



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07D 409/14 (2023.08); A61K 31/513 (2023.08); A61P 17/02 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023113172, 22.05.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.05.2023Дата регистрации:
06.02.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.05.2023

(45) Опубликовано: 06.02.2024 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

450077, г.Уфа, ул.Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ.
ПАТЕНТНЫЙ ОТДЕЛ., Ахатов Искандер
Шаукатович

(72) Автор(ы):

Мельников Александр Сергеевич (RU),
Мещерякова Светлана Алексеевна (RU),
Самородов Александр Владимирович (RU),
Мухаметкулова Альбина Рифовна (RU),
Камилова Регина Руслановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: А.С. МЕЛЬНИКОВ И ДР., Синтез
новых гидразонов на основе 6-метил-1-(2-
оксопропил)-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-
2,4(1H,3H)-диона, проявляющих
биологическую активность,
МЕДИЦИНСКИЙ ВЕСТНИК
БАШКОРТОСТАНА, 2020, том 15, 6(90), стр.
62-65. RU 2007997 C1, 28.02.1994. RU 2705392
C1, 07.11.2019. WO 2006/028810 A2, 16.03.2006.

(54) ПРИМЕНЕНИЕ N'-{1-[6-МЕТИЛ-3-(ТИЕТАН-3-ИЛ)-2,4-ДИОКСО-3,4-ДИГИДРОПИРИМИДИН-1(2H)-ИЛ]ПРОПАН-2-ИЛИДЕН} ИЗОНИКОТИНОГИДРАЗИДА В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА, СТИМУЛИРУЮЩЕГО РЕГЕНЕРАЦИЮ ТКАНЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден} изоникотиногидразида в качестве средства, стимулирующего регенерацию тканей и

заживление ран. Указанное средство обладает регенерирующими свойствами для заживления линейных ран и более эффективно восстанавливает свойства кожи. 2 табл., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 409/14 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C07D 409/14 (2023.08); A61K 31/513 (2023.08); A61P 17/02 (2023.08)

(21)(22) Application: **2023113172, 22.05.2023**

(24) Effective date for property rights:
22.05.2023

Registration date:
06.02.2024

Priority:

(22) Date of filing: **22.05.2023**

(45) Date of publication: **06.02.2024** Bull. № 4

Mail address:

**450077, g.Ufa, ul.Lenina, 3,
BASHGOSMEDUNIVERSITET. PATENTNYJ
OTDEL., Akhatov Iskander Shaukatovich**

(72) Inventor(s):

**Melnikov Aleksandr Sergeevich (RU),
Meshcheriakova Svetlana Alekseevna (RU),
Samorodov Aleksandr Vladimirovich (RU),
Mukhametkulova Albina Rifovna (RU),
Kamilova Regina Ruslanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia «BASHKIRSKII
GOSUDARSTVENNYI MEDITSINSKII
UNIVERSITET» Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)**

(54) **USE OF N'-{1-[6-METHYL-3-(TIETANE-3-YL)-2,4-DIOXO-3,4-DIHYDROPYRIMIDIN-1(2H)-YL]PROPAN-2-YLIDENE} ISONICOTINOHYDRAZIDE AS MEANS THAT STIMULATE TISSUE REGENERATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the use of N'-
{ 1-[6-methyl-3-(thietan-3-yl)-2,4-dioxo-3,4-
dihydropyrimidin-1(2H)-yl]propan-2-ylidene }
isonicotinohydrazide as a means of stimulating tissue

regeneration and wound healing.

EFFECT: regenerating properties for healing linear
wounds and more effectively restoration of the skin
properties.

1 cl, 2 tbl, 3 ex

RU 2 813 148 C1

RU 2 813 148 C1

Предлагаемое изобретение относится к фармацевтической химии, фармакологии и медицине, а именно к применению N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида в качестве средства, стимулирующего регенерацию тканей и заживление ран.

5 Известны различные лекарственные формы метилурацила, например, в виде мази [пат. РФ №2004239], раствора для инъекций [пат. РФ №1831339], водного раствора [авт.св. СССР №1156689, пат. РФ №2171103], пасты [авт.св. СССР №1391650], присыпки [авт.св. СССР №724141, пат. РФ №2194509], свечей [пат. РФ №2108778], которые нашли применение в медицине [Хасанова Д.Д. Первичный иммунный ответ при сочетанном
10 применении метилурацила с левамизолом // Возрастные проблемы патологии: Тез. докл. 53-й научн. конф. мол. уч. БГМИ. - Уфа, 1988. - с. 135.], при этом были отмечены быстрая редукция воспалительной реакции, скорое формирование рубца без существенных косметических дефектов.

