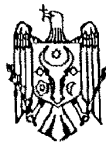




MD 4708 C1 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4708** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C07F 11/00* (2006.01)
C07D 213/53 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

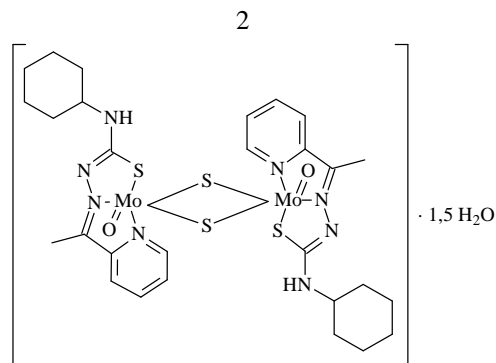
(21) Nr. depozit: a 2019 0044 (22) Data depozit: 2019.05.30	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.08.31, BOPI nr. 8/2020
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; FUIOR Arcadie, MD; FLOQUET Sebastien, FR; BURDUNIUC Olga, MD; ȚAPCOV Victor, MD; TODERAȘ Ion, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihidrat care manifestă proprietăți de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la sinteza unui compus coordinativ al molibdenului(V) biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest complex inhibă proliferarea fungilor levuriformi și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antifungic.

Conform invenției, se revendică compusul bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihidrat cu formula:



Compusul menționat manifestă proprietăți de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi.

Revendicări: 2

MD 4708 C1 2021.03.31

(54) Bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-cyclohexyl-N'-(1-pyridin-2-yl)ethylidene]carbamohydrazonthioato-(N,N,S)oxomolybdenum}sesquihydrate exhibiting properties of yeast-like fungi reproduction inhibitor

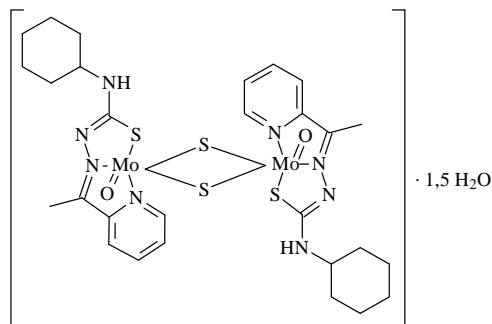
(57) Abstract:

1

The invention relates to chemistry and medicine, namely to the synthesis of a biologically active coordination compound of molybdenum (V) from the class of transition metal thiosemicarbazones. This complex inhibits the reproduction of yeast-like fungi and, thanks to these properties, can be used in medicine and veterinary medicine as an antifungal agent.

According to the invention, claimed is a bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-cyclohexyl-N'-(1-pyridin-2-yl)ethylidene]carbamohydrazonthioato-(N,N,S)oxomolybdenum}sesquihydrate compound of the formula:

2



Said compound exhibits properties of yeast-like fungi reproduction inhibitor.

Claims: 2

(54) Бис(μ_2 -сульфи́до)-бис{[N-циклогексил-N'-(1-пиридин-2-ил)-этилиден]карбамогидразонтиоато-(N,N,S)-оксомолибден} сесквигидрат проявляющий свойства ингибитора размножения дрожжеподобных грибов

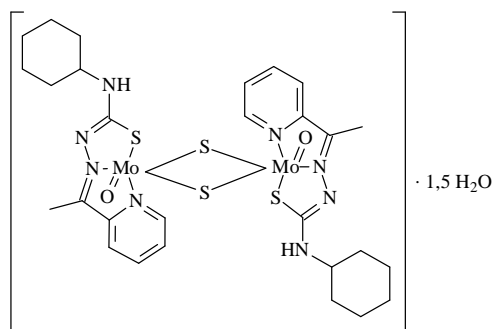
(57) Реферат:

1

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к синтезу биологически активного координационного соединения молибдена(V) класса тиосемикарбазонатов переходных металлов. Этот комплекс ингибирует размножение дрожжеподобных грибов и благодаря этим свойствам может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противогрибкового препарата.

