



(51) МПК  
*A61K 31/381* (2006.01)  
*A61P 31/10* (2006.01)  
*C07D 333/66* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*A61K 31/381 (2021.08); A61P 31/10 (2021.08); C07D 333/66 (2021.08)*

(21)(22) Заявка: 2021119246, 29.06.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 29.06.2021

Дата регистрации:  
 18.04.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.06.2021

(45) Опубликовано: 18.04.2022 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15, ПГНИУ  
 (УНИД)

(72) Автор(ы):

Шипиловских Сергей Александрович (RU),  
 Рубцов Александр Евгеньевич (RU),  
 Махмудов Рамиз Рагибович (RU),  
 Шипиловских Дарья Александровна (RU),  
 Ткаченко Александр Георгиевич (RU),  
 Нестерова Лариса Юрьевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное  
 образовательное учреждение высшего  
 образования "Пермский государственный  
 национальный исследовательский  
 университет" (ПГНИУ) (RU)

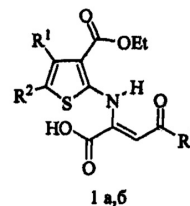
(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2722176 C1, 28.05.2020. RU  
 2690161 C1, 31.05.2019. EA 33736 B1, 20.11.2019.  
 S. A. Shipilovskikh et al "Synthesis of New  
 Substituted 3-(Thien-2-yl)imino-3H-furan-2-ones",  
 Russian Journal of General Chemistry, 2020, Vol.  
 90, No. 6, pp. 943-947. S. A. Shipilovskikh, R. R.  
 Makhmudov, D. Yu. Lupach "SYNTHESIS AND  
 ANALGESIC ACTIVITY OF SUBSTITUTED  
 (см. прод.)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ 2-((4-R<sup>1</sup>-5-R<sup>2</sup>-3-(ЭТОКСИКАРБОНИЛ)ТИОФЕН-2-ИЛ)АМИНО)-4-ОКСО-4-R<sup>3</sup>-БУТ-2-ЕНОВЫХ КИСЛОТ ПО ОТНОШЕНИЮ К *Candida albicans*

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению 2-((4-R<sup>1</sup>-5-R<sup>2</sup>-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино)-4-оксо-4-R<sup>3</sup>-бут-2-еновых кислот 1а,б в качестве противомикробного средства по отношению к *Candida albicans*. Технический результат: получены соединения с высокими выходами, обладающие выраженной противогрибковой активностью по отношению к *Candida albicans*, а также низкой

токсичностью. 4 пр.



1 а, б

R<sup>1</sup>+R<sup>2</sup>= (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>, R<sup>3</sup>= 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(а); R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Ph, R<sup>3</sup>= 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(б).

RU 2 770 598 C1

RU 2 770 598 C1

(56) (продолжение):

4-(HET)ARYL-4-OXO-2-THIENYLAMINO BUT-2-ENOIC ACIDS", Pharmaceutical Chemistry Journal, 2013, Vol. 47, No. 7, pp. 366-370.

R U 2 7 7 0 5 9 8 C 1

R U 2 7 7 0 5 9 8 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 31/381* (2006.01)  
*A61P 31/10* (2006.01)  
*C07D 333/66* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 31/381 (2021.08); A61P 31/10 (2021.08); C07D 333/66 (2021.08)*(21)(22) Application: **2021119246, 29.06.2021**(24) Effective date for property rights:  
**29.06.2021**Registration date:  
**18.04.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **29.06.2021**(45) Date of publication: **18.04.2022** Bull. № 11

Mail address:

**614990, g. Perm, ul. Bukireva, 15, PGNIU (UNID)**

(72) Inventor(s):

**Shipilovskikh Sergej Aleksandrovich (RU),  
Rutsov Aleksandr Evgenevich (RU),  
Makhmudov Ramiz Ragibovich (RU),  
Shipilovskikh Darya Aleksandrovna (RU),  
Tkachenko Aleksandr Georgievich (RU),  
Nesterova Larisa Yurevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Permskij gosudarstvennyj  
natsionalnyj issledovatel'skij universitet"  
(PGNIU) (RU)**

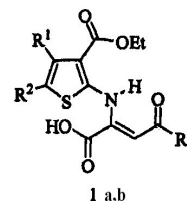
(54) **APPLICATION OF ANTIFUNGAL AGENT BASED ON 2-((4-R<sup>1</sup>-5-R<sup>2</sup>-3-(ETHOXYCARBONYL)THIOPHENE-2-IL)AMINO)-4-OXO-4-R<sup>3</sup>-BUT-2-ENO ACIDS IN RELATION TO CANDIDA ALDICANS**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to the use of 2-(4-R<sup>1</sup>-5-R<sup>2</sup>-3-(ethoxycarbonyl)thiophene-2-yl)amino)-4-oxo-4-R<sup>3</sup>-but-2-eno acids 1a,b as an antimicrobial agent against Candida aldicans.