Известен метилурацил (2,4-диоксо-6-метил-(1H,3H)-тетрагидропиримидин)
15 [Государственный реестр лекарственных средств Рег. №Р N001765/02, 2008], который применяют как стимулятор роста и размножения клеток, индуктор регенерации в поврежденных тканях, промоутер заживления ран, язв, ожогов, сопротивляемости организма инфекциям [Патент РФ 2007997 C1 от 28.02.94].

Наиболее близким аналогом изобретения является 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацил,
20 обладающий ранозаживляющим эффектом, содержащийся в качестве биологически активного вещества в составе мази, которая в качестве мазевой основы содержит вазелин и ланолин, взятые в соотношении 9:1 [Патент РФ 2705392, 2019 г.]. Недостатком прототипа является узкая область применения в качестве регенерирующего средства ввиду направленной стимуляции регенерации роговничной ткани и использования для
25 лечения термических ожогов роговицы.

Задачей изобретения является расширение арсенала биологически активных веществ, в том числе средств, стимулирующих регенерацию тканей и заживление ран.

Техническим результатом при использовании изобретения является получение
30 средства, обладающего регенерирующими свойствами для заживления линейных ран и более эффективного восстановления свойств кожи.

Сущность изобретения: применение N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида в качестве средства, стимулирующего регенерацию тканей и заживление ран.

35 Указанное применение соединения в доступной научно-медицинской и патентной литературе не описано.

Заявляемое соединение синтезируют следующим образом.

Алкилирование 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацила 1-хлорпропан-2-оном в среде ацетона приводит к образованию 6-метил-1-(2-оксопропил)-3-(тиетан-3-ил)урацила. Полученный
40 6-метил-1-(2-оксопропил)-3-(тиетан-3-ил)урацил конденсируют с изониазидом и получают заявленное гидразонопроизводное - N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразид.

Пример 1. Синтез N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида.

6-Метил-3-(тиетан-3-ил)урацил синтезируют по методике, описанной ранее [Катаев
45 В.А., Мещерякова С.А., Лазарев В.В., Кузнецов В.В. // Синтез тиетанилзамещенных пиримидин-2,4(1H,3H)-дионов. - Журн. органич. химии - 2013. - Т. 49. Вып. 5. - с. 760-762; патент RU 2485118, 2013].

Взвесь 1 г (5 ммоль) 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацила с 1,04 г (6,5 ммоль)

свежепрокаленного карбоната калия кипятят в 24 мл ацетона в течение 30 мин. Затем добавляют 0,745 г (7,5 ммоль) 1-хлорпропан-2-она и продолжают кипячение в течение 3-х часов. Реакционную смесь фильтруют, растворитель отгоняют под вакуумом. Образовавшийся осадок сушат, Очищают кристаллизацией из изопропанола. Получают 0,97 г (3,8 ммоль) 6-метил-1-(2-оксопропил)-3-(тиетан-3-ил)урацила. Выход 76%. $T_{пл.}=90-91^{\circ}C$.

ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1438,8; 1458,0 cm^{-1} (-CH₃), 1661,3 cm^{-1} (-C=O), 629 cm^{-1} (-C-S).

ЯМР ¹H, CDCl₃, δ , м.д., J, Гц: 2,04 с (3H, H₃C-C=O), 2,11 с (3H, 6-CH₃, E), 3.13-3.19 м (2H, S(CH)₂), 4.24-4.30 м (2H, S(CH)₂), 4.64 с (2H, CH₂C=O), 5.59 с (1H, H⁵), 6.16-6.27 м (1H, N-CH).

Элементный анализ (C₁₁H₁₄N₂O₃S),%: C-49.92; H-5.10; N-20.87; S-11.95.

0,5 г (2 ммоль) 6-метил-1-(2-оксопропил)-3-(тиетан-3-ил)урацила растворяют в 10 мл этанола при нагревании, затем добавляют 0,24 г (2,2 ммоль) изониазида (мольное соотношение реагентов 1:1,1), предварительно растворенного в 2 мл. этанола. Реакционную смесь кипятят в течение 2,5 ч с добавлением каталитического количества ледяной уксусной кислоты (ЛУК), охлаждают. Образовавшийся осадок отфильтровывают, сушат. Очищают кристаллизацией из этанола. Получают 0,336 г (0,87 ммоль) N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида. Выход 72,1%. $T_{пл.}=115-116^{\circ}C$.

ИК спектр, ν , cm^{-1} : 625(C-S); 1225 (C-N); 1387 (N-C); 1393(CH₃); 1435(CH₃); 1654 (C=O); 1658 (C=N); 1670 (-C=O карб.); 1716(C=O); 3303(-NH); 3348 (-NH₂).

