



MD 4832 B1 2022.11.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4832 (13) B1

(51) Int.Cl: C07F 15/02 (2006.01)
C07D 213/53 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
A61K 31/295 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

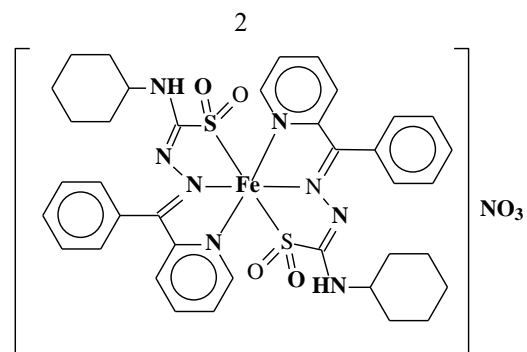
În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2021 0015 (22) Data depozit: 2021.03.29 (41) Data publicării cererii: 2022.09.30, BOPI nr. 9/2022	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2022.11.30, BOPI nr. 11/2022
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; RUSNAC Roman, MD; ȚAPCOV Victor, MD; BĂLAN Greta, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Nitratul de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S}fier(III), care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la sinteza primului reprezentant al compușilor coordinativi de fier(III) cu un nou tip de liganzi din clasa hidrazonometansulfinaților. Acest compus coordinativ manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de bacteriile din specia *Bacillus cereus* și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antimicrobian.

Conform invenției, se revendică nitratul de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S}fier(III) cu formula:



Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității antimicrobiene față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*, care depășește de 156 ori caracteristicile analoge ale furacilinei.

Revendicări: 2

Figuri: 1

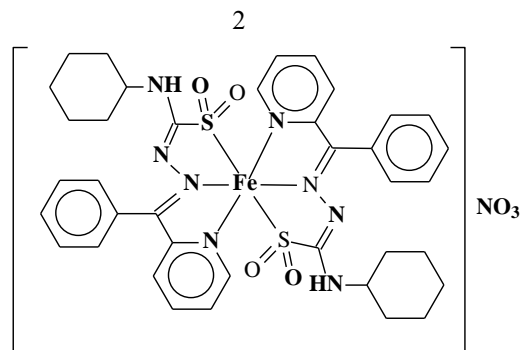
MD 4832 B1 2022.11.30

(54) Bis{[(cyclohexylamino)phenyl(pyridin-2-yl)methylidenehydrazono]methanesulfinato-N,N',S}iron(III) nitrate, which exhibits antimicrobial activity against bacteria of the species *Bacillus cereus*

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to the synthesis of the first representative of iron(III) coordination compounds with a new type of hydrazone methanesulfinate class ligands. This coordination compound exhibits high bacteriostatic and bactericidal activity against bacteria of the species *Bacillus cereus* and due to these properties can be used in medicine and veterinary medicine as an antimicrobial drug.

According to the invention, bis{[(cyclohexylamino)phenyl(pyridin-2-yl)methylidenehydrazono]methanesulfinato-N,N',S}iron(III) nitrate is claimed with the formula:



The technical result of the invention consists in establishing the antimicrobial activity of the claimed compound against bacteria of the species *Bacillus cereus*, which is 156 times higher than the similar characteristics of furacilin.

Claims: 2

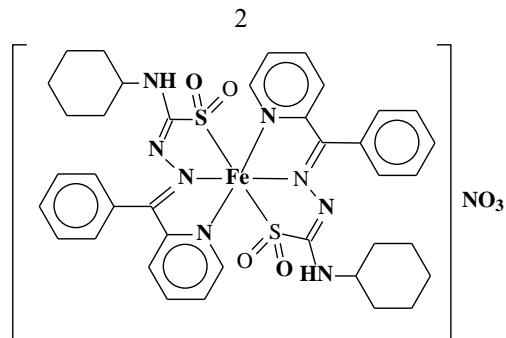
Fig.: 1

(54) Нитрат бис{[(циклогексиламино)фенил(пиридин-2-ил)метиленгидразоно]метансульфинато-N,N',S}железа(III), проявляющий противомикробную активность в отношении бактерий вида *Bacillus cereus*

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к синтезу первого представителя координационных соединений железа(III) с новым типом лигандов класса гидразонометансульфинатов. Это координационное соединение проявляет высокую бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении бактерий вида *Bacillus cereus* и благодаря этим свойствам может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробного препарата.

