



(51) МПК
A61K 31/66 (2006.01)
C07F 9/54 (2006.01)
A01P 5/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012141182/04, 26.09.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 26.09.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.09.2012

(45) Опубликовано: 20.10.2013 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: RU 2413513 C2, 10.03.2011. US 4187300 A1,
 05.02.1980. W.L. Hanson et al. International
 Journal for parasitology, 1977, 7, 443-447.

Адрес для переписки:

420008, г.Казань, ул. Кремлевская, 18,
 ФГАОУ ВПО "Казанский (Поволжский)
 федеральный университет" (ФГАОУ ВПО
 КФУ), патентно-лицензионный отдел, И.А.
 Назмиеву

(72) Автор(ы):

Галкина Ирина Васильевна (RU),
 Бахтиярова Юлия Валерьевна (RU),
 Крайнов Владимир Валентинович (RU),
 Андрияшин Виталий Владимирович (RU),
 Лутфуллина Наиля Ахметовна (RU),
 Идрисов Айрат Минсагитович (RU),
 Гиззатуллина Рамия Разяповна (RU),
 Галкин Владимир Иванович (RU),
 Лутфуллин Минсагит Хайруллович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования
 "Казанский (Приволжский) федеральный
 университет" (ФГАОУ ВПО КФУ) (RU)

(54) ТРИФЕНИЛ-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4-ГИДРОКСИБЕНЗИЛ)ФОСФОНИЙ БРОМИД,
 ОБЛАДАЮЩИЙ АНТИГЕЛЬМИНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к новому
 антинемотодозному средству,
 представляющему собой трифенил-(3,5-ди-трет-
 бутил-4-гидроксibenзил)фосфоний бромид,
 которое может быть использовано в

ветеринарии. Предложено новое
 антигельминтное средство с низкой
 токсичностью и высокой терапевтической
 эффективностью при низкой однократной
 лечебной дозе 0,01 г/кг веса животного. 5
 табл., 3 пр.

RU 2 495 667 C1

RU 2 495 667 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/66 (2006.01)
C07F 9/54 (2006.01)
A01P 5/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012141182/04, 26.09.2012**

(24) Effective date for property rights:
26.09.2012

Priority:

(22) Date of filing: **26.09.2012**

(45) Date of publication: **20.10.2013 Bull. 29**

Mail address:

**420008, g.Kazan', ul. Kremlevskaja, 18, FGAOU
VPO "Kazanskij (Povolzhskij) federal'nyj
universitet" (FGAOU VPO KFU), patentno-
litsenzionnyj otdel, I.A. Nazmievu**

(72) Inventor(s):

**Galkina Irina Vasil'evna (RU),
Bakhtijarova Julija Valer'evna (RU),
Krajnov Vladimir Valentinovich (RU),
Andrijashin Vitalij Vladimirovich (RU),
Lutfullina Nailja Akhmetovna (RU),
Idrisov Ajrat Minsagitovich (RU),
Gizzatullina Ramija Razjapovna (RU),
Galkin Vladimir Ivanovich (RU),
Lutfullin Minsagit Khajrullovič (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovanija "Kazanskij
(Privolzhskij) federal'nyj universitet" (FGAOU
VPO KFU) (RU)**

(54) TRIPHENYL-(3,5-DI-TERT-BUTYL-4-HYDROXYBENZYL)PHOSPHONIUM BROMIDE POSSESSING ANTIHELMINTIC ACTIVITY

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to a new anti-nematode drug representing triphenyl-(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxybenzyl)phosphonium bromide which may be used in veterinary science.

EFFECT: what is presented is the new antihelmintic with low toxicity and high therapeutic efficacy in a low single therapeutic dose of 0,01 g/kg of animal's body weight.

1 cl, 5 tbl, 3 ex

Изобретение относится к ветеринарии, а именно к противопаразитарным средствам, и может быть использовано в качестве антигельминтного препарата.

Гельминтозы являются одними из основных паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц и наносят существенный ущерб экономике.

Клинические проявления при всех гельминтозах варьируют в широких пределах в зависимости от массивности инвазии и наличия полиинвазии. Симптомы болезни животных при различных гельминтозах в основном сходны.

