к снижению токсичности, вызывает особый интерес и является перспективной задачей.

В связи с тем, что изониазид относится к достаточно токсичным препаратам, а его аналоги типа Па-г, как и он, обладают рядом не желательных побочных эффектов, то поиск соединений с лучшим терапевтическим индексом является актуальной задачей, в том числе и среди новых аналогов изониазида.

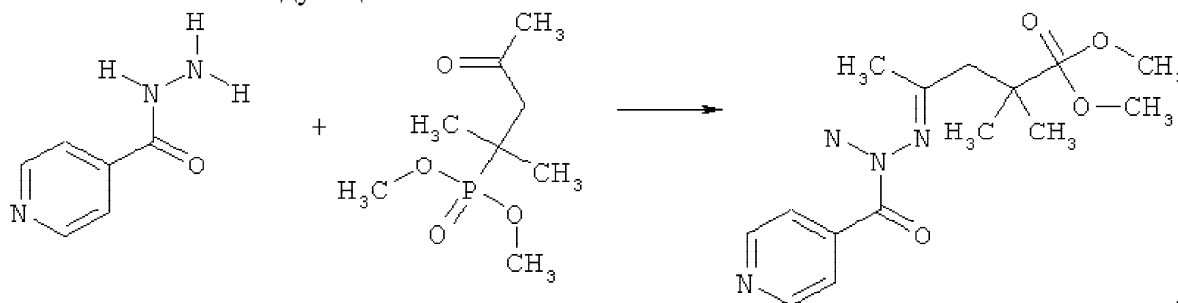
Задача изобретения - новое менее токсичное производное изониазида, обладающее противотуберкулезным действием, расширяющее арсенал известных средств указанного назначения.

Технический результат предлагаемого изобретения заключается в снижении токсичности при достаточно высокой противотуберкулезной активности.

Технический результат достигается предлагаемым новым соединением, а именно изоникотиноилгидразоном димефосфона формулы I.

Сущность способа получения заявляемого соединения заключается во взаимодействии гидразида изоникотиновой кислоты с диметилловым эфиром 4-кето-2-метилпент-2-илфосфоновой кислоты, который является действующим веществом известного медицинского препарата «Димефосфон». «Димефосфон» обладает широким спектром биологической активности [11, 12]. Промышленный выпуск его осуществляется на КПФХО «Татхимфармпрепараты» в г.Казани. Препарат «Димефосфон» имеет широкую область применения в медицине. Он используется с 1983 года в качестве антиацидотического средства при ацидозах различной этиологии, вазоактивного средства при нарушениях мозгового кровообращения, при заболеваниях органов дыхания, препарат проявляет мембрано-стабилизирующие и противовоспалительные свойства, при наружном применении оказывает антисептическое действие, повышает защитные функции кожи и слизистых оболочек. У димефосфона обнаружены еще и кардиотропные, нейротропные, нейропротекторные, антигипоксические, противоаллергические, иммунокорректирующие, антиагрегатные, антиоксидантные и радиопротекторные свойства. Димефосфон предложен для лечения больных аутоиммунным тиреоидитом, для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гнойного гайморита и других заболеваний. Димефосфон относится к фосфорсодержащим соединениям, но обладает не антихолинэстеразной активностью и используется как антидот. [11, 12, 24. Приказ министерства здравоохранения СССР №654 от 30.05.1983 г.].

Синтез предлагаемого изоникотиноилгидразона димефосфона I проводится в соответствии со следующей схемой:



Для лучшего понимания изобретения приводим пример получения заявляемого соединения I и результаты исследования его структуры различными физико-

химическими методами, а также результаты изучения токсичности и антитуберкулезной активности.

Пример конкретного выполнения.

Изоникотиноилгидразон димефосфона (Изоникотиноилгидразон диметилового эфира 4-кето-2-метилпент-2-илфосфоновой кислоты, I)

Смешивают 21.76 г (0.159 моль) гидразида изоникотиновой кислоты, 33.0 г (0.159 моль) диметилового эфира 3-кето-2-метилпент-2-илфосфоновой кислоты (димефосфона), 20 мл метанола и кипятят с обратным холодильником 1 час. Метанол отгоняют на 3/4 объема. После выдерживания в течение двух суток из раствора выпадает в осадок небольшое количество кристаллов, которые отфильтровывают и промывают на фильтре смесью диэтилового эфира и метанола (19:1). Получают 35.0 г (69.2%) изоникотиноилгидразона димефосфона (I) в виде бесцветных (в массе белых) кристаллов с т.пл. 110-115°C (нагревательный столик типа Боэтиуса).