Согласно изобретению, заявляется соединение бис(μ_2 -сульфи́до)-бис{[N-циклогексил-N'-(1-пиридин-2-ил)-этилиден]карбамогидразонтиоато-(N,N,S)-оксомолибден} сесквигидрат формулы:

2



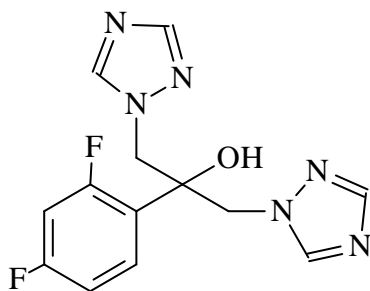
Упомянутое соединение проявляет свойства ингибитора размножения дрожжеподобных грибов.

П. формулы: 2

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

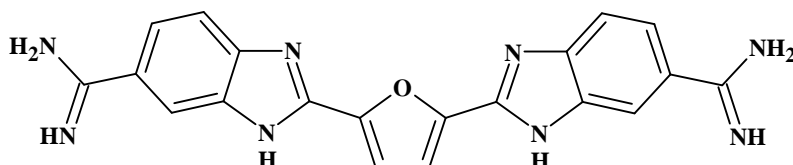
5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la sinteza unui compus coordinativ al molibdenului(V) biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest complex inhibă proliferarea fungilor levuriformi și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antifungic.

10 Dintre toți fungii patogeni pentru om, speciile levuriforme (*Cryptococcus neoformans* și *Candida albicans*) provoacă cele mai multe infecții, adesea severe, care necesită tratament îndelungat și profilaxie secundară. Pentru terapia acestor infecții cel mai des se utilizează fluconazolul cu formula:



15 Acest compus din clasa azolilor inhibă creșterea și multiplicarea majorității micetelor levuriforme în diapazonul concentrațiilor 16...20 μg/mL, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicotică mai înaltă a preparatului față de fungii sus-numiți [1].

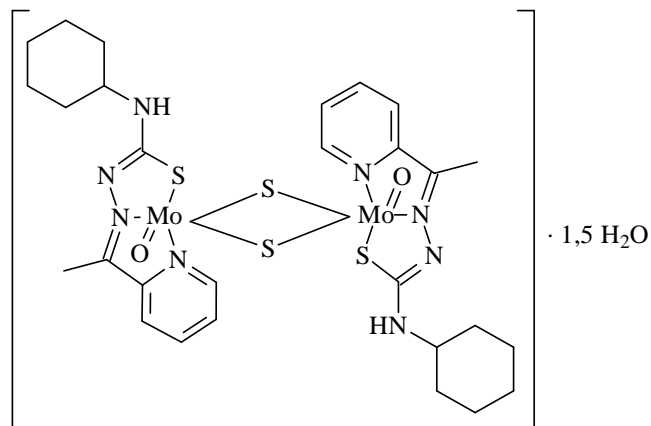
Dintre toți compușii chimici, care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor din speciile *Cryptococcus neoformans* și *Candida albicans* cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul 2,5-bis(5-amidino-2-benzimidazolil)furanului [2] cu formula:



20 După activitatea fungistatică față de micete levuriforme, acest compus depășește de 6,2...3,1 ori caracteristicile respective ale fluconazolului, utilizat actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor. Dezavantajul 2,5-bis(5-amidino-2-benzimidazolil)furanului constă în faptul, că el nu posedă o activitate antimicotică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit aplicare în medicină sau veterinarie.

25 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai fungilor levuriformi cu activitate antimicotică înaltă.

