MD 1650 G2

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **1650** (13) **G2**

(51) **Int. Cl.**[7]**:** C 07 F 1/08;
A 61 K 31/30

(12) # BREVET DE INVENȚIE

**(21) Nr. depozit:** 99-0270
**(22) Data depozit:** 1999.12.06

**(43) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului pe răspunderea solicitantului:**
2001.04.30, BOPI nr. 4/2001

**(71) Solicitant:** Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu" din Republica Moldova, MD

**(72) Inventatori:** PRISACARI Viorel, MD; ŢAPCOV Victor, MD; BURACIOVA Svetlana, MD; BÂRCĂ Maria, MD

**(73) Titular:** Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu" din Republica Moldova, MD

## (54) 3,5-Dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincupru care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică

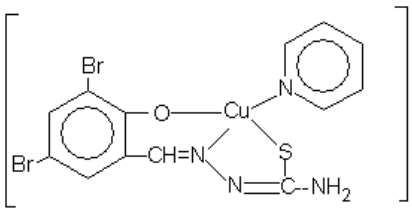
**(57) Rezumat:**

1

Invenția se referă la chimia combinațiilor coordinative ale metalelor de tranziție şi anume la 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincupru, care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică datorită căreia el poate fi utilizat în medicină ca preparat antimicrobian.

Esența invenției constă în obținerea 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului cu formula:

2




Rezultatul invenției constă în lărgirea spectrului de compuşi care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică.

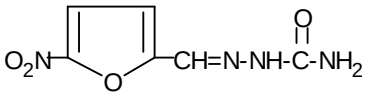
Revendicări: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la chimia combinațiilor coordinative ale metalelor de tranziție şi anume la 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincupru, care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică fața de bacteriile din genul *Staphylococcus* şi *Streptococcus*, datorită căreia poate fi utilizat in medicină ca preparat antimicrobian.

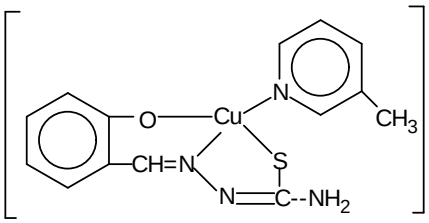
MD 1650 G2

În practica medicală pentru profilaxia şi tratarea3bolilor infecţioase provocate de bacteriile din genul *Staphylococcus* şi *Streptococcus* se foloseşte pe larg semicarbazona aldehidei 5-nitro-2-furanice (furacilina) [1] cu formula:



Furacilina inhibă creşterea şi multiplicarea majorităţii microorganismelor grampozitive şi gramnegative în limitele concentraţiilor 9,35-37,5 μg/ml, însă ea nu poate fi utilizată în cazurile, cand este necesară o activitate antimicrobiană mai înaltă a preparatului faţa de stafilococi şi streptococi. Totodată, furacilina este destul de toxică ($LD_{50}$=166,7 mg/kg), iar concentraţia minimă care inhibă creşterea majorităţii tulpinilor de stafilococi şi streptococi este de 9,35 μg/ml.

Este cunoscut compusul coordinativ (salicilidentiosemicarbazidato)-3(4)-picolincupru [2], cu activitate bacteriostatică faţă de *Staphyl. Aureus* şi *Bacillus Anthracis*, cu următoarea formulă:

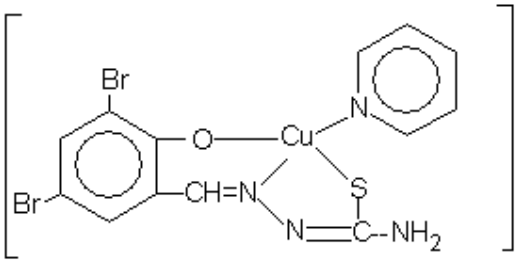


.

Dezavantajul acestui compus coordinativ este toxicitatea înaltă şi activitatea bacteriostatică joasă.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenţie este lărgirea spectrului de compuşi cu proprietăţile bacteriostatice mai pronunţate.

