



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122991** (13) **C2**

(51) МПК (2021.01)

C07D 249/08 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A01N 43/647 (2006.01)

A01P 1/00

A01P 3/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

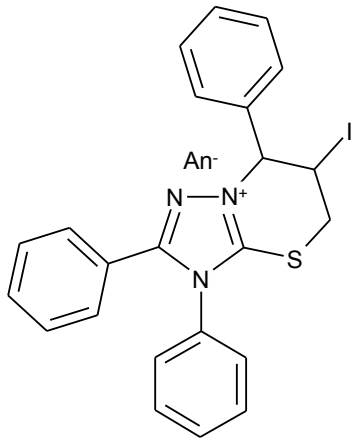
<p>(21) Номер заявки: а 2019 05402</p> <p>(22) Дата подання заявки: 20.05.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 28.01.2021</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 10.09.2019, Бюл.№ 17</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 27.01.2021, Бюл.№ 4</p>	<p>(72) Винахідник(и): Король Наталія Іванівна (UA), Пантьо Валерій Валерійович (UA), Сливка Михайло Васильович (UA), Кривов'яз Андрій Олександрович (UA), Коваль Галина Миколаївна (UA), Лендел Василь Георгійович (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Slivka M. et al. Regio- and stereoselective synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium salts via electrophilic heterocyclization of 3-S-propargylthio-4H-1,2,4-triazoles and their antimicrobial activity.// Heterocyclic Communications. 01.04.2017, vol. 23, no. 2, p. 109-113 Slivka M. et al. Synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium and [1,2,4]triazolo[5,1-b][1,3]thiazin-4-ium salts via regioselective electrophilic cyclization of 3-S-alkenylthio-4H-1,2,4-triazoles.// Heterocyclic Communications. 2015, vol. 21, no. 6, p. 397-401</p>
---	---

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ЙОДОВІСНИХ СОЛЕЙ 1,2,4-ТРИАЗОЛІЮ ЯК БАКТЕРИЦИДІВ ТА ФУНГІЦИДІВ

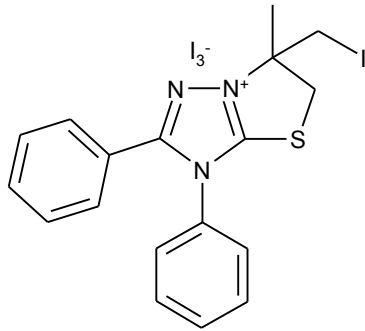
(57) Реферат:

Винахід стосується застосування йодовмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу формул (I-IV), де An^- є ClO_4^- , I_3^- , як бактерицидів та фунгіцидів, що проявляють високу фунгіцидну, бактерицидну та бактериостатичну активність, та може бути використаний для створення нових протигрибкових препаратів та засобів дезінфекції як антисептиків для боротьби з патогенними мікроорганізмами, збудниками госпітальних інфекцій

