



(51) МПК
C07F 9/535 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011122469/04, 02.06.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 02.06.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.06.2011

(45) Опубликовано: 27.10.2012 Бюл. № 30

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Бурбелло А.Т. и др. **Современные лекарственные средства, 3-е издание, переработанное и дополненное.** - СПб.: Нева, 2004, с.676-677. Williams Porcal et al, J. Med. Chem., 2007, 50(24), pp. 6004-6015 (абстракт). Aguirre, G. et al, Pharmazie, Volume 61, Number 1, 2006, pp.54-59 (абстракт).

Адрес для переписки:

420008, г.Казань, ул. Кремлевская, 18,
 ФГАОУ ВПО КФУ

(72) Автор(ы):

Галкина Ирина Васильевна (RU),
 Спиридонова Маргарита Павловна (RU),
 Юсупова Луиза Магдануровна (RU),
 Левинсон Феликс Семенович (RU),
 Егорова Светлана Николаевна (RU),
 Галкин Владимир Иванович (RU)

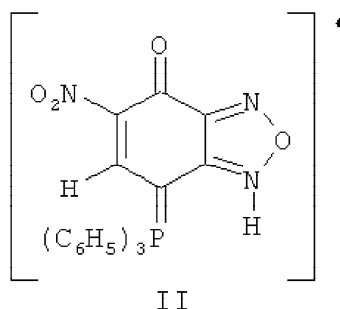
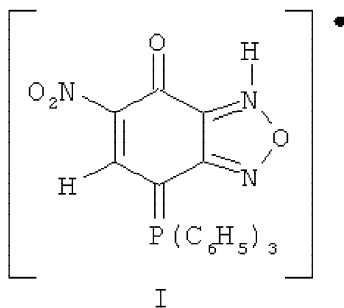
(73) Патентообладатель(и):

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

(54) СТАБИЛЬНЫЕ РАДИКАЛЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ И ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым гетероциклическим радикалам формул I и II, обладающим бактерицидными и фунгицидными свойствами, которые могут найти применение в ветеринарии и медицине, а также в качестве меток при исследовании путей метаболизма лекарственных препаратов в живых организмах.



Предложены новые, не имеющие аналогов бактерицидные и фунгицидные соединения формул (I) и (II). 1 табл., 3 пр., 2 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 465 279** (13) **C1**

(51) Int. Cl.
C07F 9/535 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2011122469/04, 02.06.2011

(24) Effective date for property rights:
02.06.2011

Priority:

(22) Date of filing: 02.06.2011

(45) Date of publication: 27.10.2012 Bull. 30

Mail address:

420008, g.Kazan', ul. Kremlevskaja, 18, FGAOU
VPO KFU

(72) Inventor(s):

**Galkina Irina Vasil'evna (RU),
Spiridonova Margarita Pavlovna (RU),
Jusupova Luiza Magdanurovna (RU),
Levinson Feliks Semenovich (RU),
Egorova Svetlana Nikolaevna (RU),
Galkin Vladimir Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

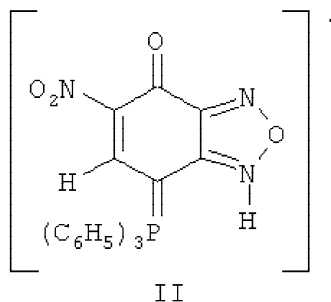
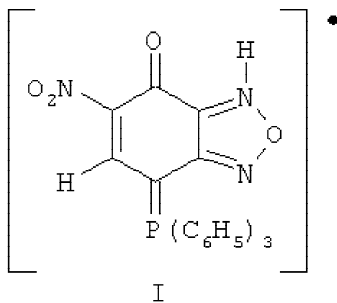
**Federal'noe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovanija "Kazanskij
(Privolzhsnij) Federal'nyj Universitet" (FGAOU
VPO KFU) (RU)**

(54) **STABLE RADICALS HAVING BACTERICIDAL AND FUNGICIDAL ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to novel
heterocyclic radicals of formulae
and



having

bactericidal and fungicidal properties, which can be used in veterinary and medicine, as well as labels when investigating metabolic routes of medications in living organisms.

