

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2465279

**СТАБИЛЬНЫЕ РАДИКАЛЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ  
БАКТЕРИЦИДНОЙ И ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

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

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2011122469

Приоритет изобретения **02 июня 2011 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **27 октября 2012 г.**

Срок действия патента истекает **02 июня 2031 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



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)*

RU 2465279 C1



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

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

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

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(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)

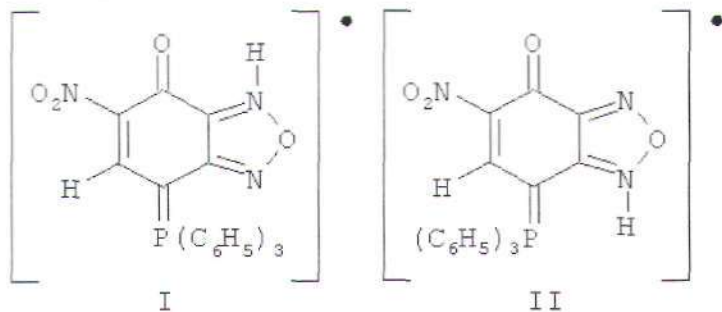
(73) Патентообладатель(и):

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) Формула изобретения

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



обладающие бактерицидной и фунгицидной активностью.



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 465 279** <sup>(13)</sup> **C1**

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

(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)

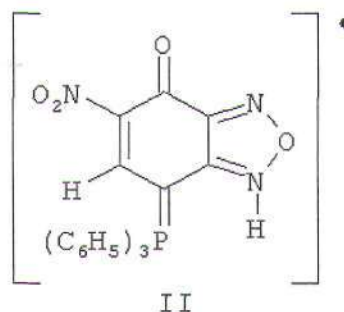
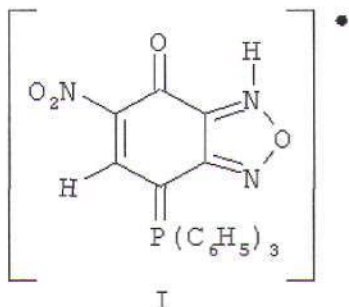
(73) Патентообладатель(и):

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

(54) СТАБИЛЬНЫЕ РАДИКАЛЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ И ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

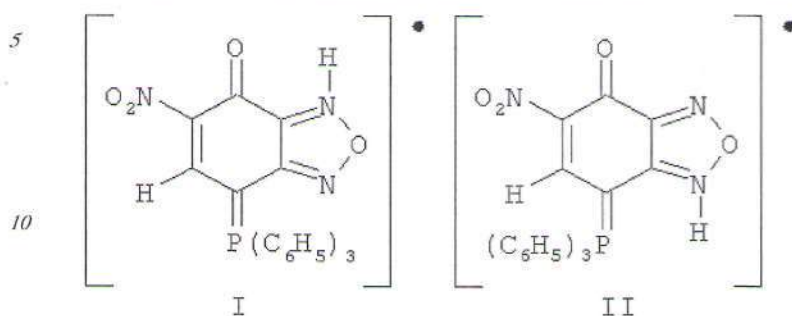
(57) Реферат:

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.

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.

35 Заявителем заявлен новый класс соединений, ранее не известный из уровня техники, не имеющий аналогов в мире и не описанный в литературе. После проведения биологических испытаний на патогенную микрофлору человека и животных заявителем были получены высокие антибактериальные и антимикотические результаты. Кроме того, заявленные соединения по данным метода ЭПР  
40 (электронного парамагнитного резонанса) являются стабильными NH-радикалами, 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-Chagas 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

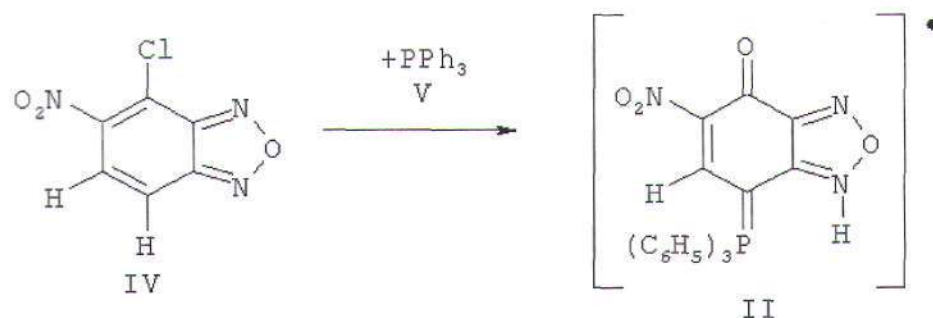
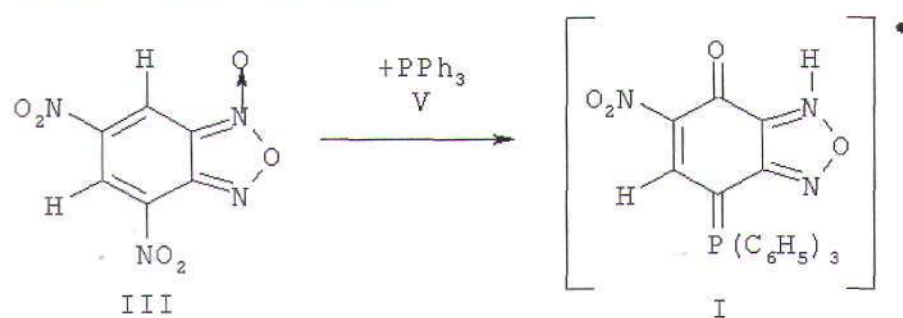
зарубежных (Франция, Германия, Нидерланды) антибактериальных, антисептических препаратов - бензалконий хлорид (Benzalkonium chloride), представляющее собой хлорид бензилалкилдиметиламмония, где в качестве алкила используется смесь высших галоидных алкилов с длиной радикала от C8 до C18 [Янгсон Р.М.