Возникают боли, сопровождающиеся ухудшением аппетита, дисфункцией кишечника, аллергией, общей слабостью, истощением. Тяжелые формы преимущественно регистрируются на фоне иммунодефицитных состояний и полиинвазий. Часто нематодозы сопровождаются присоединением бактериальной и грибковой инфекции. При тяжелом течении, например при аскаридозе, возможна перфорация кишечника с развитием перитонита.

Разработка лекарственных средств для профилактики и лечения гельминтозов, воздействующих на различные звенья патологического процесса, является актуальной задачей.

Известные антигельминтные синтетические препараты по химической структуре делятся на производные этаноламина, бензимидазола, салициламида, солей пиперазина [Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Новая волна. Т 2. - 2004; Червяков Д.К. и др. Лекарственные средства в ветеринарии. - М.: Колос, 1977; Пат. РФ 2242976, опубл. 27.12.2004; Пат. РФ 2211835, опубл. 10.09.2003]. Предлагаются также карбонилксианометильные производные [Пат.РФ 2296747, опубл. 27.10.2005], производные милбемицина [Пат.РФ 222653U, опубл. 10.04.2004; Заявка РФ 2004115744, опубл. 10.04.2005], производные тетрагидрофуризоксазола [Пат. РФ 1586154, опубл. 20.12.2006] в качестве антипаразитарных средств. Известны композиционные антигельминтные средства, включающие фенбендазол, сульфадимезин, серу и цеолит [Пат. РФ 2302864, опубл. 20.07.2007], клозантел, новокаин, поливинилпирролидон [Пат. РФ 2278661, опубл. 16.02.2004], альбендазол, медный купорос и ацетилцеллюлозу [Пат. РФ 2195280, опубл. 27.12.2002].

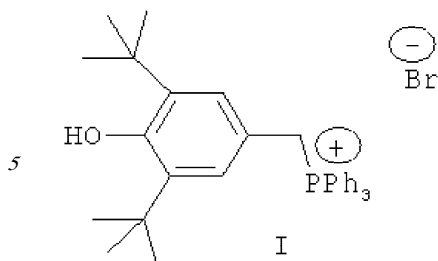
Недостатками известных препаратов являются:

- высокие лечебные дозы;
- побочное нейротоксическое действие;
- низкая эффективность применения по назначению.

Задачей заявленного технического решения является создание эффективного противопаразитарного препарата нового поколения, обладающего следующими характерными свойствами:

- низкими лечебными дозами;
- высокой эффективностью в отношении гельминтов, обеспечивающей расширение арсенала известных средств указанного назначения;
- низкими значениями острой лекарственной токсичности.

Пример 1. Способ получения препарата «Эвей» на основе трифенил-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзил)фосфоний бромида формулы I:



10 частично воспроизводится по работе американских авторов [Starnes W.H., Lauff J.J. Reactions of a Quinone Methide with Tri-n-butylphosphine. J.Org.Chem. Vol.35, N6, 1970. - P.1978-1986.], однако следует отметить, что в этих работах вообще не изучались биологические свойства соединения формулы I, а в выявленных заявителем из уровня техники патентов других американских ученых аналогичные соединения изучались
15 только в качестве препаратов против ожирения (при этом следует отметить, что эксперимент получился отрицательным) [US Patent 2004/0138301 A1. B.S. Hansen, T.K. Hansen, S. Tullin, U. Colding-Jordensen. Chemical uncouplers for the treatment of obesity].

20 Анализ выявленных патентов показал, что всем авторам описанных выше изобретений не удалось получить чистых соединений и спектрально подтвердить их индивидуальность, также не удалось измерить и температуру плавления.

25 Авторам заявленного технического решения, в отличие от авторов приведенных выше патентов, удалось усовершенствовать методику синтеза американских коллег за счет нахождения и применения оригинального для заявленного технического решения растворителя, а именно заявитель заменил растворитель диэтиловый эфир на более полярный растворитель ацетонитрил, что поспособствовало более полному протеканию реакции. В результате чего заявителю удалось не только выделить спектрально чистое соединение, но и измерить температуру плавления, изучить всеми
30 современными физико-химическими методами исследования, а также вырастить индивидуальные кристаллы и установить структуру соединения формулы I с помощью рентгеноструктурного анализа (РСА), что не представлялось возможным сделать ранее, при использовании существенно менее полярного растворителя - диэтилового эфира.

35 **Пример 2.** Изучение антигельминтной активности препарата "Эвей" в отношении гельминтоза животных и птиц.

Испытание лечебной эффективности соединения "Эвей" при гельминтозе животных и птиц проводили в четырех опытах.