Найдено, %: С 51.36, 51.63; Н 6.61, 6.38; N 12.54, 12.52; Р 9.64, 9.02. $C_{14}H_{22}N_3O_4P$. Вычислено, %: С 51.37; Н 6.77, N 12.83, Р 9.46.

Чистоту полученных образцов контролировали методом ТСХ на пластинках «Silufol». Структура изоникотиноилгидразона димефосфона установлена с использованием нескольких физико-химических методов и рентгеноструктурного анализа:

ИК, FT-IR spectrometer "Vector-22" (Bruker), вазелин, cm^{-1} : 3466, 1684, 1622 сл, 1594 сл, 1540 пл, 1535, 1414 сл, 1330 сл, 1290, 1270 сл, 1249 сл, 1226, 1193 сл, 1169 сл, 1152 сл, 1119 сл, 1057, 1038,

ЯМР спектры, Bruker «Avans 400», δ , м.д.; J, Гц, ДМСО- d_6 :

1H : 1.18 д (6 H, $>CMe_2$, 16.9), 2.01 с (3 H, $=CMe$), 2.51 д (2 H, $>CH_2$, 12.3), 3.69 д (6 H, OMe, 10.2), 8.73 д и 7.74 д (система AX 4-Пу, J 3.5 Гц, $\Delta\nu$ 396 Гц), 10.75 с (1H, NH); ^{31}P 38.6.

На фигуре 1 представлена геометрия молекул изоникотиноилгидразона димефосфона в кристалле.

Проведенное изучение строения и химических свойств изоникотиноилгидразона димефосфона показало, что в кристаллах и в растворах его молекулы существуют в одной геометрической форме относительно кратной связи C=N гидразонного фрагмента и в виде одного конформера относительно амидной связи C(=O)-N. Наличия возможных азоизомера и ен-гидразинных таутомеров не обнаружено.

Заявляемое по данному изобретению соединение I четко отличаются от описанных аналогов изониазида Па-г наличием в своей структуре 2-диметоксифосфорил-2-метилпент-4-илиденового фрагмента.

Изучение бактериостатической активности полученного изоникотиноилгидразона димефосфона (I) в отношении микобактерий туберкулеза штамма H₃₇Rv проводили в Казанском тубдиспансере министерства здравоохранения Республики Татарстан, используя стандартную радиометрическую ростовую систему ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson).

Содержимое пробирки MGIT - это питательный бульон, благодаря которому достигается ускоренный рост микобактерий. Пробирка содержит 7 мл стерильного питательного бульона Мидлбрук 7H9, в который перед использованием вносится обогатительная добавка ВАСТЕС MGIT OADC (олеиновая кислота, альбумин, декстроза и каталаза). Для предотвращения контаминации необходимо добавить MGIT PANTA.

Кроме жидкой среды в пробирке содержится бескислородный флюорохром -

пентагидрат трис-4,7-дифенил-1,10-фенантролин хлорид рутения, помещенный на дно пробирки и покрытый силиконом. Во время бактериального роста внутри пробирки происходит поглощение свободного кислорода и его замещение углекислым газом. По мере расходования свободного кислорода прекращается ингибирование флюорохрома. Флюоресценция становится видимой при облучении пробирки УФ светом и автоматически регистрируется фотодатчиками, встроенными в прибор. Интенсивность свечения прямо пропорциональна уровню расходования кислорода и регистрируется в единицах роста (GU). Система ВАСТЕС MGIT 960 расценивает пробирку как положительную, если количество живых микроорганизмов в ней достигло 100000 на 1 мл среды (GU>75). Пробирка инкубируется при температуре 37 градусов с последующим анализом.

Для определения бактериостатического действия изоникотиноилгидразона димефосфона (I) готовили исходные растворы в воде и добавляли в пробирки MGIT в количествах, обеспечивающих получение конечной концентрации 0.1 мг/мл среды.

Суспензию микобактерий туберкулеза штамма H₃₇Rv в количестве 1 мкг добавляли в каждую из исследуемых пробирок. В качестве контроля использовали индивидуальные пробирки со средой радиометрической системы ВАСТЕС MGIT 960 с культурой микроорганизмов без содержания химических соединений, а также с физиологическим раствором. Для сравнения проводили аналогичные исследования с туберкулоstaticом первого ряда - изониазидом. МИК использованного образца изониазида составил 1 мкг/мл. Все пробирки инкубировали при 37 С° в приборе. Наличие или отсутствие роста микобактерий прибор регистрировал ежедневно в течение 11 суток. Результаты анализа бактериостатического действия заявляемого соединения на приборе ВАСТЕС MGIT 960 приведены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 следует, что заявляемое соединение I обладают выраженным бактериостатическим действием в отношении микобактерий в достаточно низкой концентрации - 10 мкг/мл водного раствора. В этой концентрации изоникотиноилгидразон димефосфона (I) полностью подавляет рост возбудителей туберкулеза в течение 6 суток и только на седьмые сутки рост микобактерий достигал отметки 10 GU.