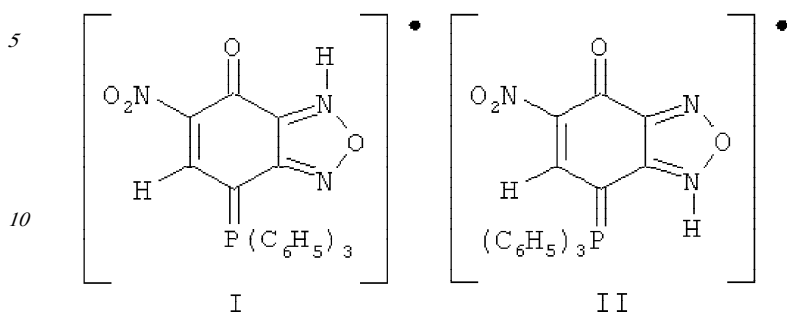
EFFECT: novel, unparalleled bactericidal and fungicidal compounds are disclosed.

1 cl, 1 tbl, 3 ex, 2 dwg

RU 2 465 279 C1

RU 2 465 279 C1

Изобретение относится к области органической химии, в частности фосфорилированным азот- и кислородсодержащим гетероциклам - бензофуроксанам и -фуразанам, а именно к стабильным NH-радикалам общей формулы I и II:



15 обладающим высокой бактерицидной и фунгицидной активностью при низких концентрациях, которые могут найти применение в области ветеринарии, медицины и сельского хозяйства в качестве лекарственных и дезинфицирующих средств и в качестве меток при исследовании путей метаболизма лекарственных препаратов в ликворах живых организмов.

20 Разработка новых отечественных лекарственных препаратов в настоящее время поставлена государством в ранг основных приоритетных направлений социально-экономического развития и национальной безопасности страны. Фундаментальной задачей биомолекулярной, фармацевтической и медицинской химии является разработка новых методов синтеза, позволяющих целенаправленно конструировать
25 новые эффективные лекарственные средства, обладающие высокой физиологической активностью и минимальной токсичностью. Для успешного осуществления данной задачи необходимо решать вопросы, находящиеся на стыке многих областей науки - органической, элементоорганической, физической, фармацевтической химии, физики и
30 медицины. Однако отсутствие на сегодняшний день единой удовлетворительной теории, связывающей химическое строение с биологической активностью, существенно замедляет появление новых отечественных лекарственных препаратов.

Заявителем заявлен новый класс соединений, ранее не известный из уровня техники, не имеющий аналогов в мире и не описанный в литературе. После проведения
35 биологических испытаний на патогенную микрофлору человека и животных заявителем были получены высокие антибактериальные и антимикотические результаты. Кроме того, заявленные соединения по данным метода ЭПР (электронного парамагнитного резонанса) являются стабильными NH-радикалами,
40 которые могут быть использованы в качестве меток для исследования процессов метаболизма и распределения лекарственных препаратов в ликворах (биологических жидкостях) организма.

Структурных аналогов в качестве лекарственных меток из исследованного уровня техники и литературных источников не выявлено. Однако есть структурные аналоги в
45 ряду замещенных бензофуроксанов по антитрипонасомной, противораковой и антибактериальной активности в работах зарубежных авторов [Porcal W., Herrandes P., Boiani M., Aguirre G., Boiani L., ets. In vivo anti-Chahas vinylthio-, and vinylsulfonylbenzofuroxan derivatives. J.Med.Chem. 2007, 50 (24), P. 6004-6015.; Aguirre G.,
50 Boiani M., Cerecetto H., ets. Furoxan derivatives as cytotoxic agents: preliminary in vivo antitumoral activity studies. Pharmazie, 2005, 61 (10), P.54-59].

