



MD 4174 B1 2012.06.30

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4174** <sup>(13)</sup> **B1**

(51) Int.Cl: *C07C 337/08* (2006.01)  
*C07C 65/11* (2006.01)  
*C07C 65/30* (2006.01)  
*A61K 31/175* (2006.01)  
*A61P 31/02* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

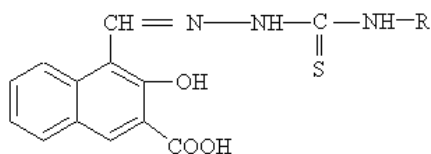
**(12) BREVET DE INVENȚIE**

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
<b>(21) Nr. depozit:</b> a 2011 0096 <b>(22) Data depozit:</b> 2011.10.25	<b>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:</b> 2012.06.30, BOPI nr. 6/2012
<b>(71) Solicitant:</b> INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD <b>(72) Inventatori:</b> LAZARESCU Ana, MD; ZARICIUC Elena, MD; COJOCARI Daniela, MD; GONCIAR Veaceslav, MD; BOUROȘ Polina, MD; TURTĂ Constantin, MD <b>(73) Titular:</b> INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

**(54) Derivați tiosemicarbazonici ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic cu  
proprietăți antibacteriene****(57) Rezumat:**

1  
Invenția se referă la compuși organici din  
clasa tiosemicarbazonelor care posedă activi-  
tate antibacteriană. Compușii pot fi utilizați în  
5 medicină, medicina veterinară și agricultură.

Esența invenției constă în sinteza deri-  
vaților noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-  
naftoic cu formula:



2  
unde R = H (**1**) și C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (**2**). Compușii mani-  
5 festă proprietăți bacteriostatice și bactericide  
față de microorganismele patogene *S. aureus* și  
*E. coli*.

Revendicări: 1

Figuri: 1

10

15

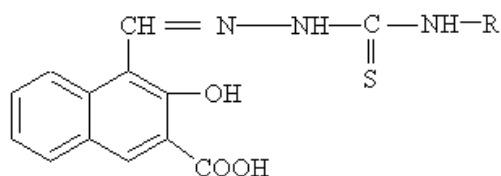
MD 4174 B1 2012.06.30

**(54) Thiosemicarbazone derivatives of 4-formyl-3-hydroxy-2-naphthoic acid with antibacterial properties**

**(57) Abstract:**

The invention relates to organic compounds from the class of thiosemicarbazones possessing antibacterial activity. The compounds can be used in medicine, veterinary medicine and agriculture.

Summary of the invention consists in the synthesis of new derivatives of 4-formyl-3-hydroxy-2-naphthoic acid of the formula:



where R = H (1) and C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (2). The compounds exhibit bacteriostatic and bactericidal properties against pathogens *S. aureus* and *E. coli*.

Claims: 1

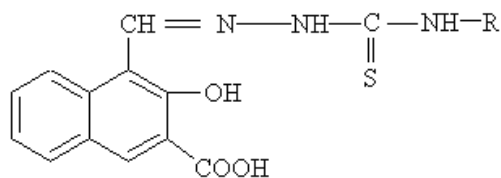
Fig.: 1

**(54) Тиосемикарбазоновые производные 4-формил-3-гидрокси-2-нафтойной кислоты с антибактериальными свойствами**

**(57) Реферат:**

Изобретение относится к органическим соединениям из класса тиосемикарбазонов обладающими антибактериальной активностью. Соединения могут использоваться в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве.

Сущность изобретения заключается в синтезе новых производных 4-формил-3-гидрокси-2-нафтойной кислоты формулы:



где R = H (1) и C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (2). Соединения проявляют бактериостатические и бактерицидные свойства в отношении патогенных микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli*.

П. формулы: 1

Фиг.: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la compuși organici din clasa tiosemicarbazonei care posedă activitate antibacteriană. Compușii pot fi utilizați în medicină, medicina veterinară, agricultură.

5 Tiosemicarbazonele ce fac parte din clasa bazelor Schiff atrag atenția cercetătorilor atât prin varietatea lor structurală, cât și prin activitatea biologică. În literatura de specialitate această clasă de substanțe este remarcată printr-un spectru larg de activități biologice, cum sunt antibacteriene, antivirale, antifungice [1-3]. Unele tiosemicarbazone, cum sunt triapinul și marboranul, deja sunt utilizate în practica medicală respectiv în calitate de  
10 inhibitori ai ribonucleotidreductazei sau ca preparate antivirale și antimicotice [4].

