



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 256 451** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **A 61 K 31/404, A 61 P 31/14**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004111871/15, 21.04.2004

(24) Дата начала действия патента: 21.04.2004

(45) Опубликовано: 20.07.2005 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Реферат из АБД Medline: Chu SM et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. Thorax. 2004 Mar; 59(3):252-6. SU 1685933 A1, 23.10.1991. US 2004/0006123 A1, 08.01.2004. WO 02/55025 A2, 18.07.2002. ГЛУШКОВ Р.Г. и др. Молекулярно-биологические особенности действия арбидола - нового противовирусного (см. прод.)

Адрес для переписки:

127473, Москва, 1-й Волконский пер., 11,
стр.2, ЗАО "Мастерлек"

(72) Автор(ы):

Глушков Р.Г. (RU),
Максимов В.А. (RU),
Мартьянов В.А. (RU),
Хамитов Р.А. (RU),
Шустер А.М. (RU)

(73) Патентообладатель(ли):

Закрытое Акционерное Общество "Мастерлек"
(RU)

(54) ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АТИПИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

(57) Реферат:

Предложено: средство для лечения и предупреждения инфекции, вызванной коронавирусами, в частности для лечения атипичной пневмонии (SARS), и фармацевтическая композиция указанного назначения на его основе. Средство представляет собой 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметил-

аминометил-5-оксиброминдол или гидрохлорид моногидрата 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-оксиброминдола (арбидол), ранее известный как иммуномодулятор и препарат против вирусов гриппа. Изобретение обеспечивает снижение накопления корона-вируса (на примере вируса ТОРС) в легких. 2 н.п. ф-лы, 7 табл.

(56) (продолжение):

препарата. Химико-фармацевтический журнал, М., 1992, т.26, №2 (февраль), с.8-15.

RU 2 2 5 6 4 5 1 C 1

RU 2 2 5 6 4 5 1 C 1

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 256 451** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 31/404, A 61 P 31/14**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2004111871/15, 21.04.2004**

(24) Effective date for property rights: **21.04.2004**

(45) Date of publication: **20.07.2005 Bull. 20**

Mail address:

**127473, Moskva, 1-j Volkonskij per., 11,
str.2, ZAO "Masterlek"**

(72) Inventor(s):

**Glushkov R.G. (RU),
Maksimov V.A. (RU),
Mart'janov V.A. (RU),
Khamitov R.A. (RU),
Shuster A.M. (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Zakrytoe Aktsionernoe Obshchestvo
"Masterlek" (RU)**

(54) **MEDICINAL AGENT FOR TREATMENT OF ATYPICAL PNEUMONIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, virology, pharmacy.

SUBSTANCE: invention proposes an agent for treatment and prophylaxis of infection caused by coronaviruses, in particular, for treatment of atypical pneumonia (SARS), and pharmaceutical composition of indicated designation based on thereof. Agent represents 1-methyl-2-phenylthiomethyl-3-carbethoxy-4-dimethylaminomethyl-5-oxybromindole or 1-methyl-

2-phenylthiomethyl-3-carbethoxy-4-

dimethylaminomethyl-5-oxybromindole monohydrate hydrochloride (arbidol) known early as an immunomodulator and preparation used against influenza viruses. Invention provides reducing accumulation of coronaviruses (on example with TOPS virus) in lung.

EFFECT: valuable medicinal properties of agent.

2 cl, 7 tbl, 9 ex

RU 2 2 5 6 4 5 1 C 1

RU 2 2 5 6 4 5 1 C 1

Изобретение относится к области фармации, конкретно к использованию 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола и его солей в качестве лекарственного средства для лечения или профилактики атипичной пневмонии (SARS).