ЯМР ¹H, DMSO-d₆, δ , м.д., J, Гц: 2.05 с (3H), 2.20 с (3H), 3.13-3.19 м (2H, S(CH)₂), 4.24-4.30 м (2H, S(CH)₂), 4.77 с (2H), 4.79 с (2H), 5.67 с (1H), 5.70 с (1H), 6.16-6.27 м (1H, N-CH), 7.89 д (2Hаром, J 7.2), 8.59 д (2Hаром, J 7.8), 11.35уш. с (1H, NH).

ЯМР ¹³C, DMSO-d₆, δ , м.д.: 12,25; 19,57; 39,85; 54,85; 56,60; 100,69; 121,22; 127,45; 143,75; 150,20; 152,52; 153,99; 167,25.

Элементный анализ (C₁₇H₁₉N₅O₃S),%: C-54.68; H-5.12; N-18.76; S-8.59.

Соединение представляет собой светло-желтый кристаллический порошок, нерастворимый в воде, диэтиловом эфире, ограниченно растворимый в изопропаноле и бутаноле, растворимый в этаноле, диметилформамиде, диметилсульфоксиде.

Пример 2. Изучение регенерирующего эффекта N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида в виде мази, полученной на ланолиново-вазелиновой основе, в условиях модели линейных ран на лабораторных мышах.

В соответствии с рекомендациями "Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ" [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с], проведено определение ранозаживляющего эффекта мази, содержащей действующее вещество формулы I.

Исследование проведено на 70 белых мышах самцах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г. Животные прошли карантин в течение 14 дней в условиях отдельного бокса вивария ЦНИЛ БГМУ. Температурный режим помещения вивария поддерживался от +18 до +22 С. Освещение вивария совмещенное (естественное и люминесцентное). Ежедневно в помещении вивария проводилась 20 мин.

бактерицидная обработка стационарным настенным бактерицидным облучателем. Животные имели круглосуточный свободный доступ к поилкам, получали набор натуральных продуктов (овощи, зерно) и стандартную диету, представленную в виде экструдированного гранулированного корма для содержания лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков) соответствующий Декларации о соответствии № РОСС RU. ПР 98, Д 00497 до 07.02.2016 г. и содержащий в своем составе пшеницу, ячмень, шрот соевый, муку рыбную, дрожжи, отруби, а также витамины и минеральные вещества, витаминно-минеральный комплекс, растительный жир, антиоксидант.

Исследования выполнялись в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (М., 2012).

В качестве контрольного образца и препарата сравнения взяты: физиологический раствор (0.9% раствор хлорида натрия, используемый для промывания ран и слизистых оболочек производства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2021) и метилурацил - широко применяемый в медицине для лечения ран различной этиологии [Компендиум 2006 - лекарственные препараты/Под ред. Коваленко В.Н., Викторова А.П. - К.: Морион, 2006. - 33,39 с].

Препарат сравнения и заявляемое соединение наносились на раневую поверхность в виде 10% мазей, приготовленных на вазелиново-ланолиновой основе в соотношении 1:10.

В условиях общей анестезии после подготовки операционного поля (бритье и асептическая обработка) наносили по трафарету рану при помощи скальпеля и ножниц посередине выстриженного участка. Площадь единого трафарета составляла 210,5 мм². Далее все животные были разделены на 3 опытные группы (по 12 животных в каждой): контрольная группа животных - физиологический раствор (0.9% раствор хлорида натрия), группа I (препарат сравнения) - 10% мазь метилурацила (субстрат-99% порошок метилурацила ООО «Кемикал Лайн», Спб), группа II - 10% мазь заявляемого вещества формулы I. Группа интактных животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения этих особей и подопытных животных. Дефект обрабатывали один раз в день в один и тот же временной период (10-11 часов дня) на протяжении 14 суток. Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 суток.

Площадь раны оценивали ежедневно с помощью программного комплекса «Image J» (Research Services Branch of the National Institute of Mental Health) для обработки изображений после фотографирования (Chen L et al., 2015). Используя эти измерения, рассчитали процент общего закрытия раны (% TWC) как: $[(WA0 - WAT) / WA0] \times 100\%$, где WA0 = площадь раны в день нанесения и WAT = площадь раны в соответствующий день.

Гематологические исследования и гистологическую оценку ран проводили в 1, 3, 7 и 11-е сутки эксперимента. Кровь у мышей получали путем декапитации в пробирки с ЭДТА (BD Vacutainer®, K2 EDTA 3,6 мг). Количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов определяли на автоматическом гематологическом анализаторе (Sysmex KX-21N, Япония) в соответствии с инструкциями производителя. В эксперименте забор лоскута кожи с подлежащими тканями у животных осуществлялся на 1, 3, 7, 11 и 14-е сутки. Фрагменты кожного покрова с подлежащими тканями крыс фиксировались в 10% забуференном нейтральном формалине с последующей вырезкой материала. Далее выполняли стандартную гистологическую проводку по спиртам возрастающих

концентраций, после чего препараты заключали в парафин, затем изготавливали срезы толщиной 6-8 микрон и окрашиванием их гематоксилином-эозином. Препараты изучались под малым (*100) увеличением с помощью светового микроскопа Zeiss Axiostar plus с цифровой камерой ProgRes c10 plus и морфометрической программой ВидеоТест - мастер 4.0.