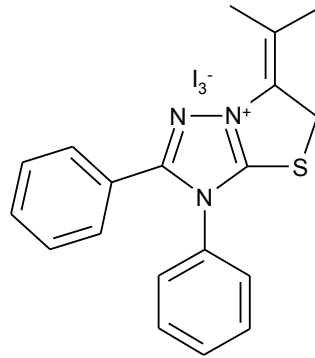
UA 122991 C2



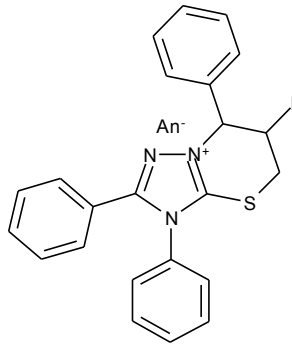
I, II



III



IV



I, II

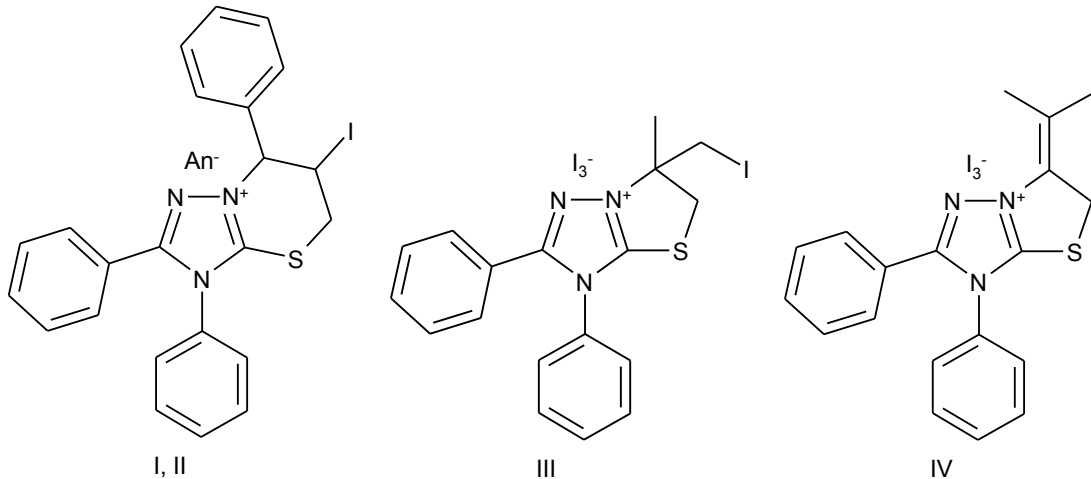
Винахід стосується органічної хімії, а саме до застосування йодовмісних солей 1,2,4-триазолію як бактерицидів та фунгіцидів.

Відомі бактерицидні речовини, які містять в своєму складі фрагмент 1,2,4-триазол-3-тіолу, але вони характеризуються складним багатоступінчастим синтезом й використанням важкодоступних вихідних реагентів [1-3].

Найбільш близькими за технічною суттю до заявлених є піридилвмісні 1,2,4-триазол-3-тіоли, але мають помірну антимікробну активність [4].

Задачею винаходу є пошук речовин класу 1,2,4-триазолу, а саме йодовмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу, які характеризуються доступністю мають високу фунгіцидну, бактерицидну та бактериостатичну активність відносно всіх прокаріотичних і еукаріотичних мікроорганізмів, а особливо збудників внутрішньолікарняних інфекцій.

Поставлена задача вирішується застосуванням йодовмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу загальної формули (I-IV):



де
 $An^- \in ClO_4^-, I_3^-$,
 як бактерицидів та фунгіцидів.

Суть винаходу досягається таким чином.

Загальна методика одержання та фізико-хімічні характеристики похідних I, II, III, IV описано в роботах [5, 6]:

Трийодид 6-йодо-2,3,7-трифеніл-3,5,6,7-тетрагідро-1,2,4-триазоло[5.1-b]-[1,3]тіазинію-8 (I).

Перхлорат 6-йодо-2,3,7-трифеніл-3,5,6,7-тетрагідро-1,2,4-триазоло[5.1-b]-[1,3]тіазинію-8 (II).

Трийодид 2,3-дифеніл-6-йодометил-5,6-дигідро-3Н-1,3-тіазоло[3,2-b]-[1,2,4]триазолію-7 (III).

Трийодид 2,3-дифеніл-(5E)-6-(йодометиліден)-3Н-1,3-тіазоло[3,2-b]-[1,2,4]триазолію-7 (IV).

Для дослідження бактерицидної та бактериостатичної активності синтезованих сполук (I-IV) використовували наступні культури мікроорганізмів: колекційні тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 90028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, а також клінічні ізоляти *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* subsp. *Enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*.

Синьо-гнійну паличку культивували на м'ясо-пептонному агарі (МПА), для культивування ентеробактерій використовували середовище Ендо, грампозитивні кокові - на жовтково-яєчному агарі (ЖСА), дріжджоподібні гриби роду *Candida* вирощували на середовищі Сабуро [7].

Для проведення дослідження були використані методичні вказівки затверджені МОЗ України Наказом № 167 від 05.04.2007 р. "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" та рекомендації Європейського комітету для тестування чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST) [8].

Первинний скринінг антимікробної активності нових хімічних сполук вивчали згідно методичних вказівок диско-дифузійним методом на середовищі Мюллер-Хінтона. Щільне поживне середовище готували відповідно до інструкції виробника. Чашки Петрі залишали при кімнатній температурі для застигання. Перед інокуляцією чашки підсушували у термостаті при температурі 35 °С протягом 10-20 хв.