5 Атипичная пневмония - респираторное заболевание, относительно недавно выявленное в Азии, Северной Америке и Европе. Заболевание вызывается вирусами и характеризуется
 10 скоротечным развитием и высокой летальностью. Первые случаи были описаны в 2003 году. В самом начале эпидемии нового вируса медики полагали, что уровень смертности от него составляет 4%, однако последующие данные показали, что уровень смертности в Гонконге, Канаде и Сингапуре выходит на значения в 7,6%, 10,7% и 9,9% соответственно.
 В дальнейшем изучение атипичной пневмонии и обобщение данных по всем странам, где была зарегистрирована SARS, показало, что люди пожилого возраста гораздо чаще
 15 рискуют заболеть атипичной пневмонией, чем молодые. Кроме того, среди них гораздо выше смертность: умирает до 40% заболевших, в то время как среди пациентов младше 60 лет - около 13%. Такая высокая смертность делает поиск средств для лечения SARS
 20 чрезвычайно актуальной задачей.

Известно средство для лечения коронавирусной инфекции, применявшееся для терапии атипичной пневмонии, - рибавирин ("Medicus Amicus", 2003, №3, стр.1, 13). Однако
 20 применение данного препарата для лечения SARS дает недостаточный эффект, что показывает высокий процент летальности. Кроме того, при применении рибавирина нередко проявляется побочное действие и имеется ряд противопоказаний.

1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола гидрохлорид моногидрат ранее был известен как препарат для лечения вирусов гриппа А и В (Патент РФ №2008004), обладающий также иммуномодулирующим действием (Патент
 25 РФ №2033157).

Задачей изобретения является расширение арсенала средств при лечении коронавирусной инфекции, снижение токсичности и повышение эффективности лечения атипичной пневмонии.

Для решения этой задачи мы предлагаем использовать помимо 1-метил-2-
 30 фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола также ряд его солей, а именно: гидрохлорид, цитрат, малеат, сукцинат и фумарат. Все соли получают при помощи добавления соответствующих кислот к основанию - (1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдолу), который, в свою очередь, получают из известного вещества - арбидола (1-метил-2-фенилтиометил-3-
 35 карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола хлоргидрат).

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

ПРИМЕР 1. Получение основания: 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола

К смеси 20 мл 2М Na₂CO₃, 40 мл 1М NaHCO₃ и 200 мл CHCl₃ при перемешивании
 40 прибавляют небольшими порциями 10,64 г арбидола (1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола хлоргидрата). После растворения всего хлоргидрата CHCl₃ отделяют, водный слой экстрагируют 50 мл CHCl₃. Объединенные CHCl₃ -вытяжки промывают насыщенным NaCl, высушивают над MgSO₄ и упаривают в вакууме досуха. Остаток перекристаллизовывают из абсолютного спирта высушивают в
 45 вакууме над P₂O₅/KOH. Получают 8,46 г (выход: 88,6%) 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола (далее - основание) с Tпл.=125-126°C.

Таблица 1

**Данные ЯМР-спектра для 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-
4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола**

Химический сдвиг	Тип пика	Число протонов	Группа
1,23	триплет	3	CH ₂ -CH ₃
2,26	синглет	6	N(CH ₃) ₂
3,65	синглет	3	N-CH ₃
4,01	синглет	2	CH ₂ -N
4,13	квадруплет	2	O-CH ₂
4,62	синглет	2	CH ₂ -S
7,26-7,34	мультиплет	5	ароматические протоны
8,03	синглет	1	H ₍₇₎

ПРИМЕР 2. Получение 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола сукцината

К раствору 509 мг основания (полученного в Примере 1) в 2 мл теплого тетрагидрофурана (ТГФ) прибавляют 0,5 мл раствора 91,7 мг янтарной кислоты в 1 мл горячего ТГФ. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, вносят затравку сукцината и оставляют на 3 часа при +4°C. Выпавшие кристаллы отфильтровывают, промывают небольшим количеством ТГФ и высушивают в вакууме над P₂O₅/KOH. Получают 450 мг (выход 75%) продукта. Тпл=138-139°C. Структура полученного соединения подтверждена спектром ЯМР (см. Таблицу №2).