Gama largă de proprietăți biologice este determinată de diversitatea tiosemicarbazonei posibile de obținut prin reacția Schiff, variind aldehida sau cetona inițială sau substituții în fragmentul tiosemicarbazonic. Variația proprietăților biologice la schimbările neesențiale în compoziția și structura substanțelor (și lipsa unor date concrete privind  
15 mecanismul de acțiune biologică) determină sinteza unor compuși noi de acest tip.

Influența substituenților și poziției lor în fragmentul tiosemicarbazidic asupra proprietăților biologice nu poate fi pronosticată exact (deși s-au evidențiat unele legități mai generale), fiind determinată de un șir de factori care pot fi elucidați numai la testarea  
20 compușilor pe organisme vii. De exemplu, acești factori pot fi: i) interacțiunea cu receptorii; ii) capacitatea de a pătrunde prin membrană; iii) existența echilibrului între acțiunea terapeutică și detoxicarea în organism; iiiii) efecte secundare.

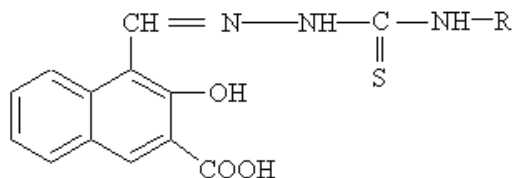
La momentul actual asortimentul preparatelor medicamentoase cu un spectru larg de activitate biologică față de agenții patogeni este destul de redus. O utilizare mai largă contra  
25 microorganismelor patogene au antibioticele care, de regulă, se caracterizează printr-o selectivitate redusă. În condițiile creșterii agresivității bolilor microbiene, adoptării patogenilor la preparatele existente, există necesitatea creării și reînnoirii permanente a preparatelor medicamentoase pe bază de substanțe biologice active noi. Tendința de a obține preparate noi cu o eficacitate mai înaltă prin lărgirea spectrului de activități biologice presupune studiul altor reacții și al compușilor chimici noi.

30 Tiosemicarbazonele alchidelor aromatice au fost pe larg studiate în literatură, o parte din ele manifestă activitate antimicrobiană, dar la concentrații mai mari comparativ cu preparatul antibiotic cunoscut cloramfenicol [5, 6].

Este cunoscută aldehida aromatică polifuncțională pe baza nucleului naftalinei - acidul 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic, pentru care nu sunt cunoscuți derivații tiosemicarbazonici [7].  
35 Derivații azometinici ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic au fost propuși în calitate de pigmenți [7].

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în extinderea gamei de substanțe din clasa derivaților tiosemicarbazonici polifuncționali în baza acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic ce manifestă activitate antimicrobiană la concentrații mai mici comparativ cu  
40 preparatele cunoscute.

Esența invenției constă în sinteza derivaților noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic cu formula:



unde R = H (1) și C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (2). Ambii compuși manifestă proprietăți bacteriostatice și  
45 bactericide față de microorganismele patogene *S. aureus* și *E. coli*.

Compusul (1) reprezintă tiosemicarbazona acidului inițial având formula bruto C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>·CH<sub>3</sub>OH (Mr = 321,234). Compusul (2) reprezintă 4-feniltiosemicarbazona respectivă cu formula bruto C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S (Mr = 365,294).

50 Rezultatul invenției constă în aceea că s-au sintetizat noi compuși activi cu proprietăți antibacteriene din clasa tiosemicarbazonei aromatice polifuncționale.

Testările *in vitro* au demonstrat că compușii din clasa propusă manifestă un spectru destul de larg de activitate antibacteriană. Au fost determinate concentrațiile minimă de inhibiție (CMI) și minimă bactericidă (CMB). Din substanțele organice menționate în prezența lucrare cele mai bune rezultate a manifestat substanța (2).

5 Invenția este ilustrată de desen care reprezintă structura moleculară a compusului  $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$  (1) confirmată experimental.

