



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66141** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
C07D 277/08 (2006.01)
A61P 17/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) **5-(3'-КАРБОКСИФЕНІЛАЗО)-4-ІЗОНІКОТИНОІЛГІДРАЗОНТІАЗОЛІДИН-2-ОН, ЩО ВІДПОВІДАЄ ПРОТИМІКРОБНУ ТА ПРОТИГРИБКОВУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) u201106824

(22) 31.05.2011

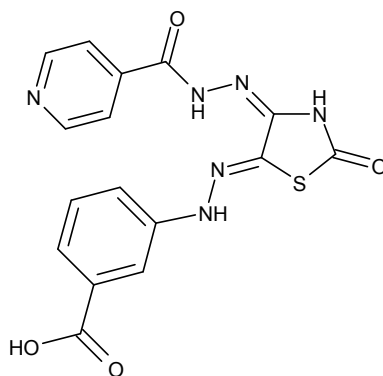
(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл. № 24, 2011 р.

(72) ШТОЙКО НАТАЛІЯ ЄВГЕНІВНА,
ЗІМЕНКОВСЬКИЙ БОРИС СЕМЕНОВИЧ,
НЕКТЕСАСВ ІГОР ОЛЕКСІЙОВИЧ

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) 5-(3'-Карбоксифенілазо)-4-ізонікотинілолгідрозонтіазолідін-2-он формули:

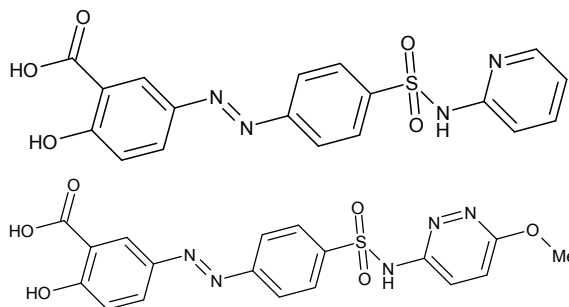


що виявляє протимікробну та протигрибкову активність.

Корисна модель належить синтезу органічних сполук і фармації, зокрема одержання біологічно активних сполук, що виявляють протимікробну та протигрибкову активність, і можуть бути використані в клінічній медицині як протимікробні та протигрибкові лікарські засоби.

Серед похідних тіазолідину відомо ряд сполук, що мають виразну протимікробну та протигрибкову активність, в тому числі антибіотики пеніцилінового ряду. Серед сполук даного ряду ідентифіковано інгібітори PBP - групи транспептидаз (UDP-Mur-NAc-пентапептидаза, UDP-Mur-N-Ac-мураміл/L-аланінлігаза) [1], UDP-галактопіраноза-мутази [2]; синтезу dTDP-рамнози [3] тощо. Відомо, що 5-арилазопохідні тіазолідинів, а, особливо, арилазосполуки із залишками сульфаниламідних препаратів, виявляють значний бактерицидний ефект. Тому пошук нових синтетичних протимікробних та протигрибкових засобів із групи арилазопохідних тіазолідину є актуальним.

Відомі лікарські засоби з протимікробною активністю, наприклад, салазосульфapіридин, салазопіридазин, які містять арилазогрупу [4].

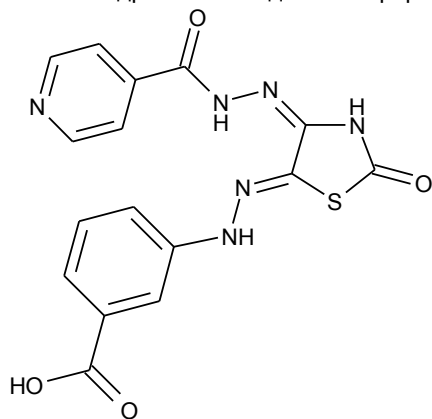


Салазосульфapіридин - це азосполука сульфapіридину з саліцилатною кислотою, а салазопіридазин - азосполука сульфapіридазину з саліцилатною кислотою. Препарати в організмі метаболізують з утворенням сульфapіридину або сульфapіридазину та 5-аміносаліцилатної кислоти, які виявляють протимікробну та протизапальну дію. Ці лікарські засоби мають необхідні лікувальні властивості, проте характеризуються значними побічними ефектами: нудота, блювота, головна біль, головокружіння, шкірні висипки, лихоманка, лейкопенія.

(13) **U**(11) **66141**(19) **UA**

В основу корисної моделі поставлено задачу створення більш ефективного протимікробного та протигрибкового засобу на основі сполук, що містять арилазо-групу з меншими побічними явищами.

Поставлена задача вирішується тим, що синтезований 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-он формули:



що проявляє протимікробну та протигрибкову активність.

Синтезована сполука - кристалічний порошок помаранчевого кольору, розчинний в диметилформаміді (ДМФА), диметилсульфоксиді (ДМСО), погано розчинний у спиртах, нерозчинний у воді та ефірі.