Esenţa invenţiei constă în obţinerea unui compus coordinativ, anume a 3,5-dibromsaliciliden-tiosemicarbazidopiridincuprului cu formula:



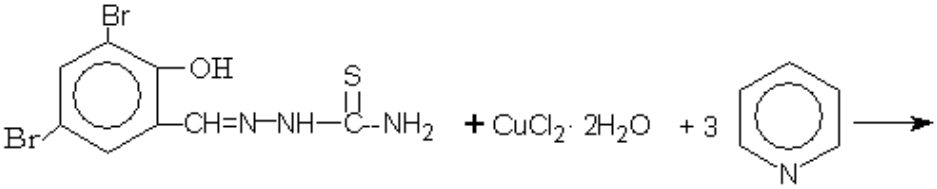
,

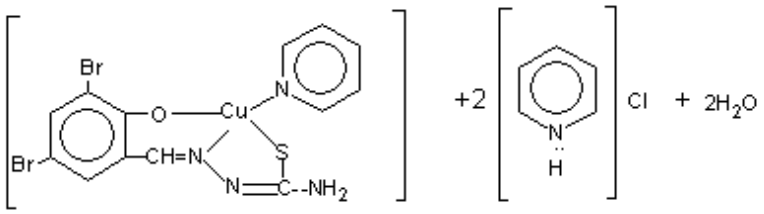
care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică.

Compusul obţinut este de 519…2083 ori mai activ faţă de bacteriile din genul *Staphylococcus* şi *Streptococcus* în comparaţie cu furacilina şi de 33-138 ori mai activ decat cea mai apropiată soluţie analoagă.

Rezultatul invenţiei constă în lărgirea spectrului de compuşi care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică.

Compusul declarat se obţine la interacţiunea soluţiilor etanolice fierbinţi (t =50…55°C) ale dihidratului clorurii de cupru(II) cu tiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromsalicilice, luate in raportul molar 1:1, în prezenţa piridinei (pH 8). Reacţia decurge în 25…30 min conform următoarei scheme a ecuaţiei :






Mecanismul reacţiei date constă în aceea că are loc deprotonizarea grupelor fenolice şi tiolice ale tiosemicarbazonei în amestecul reactant în prezenţa piridinei, care simultan joacă rolul de ligand şi acceptor de protoni. Astfel obţinut, anionul salicilidentiosemicarbazidic, coordonează cu ionul de cupru (2+) ca un ligand tridentat deprotonizat dublu. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central este ocupat de piridină.

Procedura de obţinere a compusului declarat este simplă în executare, substanţele iniţiale sunt accesibile, randamentul constituie 77% faţa de cel teoretic calculat. Compusul coordinativ 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincupru prezintă cristale mărunte de culoare verde-inchis, care sunt stabile in contact cu aerul, puţin solubile în apă şi alcooli, solubile în dimetilformamidă şi dimetilsulfoxid, practic insolubile in eter.

Cercetarea vizuală la microscop a complexului sintetizat demonstrează că el posedă omogenitate fazică. Din cauza dimensiunilor mici şi absenţei monocristalelor acestui compus, pentru determinarea individualităţii compoziţiei şi structurii au fost utilizate metodele analizei elementelor, spectroscopiei IR, magnetochimiei şi termo-gravimetriei.

În baza determinării în dimetilformamidă a conductibilităţii electrice molare a compusului solicitat s-a stabilit că el este un neelectrolit.

Studiul magnetochimic al 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului a demonstrat că valoarea calculată a momentului efectiv magnetic este apropiată de valoarea de spin pentru un electron necuplat şi alcătuieşte 1,87 B.M. la 294 K. Deci în complex în condiţiile efectuării măsurărilor nu se realizează interacţiunea de schimb intre ionii de cupru(2+) paramagnetici.