Известен функциональный аналог по биологическому действию заявляемых соединений по назначению - действующее вещество многих отечественных и

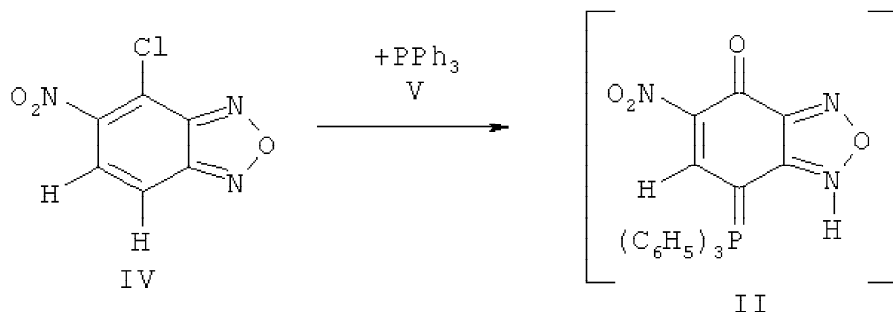
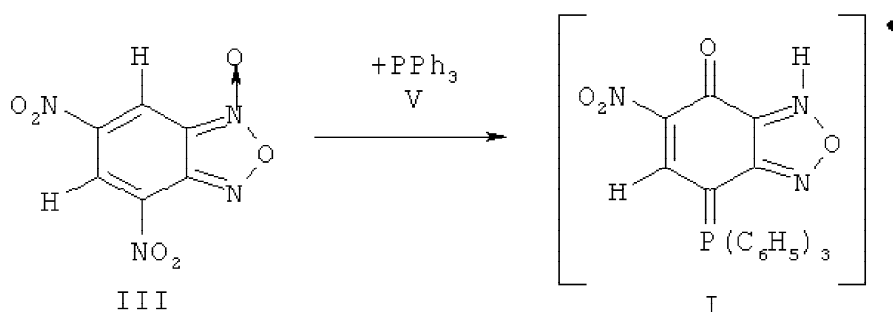
зарубежных (Франция, Германия, Нидерланды) антибактериальных, антисептических препаратов - бензалконий хлорид (Benzalkonium chloride), представляющее собой хлорид бензилалкилдиметиламмония, где в качестве алкила используется смесь высших галоидных алкилов с длиной радикала от C8 до C18 [Янгсон Р.М.

5 Медицинский энциклопедический словарь (Collins), М.: АСТ Астрель, 2006, 1375 с.].

Недостатком данного препарата - бензалкония хлорида - является его высокая рабочая концентрация (1% раствор), при низких температурах выпадает в осадок, имеет низкую термическую устойчивость - до 100°C, как и все соли аммония, которые при нагревании распадаются на исходные соединения и теряют свою терапевтическую 10 активность. В связи с этим затруднена стерилизация данных препаратов (100°C) и автоклавирование (200°C). Кроме того, все препараты, содержащие бензалконий хлорид, разрушаются мылом, о чем указано в инструкции по их применению [Бурбелло А.Т., Шабров А.В. Современные лекарственные средства. - М.: ОЛМА 15 Медиа Групп, 2007, - С.681].

Задачей предлагаемого изобретения являются новые стабильные (до 200°C по данным метода ТГ-ДСК) радикальные системы (I) и (II), обладающие более широким биодействием - одновременной и бактерицидной, и фунгицидной активностью в 20 низких концентрациях (от 0.1 до 0,01%), в отличие от бензалкония хлорида, который обладает только бактерицидным действием, таким образом заявленное техническое решение значительно расширяет ассортимент известных средств указанного назначения с возможностью их использования в качестве меток при метаболизме лекарственных препаратов в различных ликворах живого организма.

25 Технический результат достигается получением устойчивых NH-радикалов (I) и (II) в эфирно-спиртовой среде 1:1 при комнатной температуре по реакции трифенилфосфина (V) с 5,7-динитробензофураксаном формулы (III) и 4-хлор-5-нитробензофуразаном формулы (IV), обладающих антибактериальным и 30 фунгицидными свойствами.