В контрольных пробирках №1 (среда с содержанием микобактерий туберкулеза) и №2 (среда с добавлением физиологического раствора и микобактерий туберкулеза) отмечался обильный рост микобактерий уже на 2 сутки, на 3 сутки он достигал отметки 216 GU и 116 GU соответственно

По результатам исследования заявляемого соединения на ВАСТЕС MGIT 960 концентрацию - 10 мкг/мл водного раствора можно принять за минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) изоникотиноилгидразона димефосфона (I).

Изучение общетоксического действия изоникотиноилгидразона димефосфона (I).

Острую токсичность заявляемого изоникотиноилгидразона димефосфона (I) определяли на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном способе введения [25. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. М.: Медицина. 2005. Под ред. Р.У. Хабриева]. Результаты исследований обрабатывали по методу Беренса [26. Л.М. Беленький. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963.]. Пяти группам мышей (по 6 животных в каждой) вводили водные растворы препаратов, приготовленные стерильно непосредственно перед введением.

Изоникотиноилгидразон димефосфона (I) представляет собой кристаллы, хорошо растворимые в воде. Соединение I вводили в разных дозах с равными интервалами

между ними: 1600 мг/кг; 1800 мг/кг; 2000 мг/кг; 2200 мг/ кг и 2400 мг/кг, после чего вели наблюдение за поведением животных, регистрировали число погибших.

При наблюдении над животными было установлено, что после инъекции исследуемого изоникотиноилгидразона димефосфона (I) у животных после 3-5 минутного двигательного возбуждения постепенно развивается нарушение дыхания, на фоне которого они погибают в течение 1-х суток. Выжившие животные через сутки практически не отличаются от контрольных (интактных) животных.

Клиника интоксикации изониазидом (возможный продукт гидролиза изоникотиноилгидразона димефосфона (I)) изучена на 6 мышах при внутрибрюшинном способе введения в дозе 150 мг/кг. По литературным данным ЛД₅₀ составляет 151±6,9 [17]. Установлено, что в указанной концентрации исследуемое вещество оказывает местно-раздражающее действие, вызывая симптомы «корчи» (втягивание живота, периодические изгибания тела, а через 55-65 мин после инъекции препарата у мышей развиваются бурные клонико-тонические судороги (нейротоксическое действие). Нейротоксическое действие изониазида связывают с нарушением синтеза в структурах центральной нервной системы тормозного медиатора гамма-аминомасляной кислоты [19].

Заявляемый изоникотиноилгидразон димефосфона (I) в отличие от изониазида не вызывает симптомов нейротоксического действия при остром отравлении экспериментальных животных.

Цифровые данные по оценке токсичности изоникотиноилгидразона димефосфона (I) приведены в таблице 2, а результаты их обработки графическим методом Беренса приведены на фиг.2, где по оси абсцисс - дозы в мг/кг, по оси ординат - летальность в процентах. Из графика рассчитано, что средне-смертельная доза (ЛД₅₀) заявляемого изоникотиноилгидразона димефосфона (I) составляет 2005±59,6 мг/кг.

Таким образом, новое производное изониазида - заявляемое соединение изоникотиноилгидразон димефосфона (I) - в 13.4 раза менее токсично по сравнению с изониазидом, к тому же оно очень хорошо растворимо в воде и не проявляет симптомов нейротоксического действия. Изоникотиноилгидразон димефосфона (I) немного уступает по противотуберкулезной активности изониазиду, но несколько превосходит его по широте действия (в данном случае соотношение «активность-минимальная ингибирующая концентрация соединения», LD₅₀/МИК). У используемого в качестве контроля образца изониазида это соотношение составляет 178, а у изоникотиноилгидразона димефосфона (I) - 200. Кроме того, заявляемое соединение не уступает другому антитуберкулезному препарату первого ряда - пипразинамиду (МИК=12 мкг/мл).