Диски з антибіотиками й протигрибковими засобами для визначення чутливості диско-дифузійним методом використовували стандартизовані.

Стандартизовані бактерійні суспензії готували денситометрично. Інокулюм (баксуспензія) використовувалась протягом 15 хв з моменту приготування. Для інокуляції чашок з агаром

наносили суспензію бактерій на поверхню чашки Петрі з поживним середовищем Мюллер-Хінтона в об'ємі 1-2 см³. При відкритті чашки підсушували при кімнатній температурі протягом 10-15 хв. Після цього наносили диски на поверхню поживного середовища за допомогою стерильного пінцета. Відстань від диска до краю чашки і між дисками була 15-20 мм. Диски рівномірно контактували з поверхнею агару. Відразу після аплікації дисків чашки Петрі поміщали в термостат догори дном і інкубували при температурі 35 °С протягом 18-24 год.

Облік результатів. Після інкубації чашки поміщали догори дном на темну матову поверхню так, щоб світло падало на них під кутом 45°. В залежності від діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів штами відносили до різних груп: високочутливих (++++, більше 25 мм), чутливих (+++, від 15 до 25 мм), помірно стійких (++, від 5 до 15 мм), стійких (резистентних) - зона затримки росту бактерій практично відсутня (+, до 5 мм) та "0" - при відсутності бактерицидної дії тестованих сполук.

Таблиця

Антимікробна активність сполук (I-IV) та стандартних розчинів порівняння (V-VIII)* щодо грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів

Вид бактерій Сполука	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staph. aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enteritidis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028
I	0	++	0	0	++	++	0	0	++
II	0	0	0	+	0	++	0	++	+
III	+++	0	+++	0	0	++	0	++	+++
IV	++	0	0	0	++	+	0	0	++
V	++	-	+++	+	-	-	+++	-	-
VI	+++	-	++++	++	-	-	+++	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	+++

Примітка: концентрація сполук I-IV складає 100 мкг/мл; як стандартні розчини порівняння використовували диски антибіотиків: V - пеніцилін, VI - цефатоксим, VII - нистатин, VIII - клотримазол

Діаметр зон затримки росту виміряли з точністю до 1 мм, використовуючи для цього лінійку Ні Antibiotic Zone Scale - С виробника Himedia.

При вимірюванні зон затримки росту орієнтувалися на зону повного пригнічення видимого росту. Результати дії розчинів сполук та стандартних розчинів порівняння на ряди бактерій, результати якої представлено в таблиці.

Як видно із таблиці, практично всі сполуки (I-IV) виявили високий антимікробний ефект по відношенню до росту і розмноження мікроорганізмів *Salmonella enterica* та грампозитивних грибків *Cand. albicans* (у випадку сполуки III активність була на рівні еталонних розчинів порівняння).

Отже, позитивний ефект винаходу полягає в розширенні асортименту антимікробних й протигрибкових препаратів, які мають високу активність до прокаріотних і еукаріотних мікроорганізмів, як музейних, так і свіже виділених штамів.

Винахід може бути використаний для створення нових протигрибкових препаратів та засобів дезінфекції, як антисептики для боротьби з патогенними мікроорганізмами, збудниками госпітальних інфекцій.

Джерела інформації:

1. Esra Tatar, Şükriye Güniz Küçükgülzel, Sevgi Karakuş, Eric De Clercq, Graciela Andrei, Robert Snoeck, Christophe Pannecouque, Sinem Öktem-Okullu, Nihal Ünübol, Tanil Kocagöz, Sadik Kalayci, Fikrettin Şahin, İlkey Küçükgülzel. Synthesis and biological evaluation of some new 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives from L-methionine as antituberculosis and antiviral agents.// Marmara Pharmaceutical Journal, 2015, № 2, P. 88-102. - Аналог.