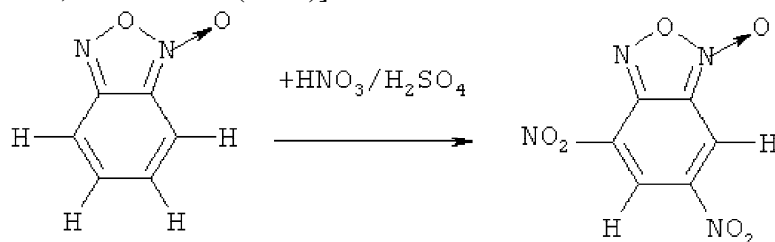
50 Заявленное техническое решение поясняется следующими материалами. На фиг.1 представлены ЭПР-спектры гетероцикла (I) и гетероцикла (II). На фиг.2 представлены молекулярные структуры в кристаллах стабильных NH-радикалов (I) и (II),

полученных методом рентгеноструктурного анализа (РСА).

По данным ЭПР-спектров продукты монофосфорилирования - 6-нитро-7-оксо-4-(трифенилфосфоранилиден)-4,7-дигидро-2,1,3-бензоксадиазол-1-иумил (I, рис.1) и 5-нитро-4-оксо-7-(трифенилфосфоранилиден)-4,7-дигидро-2,1,3-бензоксадиазол-1-иумил (II, фиг.1) представляют собой стабильные NH-радикалы и открывают новый класс ранее неописанных соединений:

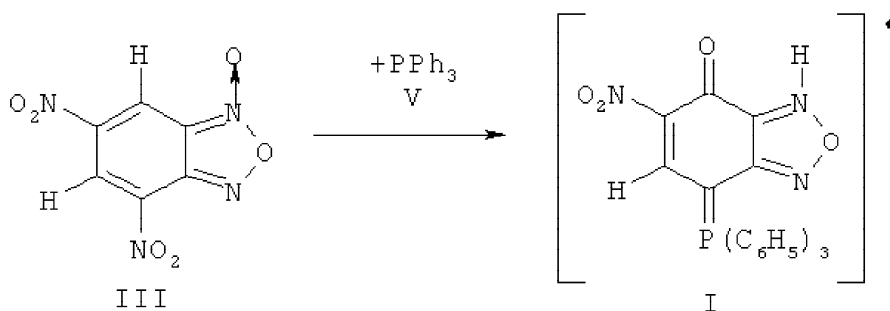
Исходный трифенилфосфин (V) хлорнитробензофуразан (IV) являются доступными коммерческими препаратами.

4.6-Динитробензофуросан (III) легкодоступный в синтетическом плане реактив получен по методике, описанной в работе немецких авторов [R. Nietski, R. Dietschy. Ber., N.34. - S.55 (1901)]:



Способы получения NH-стабильных радикалов на основе замещенных бензофуросана и бензофуразана иллюстрируются следующими примерами.

Пример 1. Способ получения стабильного радикала (I):



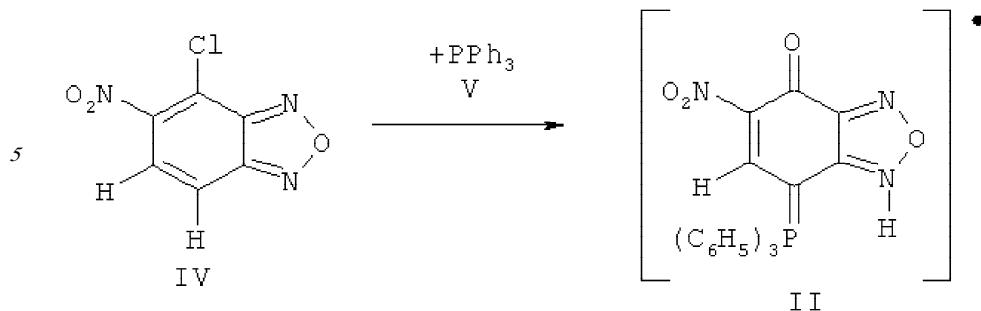
К раствору 2,26 г (0,01 моль) 4.6-динитробензофуросана (III) в 25 мл абс. смеси растворителей этанола и диэтилового эфира прибавляют раствор 2,62 г (0,01 моль) трифенилфосфина в 25 мл того же растворителя. Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре (18-20°C) в течение 72 часов, затем охлаждают и хранят в холодильной камере при 0°C до появления кристаллического продукта.