Таблица 1									
Результаты анализа бактериостатической активности изоникотиноилгидразона димефосфона (I) на приборе ВАСТЕС MGIT 960									
Концентрация мкг/мл	Сутки								
	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0.1	-	5	15	20	25	29+			
0.5	-	-	-	15	25	30+			
1.0	-	-	-	-	25	30	35	35+	
5.0	-	-	-	-	15	15	28	28	30+
10.0	-	-	-	-	10	10	16	16	16
20.0	-	-	-	-	10	10	10	10	10

Параметры токсичности изоникотиноилгидразона димефосфона (I)

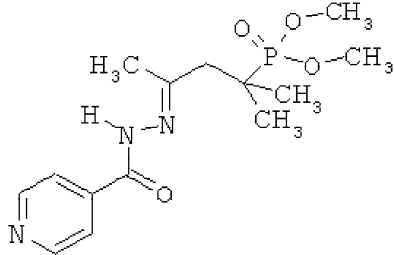
Доза I, мг/кг	Факт. рез-т		Накопл. част.		% погибших
	Погиб.	Живые	Погиб.	Живые	
1600	0	6	0	16	0
1800	1	5	1	10	9.1
2000	3	3	4	5	44.4
2200	4	2	8	2	80.0
2400	6	0	14	0	100

10

Формула изобретения

1. Изоникотиноилгидразон димефосфона формулы (I):

15



20

I

2. Изоникотиноилгидразон димефосфона по п.1, обладающий противотуберкулезной активностью.

25

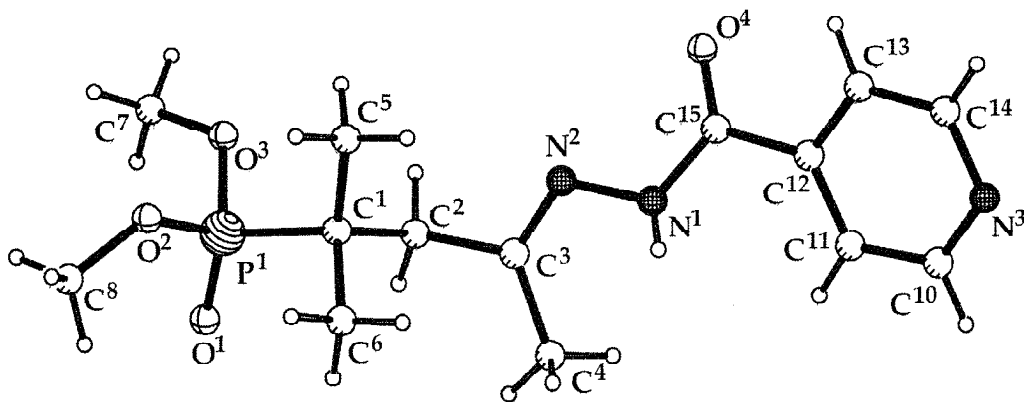
30

35

40

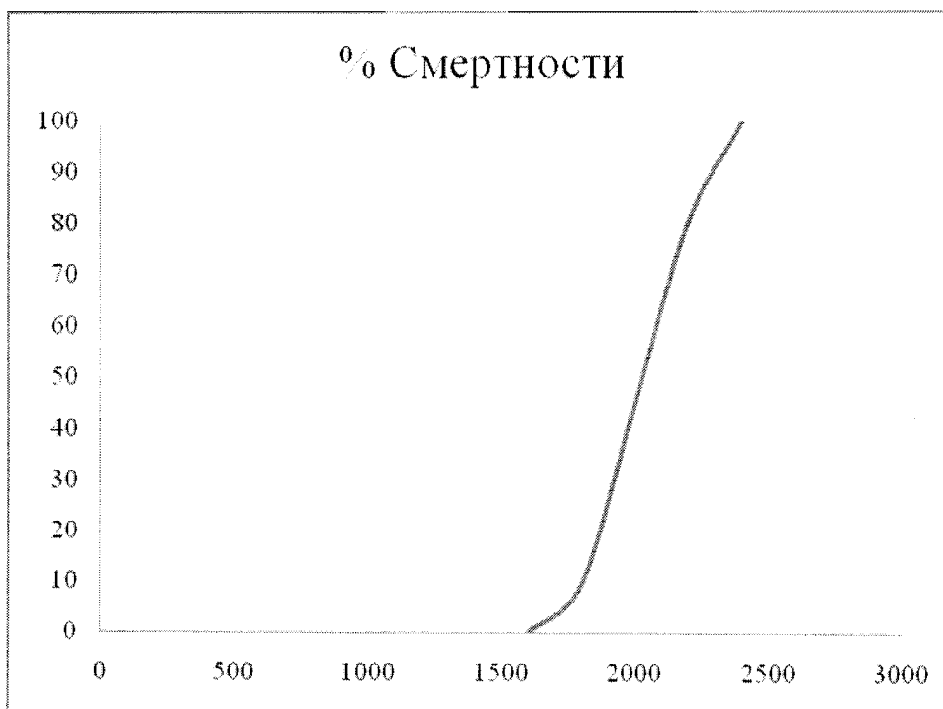
45

50



Геометрия молекул изоникотиноилгидразона димефосфона
в кристалле.

Фиг. 1



Результаты обработки токсичности методом Беренса.
Фиг. 2