30 Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi bis(μ₂-sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat cu formula:

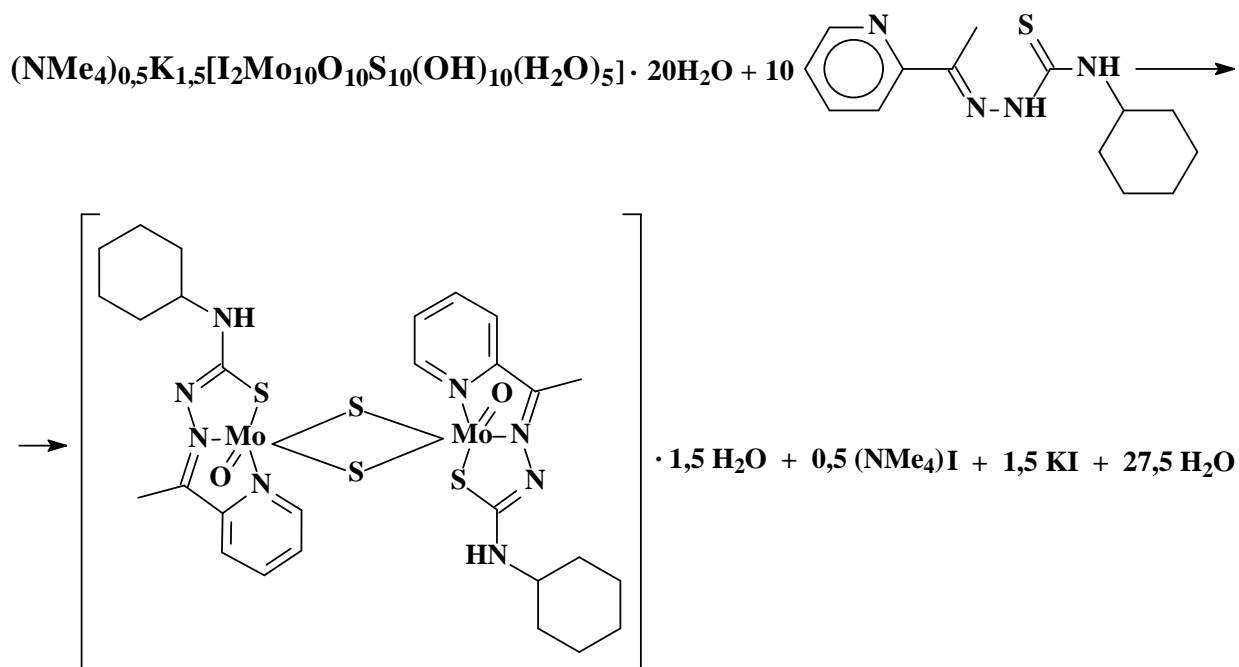


Complexul dat, proprietățile lui și procedeul de obținere nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea complexului, care manifestă activitate fungiostatică față de fungii din speciile *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* și *Cryptococcus neoformans*, ce depășește de 20,4...133,3 ori activitatea fluconazolului utilizat în medicină și de 2,5...5,2 ori depășește activitatea prototipului [2].

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi se propune bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat. Analiza comparativă a complexului revendicat cu prototipul demonstrează, că ei se deosebesc printr-o combinație nouă a tipurilor de legături chimice deja cunoscute și anume: sunt reprezentanți ai diferitor clase de compuși coordinativi. Datorită particularităților caracteristice compusului coordinativ declarat, se obține un rezultat net superior în comparație cu prototipul.

Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor metanolo-apoase fierbinți (60°C) ale polioxotiomolibdatului $(\text{NMe})_{0,5}\text{K}_{1,5}[\text{I}_2\text{Mo}_{10}\text{S}_{10}\text{O}_{10}(\text{OH})_{10}(\text{H}_2\text{O})_5] \cdot 20\text{H}_2\text{O}$ și N-[ciclohexil-2-(1-piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidei (N-ciclohexiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei), luate în raport molar de 1 : 10. Reacția decurge în 120 min conform următoarei scheme:



Mecanismul prezentei reacții este legat de faptul, că în timpul sintezei, în amestecul reactant, are loc substituția moleculelor de apă și a grupelor hidroxil din sfera internă a atomilor de molibden(V) ai polioxotiomolibdatului prin două molecule de tiosemicarbazonă, care joacă rolul de ligand-N,N,S tridentat monodeprotonat. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central îl ocupă atomul de oxigen. Al cincilea și al șaselea locuri coordinative sunt ocupate de doi atomi de sulf, care îndeplinesc funcția de atomi-punte. În rezultatul acestor procese are loc formarea complexului binuclear de molibden(V) revendicat.