Для доказу складу і структури синтезованої сполуки були використані відомі фізико-хімічні методи, ІЧ-, УФ-спектроскопія та елементний аналіз. Одержані результати свідчать про відповідність синтезованої сполуки заявленій.

Заявлений 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-он одержують взаємодією 4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-ону з хлоридом 3-карбокси-бензендіазонію в умовах реакції азосполучення в середовищі льодяної ацетатної кислоти в присутності ацетату натрію. Необхідний 4-ізонікотиноїл-

гідразонтіазолідин-2-он синтезують на основі ізоніазиду та ізороданіну.

Для визначення протимікробної та протигрибкової активності 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-ону проведено in vitro скринінг методом дифузії в агар на клінічних ізолятах патогенних мікроорганізмів, які характерні поліантибіотикорезистентністю. Як тест-мікроорганізми були використані клінічні ізоляти умовно патогенних бактерій: золотисті стафілококи (високорезистентний і помірнорезистентний до оксациліну *Staphylococcus aureus*), коагулазо-негативні стафілококи (високорезистентні до оксациліну *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus cohnii*, помірнорезистентний *Staphylococcus epidermidis* і високочутливий *Staphylococcus hominis*), ентеробактерії і синьо-гнійна паличка (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozenae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Pseudomonas aeruginosa*), а для визначення антигрибкової активності - *Candida albicans*. У контрольних лунках, до яких вносили розчинники - етанол і 12,5 % ДМСО, пригнічення росту тест-культури не спостерігалось. Встановлено, що розчинники не виявляли суттєвого впливу на протимікробну активність тестованих сполук.

В умовах експерименту, результати якого наведено в таблиці, 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-он виявив високу протимікробну та протигрибкову активність при використанні різних тест-культур мікроорганізмів.

Для цієї сполуки діаметр зон пригнічення росту стафілококів був на рівні еталонів - хлоргексидину та бетадіну - та більший. Аналогічна активність спостерігалась і відносно до ентеробактерій та синьо-гнійної палички. Також сполука, що заявляється, є високоактивною відносно дріжджеподібного грибка.

Таким чином, сполука, що заявляється, виявляє високу протимікробну та протигрибкову активність і є перспективним протимікробним і/або протигрибковим засобом.

Таблиця

Протимікробна та протигрибкова активність 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиноїлгідразонтіазолідин-2-ону

Тест-культура	Діаметр зон пригнічення росту, мм		
	Досліджувана сполука	Хлоргексидин 0,05 %	Бетадин (повідон-йодид) 10 %
золотисті стафілококи			
<i>Staphylococcus aureus</i> (висока резистентність до оксациліну MIC ≥ 32 мкг/мл)	13,85 \pm 1,87	13,42 \pm 0,37	12,8 \pm 0,39
<i>Staphylococcus aureus</i> (помірна резистентність до оксациліну MIC=16 мкг/мл)	15,2 \pm 0,20	7,89 \pm 0,2	7,44 \pm 0,24
коагулазо-негативні стафілококи			
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (висока резистентність до оксациліну MIC ≥ 256 мкг/мл)	14,50 \pm 3,0	14,92 \pm 0,28	7,25 \pm 0,13

Продовження таблиці

Staphylococcus cohnii (висока резистентність до оксациліну MIC \geq 64 мкг/мл)	19,30 \pm 0,25	15,00 \pm 0,25	8,17 \pm 0,18
Staphylococcus warneri (висока резистентність до оксациліну MIC \geq 64 мкг/мл)	7,18 \pm 0,83	13,83 \pm 0,18	7,88 \pm 0,17
Staphylococcus epidermidis (помірна резистентність до оксациліну MIC=16 мкг/мл)	17,83 \pm 0,17	15,25 \pm 0,28	7,17 \pm 0,37
Staphylococcus hominis (висока чутливість до оксациліну MIC \leq 0,25 мкг/мл)	21,5 \pm 0,05	14,1 \pm 0,30	8,17 \pm 0,18
ентеробактерії і синьо-гнійна паличка			
Klebsiella pneumoniae	8,90 \pm 0,10	6,82 \pm 0,43	0
Klebsiella ozenae	0	6,50 \pm 0,28	0
Enterobacter aerogenes	5,75 \pm 0,75	7,65 \pm 0,45	5,10 \pm 0,08
Enterobacter gergoviae	7,10 \pm 0,08	7,10 \pm 0,08	4,10 \pm 0,08
Pseudomonas aeruginosa	5,85 \pm 0,15	4,85 \pm 0,45	4,40 \pm 0,24
дріжджеподібний грибок			
Candida albicans	15,33 \pm 1,78	-	-

Гостра токсичність визначалась при внутрішньочеревному введенні синтезованої сполуки на безпородних білих мишах-самцях вагою 18-22 г, які знаходились на звичайному раціоні харчування (сполуку суспендували в дистильованій воді з додаванням твіну-80). Розрахунок LD₅₀ здійснювали за методом Літчфільда та Уілкоксона [5].

