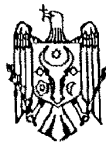




MD 4707 C1 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4707 (13) C1

(51) Int.Cl: C07F 1/08 (2006.01)
C07C 47/55 (2006.01)
C07C 47/56 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
C07D 213/00 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

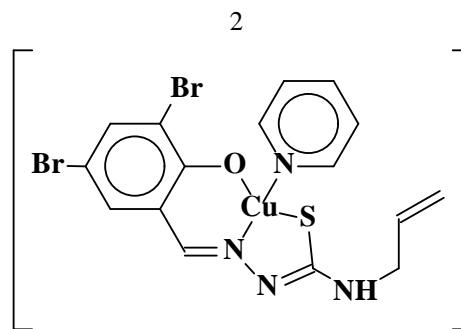
(21) Nr. depozit: a 2019 0051 (22) Data depozit: 2019.06.20	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.08.31, BOPI nr. 8/2020
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; BĂLAN Greta, MD; ULCHINA Ianina, MD; GRAUR Vasilii, MD; ȚAPCOV Victor, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) [N'-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-N-(prop-2-en-1-il)carbamohidrazonotioato]piridincupru, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un complex de cupru biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest compus coordinativ manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*. Datorită acestor proprietăți el poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antimicrobian.

Conform invenției, se revendică compusul [N'-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-N-(prop-2-en-1-il)carbamohidrazonotioato]piridincupru cu formula:



Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității antimicrobiene înalte față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*.

Revendicări: 2

MD 4707 C1 2021.03.31

(54) [N'-(3,5-Dibromo-2-oxidobenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)carbamohydranothioato]pyridincopper, exhibiting antimicrobial activity against bacteria of the species *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*

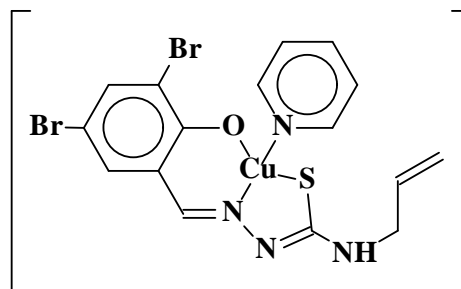
(57) Abstract:

1

The invention relates to chemistry and medicine, namely to a biologically active copper complex from the class of transition metal thiosemicarbazones. This coordination compound exhibits high bacteriostatic and bactericidal activity against bacteria of the species *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. Due to these properties, it can find application in medicine and veterinary medicine as an antimicrobial agent.

According to the invention, claimed is the compound [N'-(3,5-dibromo-2-oxidobenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)carbamohydranothioato]pyridincopper of the formula:

2



The technical result of the invention consists in establishing in the claimed compound the high antimicrobial activity against bacteria of the species *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*.

Claims: 2

(54) [N'-(3,5-дибромо-2-оксидобензилиден)-N-(проп-2-ен-1-ил)карбамогидразонотиоато]пиридинмедь, проявляющая противомикробную активность в отношении бактерий видов *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis*

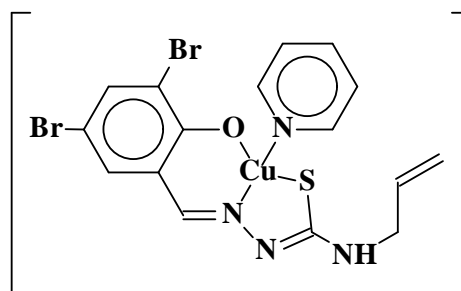
(57) Реферат:

1

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к биологически активному комплексу меди класса тиосемикарбазонатов переходных металлов. Это координационное соединение проявляет высокую бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении бактерий видов *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis*. Благодаря этим свойствам оно может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробного препарата.

Согласно изобретению, заявляется соединение [N'-(3,5-дибромо-2-оксидобензилиден)-N-(проп-2-ен-1-ил)карбамогидразонотиоато]пиридинмедь формулы:

2



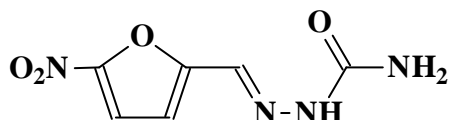
Технический результат изобретения заключается в установлении у заявленного соединения высокой противомикробной активности в отношении бактерий видов *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis*.