Cu scopul determinării metodei coordonării liganzilor cu ionul de cupru(2+), a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului revendicat, tiosemicarbazonei aldehidei 3,5-dibromsalicilice şi soluţiei celei mai apropiate (salicilidentiosemicarbazido)-3(4)-picolincupru). S-a stabilit că tiosemicarbazona în complexul declarat se comportă ca un ligand tridentat deprotonizat dublu, unindu-se cu ionul central prin intermediul atomului de oxigen fenolic, al azotului azometinic şi al sulfului, formand metalocicluri din 5 şi 6 atomi. In favoarea acestui fapt vorbeşte dispariţia în spectrele IR ale substanţei declarate şi analogului structural a benzilor de absorbţie $\delta$(OH) şi $\nu$(C=S), care în tiosemicarbazona liberă se observă corespunzător în domeniile 1245-1240 şi 1125-1120 $cm^{-1}$. In ambii complecşi se observă banda de absorbţie $\nu$(C-S) in domeniul 750-740 $cm^{-1}$, iar banda $\nu$(C=N) se deplasează cu 30-25 $cm^{-1}$ spre frecvenţa mai mică (in tiosemicarbazonele iniţiale $\nu$(C=N) se observă în domeniul 1620-1610 $cm^{-1}$), fiind însoţită de scindare în două componente. În afară de aceasta, în spectrele IR ale complecşilor în domeniul 650-405 $cm^{-1}$ apare o serie de noi benzi de absorbţie, care conform datelor din literatură, se înregistrează ca $\nu$(Cu-N), $\nu$(Cu-O) şi $\nu$(Cu-S). Prezenţa în complexul revendicat a piridinei se confirmă prin existenţa în spectrul lui a benzilor de absorbţie caracteristice

[$\nu$(CC)+$\nu$(CN)+$\nu$(CCH)=1651,1554$cm^{-1}$; $\nu$(CN)=1311$cm^{-1}$; $\delta$(CCH)=1237$cm^{-1}$;
$\delta$(CCH)+$\delta$(CC)+$\delta$(CNC)=1068), 1035 $cm^{-1}$; $\rho$(CH)=850 $cm^{-1}$; $\gamma$(CCC)+$\gamma$(CNC)=738 $cm^{-1}$].

Analiza termică a 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului a demonstrat că termoliza decurge prin etapele de dezaminare (190$^o$C) şi distrucţie termooxidativă totală a complexului (360$^o$C).

*Exemplu*. Obţinerea 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului

La soluţia etanolică, care conţine 10 mmol de dihidrat al clorurii de cupru(II) în 50 ml alcool, încălzită (50…55$^o$C) şi amestecată în permanenţă cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă soluţia de 10 mmol de tiosemicarbazonă a aldehidei 3,5-dibromsalicilice in 100 ml de $C_2H_5OH$ şi se picură piridină pană la pH 8. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare verde-inchis, care se filtrează pe filtru de sticlă, se spală cu etanol, eter şi se usucă în aer.

Determinat, % : C-31,29, H-1,94, Br-32,11, Cu-12,80, N-11,18, S-6,25;

Calculat pentru $C_{13}H_{10}Br_2CuN_4OS$, % : C-31,58, H-2,02, Br-32,39, Cu-12,96, N-11,34, S-6,48.

Determinarea activităţii antimicrobiene a 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului şi a soluţiei celei mai apropiate, a fost efectuată în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat de carne de 2 % (pH 7,0)) prin metoda

diluţiilor succesive [Методы экспериментальной химиотерапии/Под ред. Першина Г.Н., М:Медицина, 1971, с. 357]. În calitate de cultură de referinţă în experimentul *in vitro* au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus (Wood-46, Smith, 209-P), Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus faecalis, Escherihia coli (M-17), Pseudomonas aeruginosa* şi *Proteus vulgaris***.** Dizolvarea substanţelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obţinerea suspensiei, determinarea dozei minime de inhibare (DMI) şi concentraţiei bactericide minime (CMB) au fost efectuate prin metoda descrisă în lucrarea Методы экспериментальной химиотерапии /Под ред. Першина Г.Н., М, Медицина, 1971, с. 357. Studierea toxicităţii s-a efectuat *in vivo* la şoareci albi şi şobolani prin introducerea în stomac a suspensiei substanţei în apă fiartă.