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-динитробензофуроксаном формулы (III) и 4-хлор-5-нитробензофуразаном формулы (IV), обладающих антибактериальным и 30 фунгицидным свойствами.



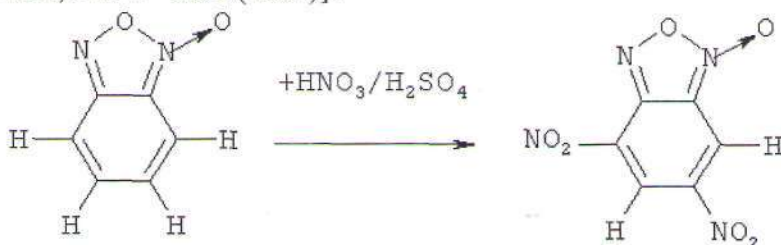
50 Заявленное техническое решение поясняется следующими материалами. На фиг.1 представлены ЭПР-спектры гетероцикла (I) и гетероцикла (II). На фиг.2 представлены молекулярные структуры в кристаллах стабильных NH-радикалов (I) и (II),

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:

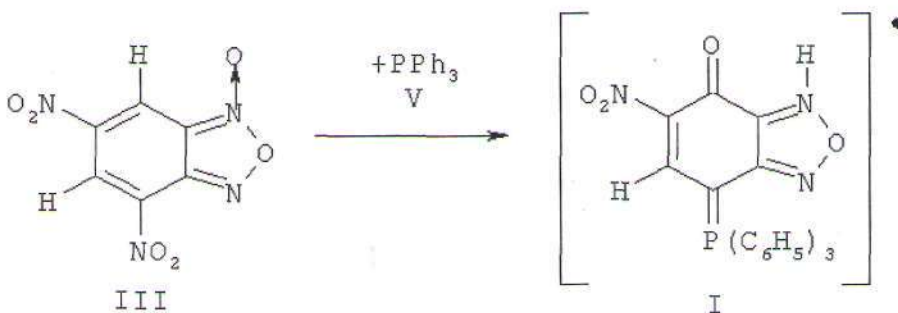
Исходный трифенилфосфин (V) хлорнитробензофуразан (IV) являются доступными коммерческими препаратами.

4,6-Динитробензофуруксан (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 бензофуруксана и бензофуразана иллюстрируются следующими примерами.

Пример 1. Способ получения стабильного радикала (I):



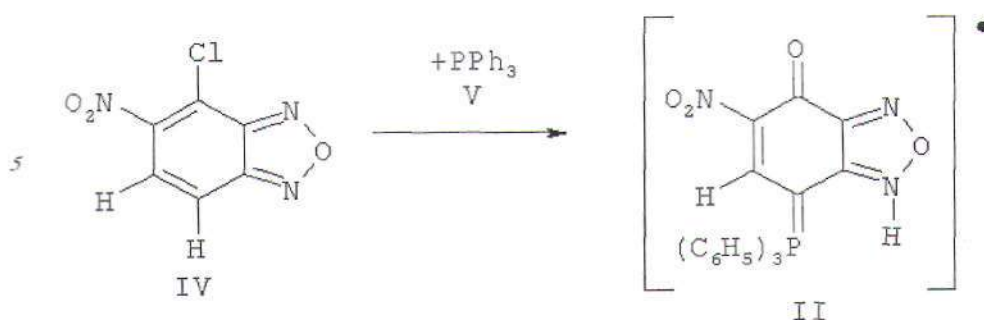
К раствору 2,26 г (0,01 моль) 4,6-динитробензофуруксана (III) в 25 мл абс. смеси растворителей этанола и диэтилового эфира прибавляют раствор 2,62 г (0,01 моль) трифенилфосфина в 25 мл того же растворителя. Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре (18-20°C) в течение 72 часов, затем охлаждают 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 фосфоида (I), представляющего собой по данным ЭПР стабильный свободный радикал.

Осадок отделяют, промывают эфиром от исходных соединений, сушат. Выход 2,78 г (57%), T<sub>пл.</sub> 177,7°C. ИК: 3290 см<sup>-1</sup> (NH), 1620 см<sup>-1</sup> (C=N), 980 см<sup>-1</sup> (N-O). Найдено, %: С 65,54; Н 4,03; N 9,77 C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P. Вычислено, %: С 65,16; Н 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.