У результаті проведених токсикометричних досліджень встановлено, що для досліджуваної сполуки величина LD₅₀ складає 740 \pm 35 мг/кг. Це дозволяє віднести 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиніолгідразонтіазолідин-2-он до малотоксичних сполук, згідно з класифікацією Сидорова К.О. [6], що відповідає вимогам до лікарських засобів.

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено приклад одержання 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиніолгідразонтіазолідин-2-ону. Сполуку синтезують таким чином.

Синтез 4-ізонікотиніолгідразонтіазолідин-2-ону.

0,1 Моль ізоніазиду, 0,1 моль ізороданіну і 60 мл метанолу нагрівають 45 хв. на водяній лазні зі зворотним холодильником. Реакційну суміш залишають на 1 добу. Отриманий осад відфільтровують, промивають метанолом, висушують. Перекристалізують з бутанолу. Отримують безбарвні кристали. Вихід 52 %. T_{топл.} 171-174 °C.

Знайдено, %: N 23,58; S 13,46. C₉H₈N₄O₂S. Вираховано, %: N 23,71; S 13,57

ІЧ-спектр., частота вбирання см⁻¹: 3193 (ν NH), 3034 (ν CH), 1693, 1640 (ν CO), 1527, 1209 (ν C=N), 1409 (ν C-N), 689 (ν C-S), 1048 (ν піридин, кільця), 961, 760 (δ піридин, кільця), 644 (ν C-S-C).

ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 4,36 с (2H, CH₂) 7,74д, 7,79д, 8,72д (4H, піридин), 10,92с 11,54с (2H, 2*NH).

Синтез 5-(3'-карбоксифенілазо)-4-ізонікотиніолгідразонтіазо-лідин-2-ону.

До розчину 0,005 моль m-амінобензойної кислоти в 1,25 мл конц. HCl і 2,5 мл води краплями при температурі близько 0 °C додають розчин 0,005 моль натрій нітриту в 1,5 мл води. Витримують цю суміш при охолодженні 30-40 хв. Готують інший розчин розчиненням 0,005 моль 4-ізонікотиніолгідразонтіазолідин-2-ону, 2 г безводного натрій ацетату в 20 мл оцтової кислоти при нагріванні. Охолоджують до 20 °C (не нижче). Додають отриманий розчин до розчину солі діазонію за один прийом при охолодженні та енергійному перемішуванні за допомогою електромішалки. Через деякий час починає утворюватись барвник. Реакційну суміш залишають на добу при охолодженні. Утворений осад відфільтровують, промивають водою, висушують. Очищують переосадженням водою з ацетатної кислоти. Вихід 81 %. T_{топл.} 197-200 °C. Знайдено, %: N 21,57; S 8,57. C₁₆H₁₂N₆O₄S. Вираховано, %: N 21,87; S 8,37.

ІЧ-спектр., частота вбирання см⁻¹: 3448, 3237 (ν NH(s, as), 3030 (ν CH), 1701 (ν CO), 1271 (ν C=N), 1412 (ν C-N), 750 (ν C-S), 1060 (ν піридин, кільця), 1012, 844 (δ піридин, кільця), 678 (ν C-S-C), 1546 (ν C=C).

УФ-спектр., λ, нм/lge: 204/1,13; 345/0,58, 367/0,47.

Джерела інформації:

1. M.M. Sim, S.B. Ng, A.D. Buss et al. Benzylidene rhodanines as novel inhibitors of UDP-N-acetylmuramate/L-alanine ligase // Bioorg. Med. Chem. Lett.-2002. -Vol.12, № 4. - P. 697-699.

2. E. Karlson, J. May, L. Kiessling Chemical Probes of UDP-Galactopyranose Mutase // Chem. Biol.-2006. - Vol. 13. - P. 825-837.

3. K. Babaoglu, M.A. Page, V.C. Jones et al. Novel Inhibitors of an Emerging Target in Mycobacterium tuberculosis; Substituted Thiazolidinones as Inhibitors of dTDP-rhamnose Synthesis // Bioorg. Med. Chem. Lett.-2003. -Vol.13. - P. 3227-3230.

4. М.Д. Машковський Лекарственные средства. В двух томах. Т.1 - Изд. 13-е, новое. -Харьков: Торсинг, 1998.-560 с.

5. J.T. Litchfield, F. Wilcoxon A simplified method of evaluating dose-effect experiments // J. Pharmacol. Exp. Ther.-1949. - Vol.96. - P.99.

6. Сидоров К.К. О класификации токсичности ядов при парэнтеральном способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. - М.: Медицина.-1973. - Вып. 13. - С. 47-51.