Rezultatele experimentale obţinute la studierea activităţii antimicrobiene a 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului sunt prezentate în tabelul 1, din care se vede că el posedă activitate bacteriostatică şi bactericidă în concentraţie de 0,009…0,072 μg/ml numai faţa de bacteriile din genul *Staphylococcus* şi *Streptococcus*. Pentru comparaţie în acelaşi tabel sunt prezentate datele antimicrobiene caracteristice soluţiei apropiate şi celei mai apropiate soluţii - salicilidentiosemicarbazido-3(4)-picolincuprul şi ale compusului declarat, care manifestă una din cele mai înalte activităţi dintre substanţele cu proprietăţi antistafilococice din şirul tiosemicarbazonic cunoscute in literatură. Datele experimentale obţinute demonstrează că compusul declarat manifestă activitate antimicrobiană faţă de bacteriile din genul *Staphylococcus* şi *Streptococcus* de 519-2083 ori şi de 33-183 ori mai înaltă decat soluţia apropiată şi respectiv în comparaţie cu soluţia cea mai apropiată. Toxicitatea complexului declarat este de 7,7 ori mai mică decat a furacilinei şi se află la acelaşi nivel cu cea mai apropiată soluţie (ambii complecşi fac parte din clasa de substanţe cu toxicitate redusă).

Proprietăţile inregistrate ale compusului sintetizat şi studiat prezintă interes din punct de vedere al lărgirii spectrului de compuşi cu activitate bacteriostatică.

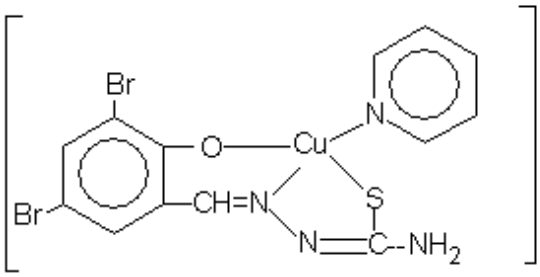
Activitatea bacteriană (DMI şi CBM, μg/ml) şi toxicitatea ($LD_{50}$, mg/kg) 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincuprului în comparaţie cu soluţia cea mai apropiată şi analogul său structural

| Compusul | *Staphylococcus aureus* | | | | | | *Staphylococcus saprophyticus* | | *Streptococcus faecalis* | | *Escherichia coli* ( M-17) | | *Pseudomonas aeruginosa* | | *Proteus vulgaris* | | $LD_{50}$, mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Wood-46 | | Smith | | 209-P | | | | | | | | | | | | |
| | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | DMI | CBM | |
| Furacilină | 9,35 | 18,7 | 9,35 | 9.35 | 18,7 | 37,5 | 9,35 | 18,7 | 37,5 | 75 | 18,7 | 37,5 | >300 | >300 | >300 | >300 | 166.7[d] |
| Salicilidentio-semicarbazido-3-picolincupru | 1,25 | C | 0,6 | C | 1,0 | C | C | C | C | C | >300 | >300 | >300 | >300 | >300 | >300 | 1230[d] |
| 3,5-dibrom-salicilidentio-semicarbazido-piridincupru | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,018 | 0,009 | 0,018 | 0,009 | 0,.009 | 0,036 | 0,072 | >300 | >300 | >300 | >300 | >300 | >300 | 1300±70.4[d], 1500±83.3[e] |

Notă: a) DMI- doză minimă de inhibiţie; b) CBM-concentraţie bactericidă minimă; c) Activitatea antimicrobiană (DMI sau CBM) faţă de aceste microorganisme în [2] nu a fost studiată; d) şoareci; e) şobolani

**(57) Revendicare:**

3,5-Dibromsalicilidentiosemicarbazidopiridincupru cu formula :




,

care manifestă activitate antistafilococică şi antistreptococică.

**(56) Referinţe bibliografice:**

1. Алексеева Л. Н. Антибактериальные препараты – производные 5-нитрофурана. Рига: Изд-во АН Латв. ССР. 1963-218 с.
2. SU 1586155 A

**Şef Secţie:** CRASNOVA Nadejda

**Examinator:** BAZARENCO Tatiana

**Redactor:** ANDRIUŢĂ Victoria