40 Антигельминтная активность препарата в отношении нематод *Heterakis gallinarum* исследована на цыплятах в условиях вивария кафедры паразитологии и радиобиологии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» в сентябре-ноябре 2011 года. Тридцать цыплят в возрасте 14 суток заражали инвазионными яйцами гетеракисов в дозе 500 яиц на голову. После чего их
45 разделили на 3 группы по 10 голов в каждой, с учетом пола и живой массы. Цыплята во время эксперимента содержались в клетках и питались промышленным комбикормом. Через 40 суток после заражения первая группа цыплят получала препарат "Эвей" однократно, в дозе 10 мг/кг веса (по ДВ). Цыплята второй группы получали фенбенгран гранулят 22,2% однократно, в смеси с комбикормом, в дозе 34
50 мг на 1 кг массы птицы. Третья группа цыплят лекарственных препаратов не получала и являлась контрольной. Помет от каждого цыпленка во всех группах исследовали по методу Котельникова и Хренова до лечения и на 3, 7 и 15 сутки. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Сравнительная эффективность препаратов "Эвей" и фенбенгран гранулят 22,2% при лечении гетеракидоза кур

№ гр.	Количество птиц в группе	ИИ до начала лечения (экз) М±м	Интенсивность инвазии, интенсэффективность и экстенсэффективность								
			3 суток			7 суток			15 суток		
			ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)
1	10	15±1,1	0	100	100	0	100	100	0	100	100
2	10	21±0,6	3±0,2	85,7	80	3±0,8	85,7	80	2±0,1	90,5	80
3	10	13±1	14±0,5	-	0	22±1	-	0	24±0,7	-	0

Через 40 суток после заражения у цыплят всех групп в пробах помета были выявлены яйца гетеракисов. Интенсивность инвазии в группах составляла от 13±1 до 21±0,6 яиц в поле зрения микроскопа. Экстенсивность инвазии составляла 100% во всех группах.

На третьи сутки после дачи лекарственных препаратов, так же как и при последующих исследованиях, капрологическая диагностика не выявила яиц гетеракисов ни в одной пробе от цыплят первой группы. Интенсивность инвазии во второй группе составила 6±0,2. Интенсэффективность и экстенсэффективность составила 85,7 и 80 процентов соответственно. На седьмые и пятнадцатые сутки эти показатели изменились незначительно.

В контрольной группе интенсивность инвазии гетеракисов возросла с 13±1 до начала лечения до 24±0,7 в конце опыта.

Антигельминтная активность препарата в отношении нематод *Ascaridia galli* исследована на 30 спонтанно зараженных курах в возрасте 196 суток в условиях вивария кафедры паразитологии и радиобиологии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» в ноябре-декабре 2011 года. На основании данных живой массы птиц были сформированы три группы по 10 голов в каждой. Куры первой группы получили композицию "Эвей" перорально однократно в дозе 10 мг/кг веса (по ДВ). Куры второй группы получали фенбенгран гранулят 22,2% однократно, в смеси с комбикормом, в дозе 34 мг на 1 кг массы птицы согласно наставлению. Третья группа кур не получала лекарственных препаратов и являлась контрольной. Помет от каждой курицы во всех группах исследовали по методу Котельникова и Хренова до лечения и на 3, 7 и 15 сутки. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2

Сравнительная эффективность препаратов "Эвей" и фенбенгран гранулят 22,2% при лечении аскаридоза кур

№ гр.	Количество птиц в группе	ИИ до начала лечения (экз) М±м	Интенсивность инвазии, интенсэффективность и экстенсэффективность								
			3 суток			7 суток			15 суток		
			ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)
1	10	20±2,2	2±1,4	90	80	1±0,4	95	90	1±0,6	95	90
2	10	19±1,3	5±0,2	73,7	60	3±0,8	84,2	60	4±1,2	79	70
3	10	21±2,1	22±1,5	-	0	20±2,3	-	0	23±1,2	-	0

На третьи сутки после дачи лекарственных препаратов интенсивность инвазии в первой группе (препарат "Эвей") составила 2±1,4. Интенсэффективность и экстенсэффективность составила 90 и 80 процентов соответственно. Через семь суток интенсивность инвазии составила в первой группе 1±0,4, интенсэффективность и экстенсэффективность лечения 95 и 90 процентов соответственно.