Compușii revendicați fac parte din clasa de compuși azometinici obținuți prin reacția de condensare (Schiff) a 4-feniltiosemicarbazidei și tiosemicarbazidei cu acidul 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic. Compușii au fost caracterizați prin analiza elementară (C, H, N, S),  
10 spectroscopie IR, prin metoda de difracție cu raze X pe monocristal.

*Exemplu de realizare a invenției*

Compușii  $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$  (1) și  $C_{19}H_{15}N_3O_3S$  (2) au fost sintetizați pe baza acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic [7]. Prin reacția de condensare a acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic (0,43 g, 0,002 moli) cu 0,18 g (0,002 moli) tiosemicarbazidă sau 4-feniltiosemicarbazidă (0,30, 0,002 moli) în mediul alcoolic are loc în ambele cazuri  
15 formarea de precipitat de culoare galben-oranj. Producții formați au fost filtrați, spălați consecutiv cu alcool metilic, eter și uscați la aer. Substanțele au fost separate în stare solidă cu un randament  $\eta=56\%$  pentru compusul 1 și respectiv  $\eta=53\%$  pentru compusul 2.

Datele de analiză elementară la C, H, N au fost efectuate în Grupul de Analiză al  
20 Institutului de Chimie al Academiei de Științe a Republicii Moldova.

Spectrele în IR pentru combinațiile studiate au fost înregistrate la aparatul SPECTRUM 100FT – IR SPECTROMETER [Perkin Elmer] în domeniul  $4000 \dots 400 \text{ cm}^{-1}$ . Probele au fost pregătite în formă de suspensii în ulei de vaselină. Benzile spectrelor în IR au fost atribuite pe baza datelor din literatură [Nakamoto K. Infrakrasnye spectry i spectry KR neorganiceskih i organiceskih soedinenii. Moskva, Mir, 1991, 540 s. (în limba rusă)].  
25

Pentru compusul 1 cu formula  $\{C_{14}H_{15}N_3O_4S\}$  s-a găsit (calculat) în %:

C 52,81 (52,34); H 4,53 (4,67); N 13,15 (13,08).

Spectrul IR (vaselină,  $\text{cm}^{-1}$ ) conține următoarele benzi: 3620, 3452, 3419, 3278, 3147, 2683, 2607, 2570, 2509, 1675, 1622, 1605, 1579, 1545, 1517, 1507, 1452, 1430, 1392,  
30 1350, 1329, 1298, 1280, 1240, 1214, 1175, 1161, 1123, 1070, 1035, 1014, 998, 938, 889, 867, 835, 794, 743, 734, 723, 687, 668, 632, 617, 597, 545, 532, 477, 442, 424.

Pentru compusul 2 cu formula  $C_{19}H_{15}N_3O_3S$  s-a găsit (calculat) în %:

C 61,82 (62,47); H 3,89 (4,11); N 11,39 (11,50).

Respectiv, spectrul IR (vaselină,  $\text{cm}^{-1}$ ) conține următoarele benzi: 3580, 3299, 3192,  
35 3025, 2684, 2529, 2479, 2442, 1657, 1623, 1593, 1574, 1545, 1519, 1499, 1452, 1430, 1392, 1354, 1329, 1291, 1252, 1214, 1165, 1095, 1079, 1049, 1025, 1004, 963, 937, 889, 859, 826, 806, 793, 745, 732, 721, 690, 668, 632, 616, 599, 552, 534, 516, 496, 473, 457, 440, 422.

Substanțele se descompun la încălzire mai sus de  $220^\circ\text{C}$ .

40 Datele experimentale ale studiului cu raze X au fost colectate la temperatura 100K la difractometrul Nonius Kappa CCD (radiația  $MoK_\alpha$ , monocromator de grafit, metoda de scanare  $\Omega$ ) de la un cristal cu dimensiunile  $0,4 \times 0,2 \times 0,2 \text{ mm}$ . S-a stabilit că compusul a cristalizat în singonia monoclinică, grupa spațială  $P2_1/a$ . Parametrii celulei elementare au fost precizați în baza setului de date experimentale. Integrarea valorilor intensităților și reducerea lor la scară generală s-a efectuat conform programului DENZO și SKALEPACK. Absorbția a fost luată în  
45 considerație utilizând programul XEMP. Structura compusului a fost soluționată prin metoda directă și precizată utilizând metoda celor mai mici pătrate în variantă anizotropică pentru atomii de bază (nonhidrogenici) în cadrul programului SHELX-97.