Через две недели из реакционной массы выкристаллизовываются друзы игольчатых кристаллов темно-красного цвета, которые по данным РСА имеют структуру сложного фосфоилида (I), представляющего собой по данным ЭПР стабильный свободный радикал.

Осадок отделяют, промывают эфиром от исходных соединений, сушат. Выход 2,78 г (57%), $T_{пл.}$ 177.7°C. ИК: 3290 cm^{-1} (NH), 1620 cm^{-1} (C=N), 980 cm^{-1} (N-O). Найдено, %: C 65.54; H 4.03; N 9.77 $C_{24}H_{17}N_3O_4P$. Вычислено, %: C 65.16; H 3.85; N 9.50.

Методом РСА установлена окончательная структура гетероцикла (I) и приведена на фиг.2(1).

Пример 2. Способ получения стабильного радикала (II):



К раствору 2,00 г (0,01 моль) 4-хлор-5-нитробензофуразана (IV) в 25 мл абс. смеси растворителей этанола и диэтилового эфира прибавляют раствор 2,62 г (0,01 моль) трифенилфосфина в 25 мл того же растворителя.

15 Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре (18-20 С) в течение 72 часов, затем охлаждают и хранят в холодильной камере при 0°С до появления кристаллического продукта.

Через две недели из реакционной массы выкристаллизовываются пластинки кристаллов темно-зеленого цвета, которые по данным РСА имеют структуру сложного фосфолида (II), представляющего собой по данным ЭПР стабильный свободный радикал.

Осадок отделяют, промывают эфиром от исходных соединений, сушат. Выход 3,19 г (69%), $T_{пл.}$ 291,2°С. ИК: 3290 $см^{-1}$ (NH), 1620 $см^{-1}$ (C=N). Найдено, %: С 65.05; Н 3.47; N 9.19 $C_{24}H_{17}N_3O_4P$. Вычислено, %: С 65.16; Н 3.85; N 9.50. Методом РСА установлена окончательная структура гетероцикла (II) и приведена на фиг.2 (II).

Пример 3. Исследование биологической активности

20 Фунгицидную и бактерицидную активность фосфорилированных гетероциклов формулы (I) и (II) исследовали на тест-культурах: *Candida Albicans*, *Staphylococcus aureus*,
 30 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* [Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. - М.: Медицина, 1971. - 245 с.]. Для оценки биоцидной активности исследованные вещества формулы (I) и (II) в виде 1% растворов в ДМСО (диметилсульфоксиде) вносили в лунки агаризированной питательной среды.
 35 О бактерицидной и фунгицидной активности судили по наличию зоны ингибирования роста тест-культур, которая образуется вокруг лунок с исследуемым веществом. Результаты исследования фунгицидной и бактерицидной активности гетероциклов формулы (I) представлены в таблице 1.

40

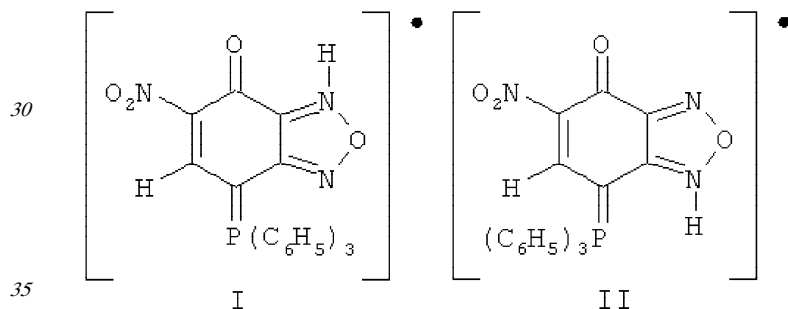
Таблица 1					
Фунгицидная и бактерицидная активность гетероциклов (I) и (II)					
Соединение	Зона ингибирования роста бактерий и грибов, R (мм)				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Candida Albicans</i>
45 50 I	21	17	9	13	30

5	<p style="text-align: center;">II</p>	17	11	17	17	28
10						

Преимуществами заявленных соединений является то, что они обладают более высокой бактерицидной и одновременно высокой фунгицидной активностью при низких концентрациях (от 0.1 до 0,01%), против более высокой рабочей концентрации (1% раствор) у наиболее близкого функционального аналога по биологическому действию - бензалкония хлорида. Кроме того, заявленные NH-радикалы показали высокую термическую стабильность (по данным метода термогравиметрии и сканирующей калориметрии) вплоть до 200°C, что делает возможным их использование (стерилизация, автоклавирование) в фармакологии, при создании перспективных отечественных лекарственных средств и дезинфицирующих средств в медицине и ветеринарии.