Таблица 2

**Данные ЯМР-спектра для 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-
диметиламинометил-5-окси-6-броминдола сукцината**

Химический сдвиг	Тип пика	Число протонов	Группа
1,25	триплет	3	CH ₂ -CH ₃
2,28	синглет	6	N(CH ₃) ₂
2,41	синглет	4	CH ₂ -CH ₂
3,66	синглет	3	N-CH ₃
4,06	синглет	2	CH ₂ -N
4,16	квадруплет	2	O-CH ₂
4,63	синглет	2	CH ₂ -S
7,26-7,33	мультиплет	5	ароматические протоны
8,03	синглет	1	H ₍₇₎

ПРИМЕР 3. Получение 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола цитрата

К суспензии 978 мг основания (полученного в Примере 1) в 14 мл абсолютного

этилового спирта прибавляют при перемешивании раствор 493 мг моногидрата лимонной кислоты в 6 мл абсолютного этилового спирта. Осадок растворяется при комнатной температуре, реакцию смесь упаривают досуха. Остаток растворяют в 4 мл абсолютного этилового спирта и продукт в виде густого масла высаживают прибавлением
 5 50 мл этилового эфира. Масло дважды растирают со свежими порциями эфира, осадок отфильтровывают, промывают этиловым эфиром и сушат в вакууме над P_2O_5/KOH . Получают 1,13 г (выход 85%) продукта. При нагревании до 78-82°C вещество плавится с разложением. Структура соли подтверждена ЯМР-спектром (см. Таблицу №3).

10

Таблица №3. Данные ЯМР-спектра для безводного 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола цитрата			
Химический сдвиг	Тип пика	Число протонов	Группа
1,26	триплет	3	$CH_2 - CH_3$
2,50	синглет	6	$N(CH_3)_2$
2,54-2,65	мультиплет	4	C-CH ₂ (цитрат)
3,66	синглет	3	N-CH ₃
4,38	синглет	2	CH ₂ -N
4,15	квадруплет	2	O-CH ₂
4,67	синглет	2	CH ₂ -S
7,27-7,35	мультиплет	5	ароматические протоны
8,00	синглет	1	H ₍₇₎

15

20

ПРИМЕР 4. Получение 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола малеата

К раствору 477,4 мг основания, полученного в Примере 1, в 4 мл абсолютного
 25 этилового спирта прибавляют теплый раствор 105,8 мг малеиновой кислоты в 2,5 мл этилацетата. Смесь охлаждают до +4°C, осадок отфильтровывают, промывают холодным этилацетатом и высушивают в вакууме над P_2O_5/KOH . Получают 336 мг (выход 60%) продукта с Tпл=133-135°C. Структура полученного соединения подтверждена спектром ЯМР (см. Таблицу №4).

30

Таблица №4. Данные ЯМР-спектра для 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола малеата			
Химический сдвиг	Тип пика	Число протонов	Группа
1,26	триплет	3	$CH_2 - CH_3$
2,73	синглет	6	$N(CH_3)_2$
3,69	синглет	3	N-CH ₃
4,72	синглет	2	CH ₂ -N
4,20	квадруплет	2	O-CH ₂
4,77	синглет	2	CH ₂ -S
6,03	синглет	2	CH=CH (малеат)
7,28-7,38	мультиплет	5	ароматические протоны
8,13	синглет	1	H ₍₇₎

35

40

ПРИМЕР 5. Получение 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола fumarата

К суспензии 241,8 мг основания, полученного в Примере 1, в 2 мл абсолютного
 45 этилового спирта прибавляют раствор 47,7 мг fumarовой кислоты в 1,5 мл теплого абсолютного этилового спирта. Нагревают почти до кипения и охлаждают до комнатной температуры. Оставляют на ночь при температуре +4°C, отфильтровывают осадок, промывают холодным этиловым спиртом и высушивают в вакууме над P_2O_5/KOH . Получают
 50 157 мг (выход 55%) продукта с Tпл=154-156°C. Структура полученного соединения подтверждена спектром ЯМР (см. Таблицу №5).