EFFECT: compounds with high yields have been obtained, having pronounced antifungal activity against Candida aldicans, as well as low toxicity.



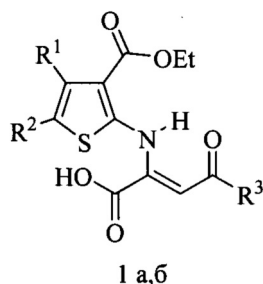
1 a,b

**R<sup>1</sup>+R<sup>2</sup>= (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>, R<sup>3</sup>= 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(a); R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Ph, R<sup>3</sup>= 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(b).**

1 cl, 4 ex

C 1  
8  
6  
5  
0  
7  
7  
R UR U  
2  
7  
7  
0  
5  
9  
8  
C 1

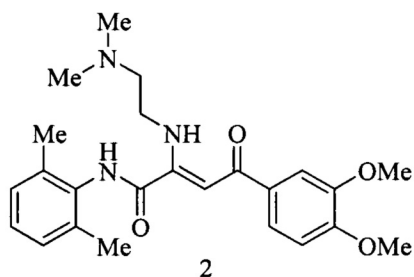
Изобретения относятся к области органической и медицинской химии, а именно к применению биологически активных веществ класса замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобутановых кислот, а именно к 2-((4-R<sup>1</sup>-5-R<sup>2</sup>-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино)-4-оксо-4-R<sup>3</sup>-бут-2-еновым кислотам 1а, б общей формулы:



1: R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Ph, R<sup>3</sup>= 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(а); R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Me, R<sup>3</sup>= 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(б).

в медицине в качестве лекарственного средства с противогрибковыми свойствами и низкой токсичностью.

Аналогом по структуре заявляемым соединениям является амид 2-((2-(диметиламино)этил)амино)-N-(2,6-диметилфенил)-4-(3,4-диметоксифенил)-4-оксобут-2-еновой кислоты 2, обладающий противогрибковой активностью [Чернов И.Н., Мельникова Н.А., Зубов П.В., Игидов Н.М., Одегова Т.Ф., Махмудов РР, Чащина С.В. (2013). биологическая активность енаминоамидов ароилпировиноградных кислот. Фармация. №6, 49-50] формулы:



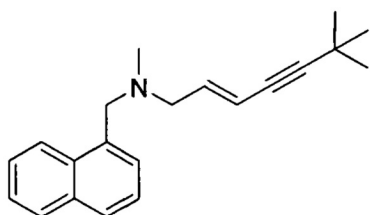
Приведены данные по противогрибковой активности соединения 2:

Соединение	ЛД <sub>50</sub> мг/кг	Противогрибковая активность (мкг/мл)	
		<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	
		МИК*	МБК**
2	-	500	-

МИК\*-минимальная ингибирующая концентрация,

МБК\*\*-минимальная бактерицидная концентрация.

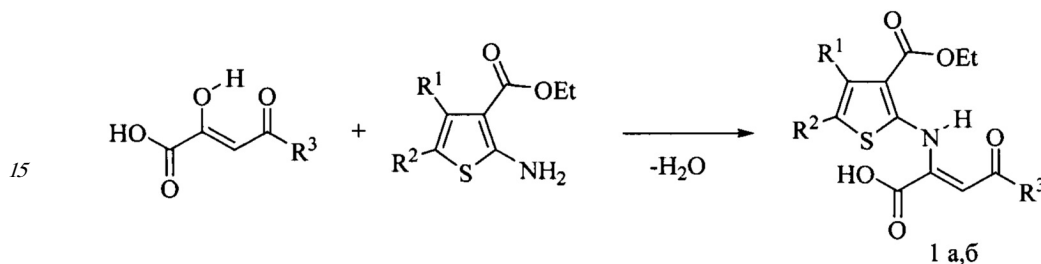
Эталоном сравнения биологической активности был выбран тербинафин формулы:



который широко применяется в лечебной практике, и является аналогом по действию

[Машковский М.Д. Лекарственные средства. - 16-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: Новая волна, 2012. - с. 925].

