



(51) МПК
C07D 231/56 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012112102/04, 28.03.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 28.03.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.03.2012

(45) Опубликовано: 20.06.2013 Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: DE 2630015 A1, 27.01.1977.

МИХАЙЛОВСКИЙ А.Г. и др. 2-
 Ароилциклогексаноны в синтезе азолов. -
 Химия гетероциклических соединений, 2010,
 №6, с.905-911. US 6083969 A, 04.07.2000.
ГЕЙН В.Л. и др. Синтез и противомикробная
 активность замещенных
 тетрагидроиндазолов и циклогексанонов. -
 Химико-фармацевтический журнал, 2007, т.4,
 №6, с.31-34.

Адрес для переписки:

614990, г.Пермь, ул. Букирева, 15 ПГУ,
 пат.пов. А.А. Онорину, рег.№ 126

(72) Автор(ы):

**Пантюхин Алексей Александрович (RU),
 Баландина Светлана Юрьевна (RU),
 Александрова Галина Арсентьевна (RU),
 Махмудов Рамиз Рагибович (RU),
 Михайловский Александр Георгиевич (RU),
 Першина Наталья Николаевна (RU),
 Вахрин Михаил Иванович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

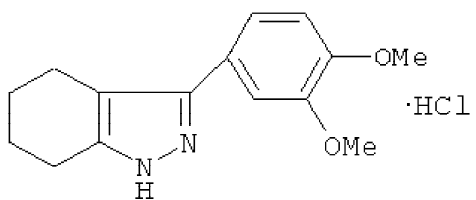
**Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования "Пермский
 государственный национальный
 исследовательский университет" (RU),
 Государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования "Пермская
 государственная фармацевтическая
 академия" Министерства здравоохранения и
 социального развития Российской
 Федерации (RU)**

(54) 3-(3,4-ДИМЕТОКСИФЕНИЛ)-4,5,6,7-ТЕТРАГИДРОИНДАЗОЛА ГИДРОХЛОРИД,
 АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЕ И ПРОТИВОМИКРОБНОЕ СРЕДСТВО

(57) Реферат:

Изобретение относится к области органической химии, а именно к новому биологически активному соединению класса индазола: 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлориду (I), имеющему приведенную ниже формулу. Заявляемое соединение проявляет анальгетическую активность в дозе, почти в 2 раза меньшей, чем анальгин, превосходя его при этом по уровню действия. Кроме того, оно проявляет высокую бактериостатическую активность в отношении *Staphylococcus aureus* (3,8 мкг/мл) и выраженную

бактериостатическую активность в отношении *Staphylococcus epidermidis* (15,6-31,2 мкг/мл), *Staphylococcus saprophyticus* (250 мкг/мл) и грибка *Candida albicans* (500-1000 мкг/мл), а также бактерицидную активность в отношении трех названных видов стафилококков (соответственно 62,5, 500 и 1000 мкг/мл), превосходя по уровню действия фенилсалицилат. Соединение (I) относится к малотоксичным (ЛД₅₀=1500 мг/кг). Кроме того, изобретение относится к анальгетическому и противомикробному средствам, представляющим собой соединение (I). 3 н.п. ф-лы, 2 табл., 2 пр.



I

RU 2485105 C1

RU 2485105 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 231/56 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012112102/04, 28.03.2012**

(24) Effective date for property rights:
28.03.2012

Priority:

(22) Date of filing: **28.03.2012**

(45) Date of publication: **20.06.2013 Bull. 17**

Mail address:

**614990, g.Perm', ul. Bukireva, 15 PGU, pat.pov.
A.A. Onorinu, reg.№ 126**

(72) Inventor(s):

**Pantjukhin Aleksej Aleksandrovich (RU),
Balandina Svetlana Jur'evna (RU),
Aleksandrova Galina Arsent'evna (RU),
Makhmudov Ramiz Ragibovich (RU),
Mikhajlovskij Aleksandr Georgievich (RU),
Pershina Natal'ja Nikolaevna (RU),
Vakhrin Mikhail Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

