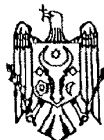




MD 4842 B1 2023.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4842** (13) **B1**
(51) Int.Cl: C07F 1/08 (2006.01)
C07D 213/53 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

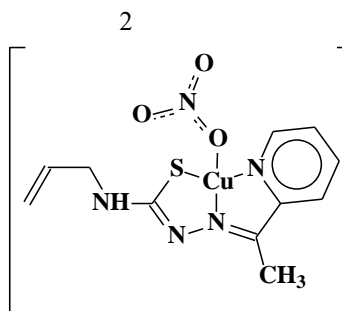
În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2021 0065 (22) Data depozit: 2021.09.27	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.01.31, BOPI nr. 1/2023
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; GRAUR Vasilii, MD; BĂLAN Greta, MD; ȚAPCOV Victor, MD; TODERAȘ Ion, MD; LOZAN Vasile, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la un compus coordinativ de cupru biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antimicrobian.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru cu formula:



Compusul coordinativ revendicat manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*.

Revendicări: 2

MD 4842 B1 2023.01.31

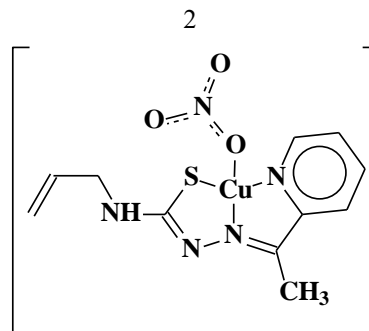
(54) Nitrato-{N-(prop-2-en-1-yl)-N'-[1-(pyridin-2-yl)-ethylidene]carbamohydrazonothioato}copper, exhibiting antimicrobial activity against bacteria of *Streptococcus pneumoniae* species

(57) Abstract:

1

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to a biologically active copper coordination compound of the class of transition metal thiosemicarbazones and can be used in medicine and veterinary medicine as an antimicrobial drug.

According to the invention, claimed is the coordination compound nitrato-{N-(prop-2-en-1-yl)-N'-[1-(pyridin-2-yl)-ethylidene]carbamohydrazonothioato}copper of the formula:



The claimed coordination compound exhibits antimicrobial activity against bacteria of *Streptococcus pneumoniae* species.

Claims: 2

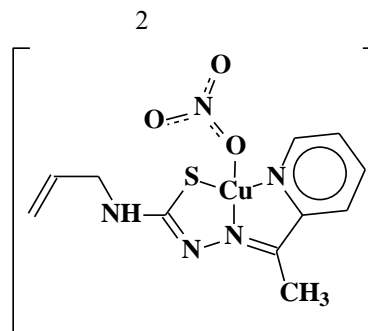
(54) Нитрато-{N-(проп-2-ен-1-ил)-N'-[1-(пиридин-2-ил)-этилиден]карбамогидразонтиоато}медь, проявляющая противомикробную активность в отношении бактерий вида *Streptococcus pneumoniae*

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к биологически активному координационному соединению меди класса тиосемикарбазонатов переходных металлов и может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробного препарата.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение нитрато-{N-(проп-2-ен-1-ил)-N'-[1-(пиридин-2-ил)-этилиден]карбамогидразонтиоато}медь формулы:



Заявленное координационное соединение проявляет противомикробную активность в отношении бактерий вида *Streptococcus pneumoniae*.

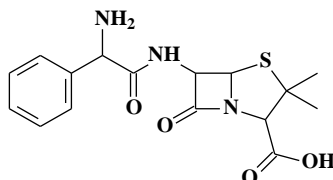
П. формулы: 2

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

5 Invenția se referă la chimie și medicină și anume, la un compus coordinativ de cupru biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest complex manifestă activitate antimicrobiană înaltă față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat antimicrobian.

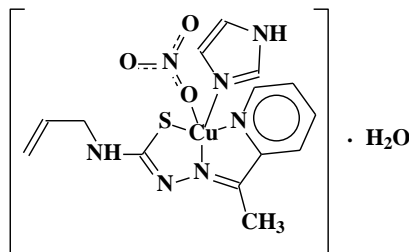
10 *Streptococcus pneumoniae* sau pneumococi sunt bacterii gram-pozitive, catalazo- și oxidazo-negative. Aceștia sunt unii dintre principalii agenți cauzali ai meningitei, otitei, sinuzitei, pneumoniei la copii și adulți. În cazuri mai rare, pneumococul poate provoca endocardită, artrită septică, peritonită primară etc. În ultimii ani, din cauza creșterii rezistenței bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* față de medicamentele antimicrobiene tradiționale, în multe țări ale lumii devine din ce în ce mai importantă problema sintezei compușilor noi cu proprietăți antimicrobiene.