Exemplu de obținere a bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadratului. La soluția metanolică fierbinte (60°C), care conține 316,7 mg (1,15 mmol) de N-[ciclohexil-2-(1-piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidă (4-ciclohexiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{S}$ în 40 mL de CH_3OH se adaugă cu porții mici 250 mg (0,104 mmol) de precursor - polioxotiomolibdat $[\text{N}(\text{Me}_4)]_{0,5}\text{K}_{1,5}[\text{I}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{10}\text{S}_{10}(\text{OH})_{10}(\text{H}_2\text{O})_5] \cdot 20\text{H}_2\text{O}$ proaspăt preparat, dizolvat în 20 mL de apă. Amestecul reactant obținut este agitat continuu și încălzit la 60°C timp de două ore. Precipitatul galben format se filtrează, se spală cu metanol, eter dietilic și se usucă în aer. Randamentul – 0,245g (54,3%). Compusul a fost caracterizat prin ESI-MS, TGA și analiză elementală.

Calculat (%) pentru $\text{Mo}_2\text{O}_2\text{S}_2(\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{S})_2(\text{H}_2\text{O})_{1,5}$: C - 38,84; H - 4,77; N - 12,94; S - 14,81.

Determinat: C - 38,49; H - 4,42; N - 12,80; S - 15,36.

FT-IR (ν , cm^{-1}): 3336 (w), 3179 (w), 3084 (w), 2933 (m), 2854 (w), 1560 (s), 968 (m), 783 (w), 484 (w).

EDX: Așteptat (determinat) Mo/S 0,50 (0,47).

5 MALDI-TOF: m/z calculat (determinat) – 839,8 (838,9) pentru ionul molecular $[\text{Mo}_2\text{O}_2\text{S}_2(\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{S})_2 + \text{H}]^+$.

TGA: 3.3% scăderea de masă în intervalul 25-200°C corespunzând la 1,5 H_2O (calculat 3,1 %).

10 $^1\text{H-NMR}$ (δ ppm, 400 MHz, DMSO- d_6): 1,21-1,92 (m, larg, 11H), 2,92 (s, 3H), 7,55 (t, 1H), 7,94 (t, 1H), 8,31 (d, 1H), 8,75 (d, 1H), 8,90 (d, 1H).

15 Procedeul de obținere al compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile [Cadot E., Salignac B., Marrot J., Dolbecq A., Secheresse F. $\text{Mo}_{10}\text{S}_{10}\text{O}_{10}(\text{OH})_{10}(\text{H}_2\text{O})_5$: a novel decameric molecular ring showing supramolecular properties. Chemical Communications, 2000, nr. 4, p. 261-262; Ming-Xue Li, Dong Zhang, Li-Zhi Zhang, Jing-Yang Niu, Bian-Sheng Ji. Synthesis, crystal structures and biological activities of 2-acetylpyridine N(4)-cyclohexylthiosemicarbazone and its manganese(II) and nickel(II) complexes. Inorganic Chemistry Communications, 2010, vol. 13 (12), p. 1572-1575], randamentul constituie 54,3% față de cel teoretic calculat. Complexul este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcoolii, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, 20 practic insolubil în eter.

Astfel, în baza rezultatelor analizei și cercetărilor fizico-chimice a fost stabilită compoziția și structura compusului revendicat.