Формула изобретения

25 Стабильные фосфорилированные NH-бензофуразановые радикалы формулы (I) и (II):

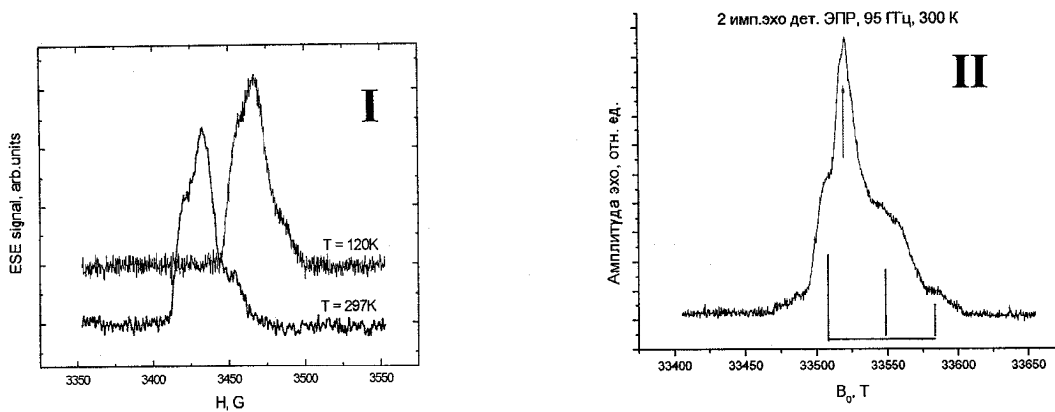


обладающие бактерицидной и фунгицидной активностью.

40

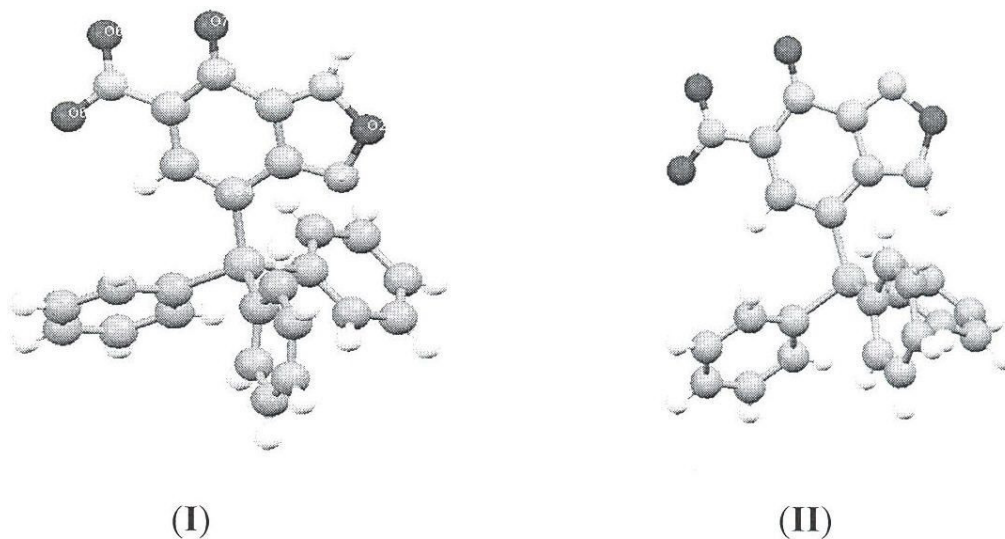
45

50



ЭПР-спектры стабильных радикалов (I) и (II), обладающих бактерицидной и фунгицидной активностью

Фиг.1



Молекулярная структура в кристаллах стабильных NH-радикалов (I) и

(II)

Фиг. 2