П. формулы: 2

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

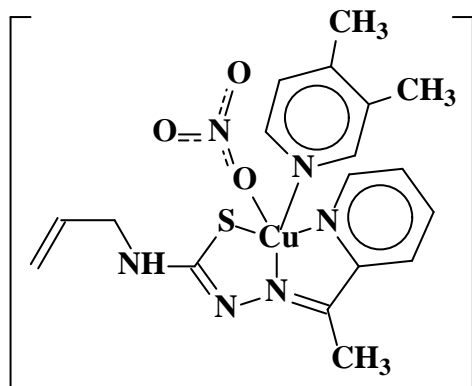
5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un complex de cupru biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest compus coordinativ manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*. Datorită acestor proprietăți el poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antimicrobian.

10 *Bacillus cereus* – bacterie grampozitivă levurică de sol. Ea provoacă toxicoinfecții la om (inclusiv sindromul vomitiv și diareic) și produce enterotoxine. În practica medicală pentru tratarea și profilaxia proceselor provocate de bacteria dată se utilizează furacilina - semicarbazona aldehidei 5-nitro-2-furanice, care are următoarea formulă:



15 Acest compus inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis* la concentrația 4,67 μg/mL, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate bacteriostatică și bactericidă mai înaltă a preparatului față de bacteriile sus-numite [1].

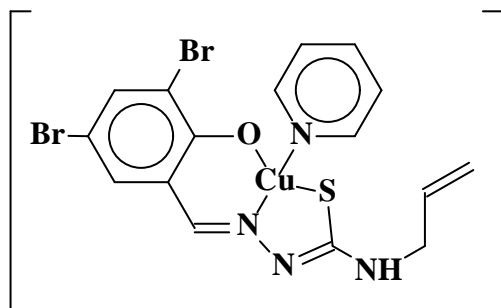
20 Din toți compușii coordinativi din clasa 4-alitiosemicarbazonaților de cupru(II), care conțin amine aromatice și care inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*, cel mai înalt efect bacteriostatic și bactericid a fost obținut în cazul nitrato-{*N*-(prop-2-en-1-il)-*N'*-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru (analogul structural) [2] cu formula:



25 Acest complex inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis* în diapazonul concentrațiilor 0,24...0,49 μg/mL. Dezavantajul lui constă în faptul, că activitatea depistată, totuși, nu este suficient de înaltă și din această cauză compusul respectiv nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinarie.

30 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui compus coordinativ nou, care posedă activitate bacteriostatică și bactericidă mai înaltă față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*.

Esența invenției constă în obținerea [*N*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N'*-(prop-2-en-1-il)carbamohidrazontioato]piridincupru cu formula:

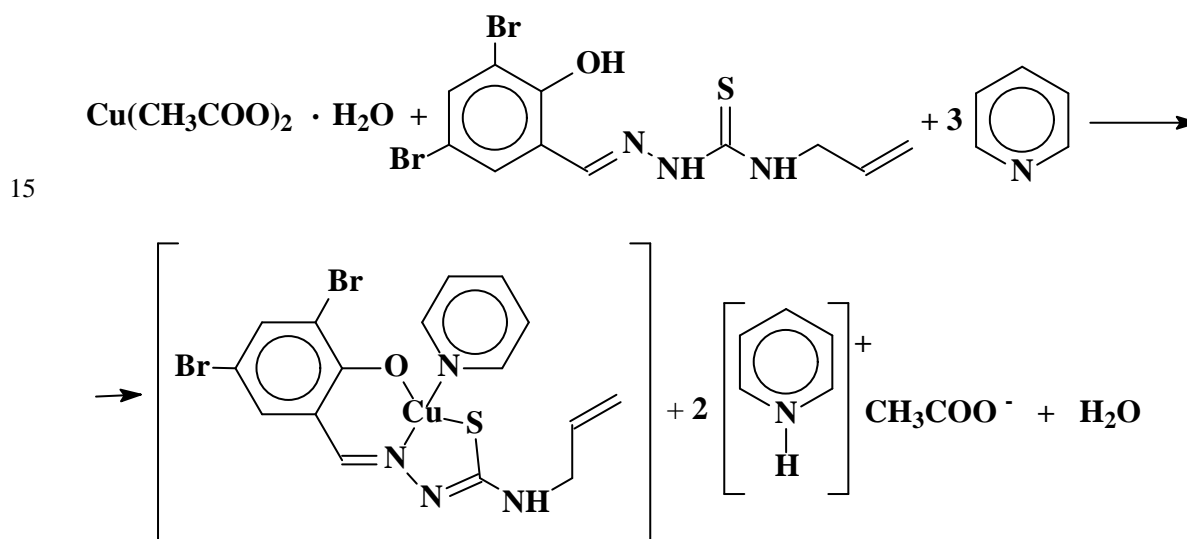


Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității antimicrobiene față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*, care depășește de 62,3...153 ori caracteristicile analoage ale furacilinei [1] și de 3,2-16 ori caracteristicile analogului structural [2].