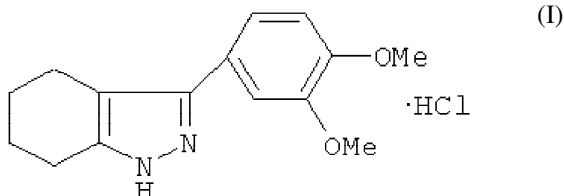
**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovaniya "Permskij
gosudarstvennyj natsional'nyj issledovatel'skij
universitet" (RU),
Gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe
uchrezhdenie vysshego professional'nogo
obrazovaniya "Permskaja gosudarstvennaja
farmatsevticheskaja akademija" Ministerstva
zdravookhraneniya i sotsial'nogo razvitija
Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **3-(3,4-DIMETHOXYPHENYL)-4,5,6,7-TETRAHYDROINDAZOLE HYDROCHLORIDE, ANALGESIC AND ANTIMICROBIAL AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to organic chemistry, namely a new biologically active compound of indazole: 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4,5,6,7-tetrahydroindazole hydrochloride



I

having formula presented above. The declared

compound exhibit analgesic activity, twice less than Analgin and having higher action level. Furthermore, it exhibits high bacteriostatic activity on *Staphylococcus aureus* (3.8 mg/ml) and manifested bacteriostatic activity on *Staphylococcus epidermidis* (15.6-31.2 g/ml), *Staphylococcus saprophyticus* (250 mcg/ml) and the fungus *Candida albicans* (500-1000 mcg/ml) as well as bactericidal activity on these three species of staphylococci (62.5, 500 and 1000 mcg/ml respectively), having higher action level than phenyl salicylate. The compound (I) is referred to low-toxic ($LD_{50}=1500$ mg/kg).

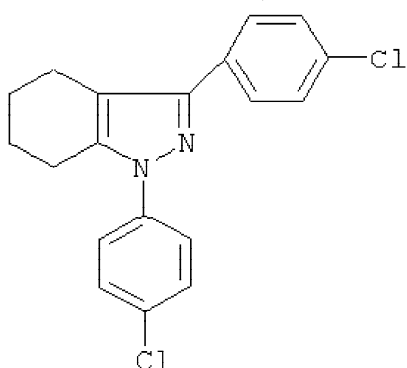
EFFECT: invention refers to analgesic and antimicrobial agents representing the compound (I).

3 cl, 2 tbl, 2 ex

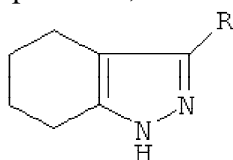
Изобретение относится к области органической химии, а именно новому биологически активному соединению класса индазола: 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлориду, проявляющему анальгетическую и антимикробную активность, что позволяет предложить его использование в медицине в качестве

В практической медицине известен препарат метамизол натрия (анальгин), аналогичный по фармакологическому (анальгетическому) действию [Машковский М.Д. Лекарственные средства, 16-е изд. - М., Новая Волна: издатель Умеренков, 2010, с.164-165]. По антимикробному действию аналогичен препарат фенилсалицилат [там же, с.950-951].

Близкими по структуре к предполагаемым соединениям являются 1,3-диарилциклоалканопиразолы (индазолы), представляющие собой ингибиторы циклооксигеназы и противовоспалительные агенты (см. Ferro M., Sui Z., Wachter M. Preparation of 1,3 and 2,3-diarylcycloalkano and cycloalkeno pyrazoles as selective inhibitors of cyclooxygenase-2 and anti-inflammatory agents, Pat. US 6083969; Chem. Abstracts, 2000, Vol.133, №7, 89521f). Ближайший среди них аналог имеет следующую структуру:



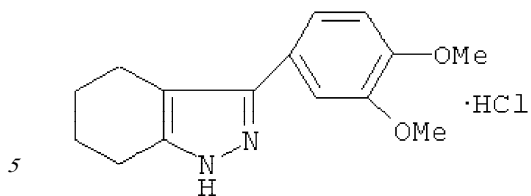
Сведения об анальгетической и антимикробной активности аналогов отсутствуют. Более близкими структурными аналогами к заявляемым соединениям, взятыми за прототип, являются основания общей формулы



где R =n-толил, n-нитрофенил (см. Михайловский А.Г., Алиев З.Г., Базина Н.Г., Пантюхин А.А., Вахрин М.И., 2-Ароилциклогексаноны в синтезе азолов, ХГС, 2010, №6, с.905-911). Их основное отличие по структуре от заявляемого соединения в том, что они содержат другие радикалы и являются основаниями, а не гидрохлоридами. Данных об анальгетической и антимикробной активности этих соединений в литературе не имеется.