2. Alayunt, N.Ö., Çelik, S., Koparir, M. and Karatepe, M. The effects of 5,5'-butane-1,4-diylbis[4-allyl-2-({4-[3-(trifluoromethyl)phenyl]piperazin-1-yl)methyl}-2,4-dihydro-3h-1,2,4-triazole-3-thione] compound on mda level and vitamins in serum, liver and kidney of rats.// NWSA-Physical Sciences, 2015, № 10(2), P. 14-20. - Аналог.

3. Muhammad Hanif, Muhammad Saleem, Muhammad Tahir Hussain, Nasim Hasan Rama, Sumera Zaib, Muhammad Adil M. Aslam, Peter G. Jonesd and Jamshed Iqbal. Synthesis, Urease Inhibition, Antioxidant and Antibacterial Studies of Some 4-Amino-5-aryl-3H-I, 2,4-triazole-3-thiones

and their 3,6-Disubstituted 1,2,4-Triazolo[3,4-b]1,3,4-thiadiazole Derivatives.// J. Braz. Chem. Soc, 2012, № 23 (5), P. 854-860. - Аналог.

4. Humaira Nadeem, Muhammad Mohsin, Hasan Afzaal, Sadaf Riaz, Ammar Zahid, Syed Aun Muhammad. Synthesis and in Vitro Biological Activities of 4,5-Disubstituted 1,2,4-Triazole-3-Thiols.// Advances in Microbiology, 2013, № 3, P. 366-375. - Прототип.

5. Mikhailo Slivka, Nataliya Korol, Ivan Rusyn, Vasyl Lendel. Synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium and [1,2,4]triazolo[5,1-b][1,3]thiazin-4-ium salts via regioselective electrophilic cyclization of 3-S-alkenylthio-4H-1,2,4-triazoles.// Heterocyclic Communications. 2016, Volume 21, Issue 6, P. 397-401.

10 6. Mikhailo Slivka, Nataliya Korol, Vjacheslav Baumer, Valerij Pantyo, Vasyl Lendel. Regio- and stereoselective synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium salts via electrophilic heterocyclization of 3-S-propargylthio-4H-1,2,4-triazoles and their antimicrobial activity.// Heterocyclic Communications. 2017, Volume 23, Issue 2, P. 109-113.

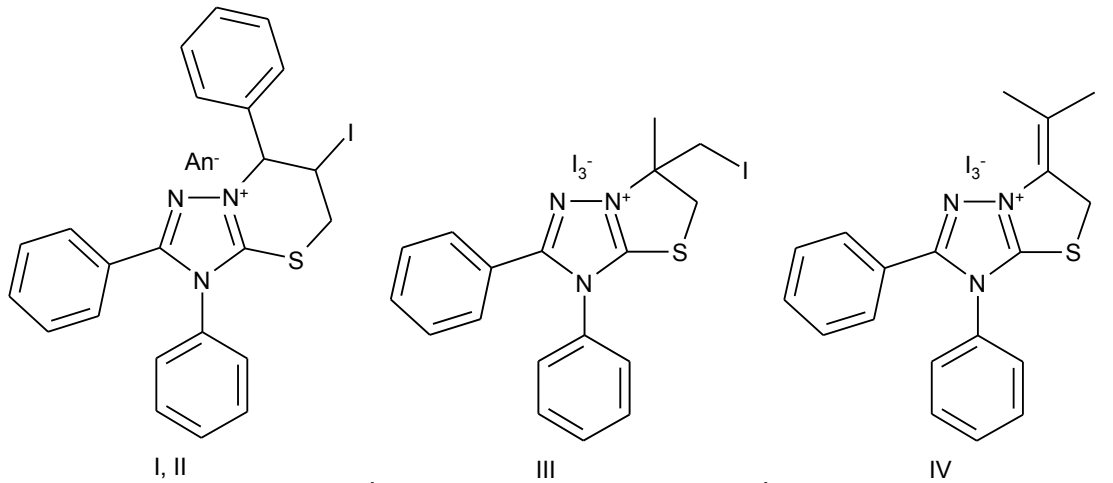
15 7. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. -М.: Медицина, 1982. - 264 с.

8. EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method summary. Version 1.0.// European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. - Режим доступу до журн.: www.eucast.org (26.06.2009).

20

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування йодовмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу загальної формули (I-IV):



25

де
 An^- є ClO_4^- , I_3^- ,
 як бактерицидів та фунгіцидів.