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Выявлено, что вид распределения полученных данных отличается от нормального, поэтому при дальнейшей работе использовались непараметрические методы. Данные представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости вероятности для статистических критериев принимали равным 0,05.

Динамика заживления ран в опытных группах представлена в таблице 1.

Таблица 1

Динамика уменьшения площади ран у мышей, Me [0,25-0,75]

Группа	Показатель	Сутки			
		1-е	3-е	7-е	11-е
Контроль	S, мм ²	211,4 (205,7-218,9)	197,4 (185,7-200,2)	158,4 (151,3-167,8)	125,7 (124,1-131,9)
	TWC, %	-	7,2 (6,9-7,6)	25,8 (24,3-27,9)	40,2 (37,4-41,6)
I	S, мм ²	210,6 (207,3-217,1)	192,5 (181,9-201,4)	149,9 (143,2-158,7)	110,4 (102,9-117,4)*
	TWC, %	-	9,8 (7,4-11,6)	24,3 (22,1-27,9)	46,4 (42,3-51,2)*
II	S, мм ²	205,4 (197,6-214,1)	187,4 (180,5-192,3)	131,4 (121,7-133,5)*	62,8 (57,2-64,7)*
	TWC, %	-	8,5 (8,1-9,2)	36,9 (34,5-39,7)*	70,3 (67,5-72,8)*

Примечание: S – площадь раны, TWC - процент общего закрытия раны. Уровень статистической значимости между сутками для соответствующих групп животных $p < 0,05$.

* $p < 0,05$ – в сравнении с контрольной группой (физиологического раствора).

В результате исследования четко показано, что в первые и третьи сутки наблюдения, экспериментальные раны у всех лабораторных животных были сопоставимы. Начиная с 7-х суток эксперимента, наблюдалось достоверное увеличение скорости закрытия ран в группах лечения по сравнению с контролем. На 11-е сутки эксперимента установлено, что наиболее эффективно заживление линейных ран происходило в группе с мазью на основе N'-(1-(6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)пропан-2-илиден)изоникотиногидразида (I) (70,3% vs 40,2%).

Пример 3. Изучение гематологических показателей в процессе ранозаживления 10% мазью действующего вещества формулы I на ланолиново-вазелиновой основе в условиях модели линейных ран на лабораторных мышах.

При изучении гематологических показателей установлена закономерность - подъем содержания лейкоцитов на 3-е сутки эксперимента во всех группах животных. Однако уже на 7-е сутки воспалительный ответ купировался и на 11-е сутки уровень лейкоцитов в крови был в пределах референтных значений (таблица 2).

Гематологические показатели мышей в условиях заживления модельных ран на 11-е сутки, Me (0,25-0,75)

Показатель	Интактные	Контроль	I	II
Лейкоциты $\times 10^9$ /л	8,6 (7,5-10,3)	8,5 (7,1-9,8)	7,2 (7,8-10,2)	9,1 (7,5-10,2)
Эритроциты $\times 10^{12}$ /л	4,1 (3,5-4,3)	3,7 (3,5-4,2)	3,9 (3,4-4,8)	3,5 (3,3-3,8)
Гемоглобин, г/л	116 (105-123)	108 (103-119)	128 (115-133)	127 (117-132)
Гематокрит, %	32,5 (30,4-36,2)	34,1 (30,1-33,9)	36,7 (32,1-38,4)	31,9 (29,4-34,2)
СОЭ, мм	2,1 (1,9-2,4)	2,3 (2,0-2,4)	1,9 (1,6-2,1)	2,0 (1,8-2,2)
Тромбоциты, $\times 10^3$	354 (330-367)	341 (332-359)	342 (338-356)	343 (322-351)

Примечание: Уровень статистической значимости в сравнении с группой интактных животных $p \geq 0,05$.

При изучении числа эритроцитов, СОЭ, тромбоцитов и уровня гемоглобина не наблюдали статистически значимых отклонений от референтных значений нормы.

Таким образом, в результате экспериментальной оценки установлено, что наиболее эффективным в качестве средства, стимулирующего регенерацию тканей и заживление ран, является применение мази на основе N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида.

(57) Формула изобретения

Применение N'-{1-[6-метил-3-(тиетан-3-ил)-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]пропан-2-илиден}изоникотиногидразида в качестве средства, стимулирующего регенерацию тканей и заживление ран.