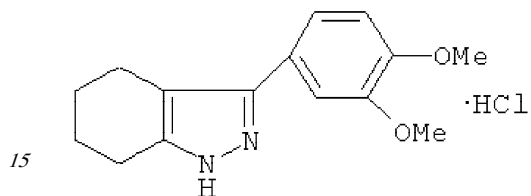
Задачей создания изобретения является расширение арсенала средств воздействия на живой организм.

Поставленная задача решается посредством синтеза 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорида (I) формулы:



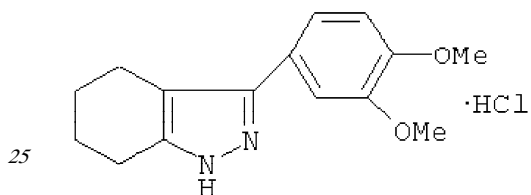
I

10 Поставленная задача решается анальгетическим средством, представляющим собой 3-(3,4-Диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид (I) формулы:



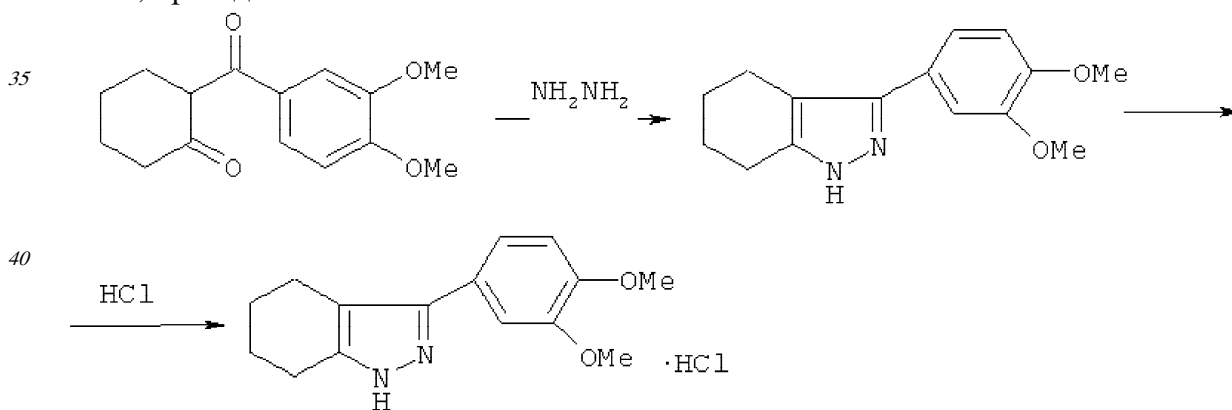
I

20 Поставленная задача решается противомикробным средством, представляющим собой 3-(3,4-Диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид (I) формулы:



I

30 Соединение I получают взаимодействием 2-(3,4-диметоксибензоил)-циклогексанона с гидразингидратом в среде изопропанола при кипячении в течение 30 минут с последующим выделением целевых продуктов известными приемами. Реакция идет по схеме, приведенной ниже.



50 Методика получения исходного дикетона аналогична изложенной нами ранее (см. Михайловский А.Г., Алиев З.Г., Базина Н.Г., Пантюхин А.А., Вахрин М.И. 2-Ароилциклогексаноны в синтезе азолов, ХГС, 2010, №6, с.905-911).

Технический результат, получаемый при реализации изобретения, состоит в получении малотоксичного соединения с высоким выходом и высокой анальгетической и антимикробной активностью. Методика синтеза проста, исходные соединения легкодоступны.

Пример 1. Синтез 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорида (I). К раствору 2.62 г (0.01 моль) 2-(3,4-диметоксибензоил)-циклогексанона в 10 мл кипящего 2-пропанола прибавляли 0.7 мл (15 ммоль) (0.015 моль) 70% раствора гидразингидрата. Смесь кипятили 30 минут, охлаждали до 20°C, разбавляли 100 мл ледяной воды, выпавший осадок отфильтровывали, сушили, растворяли в 150 мл этилацетата и пропусканием сухого газообразного HCl получали гидрохлорид (I), который отфильтровывали, сушили и перекристаллизовывали из 2-пропанола. Выход 67%. T_{пл.} 238-240°C. Соединение I: C₁₅H₁₈N₂O₂·HCl.

Найдено, %: C 60.93; H 6.37; N 9.58; Cl 12.03;

Вычислено, %: C 61.11; H 6.50; N 9.51; Cl 8.93;

Соединение I представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, легко растворимо в ДМСО, ДМФА, хлороформе, трудно растворимо в воде и спирте. Устойчиво при хранении в обычных условиях.