Согласно изобретению, заявляется нитрат бис{[(циклогексиламино)фенил(пиридин-2-ил)метиленгидразоно]метансульфинато-N,N',S}железа(III) формулы:



Технический результат изобретения заключается в установлении у заявленного соединения противомикробной активности в отношении бактерий вида *Bacillus cereus*, которая в 156 раз превышает аналогичные характеристики фурацилина.

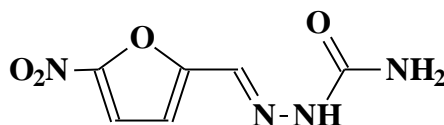
П. формулы: 2

Фиг.: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

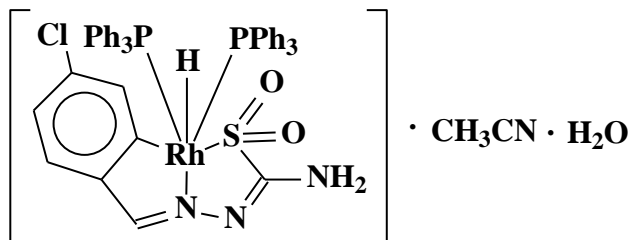
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la sinteza primului reprezentant al compușilor
 5 coordinativi de fier(III) cu un nou tip de liganzi din clasa hidrazonometansulfinaților. Acest compus
 coordinativ manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de bacteriile din specia *Bacillus*
cereus și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinărie în calitate de preparat
 antimicrobian.

Bacillus cereus este o bacterie levurică grampozitivă de sol. Ea provoacă la om toxicoinfecții,
 10 septicemie, endocardită și leziuni ale sistemului nervos central. În practica medicală pentru tratarea și
 profilaxia proceselor provocate de bacteria dată se utilizează furacilina - semicarbazona aldehidei 5-nitro-
 2-furanice (prototipul), cu formula:



Acest compus inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din specia *Bacillus cereus* la
 15 concentrația 4,68 μg/mL, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate
 antimicrobiană mai înaltă a preparatului față de bacteria sus-numită [1].

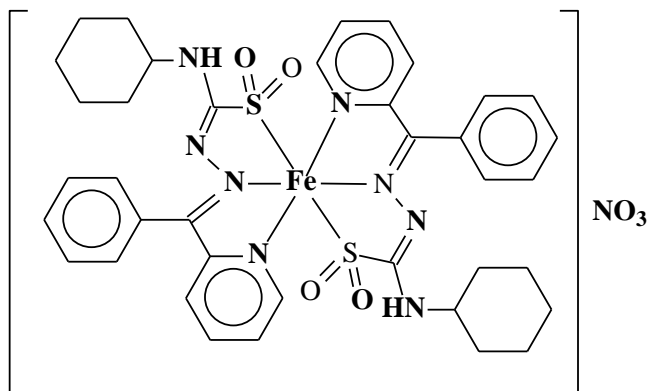
Compusul coordinativ revendicat, după unele fragmente ale structurii, se aseamănă cu (4-
 20 clorobenzaldehidtiosemicarbazon-S,S-dioxid-S,C,N)hidrido-bis-(trifenilfosfin)rodium(III) acetoneitril
 solvat monohidrat (Rama Acharyya, Swati Dutta, Falguni Basuli, Shie-Ming Peng, Gene-Hsiang Lee,
 Larry R. Falvello, and Samaresh Bhattacharya. Rhodium Assisted C-H Activation of Benzaldehyde
 Thiosemicarbazones and Their Oxidation via Activation of Molecular Oxygen. Inorganic Chemistry,
 2006, vol. 45 (3), p. 1252-1259, DOI: 10.1021/ic050505w) (analogul structural) cu formula:



Acest complex rodii-organic conform bazei de date din Cambridge [November 2019 release of
 25 the Cambridge Structural Database System (version 5.41)], este unicul compus, care conține în
 componența sa fragmentul hidrazonometansulfonic. Aplicații practice complexul dat nu găsește din
 cauza că până acum nu sunt depistate proprietăți, datorită cărora el poate fi utilizat practic.