La interacțiunea acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic cu tiosemicarbazida ( $CH_5N_3S$ ) sau  
50 4-feniltiosemicarbazidazida ( $C_7H_9N_3S$ ) în raport molar 1:1 în mediul de alcool metilic s-au obținut doi compuși organici noi numiți acidul 3-hidroxi-4-[( $\epsilon$ )-(carbamotioilhidrazono)metiliden]naftalen-2-carboxilic (1) și acidul 3-hidroxi-4-[( $\epsilon$ )-(fenilcarbamotioilhidrazono)metiliden]naftalen-2-carboxilic (2). Din datele prezentate de analiza elementară pentru C, H, N s-a stabilit următoarea compoziție bruto a compușilor:  $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$  (1);  
55  $C_{19}H_{15}N_3O_3S$  (2), care diferă de compoziția componentelor inițiali ai reacției. Producții reacției prezintă pulberi de culoare galben-oranj. La evaporarea soluției filtrante în urma reacției au fost separate cristale și monocristale de 1 care după mărime au fost potrivite pentru studiul cu raze X pe monocristal. Prin analiza cu raze X pe monocristal s-a stabilit structura moleculară

și cristalină a moleculei  $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$  (**1**) cu următorii parametri ai celulei elementare:  $a = 8,1781 \text{ \AA}$ ,  $b = 9,9367 \text{ \AA}$ ,  $c = 18,2639 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 89,988^\circ$ ,  $\beta = 89,999^\circ$ ,  $\gamma = 72,715^\circ$ . Substanța cristalizează în grupul de simetrie monoclinică.

5 Spectrele în IR pentru astfel de molecule organice conțin un număr mare de benzi de absorbție. Cea mai evidentă este banda de absorbție din domeniul  $\sim 1655$  (**1**),  $1674$  (**2**)  $cm^{-1}$  care este atribuită vibrațiilor de valență ale grupării carboxilice nedeprotonate din ambii compuși. Poziția benzii este deplasată spre lungimi de undă mai mari, fiind implicată într-un sistem de legături de hidrogen intra- și intermoleculare. Conform datelor din literatură cunoscute [v. Nakamoto] poziția benzii caracteristice grupării carboxilice nedeprotonate este  
10 prognozată în domeniul  $1710 \dots 1700 \text{ cm}^{-1}$ . În domeniul  $1545 \text{ cm}^{-1}$  în spectrele ambilor compuși apare o bandă de absorbție de intensitate medie caracteristică vibrațiilor de valență ale grupării C=N apărute în urma reacției de condensare. Benzile din domeniul  $1517$ ,  $1507$  și  $1517$ ,  $1499 \text{ cm}^{-1}$  sunt caracteristice vibrațiilor de deformare ale grupărilor N-H. În domeniul  $3276$ ,  $3147$  (**1**) și  $3296$ ,  $3185$  (**2**)  $cm^{-1}$  sunt prezente benzi de absorbție caracteristice  
15 vibrațiilor de valență ale grupării N-H din compuși. Banda de intensitate medie din domeniul  $835$  (**1**),  $826$  (**2**)  $cm^{-1}$  este atribuită vibrațiilor de valență ale grupării C=S. Vibrațiile de valență ale grupării OH fenolice provenite din tiosemicarbazone, precum și din solvent sunt situate în domeniul  $3620 \dots 3400 \text{ cm}^{-1}$ .

20 Compușii **1** și **2** sunt solubili în alcool etilic, DMSO, DMF, mai puțin solubili în clorofom, acetonă și insolubili în apă.

**Activitatea biologică.** Determinarea activității antimicrobiene a substanțelor propuse a fost efectuată în bulion peptonat de 2% . În calitate de culturi de referință în experimentul *in vitro* au fost folosite 2 tulpini standard: *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 și *Escherichia coli* ATCC 25923. Compușii sintetizați au fost testați în formă de soluții în dimexid.

25 Cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea CMI și CMB s-au realizat după metoda diluțiilor succesive [Krivoșein I. S., Compendiu pentru lucrări practice la microbiologia medicală și diagnostic de laborator al bolilor infecțioase, 1990, Chișinău, Lumina, 318 p.].