20 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.

25 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

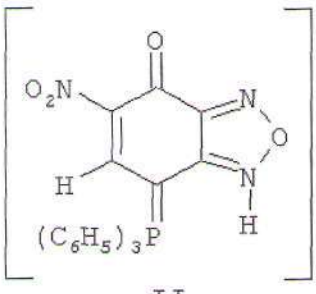
30 Фунгицидную и бактерицидную активность фосфорилированных гетероциклов формулы (I) и (II) исследовали на тест-культурах: *Candida Albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* [Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. - М.: Медицина, 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. О бактерицидной и фунгицидной активности судили по наличию зоны ингибирования 35 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

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 <p style="text-align: center;">I</p>	21	17	9	13	30

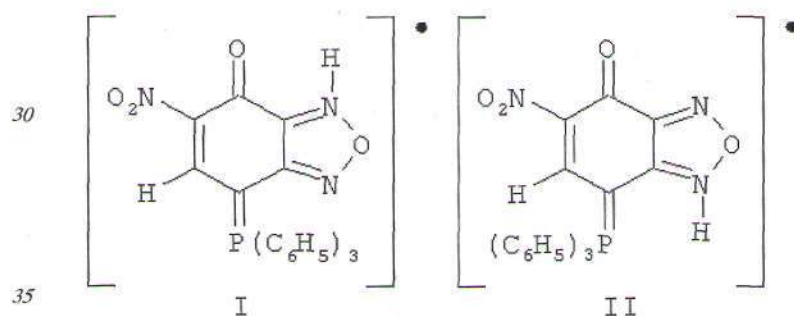


5	 II	17	11	17	17	28
10						

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):

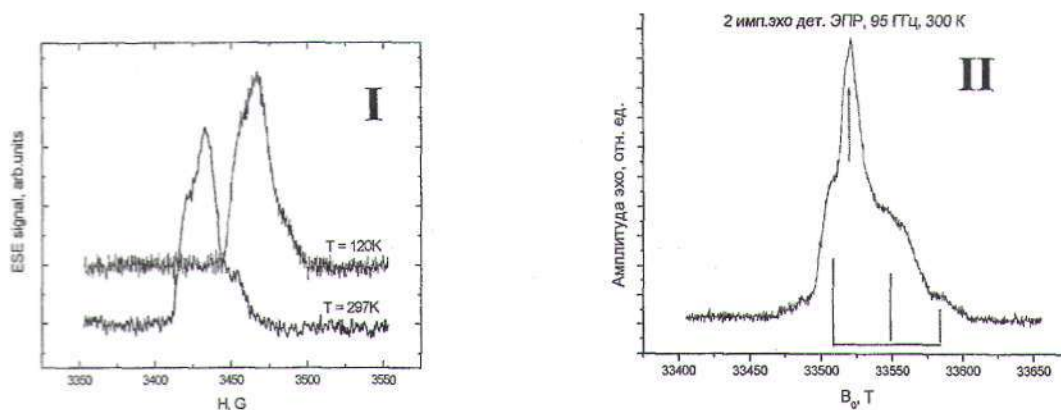


обладающие бактерицидной и фунгицидной активностью.

40

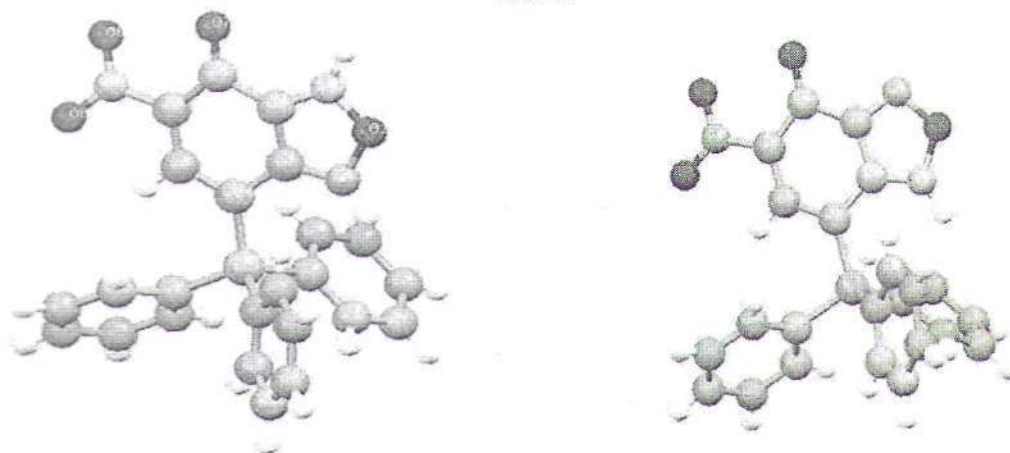
45

50



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

Фиг.1



(I)

(II)

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

(II)

Фиг. 2