Во второй группе (препарат фенбенгран гранулят 22,2%) интенсивность инвазии на

третьи сутки после начала лечения составила $5 \pm 0,2$. Интенсэффективность и экстенсэффективность лечения доставили 73,7 и 60 процентов соответственно. Через семь суток интенсивность инвазии составила $3 \pm 0,8$, интенсэффективность лечения - 84,2, экстенсэффективность - 60 процентов. В контрольной группе интенсивность инвазии в течение опыта сохранялась.

Антигельминтная активность препарата в отношении нематод *Thominx collarix* исследована на 30 спонтанно зараженных индейках в возрасте 89 суток в условиях вивария кафедры паразитологии и радиобиологии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» в мае-июне 2011 года. На основании данных капроскопических исследований были сформированы три группы по 10 голов в каждой. Индейки первой группы получили композицию "Эвей" перорально однократно в дозе 10 мг/кг веса (по ДВ). Индейки второй группы получали нилверм однократно, в смеси с комбикормом, в дозе 200 мг на 1 кг массы птицы, согласно наставлению. Третья группа индеек не получала лекарственных препаратов и являлась контрольной. Помет от каждой птицы во всех группах исследовали по методу Котельникова и Хренова до лечения и на 3, 7 и 15 сутки. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3

Сравнительная эффективность препаратов "Эвей" и нилверм при лечении томинксоза индеек											
№ гр.	Количество птиц в группе	ИИ до начала лечения (экз) М±м	Интенсивность инвазии, интенсэффективность и экстенсэффективность								
			3 суток			7 суток			15 суток		
			ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)	ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)
1	10	$8 \pm 0,2$	0	100	100	0	100	100	0	100	100
2	10	$5 \pm 2,1$	$1 \pm 0,1$	80	80	$1 \pm 0,1$	80	80	$2 \pm 0,6$	60	80
3	10	$4 \pm 1,5$	$5 \pm 2,2$	-	0	$4 \pm 1,7$	-	0	$7 \pm 2,2$	-	0

На третьи сутки после дачи лекарственных препаратов, так же как и при последующих исследованиях, капрологическая диагностика не выявила яиц гельминтов ни в одной пробе от индеек первой группы. Интенсивность инвазии во второй группе составила $1 \pm 0,1$. Интенсэффективность и экстенсэффективность составила 80 и 80 процентов соответственно. На седьмые и пятнадцатые сутки эти показатели изменились незначительно. В контрольной группе интенсивность инвазии в течение опыта сохранялась.

Антигельминтная активность препарата в отношении нематод *Ascaris suum* изучена на 60 поросятах спонтанно зараженных аскаридозом в ООО "Агрофирма Сарсазы" в ноябре-декабре 2011 года. На основании капроскопических исследований по методу Котельникова и Хренова были сформированы три группы поросят по 20 голов в возрасте примерно 2,5 месяцев. Поросята первой группы получали препарат "Эвей" в дозе 10 мг/кг веса (по ДВ) однократно с кормом. Поросята второй группы получали фенбенгран гранулят 22,2% однократно, в смеси с комбикормом, в дозе 22 мг на 1 кг живой массы. Третья группа поросят лекарственных препаратов не получала и являлась контрольной. Фекалии от поросят в группах исследовали до лечения и на 14 сутки. Результаты исследований приведены в таблице 4.

Таблица 4

Сравнительная эффективность препаратов "Эвей" и фенбенгран гранулят 22,2% при лечении аскаридоза свиней					
№ гр.	Количество животных в группе	ИИ до начала лечения (экз) М±м	Интенсивность инвазии, интенсэффективность и экстенсэффективность лечения через 14 суток		
			ИИ (экз) М±м	ИЭ (%)	ЭЭ (%)
1	20	$34 \pm 2,1$	$5 \pm 0,4$	85,3 г	80

2	20	32±2,3	11±1,2	65,6	70
3	20	28±1,2	30±0,6	-	0

Интенсивность инвазии в группах до лечения составляла от 32±2,3 до 34±2,1 яиц в поле зрения микроскопа (об. × 8, ок. × 10). Экстенсивность инвазии составляла 100% во всех группах. Спустя 2 недели после дегельминтизации интенсивность инвазии в первой группе составила 5±0,4, а во второй 11±1,2. Интенсивность и экстенсивность составила в первой группе 85,3 и 80 процентов соответственно, а во второй 65,6 и 70 процентов соответственно. В контрольной группе интенсивность инвазии в течение опыта сохранилась.