Таблица №5.
Данные ЯМР-спектра для 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола фумарата

Химический сдвиг	Тип пика	Число протонов	Группа
1,25	триплет	3	CH ₂ - CH ₃
2,31	синглет	6	N(CH ₃) ₂
3,66	синглет	3	N-CH ₃
4,11	синглет	2	CH ₂ -N
4,16	квадруплет	2	O-CH ₂
4,63	синглет	2	CH ₂ -S
6,60	синглет	2	CH=CH
7,24-7,34	мультиплет	5	ароматические протоны
7,80	синглет	1	H ₍₇₎

ПРИМЕР 6. Противовирусное действие арбидола в отношении вируса тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС), штамм СОД, на культуре клеток (VERO-E6).

Испытание профилактического действия препарата.

Из пробирок с монослоем клеток удаляли ростовую среду и вносили в опытные пробирки по 1,0 мл поддерживающей среды, содержащей различные концентрации исследуемых препаратов. Через 4 часа инкубирования при температуре 37,0°C питательную среду сливали и в пробирки вносили по 0,1 мл суспензии вируса ТОРС, с концентрацией 0,001-0,004 БОЕ на клетку. Контакт вируса с клетками - 60 минут при 37,0°C. После этого вирус из пробирок удаляли, инфицированные клетки промывали средой ПС, затем в опытные и контрольные пробирки добавляли по 1,0 мл поддерживающей среды ПС, содержащей 2,5% сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС). Использовали по 4 пробирки на каждую концентрацию препарата.

Дополнительные контроли:

а) контроль культур клеток - в 4 пробирки вносили по 1,0 мл поддерживающей среды, б) контроль дозы вируса - в 4 пробирки вносили по 0,1 мл суспензии вируса ТОРС и через 60 минут инкубирования после удаления вирусосодержащей суспензии добавляли 1,0 мл поддерживающей среды.

Испытание лечебно-профилактического действия препарата.

Из пробирок с монослоем клеток удаляли ростовую среду и вносили по 0,1 мл суспензии вируса ТОРС, с концентрацией 0,001-0,004 БОЕ (бляшкообразующая единица) на клетку. Контакт вируса с клетками продолжительностью 60 минут. После удаления вируса клетки промывали средой ПС с 2,5% сыворотки КРС и добавляли поддерживающую среду, содержащую различные дозы препарата. Инкубирование клеток осуществляли при температуре 37,0°C. Через 72 часа после заражения инфицированные клетки механически разрушали, объединяли в одну пробу и затем десятикратными разведениями инфицировали монослойные культуры клеток во флаконах с последующим нанесением агарового покрытия для оценки уровня накопления вируса методом негативных колоний.

Учет формирования негативных колоний осуществляли через 72 часа после инфицирования. Результаты оценивали по подавлению продукции вируса в культуре клеток в присутствии различных доз оцениваемых препаратов.

Таблица №6
Противовирусная эффективность арбидола в отношении вируса ТОРС в культуре клеток VERO-E6

Препарат	Доза препарата, мкг/мл	Схема внесения препарата	Уровень накопления возбудителя, lg БОЕ/мл	Подавление репродукции вируса, Δ, lg	Коэффициент ингибирования, процент
Арбидол	50,0	За 4 часа до инфицирования	5,9	0,7	79,5
		После инфицирования	6,0	0,6	77,7
Рибавирин	50,0	За 4 часа до инфицирования	6,0	0,6	77,7
		После инфицирования	5,0	1,6	97,5
Контроль дозы вируса			6,6	0	

Антивирусная активность арбидола

Профилактическая и лечебная эффективность препаратов, определяемая по разнице накопления возбудителя ТОРС в опытных и контрольных культурах, представлена в таблице 6. Арбидол обладал практически одинаковой эффективностью в отношении вируса

ТОРС по сравнению с рибавирином в одинаковых дозах.