Из уровня техники известны структурные формулы соединений 1а, б (Shipilovskikh, S.A., Makhmudov, R.R., Lupach, D.Y., Pavlov, P.T., Babushkina, E. V., & Rubtsov, A. E. (2013).  
 5 Synthesis and Analgesic Activity of Substituted 4-(Het)aryl-4-oxo-2-thienylaminobut-2-enoic Acids. Pharmaceutical Chemistry Journal, 47(7), 366-370. doi:10.1007/s11094-013-0960-z).  
 Осуществлен способ получения соединений 1а, б взаимодействием замещенных  
 производных 2,4-диоксобутановой кислоты с 4,5-дизамещенными этиловыми эфирами  
 2-амино-тиофен-3-карбоновой кислоты в среде этилового спирта при 60°C с  
 10 последующим выделением целевых продуктов известными методами по схеме:



1: R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Ph, R<sup>3</sup>= 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(а); R<sup>1</sup>= Me, R<sup>2</sup>= Me, R<sup>3</sup>= 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>(б).

20 Однако из патентной и научно-технической литературы не выявлено применение соединений 1а, б в качестве средств с противогрибковыми свойствами.

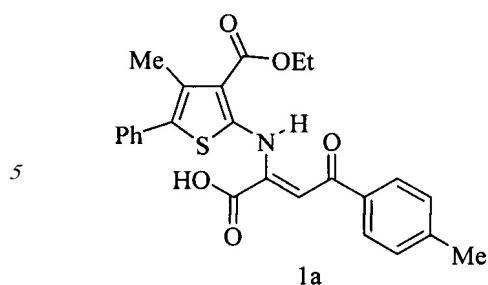
Задачей изобретения является расширение арсенала противогрибковых средств по отношению к кандидозу, в частности разработка средства, обладающего выраженной противогрибковой активностью по отношению к *Candida albicans*, низкой токсичностью  
 25 и превышающего по указанной активности применяемые в медицинской практике препараты.

Поставленная задача достигается применением 2-[(4-метил-5-фенил-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино]-4-(4-метилфенил)-4-оксобут-2-еновой кислоты и 2-[(4,5-диметил-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино]-4-оксо-4-(4-хлорфенил)бут-2-еновой кислоты, которые обладают противогрибковой активностью.

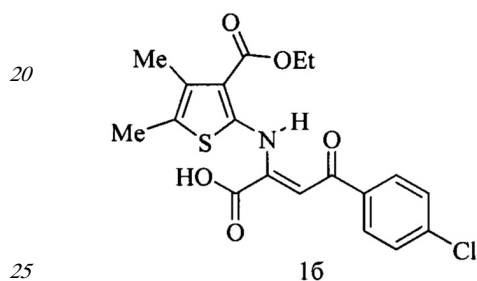
Технический результат: получены соединения с высокими выходами, обладающие выраженной противогрибковой активностью, а также низкой токсичностью.

Изобретение иллюстрируется примерами исследования фармакологических свойств.

Пример 1. Получение соединения 1а. К раствору 2.06 г (0.01 моль) 4-(4-метилфенил)-2,4-диоксобутановой кислоты в 10 мл этилового спирта прибавляют раствор 2.61 г (0.01 моль) этилового эфира 2-амино-4-метил-5-фенилтиофен-3-карбоновой кислоты в 10 мл того же растворителя и выдерживают при комнатной температуре 24 часа. Смесь охлаждают до 0°C, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из ацетонитрила. Выход 73%. T<sub>разл.</sub>=189-172°C. Найдено, %: С 66.82, Н 5.13, N 3.10, S 7.15. C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 66.80, Н 5.16, N 3.12, S 7.13. ИК спектр (ФСМ 1202, вазелиновое масло, ν, см<sup>-1</sup>): 1673 уш. (COOEt), 3401 (NH). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, (Varian Mercury300, 300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.28 (т, J 7.2 Гц, 3H, Me), 2.25 (с, 3H, Me), 2.39 (с, 3H, Me), 4.21 (кв, J 7.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6.61 (с, 1H, C=CH), 7.38 (м, 7H, H<sub>Ar</sub>), 7.98 (м, J 8.1 Гц, 2H, H<sub>Ar</sub>), 12.83 (с, 1H, NH). Полученное соединение 1а представляет собой красное кристаллическое вещество, растворимое в хлороформе, толуоле, ацетоне, не растворимое в воде и гексане.