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor de creștere și multiplicare a bacteriilor din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis* se propune un compus coordinativ al cuprului, care conține o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Complexul dat, proprietățile lui și metoda de sinteză nu sunt descrise în literatură.

Compusul coordinativ revendicat se obține la interacțiunea suspensiilor etanolice fierbinți (50...55°C) a hidratului acetatului de cupru(II) cu 2-(3,5-dibromo-2-hidroxi-benziliden)-*N*-(prop-2-en-1-il)hidrazincarbotoamida (4-alitiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromosalicilice) și piridina, luate în raport molar 1:1:3 (pH≈8). Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date constă în deprotonarea grupelor fenolice și tiolice ale tiosemicarbazonei în prezența acetat-ionilor sării inițiale, care joacă rolul de acceptor de protoni. Astfel obținut, anionul *N'*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-prop-2-en-1-ilcarbamohidrazonotioat coordonează la ionul de cupru(2+) ca ligand O,N,S-tridentat dublu deprotonat. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central îl ocupă atomul de azot al moleculei de piridină.

Procedeele de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 70% față de cel teoretic calculat. 2-(3,5-Dibromo-2-hidroxi-benziliden)-*N*-(prop-2-en-1-il)hidrazincarbotoamida (4-alitiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromosalicilice) se obține după metoda descrisă în literatură [Гуля А. П., Граур В. О., Чумаков Ю. М., Петренко П. А., Бэлан Г. Г., Бурдунюк О. С., Цапков В. И., Рудик В. Ф. Синтез, строение и биологическая активность координационных соединений меди и кобальта с замещенными 2-(2-гидроксибензилиден)-*N*-(проп-2-ен-1-ил)гидразинкарботиоамидами. Ж. общей химии, май 2019, т. 89, № 5, стр. 766-778]. Complexul sintetizat are culoare verde întunecată, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere a [*N'*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-(prop-2-en-1-il)carbamohidrazonotioato]piridincupru. La suspensia etanolică, care conține 10 mmol de hidrat al acetatului de cupru(II) în 50 mL etanol, încălzită (50...55°C) și amestecată în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă soluția ce conține 10 mmol de 2-(3,5-dibromo-2-hidroxi-benziliden)-*N*-(prop-2-en-1-il)hidrazincarbotoamidă (4-alitiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromosalicilice) și 30 mmol piridină (pH≈8) în 100 mL alcool etilic. După aceasta, amestecul reactant se încălzește în continuare cu refrigerent ascendent pe parcurs de 50...60 min. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care se filtrează prin filtru din sticlă, se spală cu C₂H₅OH, eter dietilic și se usucă în aer.

S-a determinat, %: C – 35,81; H – 2,55; Cu – 11,77; N – 10,37; S – 5,88.

Pentru $C_{16}H_{14}Br_2CuN_4OS$ s-a calculat, %: C – 36,01; H – 2,64; Cu – 11,91; N – 10,50; S – 6,01.

5 Spectrul IR (cm^{-1}): 3198 $\nu(NH)$; 1636 $\nu(C=C_{alil})$; 1609, 1595, 1572 $\nu(C=N)$; 1161 $\nu(C-O)$; 749 $\nu(C-S)$; 526; 476; 454; 427 (Cu-O, Cu-N, Cu-S).

Cercetarea vizuală sub microscop a compusului coordinativ sintetizat a demonstrat, că el posedă omogenitate fazică. Din cauza dimensiunilor mici și absenței monocristalelor acestui complex, pentru determinarea individualității compoziției lui și structurii probabile au fost utilizate metodele de analiză a elementelor, spectroscopia IR și magnetochimia.

10 În baza determinării în dimetilformamidă a conductibilității electrice molare (?) a compusului declarat s-a determinat, că el este neelectrolit [$\kappa = 9 \Omega^{-1} \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$, 20° C, $C_M = 0,001 mol/L$].

Cercetarea magnetochimică la temperatura camerei (294 K) a compusului revendicat a demonstrat, că el posedă momentul magnetic efectiv ($\mu_{ef.} = 1,80 m.B.$) caracteristic valorii spinice ($S = \frac{1}{2}$) pentru un electron necuplat, fapt care vorbește despre structura lui monomeră.