В ИК спектре основания соединения I, снятом в пасте в вазелиновом масле, присутствуют полосы валентных колебаний групп NH индазольного цикла (3250 см⁻¹). Получение основания вещества I: водную суспензию обрабатывают избытком водного раствора аммиака, полученное основание отфильтровывают, тщательно промывая водой, и сушат.

Спектр ПМР гидрохлорида I снят в CDCl₃ (300 МГц), внутренний эталон - ГМДС. Спектр содержит (δ, м.д.): 1.79-1.81 мультиплет, 4H, 5,6-(CH₂)₂; 2.63-2.69 мультиплет, 4H, 4-CH₂ и 7-CH₂; 3.85 с, 3H, (CH₃O) и 3.89 с, 3H, (CH₃O); 6.85-7.10, мультиплет (3H, Ar); 12.63 синглет (2NH⁺).

Фармакологические исследования предлагаемого соединения включают определение острой токсичности, анальгетической и антимикробной активности.

Пример 2. Первичным этапом исследования было изучение соединения (I) на острую токсичность. Токсичность изучали на белых мышах (самках) массой 16-18 гр. при однократном оральном введении. Наблюдение велось в течение 6 суток, ежедневно отмечалось поведение и гибель животных (Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л.: Медгиз, 1963 г.).

Оценку анальгетических свойств изучали на беспородных мышах массой 18-22 грамм методом термического раздражения "горячая пластинка" по Эдди и Леймбах (Eddy N.B., Leimbach D.J.-Pharmacol and Exper. Ther. 1953, 385-393).

Исследуемые препараты вводили внутрибрюшинно в виде взвеси в 2% крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг. У интактных животных латентный период оборонительного рефлекса не превышает 10 сек. Показателем болевой чувствительности служила длительность пребывания животного на горячей пластинке до момента облизывания задних лапок, измеряемая в секундах.

В качестве стандартного препарата использовали метамизол натрия (анальгин). Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1					
Оценка анальгетической активности соединения (I).					
№ п/п	Соединение	Кол-во животных в опыте (n)	Доза и путь введения мг/кг	(ЛД ₅₀), МГ/КГ орально	Время оборонительного рефлекса через 2,5 часа
1.	I	n=10	1500 мг/кг орально	1500.	22,60±1,44
2.	Контроль 2% крахм. слизь	n=6	50 мг/кг, в/б	-	10,75±1,63
3.	Анальгин	n=6	*93 мг/кг (ЕД ₅₀), в/б	*3300	16,33±3,02

*Величины ED_{50} и LD_{50} для анальгина взяты из книги: Сигидин Я.А., Шварц Г.Я., Арзамасцев А.П., Либерман С.С. Лекарственная терапия воспалительного процесса: Экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов. М.: Медицина, 1988. - 240 с.

Как видно из данных таблицы, заявляемое соединение увеличивает время оборонительного рефлекса на $22,60 \pm 1,44$ минуты, что выше, чем у препарата сравнения анальгина ($16,33 \pm 3,02$ минуты). При этом следует учесть, что испытываемая доза анальгина (93 мг/кг) почти в 2 раза превосходит дозу соединения (I) (50 мг/мл). Таким образом, испытываемое соединение по сравнению с анальгином оказывается более активным в 2 раза. Согласно приведенным данным литературы, анальгин по сравнению с предлагаемым соединением менее токсичен ($LD_{50} = 3300 \text{ мг/мл}$). У соединения (I) для этой величины определено значение 1500 мг/мл). В то же время согласно классификации К.К.Сидорова оно оказывается малотоксичным, что делает его перспективным в качестве лекарственного препарата.

Пример. 3 Противомикробная активность.

Для определения противомикробной активности использовали общепринятый метод двукратных серийных разведений (Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. - М.: Медицина, 1971, с.109). Противомикробные свойства определяли на 4-х музейных штаммах, полученных из коллекции ФГУН ГИСК им.

Л.А.Тарасовича Роспотребнадзора (г.Москва): *Staphylococcus aureus* (штамм 906), *Staphylococcus epidermidis* (штамм 52186), *Staphylococcus saprophyticus* (штамм 15305) и *Candida albicans* №24433 АТСС. Эксперименты начинали с подготовки исходных разведений в питательном бульоне музейных микроорганизмов из суточной агаровой культуры по оптическому стандартному образцу мутности (ОСО) на 10 МЕ.

Микробная нагрузка соответствовала $2,5 \times 10^5$ микробных тел в 1 мл. Микробную взвесь вносили в приготовленные разведения препарата в питательной среде (соединение растворяли в 0,5 мл ДМСО). Факт ингибирования (торможения) роста бактерий и дрожжеподобных грибов отмечали после 20-ти часового термостатирования при 37°C .

Результаты бактерицидного эффекта фиксировали через 7 суток при 37°C , а окончательно - после высева на твердый скошенный агар (РПА). Максимально испытанная концентрация соединений соответствовала $1\,000,0 \text{ мкг/мл}$.

Противомикробную (ингибирующую и бактерицидную) активность оценивали по минимально действующей концентрации.

Результаты эксперимента представлены в таблице 2. Как видно из таблицы, соединение I подавляет рост золотистого стафилококка в концентрации $3,9 \text{ мкг/мл}$, эпидермального стафилококка - $>15,6 < 31,2 \text{ мкг/мл}$, сапрофитного стафилококка - 250 мкг/мл . Соответствующее бактерицидное действие в отношении этих культур составляет $62,5, 500 > 1000 \text{ мкг/мл}$. Соединение подавляет рост культуры *Candida Albicans* в интервале $>500 < 1000 \text{ мкг/мл}$, бактерицидного эффекта не обнаружено.

Результаты исследований соединения (I) на Противомикробную активность									
№ п/п	Шифр соединения	<i>St. aureus</i>		<i>St. epidermidis</i>		<i>St. saprophyticus</i>		<i>Cand. albicans</i>	
		МИК*	МБК**	МИК*	МБК**	МИК*	МБК**	МИК*	МБК**
1.	Е-7	3,9	62,5	$>15,6 < 31,2$	500,0	250,0	$>1000,0$	$>500,0 < 1000,0$	-
2.	Фенилсалицилат	750	2000	$>1000,0$	$>1000,0$	$>1000,0$	$>1000,0$	-	-
3.	Контроль ДМСО	рост		рост		рост		рост	

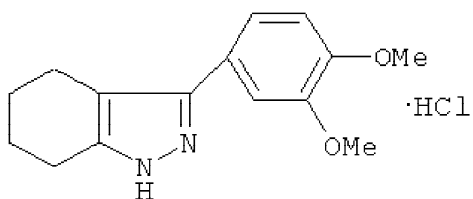
Примечание: *МИК - минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл;
 **МБК - минимальная бактерицидная концентрация, мкг/мл;
 (-) - отсутствие противомикробного действия.

Препарат сравнения фенилсалицилат проявляет слабую активность в отношении золотистого стафилококка (750 мг/мл), в отношении остальных видов стафилококка он практически неактивен, в отношении *Candida albicans* неактивен.

Таким образом, предлагаемое соединение проявляет анальгетическую активность, почти в 2 раза более высокую, чем анальгин. Кроме того, оно проявляет высокую бактериостатическую активность в отношении *Staphylococcus aureus* и выраженную бактериостатическую активность в отношении *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* и грибка *Candida albicans*, а также бактерицидную активность в отношении трех названных видов стафилококков, превосходя по уровню действия фенилсалицилат. Соединение относится к малотоксичным. С учетом того, что соединение (I) превосходит по уровню действия препараты, применяемые в медицинской практике, оно может найти применение в медицине в качестве анальгетического и антимикробного средства.

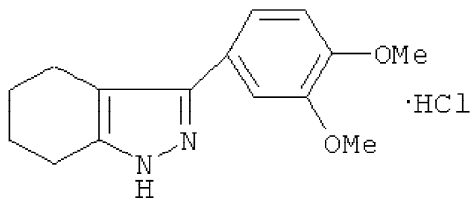
Формула изобретения

1. 3-(3,4-Диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид (I) формулы:



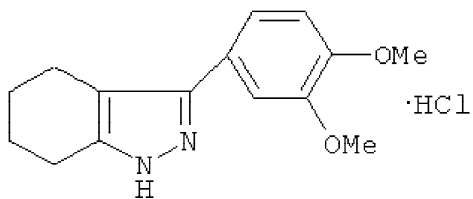
I

2. Анальгетическое средство, представляющее собой 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид (I) формулы:



I

3. Противомикробное средство, представляющее собой 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид (I) формулы:



I