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

30 Esența invenției constă în obținerea nitrului de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-
 il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S} fier(III) cu formula:

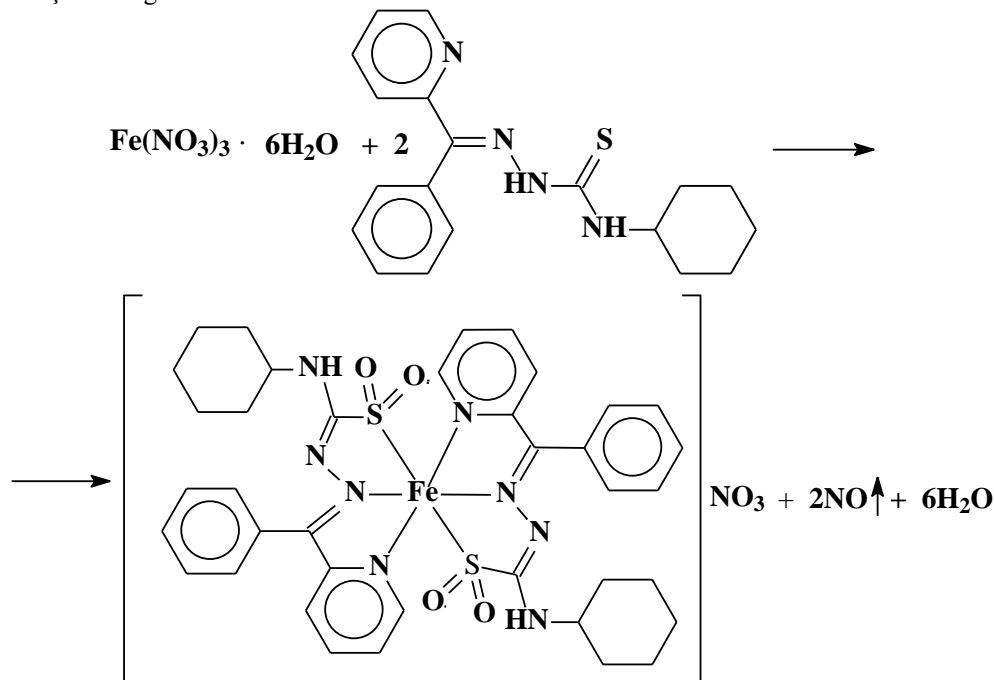


Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității antimicrobiene față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*, care depășește de 156 ori caracteristicile analoge ale furacilinei.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor de creștere și multiplicare a bacteriilor din specia *Bacillus cereus* se propune un compus coordinativ de fier(III) cu un nou tip de liganzi din clasa hidrazonometansulfinaților, care conține o

combinare nouă de legături chimice deja cunoscute.

Complexul dat, proprietățile lui și metoda de sinteză nu sunt descrise în literatură. Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (75-78°C) ale hexahidratului nitratului de fier(III) și N-ciclohexil-N'-[fenil(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazonotioamidi (4-ciclohexiltiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei), luate în raport molar 1:2. Reacția decurge 5 ore conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date este legat de faptul, că în timpul sintezei, în amestecul reactant, are loc adăuga la ionul de fier (3+) a două molecule de N-ciclohexil-N'-[fenil(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazonotioamidă (4-ciclohexiltiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei), care joacă rolul de ligand-N,N,S tridentat. Simultan cu acest proces pe matricea ionului de fier (3+) are loc oxidarea atomului de sulf din fragmentul tioamidic cu nitrat-ionul și formarea fragmentului sulfinatic fără ruperea legăturii S-Fe. În rezultatul acestor procese are loc formarea complexului revendicat cu structură octaedrică distorsionată. Pentru compensarea sarcinii cationului complex în sfera exterioră se află un nitrat-ion.

Procedeele de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 45% față de cel teoretic calculat. N-ciclohexil-2-[fenil(piridin-2-il)metiliden]hidrazin-1-carbotioamida (4-ciclohexiltiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei) se obține după metoda descrisă în literatură (Joseph M., Suni V., Nayar C. R.; Kurup M. R. P., Fun H. K. Synthesis, spectral characterization and crystal structure of 2-benzoylpyridine N (4)-cyclohexylthiosemicarbazone. Journal of Molecular Structure, 2004, vol. 705, pp. 63-70. doi:10.1016/j.molstruc.2004.06.018). Complexul sintetizat are culoarea roșu închisă, este stabil în contact cu aerul, solubil în EtOH = 10 mg – 1 mL; în DMSO/DMF = 10 mg – 0,3 mL.