Pentru determinarea modului de coordonare a liganzilor la ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR compusului revendicat cu cele ale analogului structural [2] și a tiosemicarbazonei inițiale [Гуля А. П., Граур В. О., Чумаков Ю. М., Петренко П. А., Бэлан Г. Г., Бурдунюк О. С., Цапков В. И., Рудик В. Ф. Синтез, строение и биологическая активность координационных соединений меди и кобальта с замещенными 2-(2-гидроксибензилиден)-N-(проп-2-ен-1-ил)гидразин-карботиоамидами. Ж. общей химии, май 2019, т. 89, № 5, стр. 766-778]. S-a stabilit, că tiosemicarbazona studiată în complexul declarat se comportă ca ligand tridentat dublu deprotonat, coordinând la ionul central prin intermediul atomilor de oxigen fenolic, azot azometinic și a sulfurii, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția din spectrele IR ale substanței declarate și ale analogului structural a benzilor de absorbție $\nu(OH)$, care în tiosemicarbazonele libere se observă în domeniul 3330-3340 cm^{-1} . În toți complexii analizați benzile $\nu(C=N)$ sunt scindate în două componente. În domeniul 1575-1560 cm^{-1} al spectrului [*N*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-(prop-2-en-1-yl)carbamohidrazonotioato]piridincupru investigat se observă banda de absorbție, care este condiționată de oscilațiile de valență $>C=N-N=C<$. Acest caracter al spectrelor IR demonstrează enolizarea tiosemicarbazonei în procesul de formare a complexului declarat. În afară de aceasta, în domeniul 550-405 cm^{-1} în spectrul complexului investigat se observă o serie de benzi de absorbție noi, care conform datelor din literatură, se detectează ca $\nu(Cu-N)$, $\nu(Cu-O)$ și $\nu(Cu-S)$.

35 Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și a cercetărilor fizico-chimice a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compusului declarat.

Determinarea activității antimicrobiene a [*N*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-(prop-2-en-1-yl)carbamohidrazonotioato]piridincupru a fost efectuată în mediu nutritiv lichid [bulion peptonat din carne de 2%, pH = 7,0] prin metoda diluțiilor succesive. În calitate de cultură de referință în experimentul *in vitro* au fost folosite tulpinile standard de *Bacillus cereus* ATCC 11778 și *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Dizolvarea substanței studiate în dimetilsulfoxidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură.

45 Rezultatele studiului activității antimicrobiene pentru [*N*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-(prop-2-en-1-yl)carbamohidrazonotioato]piridincupru sunt prezentate în tabel, din care se observă că compusul declarat posedă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis* în diapazonul concentrațiilor 0,0075...0,0305 $\mu g/mL$. Pentru comparație, în aceleași tabel sunt prezentate rezultatele cercetării activității antimicrobiene caracteristice furacilinei, utilizată în practica medicală pentru tratarea și profilaxia proceselor provocate de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis* și cele ale nitrato-*N*-(prop-2-en-1-yl)-*N*-[1-(piridin-2-yl)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru (analogul structural) [2], care manifestă cea mai înaltă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile investigate din toți compușii coordinativi din clasa 4-ilitiosemicarbazonaților de cupru(II), care conțin amine aromatice. Datele experimentale obținute demonstrează, că compusul revendicat manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*, care depășește de 62,3...153 ori caracteristicile analoage ale furacilinei [1] și de 3,2...16 ori caracteristicile analogului structural [2].

Tabel

Concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă bactericidă (CMB) (μg/mL) a compusului revendicat în comparație cu furacilina și analogul structural

Tulpina microorganismului	Compusul declarat		Furacilina		Analogul structural	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	0,0075	0,0305	4,67	4,67	0,24	0,49
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0,0075	0,0305	4,67	4,67	0,24	0,49

5

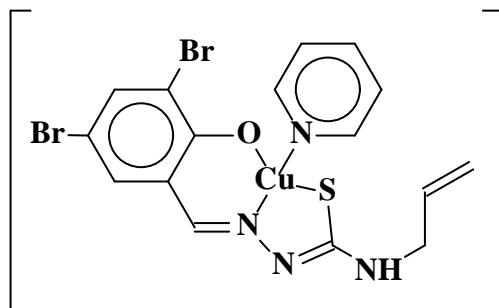
Proprietățile depistate ale compusului nominalizat prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene și permite utilizarea lui în cazul rezistenței microorganismelor față de medicamentele tradiționale.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, 2008, Москва: Новая волна, p. 1206
2. MD 4621 B1 2019.02.28

(57) Revendicări:

1. [*N*-(3,5-dibromo-2-oxidobenziliden)-*N*-(prop-2-en-1-il)carbamohidrazonotioato]piridincupru cu formula:



2. Compus, conform revendicării 1, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din speciile *Bacillus cereus* și *Bacillus subtilis*.