Пример 2. Соединение 1б получают аналогично. Выход 89%.  $T_{\text{разл}}=155-158^{\circ}\text{C}$  (этанол).  
 10 Найдено, %: С 55.97, Н 4.43, N 3.45, S 7.82.  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClNO}_5\text{S}$ . Вычислено, %: С 55.95, Н 4.45, N 3.43, S 7.86. ИК спектр (ФСМ 1202, вазелиновое масло,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1732 (COOEt), 3397 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ , (Varian Mercury300, 300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.33 (т, J 7.1 Гц, 3H, Me), 2.19 (с, 3H, Me), 2.25 (с, 3H, Me), 4.33 (кв, J 7.1 Гц, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6.49 (с, 1H C=CH), 7.63 (м, J 8.6 Гц, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 8.01 (м, J 8.6 Гц, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 12.71 (с, 1H, NH). Полученное  
 15 соединение 1б представляет собой красное кристаллическое вещество, растворимое в хлороформе, толуоле, ацетоне, не растворимое в воде и гексане.



Пример 3. Для характеристики противогрибковой активности соединений использовали стандартные параметры: минимальная подавляющая концентрация (МПК), которую определяли модифицированным методом двукратных серийных разведений [МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам] и минимальная бактерицидная концентрация (МБК) [Медицинские лабораторные технологии: Руководство по клинической лабораторной диагностике, п/р Каприщенко, 2013, Т. 2, стр. 407]. Тесты проводили с использованием культуры модельного микроорганизма *Candida albicans* ATCC 10231 (Всероссийская коллекция патогенных микроорганизмов) на питательной среде Мюллера-Хинтона с добавлением 0,4% глюкозы в 96-луночных полистироловых планшетах. Концентрация микроорганизмов в лунках перед началом культивирования составляла  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/мл. Культивирование проводили при  $37^{\circ}\text{C}$  без перемешивания. Определение МПК и высевы для определения МБК производили через 24 ч. Исследуемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) в концентрации 20 мг/мл до полного растворения.  
 30  
 35  
 40 Максимальная действующая концентрация составляла 1000 мкг/мл

Пример 4. Острую токсичность ( $\text{LD}_{50}$ , мг/мл) соединений 1а, б определяли по методу Г. Н. Першина [Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии // М., С. 100, 109-117 (1971)]. Соединения 1а, б вводили внутрибрюшинно белым мышам массой 16-18 г в виде взвеси в 2% крахмальной слизи и наблюдали за поведением и гибелью животных в течение 10 суток. Для исследуемых соединений 1а, б  $\text{LD}_{50}$  составляет  $> 1500$  мг/кг.  
 45

Согласно классификации токсичности препаратов соединения 1а, б относятся к V

классу практически нетоксичных препаратов [Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: Справочник. М., 1977. - с. 196]. Результаты испытаний представлены в таблице:

Противогрибковая активность соединений 1а,б.

Соединение	ЛД <sub>50</sub> мг/кг	Противогрибковая активность (мкг/мл)	
		<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	
		МИК*	МБК**
1а	>1500	62,5	125
1б	>1500	31,25	62,5
2	-	500	-
Тербинафин	>2000	100	-

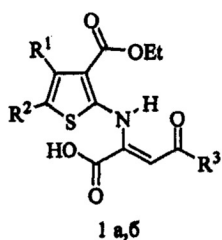
МИК\*-минимальная ингибирующая концентрация,

МБК\*\*-минимальная бактерицидная концентрация.

Как видно из таблицы, заявляемые соединения 1а, б превышают по противогрибковой активности препарат сравнения (тербинафин) в 3 раза по отношению к *Candida albicans* ATCC 10231, а также показывают низкую токсичность. Таким образом, 2-((4- $R^1$ -5- $R^2$ -3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино)-4-оксо-4- $R^3$ -бут-2-еновые кислоты 1а, б проявляет более высокую активность по сравнению со структурным аналогом и эталоном сравнения, что делает возможным их использование для создания новых лекарственных средств целенаправленного действия.

(57) Формула изобретения

Применение 2-((4- $R^1$ -5- $R^2$ -3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил)амино)-4-оксо-4- $R^3$ -бут-2-еновых кислот 1а,б общей формулы:



$R^1+R^2=(CH_2)_4$ ,  $R^3=4-BrC_6H_5(а)$ ;  $R^1=Me$ ,  $R^2=Ph$ ,  $R^3=4-MeC_6H_5(б)$ .

в качестве противомикробного средства по отношению к *Candida albicans*.