30 Bulionul Hottinger se toarnă în eprubete aranjate câte 10 în fiecare rând. Se pregătește o soluție de 2% a preparatului și în prima eprubetă se adaugă 1 mL de preparat, din care se transferă în următoarea etc., până la a IX-a eprubetă, din care se înlătură 1 mL. În calitate de control a servit eprubeta a 10-a care nu conține soluție de preparat. Cultura de microorganism timp de 24 ore se standardizează după standardul de turbiditate. În toate eprubetele randului, începând cu cea de control, se introduc câte 0,2 mL suspensie de  
35 microorganism obținută. Rezultatele experienței s-au determinat după incubare în termostat timp de 24 ore la  $37^\circ C$ . Concentrația minimă inhibitoare (CMI) a preparatului se determină după ultima eprubetă cu bulion transparent în comparație cu creșterea intensă a microorganismelor în eprubeta de control.

40 CMB s-a determinat prin metoda diluțiilor succesive pe medii solide (cutia Petri). Rezultatele experimentale obținute la studierea proprietăților antibacteriene ale compușilor revendicați și ale preparatului antibiotic, de referință cloramfenicol, sunt prezentate în tabel.

Tabel

Nr. d/o	Compusul chimic	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
		CMI, mg/mL	CMB, mg/mL	CMI, mg/mL	CMB, mg/mL
1	$C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ ( <b>1</b> )	2,5	5,0	1,2	2,5
2	$C_{19}H_{15}N_3O_3S$ ( <b>2</b> )	0,6	1,2	2,5	5,0
3	Cloramfenicol	0,7	1,5	3,0	6,0

45 Din datele prezentate urmează că compușii revendicați  $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$  (**1**) și  $C_{19}H_{15}N_3O_3S$  (**2**) manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă atât contra microorganismelor gram-pozitive, cât și a celor gram-negative. O activitate mai pronunțată manifestă derivatul feniltiosemicarbazonic (**2**, v. tabelul) care la concentrații de  $0,6 \text{ mg/mL}$  inhibă dezvoltarea microorganismului patogen *S. aureus*. Compusul **1** este mai activ față

de *E. coli* prin inhibarea și distrugerea microorganismului la concentrații de 2 ori mai mici (CMI = 1,2 mg/mL (1); 2,5 mg/mL (2)) în comparație cu compusul 2.

5 Astfel, clasa de substanțe organice propusă prezintă activitate antimicrobiană atât contra microorganismelor gram-pozitive, cât și a celor gram-negative și soluțiile acestor substanțe au perspectiva de a fi folosite în diferite domenii ale medicinei, medicinei veterinare și agriculturii, unde este necesară prelucrarea antiseptică a materialelor.

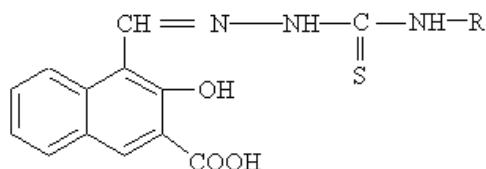
10

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. D.X. West, J.J. Ingram, N.M. Kozub, G.A. Bain, A.E. Liberta, Trans. Met. Chem. 21 (1996), p. 213
2. J. Marthakutty, V. Suni, Maliyeckal R., et al. Polyhedron, 23 (2004), p. 3069
3. M.A. Ali, A.H. Mirza, A.M.S. Hossain, M. Nazimuddin, Polyhedron 20 (2001), p. 1045
4. M. B. Ferrari, F. Bisceglie, C. Casoli, et al. J. Med. Chem. 48 (2005), p. 1671
5. Yu.K. Bhoon, Polyhedron, 2 (1983) nr. 5, p. 365
6. L. Latheef, E. Manoj, M.R.P. Kurup, Acta Crystallogr., Sect. C 62 (2006), p. 16
7. SU 437306 1974.07.25

**(57) Revendicări:**

Compuși cu formula:



unde R = H (1) și C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (2), care manifestă proprietăți bacteriostatice și bactericide față de microorganismele patogene *S. aureus* și *E. coli*.

Șef Secție:	IUSTIN Viorel
Examinator:	JOVMIR Tudor
Redactor:	CANȚER Svetlana