ПРИМЕР 7. Противовирусное действие арбидола в отношении вируса тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС), штамм СОД, на экспериментальной модели (сирийские хомячки)

Животные: сирийские хомячки массой от 60 до 80 г, поставленные из питомника Вирусологического центра НИИМ МО РФ (г. Сергиев Посад)

Вирус возбудителя тяжелого острого респираторного синдрома - штамм СоД из музея Вирусологического центра НИИМ МО РФ; инокулят - суспензия культуры клеток VERO-E6, предварительно инфицированных возбудителем ТОРС.

Препараты вводили перорально. Препараты разводили на физиологическом растворе с добавлением ДМСО (0,01-0,005%).

Оценка эффективности препаратов: по снижению уровня накопления возбудителя в легких, нормализации уровня аминотрансфераз и лейкоцитов в крови опытных животных по сравнению с контрольными группами.

Результаты исследования. Результаты представлены в таблице 7, из которых следует, что введение препарата по лечебно-профилактической схеме способствует снижению уровня накопления вируса в легких на 2,1 lg БОЕ, способствует снижению активности аминотрансфераз в крови и нормализует уровень лейкоцитов. Арбидол обладает противовирусной эффективностью против возбудителя ТОРС. В отличие от используемого для лечения данной инфекции рибавирина арбидол малотоксичен.

Таблица №7 Оценка эффективности препаратов на нелетальной модели - сирийских хомячках по изменению уровня накопления вируса ТОРС в легких биохимическим и гематологическим показателям крови						
Препарат	Доза, мг/кг	Схема введения	Снижение накопления вируса в легких, Δlg	Активность аминотрансфераз в сыворотке крови, ммч.л.		Уровень лейкоцитов в крови, мкл * 10 ³
				АлАТ	АсАТ	
Арбидол	60,0	-24, -1, +24, +48	2,1	0,44	0,41	4,8
Рибавирин	80,0	+24 и далее 6 суток	1,4	0,40	0,25	6,9
Контроль дозы				2,17	1,58	12,8
Контроль стада				0,41	0,30	6,2

Примечание: заражающая доза 5,0 lg БОЕ при пероральном использовании.

Соли 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола, обладающие противовирусным действием, могут применяться в различных лекарственных формах, в том числе с использованием фармацевтических носителей, принятых в фармацевтической химии для приготовления средства доставки активного компонента в организм пациента.

ПРИМЕР 8. Получение фармацевтической композиции для приготовления таблетной массы

Готовят смесь, состоящую из 10 г 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола малеата; 4,5 г крахмала картофельного; 0,25 г метилцеллюлозы; 0,15 г кальция стеарата; 0,10 г кислоты стеариновой. Полученную после перемешивания массу используют для таблетирования.

ПРИМЕР 9. Получение фармацевтической композиции для приготовления капсул

Для получения содержимого капсулы готовят смесь, состоящую из 10 г 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола фумарата; 2,8 г крахмала картофельного; 6,0 г микрокристаллической целлюлозы; 0,9 г коллидона, 0,2 г аэросила, 0,2 г кальция стеарата. Полученный после перемешивания порошок используют для капсулирования.

Формула изобретения

1. Применение 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбэтокси-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдола или его соли, выбранной из группы безилата, фумарата, малеата, цитрата или гидрохлорида моногидрата в качестве лекарственного средства для лечения или
- 5 профилактики коронавирусной инфекции, в частности атипичной пневмонии.
2. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики коронавирусной инфекции, в частности атипичной пневмонии, содержащая активный компонент по п.1 в эффективном количестве и фармацевтически приемлемый носитель.

10

15

20

25

30

35

40

45

50