Exemplu de obținere a nitratului de bis{(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono}metansulfinato-N,N',S}fier(III). Compusul coordinativ se obține la interacțiunea a 0,4039 g (1 mmol) de hexahidrat de trinitrat de fier(III) dizolvat la temperatura camerei în 3 mL alcool etilic cu 0,6770 g (2 mmol) N-ciclohexil-2-[fenil(piridin-2-il)metiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (4-ciclohexiltiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei) dizolvată în 10 mL etanol și refluxarea și amestecarea în permanență timp de 5 ore a amestecului reactant obținut cu ajutorul agitatorului magnetic. La răcire din amestecul reactant se depune substanța microcristalină de culoare roșu închisă, care se filtrează prin filtru

din sticlă cu ajutorul presiunii reduse. Solidul obținut se usucă într-un exicator cu vid în prezență de CaCl_2 anhidru până la o masă constantă. Randamentul 0,4063 g (45%).

S-a determinat, %: C – 53,20; H – 4,87; Fe – 6,41; N – 14,77; S – 7,38.

Pentru $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{FeN}_9\text{O}_7\text{S}_2$ s-a calculat, %: C – 53,27; H – 4,94; Fe – 6,52; N – 14,71; S – 7,49.

5 FT-IR, (ν_{max} , cm^{-1}): 3476, 3431, m, lat, (O-H din $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$); 3206, m, lat, (N4-H); 3051, s, (C-H, py); 3010, s, (CH, din Ar); 2925, s, as, (C-H, din CH_2 al Cy); 2850, s, sy, (C-H, din CH_2 al Cy); 1661, p, (δ , N-H, deformare)/(C=C, Ar); 1592, s, (C=N, azometin); 1544, m; 1499, m; 1484, m; 1445, p; 1422, s; 1365, s; 1318, p, (ν_1 , NO_3); 1289, p; 1254, s; 1229, p, as, (SO_2); 1194, s; 1149 (ν_2 , NO_3), s; 1131, s; 1080, p, s, (SO_2); 1029, m, (N-N); 999, s; 974, s; 961, s; 888, m; 846, s; 829, s; 787, p; 762, s; 744, p; 725, s; 10 697, p; 679, m; 658, m; 643, s; 625, s; 576, s; 557, s; 516, s; 496, s; 483, s; 465, s; 455, s; 407, s; 403, s.

Din filtratul rămas după filtrarea solidului, peste ~ 4 zile se obțin monocristale de culoare roșu închis, structura cărora a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X. Măsurătorile cristalografice au fost efectuate utilizând un difractometru de tip Xcalibur E CCD Oxford-Diffraction cu monocromator de grafit înzestrat cu sursă de raze X de tip Mo- $K\alpha$. Procedeele de determinare a parametrilor celulei elementare și de integrare a datelor experimentale au fost efectuate cu ajutorul setului de programe "CrysAlis package Oxford Diffraction". Pentru structura cercetată soluția a fost determinată prin metoda directă cu ajutorul programului SHELXS-97 și fitată prin metoda pătratelor minimale în cadrul programului SHELXL-97 în varianta anizotropică pentru toți atomii cu masă molară mai mare decât a atomului de hidrogen. Atomii de hidrogen au fost introduși în poziții idealizate ($d_{\text{CH}} = 0,96 \text{ \AA}$) utilizând modelul pivot cu fixarea parametrilor izotropici de deplasare la valoarea de 120% față de valorile respective ale atomilor de carbon cu care sunt legați. Formula empirică a compusului investigat $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{FeN}_9\text{O}_7\text{S}_2$, grupa spațială P-1, parametrii celulei elementare, [\AA]: a = 11,261(2); b = 14,998(3), c = 15,144(3); $\alpha = 62,38(3)^\circ$, $\beta = 73,84(3)^\circ$, $\gamma = 88,21(3)^\circ$, R-factor = 4,33.

A fost stabilit (figură), că compusul investigat reprezintă o bipiramidă tetragonală distorsionată. În sfera internă a atomului central, în planuri reciproc perpendiculare, se află două molecule de [(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)-metilidenhidrazono]metansulfinat tridentate, care coordonează la atomul de fier prin atomii de azot piridinic [$d(\text{Fe-N}) = 1,972$ și $d(\text{Fe-N}) = 1,976 \text{ \AA}$], azometinic [$d(\text{Fe-N}) = 1,914$ și $d(\text{Fe-N}) = 1,915 \text{ \AA}$] și atomii de sulf în forma sulfonică deprotonată [$d(\text{Fe-S}^1) = 2,136$ și $d(\text{Fe-S}^2) = 2,147 \text{ \AA}$; $d(\text{S}^1-\text{O}^1) = 1,474$ și $d(\text{S}^1-\text{O}^2) = 1,477 \text{ \AA}$; $d(\text{S}^2-\text{O}^1) = 1,470$ și $d(\text{S}^2-\text{O}^2) = 1,479 \text{ \AA}$], formând două metalocicluri din cinci atomi. Legătura între atomii de sulf și carbon este ordinară [$d(\text{C}^1-\text{S}^1) = 1,845$ și $d(\text{C}^2-\text{S}^2) = 1,850 \text{ \AA}$], iar legătura dublă în molecula de hidrazono-metansulfinat coordonată este delocalizată între atomii de carbon și azot tiocarbamidic N^2 [$d(\text{C}^1-\text{N}) = 1,311$ și $d(\text{C}^2-\text{N}) = 1,310 \text{ \AA}$]. În sfera exterioară a cationului complex se află un nitrat-ion [$d(\text{N}-\text{O}^1) = 1,262$, $d(\text{N}-\text{O}^2) = 1,245$ și $d(\text{N}-\text{O}^3) = 1,236 \text{ \AA}$]. Alte distanțe interatomice și unghiurile de valență sunt standarde pentru compuşii din această clasă.

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

Determinarea activității antimicrobiene a nitratului de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S} fier(III) 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” a fost folosită tulpina standard de *Bacillus cereus* (ГИСК 8035). Dizolvarea substanței studiate în N,N-dimetilformamidă, cultivarea microorganismului, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minimale bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură (Gulea A., Prisacar V., Tsapcov V., Buracheva S., Spynu S., Bezhenar N., Poirier D., Roy J. Synthesis and antimicrobial activity of sulfanilamide-containing copper(II) and nickel(II) salicylidenethiosemicarbazide. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2007, vol. 41 (11), p. 596-599).

50 Rezultatele studiului activității antimicrobiene a nitratului de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S} fier(III) sunt prezentate în tabel, din care se vede că compuşii inițiali nu manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismul sus-numit, iar complexul declarat posedă activitate bacteriostatică și bactericidă la concentrația 0,03 $\mu\text{g/mL}$. Pentru comparație în aceleași tabel sunt prezentate rezultatele activității antimicrobiene caracteristice furacilinei (prototipului). Datele experimentale obținute demonstrează, că compusul revendicat manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*, care depășește de 156 ori caracteristicile analoage ale furacilinei.

55 Proprietățile depistate ale compusului nominalizat prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene și poate fi utilizat în cazul rezistenței bacteriilor din specia *Bacillus cereus* față de medicamentele tradiționale.

Tabel

Concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă bactericidă (CMB) a compusului revendicat față de bacteriile din specia *Bacillus cereus* în comparație cu prototipul, ($\mu\text{g/mL}$)

Compusul	CMI	CMB
Compușii inițiali ^{a)}	> 10 000,0	> 10 000,0
Furacilina (prototipul)	4,68	4,68
Nitratul de {[ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S} fier(III)	0,03	0,03

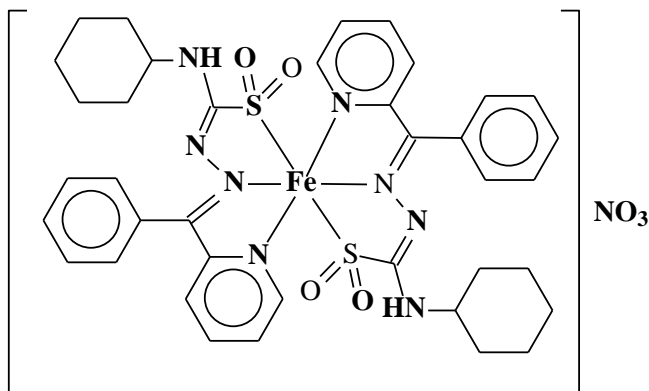
5 *Notă: a) Compușii inițiali – $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și N-ciclohexil-N'-[fenil(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazonotioamida.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, М.: Новая волна, 2008, р. 849-850.

(57) Revendicări:

1. Compusul coordinativ nitrat de bis{[(ciclohexilamino)fenil(piridin-2-il)metilidenhidrazono]metansulfinato-N,N',S} fier(III) cu formula:



2. Compusul coordinativ, conform revendicării 1, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*.