15 În practica medicală și veterinară pentru tratarea și profilaxia bolilor provocate de *Streptococcus pneumoniae* se utilizează medicamentul ampicilina [1] - antibiotic semisintetic cu formula:



20 Ea inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* la concentrația 0,5 μg/mL, însă nu poate fi utilizată în cazurile, când este necesară o activitate antimicrobiană mai înaltă a preparatului față de microorganismul sus-numit.

25 Din toți compușii chimici descriși în literatura de specialitate, care conțin în componența sa fragmentul tiosemicarbazidic și care inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae*, cel mai înalt efect antimicrobian a fost obținut în cazul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru [2] cu formula:

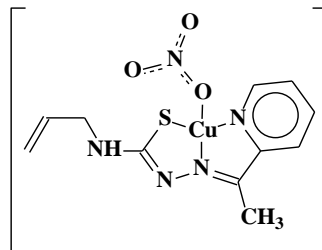


30 Acest compus manifestă activitate antimicrobică înaltă, iar după activitatea antimicrobiană față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* depășește de 8,3-16,7 ori caracteristicile respective ale ampicilinei, utilizate actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia bolilor provocate de bacteria dată.

35 Dezavantajul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcuprului (cea mai apropiată soluție) constă în faptul, că el nu posedă o activitate biologică suficient de înaltă și din această cauză nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinarie.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* cu activitate antimicrobiană înaltă.

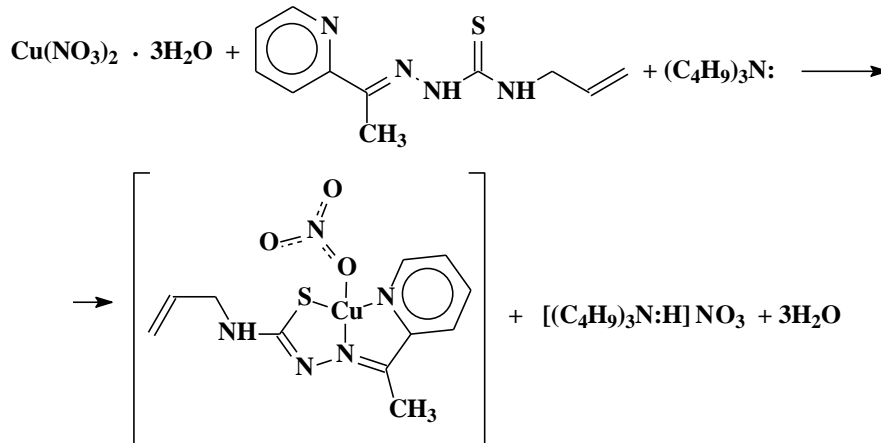
40 Esența invenției constă în sinteza și utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* a nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}cupru cu formula:



Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea compusului coordinativ, care manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*, ce depășește de 66 – 132 ori activitatea medicamentului ampicilina utilizată în medicină și de 7,9 ori depășește activitatea antimicrobiană a celei mai apropiate soluții [2].

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului, că în compusul propus în invenție se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (50-55°C) ale trihidratului nitratului de cupru(II), N-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamiei (4-alitiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) și tributilaminei, luate în raport molar 1:1:1. Reacția decurge în 50-60 min conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date constă în deprotonizarea sulfului grupei tiolice ale tiosemicarbazonei în prezența tributilaminei, care joacă rolul de acceptor de protoni. Astfel obținut, anionul N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato(1-) coordonează la ionul de cupru(2+) ca ligand N,N,S-tridentat. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central îl ocupă atomul de oxigen al nitrat-ionului, care coordonează la atomul central ca ligand monodentat.

Procedeul de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 80% față de cel teoretic calculat. N-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)-etiliden]hidrazincarbotoamida (4-alitiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) se obține după metoda descrisă în literatură (Richardson D. R., Kalinowski D. S., Richardson V., Sharpe P. C., Lovejoy D. B., Islam M., Bernhardt P. V. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones are potent iron chelators and antiproliferative agents: redox activity, iron complexation and characterization of their antitumor activity. J. Med. Chem., 2009, vol. 52(5), p. 1459-1470. Doi: 10.1021/jm801585u). Complexul sintetizat are culoarea verde, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, solubil în N,N-dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere a nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru. Se amestecă 20 mL de soluție etanolică, care conține 10 mmol de trihidrat al nitratului de cupru(2+) cu 30 mL soluție alcoolică, care conține 10 mmol de N-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidă (4-alitiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) și 10 mmol de tributilamină. Amestecul reactant este încălzit (50-55°C) și amestecat în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 50-60 min. La răcire din soluție se depun cristale mărunte de culoare verde, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

S-a determinat, %: C- 36,70; H – 3,47; Cu –17,52; N –19,37; S – 8,70.

Pentru $C_{11}H_{13}CuN_5O_3S$ s-a calculat, %: C- 36,82; H – 3,65; Cu –17,71; N –19,52; S – 8,93.

Benzile de absorbție în spectrul IR, cm^{-1} : $\nu(NH) = 3140$; $\nu(C=C)_{Alil} = 1640$; $\nu(C=N) = 1600, 1588, 1560$; $\nu(C-S) = 745$; $\nu(Cu-N, Cu-S, Cu-O) = 527, 460, 420, 405 cm^{-1}$.

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

În baza determinării conductibilității electrice molare (κ) a soluției de nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru în dimetilformamidă, a fost stabilit, că compusul este electrolit de tip 1:1 [$\kappa = 60 \Omega^{-1} \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$, $20^\circ C$, $C_M = 0.001 mol/L$].

La temperatura camerei (290 K) complexul dat are momentul magnetic efectiv egal cu 1,75 m.B. Aceste date experimentale indică la structura lui monomerică.

Pentru determinarea modului de coordonare a 4-aliltiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei la ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului revendicat cu cele ale celei mai apropiate soluții și azometina inițială. S-a stabilit, că tiosemicarbazona studiată se comportă în complexul revendicat ca ligand tridentat monodeprotonizat, unindu-se cu ionul central prin intermediul atomilor de azot piridinic și azometinic și a sulfului, formând două metalocicuri din cinci atomi. În spectrul compusului revendicat și celei mai apropiate soluții două $\nu(C=N)$ se deplasează cu 25-30 cm^{-1} spre frecvențe mai mici [în tiosemicarbazona inițială $\nu(C=N)$ se observă în domeniul 1625-1620 cm^{-1}]. În afară de aceasta, în domeniul 530-405 cm^{-1} , în spectrul complexului declarat, se observă o serie de benzi de absorbție noi, care conform datelor din literatură, se detectează ca $\nu(Cu-N)$ și $\nu(Cu-S)$.

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

Cercetarea activității antimicrobiene a nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru 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 *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305. Dizolvarea substanței studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismului, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură.

Rezultatele studiului activității antimicrobiene a nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru sunt prezentate în tabel, din care se observă, că compusul declarat posedă activitate bacteriostatică și bactericidă în diapazonul concentrațiilor 0,0038 – 0,0076 $\mu g/mL$. Pentru comparație, în aceleași tabel, sunt prezentate rezultatele cercetării activității antimicrobiene caracteristice ampicilinei și nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru – celei mai apropiate soluții. Datele experimentale obținute demonstrează, că nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru declarat în calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae*, manifestă o activitate bacteriostatică și bactericidă față de aceste bacterii de 66 – 132 ori mai înaltă decât activitatea medicamentului ampicilina și de 7,9 ori depășește activitatea antimicrobiană a celei mai apropiate soluții.

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 *Streptococcus pneumoniae* față de medicamentele tradiționale.

Tabel

Concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă bactericidă (CMB) a compusului declarat față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 în comparație cu ampicilina și cea mai apropiată soluție, ($\mu g/mL$)

№	Compusul	CMI	CMB
1	Compușii inițiali ^{a)}	>10 000,0	>10 000,0
2	Ampicilina	0,5	0,5
3	Nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru	0,03	0,06
4	Nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}cupru	0,0038	0,0076

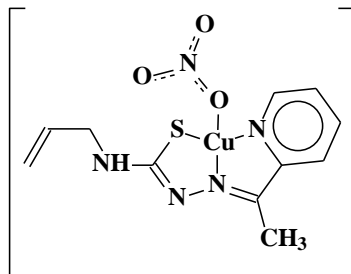
*Notă: a) Compușii inițiali – $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ și N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamida.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, М.: Новая волна, 2012, p. 772-773.
2. MD 4621 B1 2019.02.28

(57) Revendicări:

1. Nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamoimidazolato}cupru cu formula:



2. Compus, conform revendicării 1, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*.