Пример 3. Определение острой токсичности и раздражающего действия лекарственной субстанции "Эвей".

Работа по изучению острой токсичности проводилась на базе кафедры паразитологии и радиобиологии КГАВМ им. Н.Э. Баумана в сентябре 2011 года. В опыте использовались 70 белых мышей, самцов и самок, массой тела 18-21 г. Препарат в виде водной суспензии вводили в желудок однократно с помощью зонда. Лабораторные животные, учитывая пол, возраст, массу тела, были разделены на 7 групп: 6 опытных и одну контрольную (по 10 голов в каждой). Мышам опытных групп вводили препарат в возрастающих дозах 50, 100, 150, 200, 250 и 300 мг/кг массы тела, по ДВ соответственно. Мышам контрольной группы в желудок вводили дистиллированную воду. За состоянием здоровья лабораторных животных наблюдали в течение 14 дней после введения, учитывая внешний вид, подвижность, прием корма. Случаи гибели регистрировали, павших животных вскрывали. Результаты приведены в таблице 5.

Однократное пероральное введение препарата в дозе 50 мг/кг массы тела по ДВ не вызвало у мышей изменений в поведении и общем состоянии животных. До конца эксперимента не было отмечено падежа животных. Эта доза была определена как максимально переносимая. В группе 2, в которой вводили 100 мг/кг массы тела, наблюдалось угнетение двигательной активности и аппетита животных, которое продолжалось до 5 дней. Три из десяти мышей пали на вторые и третьи сутки. В группе 3, так же наблюдалось угнетение двигательной активности и аппетита животных. До конца эксперимента погибли 4 из 10 мышей. В группе 4 произошел падеж 7 из 10 мышей в период с первых по седьмые сутки после введения. В группе 5 наблюдалось значительное ухудшение общего состояния животных, уменьшение двигательной активности и потребления корма. 9 из 10 мышей пали в течение первых пяти суток. В группе 6, в которой вводили препарат в дозе 300 мг/кг массы тела, наблюдался кратковременный период двигательной активности, который затем сменялся периодом глубокого угнетения и отказом от корма. Все мыши погибли в течение первых и вторых суток после введения. При вскрытии у всех животных 6 группы отмечено вздутие желудочно-кишечного тракта газами на всем протяжении, застой содержимого в желудке, венозный застой в сосудах брюшной полости.

Схема опыта и результаты изучения острой токсичности лекарственной субстанции "Эвей" на белых мышах					
№ группы	Доза препарата, мг/кг	Количество животных в группе на начало опыта, гол	Пало животных, гол	Выжило животных, гол	Летальность, %
1	50	10	0	10 f	0
2	100	10	3	7	30
3	150	10	4	6	40
4	200	10	7	3	70

5	250	10	9	1 г	90
6	300	10	10	0	100

Расчет среднесмертельной дозы произведен по методу Кербера, с использованием формулы:

$$LD_{50} = LD_{100} - (\sum(Z \times D)) / m, \text{ где}$$

D - интервал между каждыми двумя смежными дозами;

Z - среднее арифметическое число животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция, под влиянием каждых двух смежных доз;

m - число животных в каждой группе.

При пероральном введении LD₅₀ препарата составила 160 мг/кг массы тела, по ДВ.

Таким образом, установлено, что лекарственная субстанция "Эвей" при пероральном введении, в соответствии с ГОСТ 121.007-76, по своим

токсикологическим характеристикам относится к III классу опасности - веществам умеренно опасным для теплокровных животных.

Изучение раздражающего действия препарата проводили на пяти кроликах в возрасте 12 месяцев, одного пола и примерно одинаковой массы тела (2,5-3 кг).

Препарат в виде водной суспензии, с помощью глазной пипетки, вводили под правое веко по одной капле. Для контроля под левое веко, аналогично, вводили

дистиллированную воду. За животными наблюдали в течение часа. За это время не было выявлено покраснения конъюнктивы глаз ни у одного из кроликов. Через 12 и 24 часа не было замечено видимых различий левых и правых глаз у опытных

кроликов. Это позволило сделать вывод, что лекарственная субстанция "Эвей" не обладает выраженным раздражающим действием.

Формула изобретения

Противопаразитарное - антигельминтное средство трифенил-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзил)фосфоний бромид, обладающий антинемотозной активностью.