25 Proprietățile antimicotice ale bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil- N' -(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadratului au fost cercetate *in vitro* pe tulpini de laborator de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans* CECT 1043, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 și *Candida albicans* ATCC 10231. Activitatea antimicotică s-a determinat utilizând mediul RPMI 1640 suplimentat cu glucoză. Inoculul se pregătea din subcultura de 48 ore cultivată pe Agar Sabouraud, în apă distilată sterilă până la o densitate de 0,5 McFarland (cca. 2.5×10^6 UFC/ml), după care se efectua o a doua diluție cu apă distilată 30 sterilă de 1:10, obținându-se inoculul final. Rezultatul final se interpretează prin folosirea unui spectrofotometru, înregistrându-se absorbanta fiecărui godeu la 405 nm. CMI-ul se calcula ca fiind cea mai mică concentrație care inhibă creșterea (comparativ cu martorul pozitiv).

35 Rezultatele studiului activității biologice ale compusului revendicat sunt prezentate în tabel, din care se vede, că el posedă activitate fungiostatică în limitele concentrațiilor 0,12...0,98 $\mu\text{g/mL}$ față de toate tulpinile de micete levuriforme studiate, care depășește de 20,4...133,3 ori activitatea fluconazolului utilizat în medicină și de 2,5...5,2 ori depășește activitatea prototipului [2]. Cele mai sensibile față de bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil- N' -(1-piridin-2-il)-etiliden]-carbamohidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat declarat sunt 40 fungii din specia *Cryptococcus neoformans* [Concentrația minimă de inhibare (CMI) = 0,12 $\mu\text{g/mL}$].

Proprietățile depistate ale compusului nominalizat prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicotice și permite utilizarea lui în cazul rezistenței fungilor față de medicamentele tradiționale.

45 Tabel
Activitatea fungiostatică ($\mu\text{g/mL}$) a compusului revendicat în comparație cu fluconazolul și prototipul

Substanța	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>Cryptococcus neoformans</i> CECT 1043
Fluconazol	20,0	20,0	16,0
Prototipul ^a	2,47	b	0,62
Compusul declarat ^c	0,98	0,98	0,12

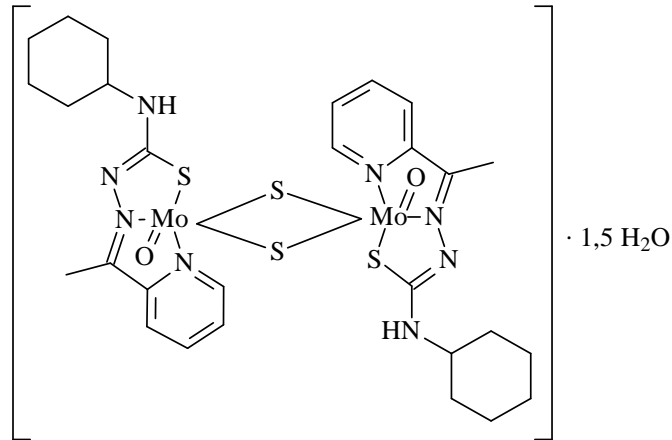
50 ^aNotă: a) prototipul - 2,5-bis(5-amidino-2-benzimidazolil)furan [2]; b) activitatea fungiostatică față de *Candida parapsilosis* în [2] nu a fost studiată; c) compusul declarat - bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil- N' -(1-piridin-2-il)-etiliden]-carbamohidrazontioato(1)-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. Bastos T.D.O., Maria Soares B., Silva Cisalpino P., Castro Mendes I., dos Santos R.G., Beraldo H. Coordination to gallium(III) strongly enhances the potency of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones against *Cryptococcus* opportunistic fungi. *Microbiological Research*, 2010, vol. 165 (7), p. 573-577
2. US 6156779 A 2000.12.05

(57) Revendicări:

1. Bis(μ_2 -sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N'-(1-piridin-2-il)-etiliden]carbamoimidazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat cu formula:



2. Compus, conform revendicării 1, care manifestă proprietăți de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi.