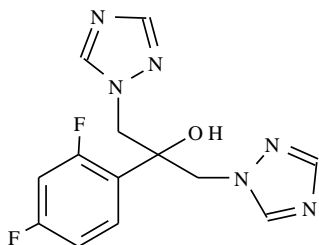


Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la sinteza unui compus coordinativ heterometalic al cuprului(II) și bismutului(III), biologic activ, din clasa poliaminopolicarboxilaților și tiosemicarbazonaților metalelor. Acest complex manifestă activitate antimicotică înaltă față de fungii din specia *Candida albicans* și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

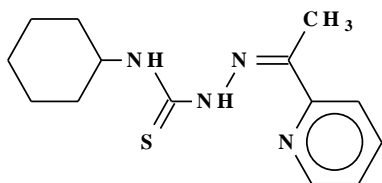
Candida albicans este o specie de fungi care provoacă probleme intestinale, alergii, disfuncții hormonale, afecțiuni cutanate, dureri articulare și musculare etc. De obicei, infecțiile provocate de acești fungi sunt eliminate de un tratament de scurtă durată cu medicamente antifungice.

Pentru terapia lor cel mai des se utilizează medicamentul fluconazol cu formula:



Acest compus din clasa azolilor inhibă creșterea și multiplicarea majorității micetelor levuriforme în diapazonul concentrațiilor 16 - 30 $\mu\text{g/mL}$, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicotică mai înaltă a preparatului față de fungii sus-numiți [1].

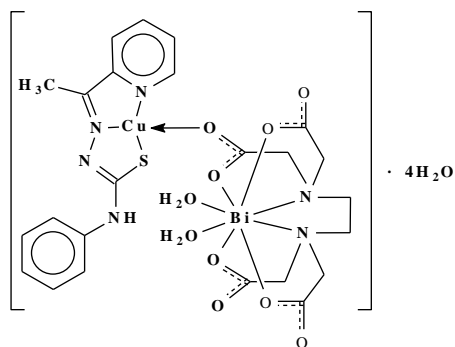
Dintre toți compușii chimici, care conțin în componența sa fragmentul tiosemicarbazidic și care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor din specia *Candida albicans*, cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoamidaei (N-ciclohexiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) (prototipul) [2] cu formula:



După activitatea antimicotică față de fungii din specia *Candida albicans* acest compus depășește de 22,3 ori caracteristicile respective ale fluconazolului, utilizat actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor. Dezavantajul N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoamidaei (N-ciclohexiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) constă în faptul, că ea nu posedă o activitate antimicotică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinarie.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai fungilor din specia *Candida albicans* cu activitate antimicotică înaltă.

Esența invenției constă în sinteza și utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Candida albicans* a $(\mu 2\text{-etilendiamin-N,N,N',N'}\text{-tetraacetato})\text{-}\{N\text{-fenil-N'}\text{-}[1\text{-}(\text{piridin-2-il})\text{etiliden}]\text{carbamohidrazontioatocupru(II)}\}\text{-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului}$ cu formula:

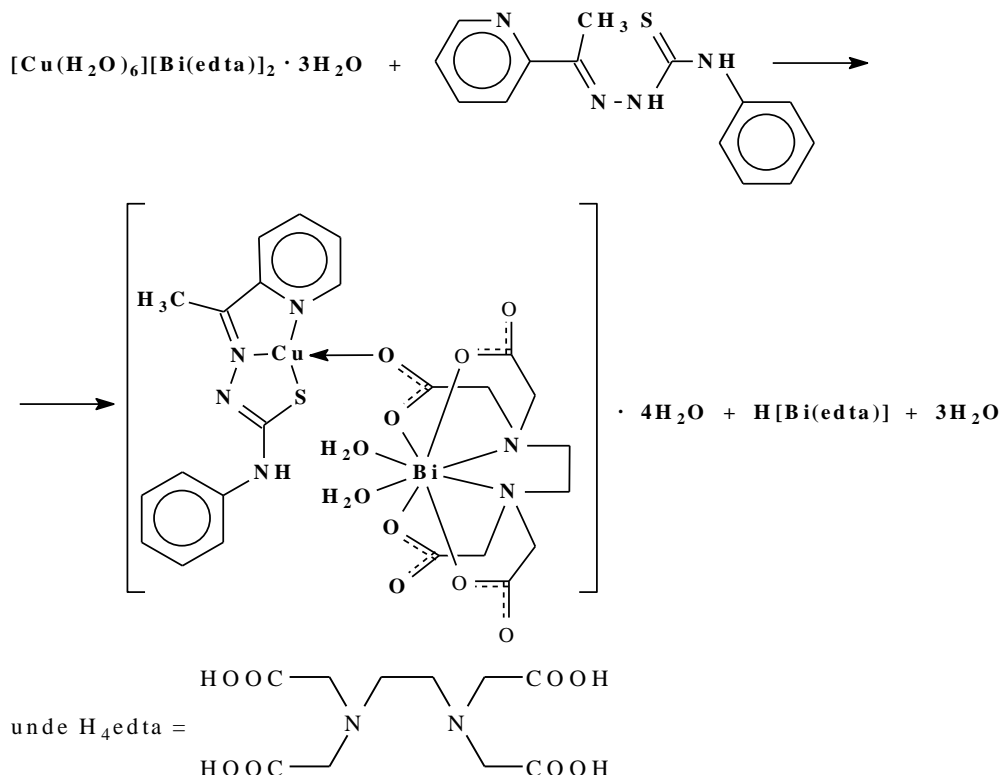


Complexul dat reprezintă un compus coordinativ heterometalic al cuprului(II) și bismutului(III); în care în calitate de liganzi organici servesc anioni de N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioat și etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetat, cel din urmă simultan îndeplinește și funcția de ligand-punte.

Rezultatul tehnic al invenției constă în propunerea unui compus coordinativ heterometalic, care manifestă activitate fungicidă față de fungii din specia *Candida albicans* de 31,9 ori mai înaltă decât fluconazolul și de 1,4 ori mai înaltă decât prototipul [2]. Proprietatea stabilită a $(\mu 2\text{-etilendiamin-N,N,N',N'}\text{-tetraacetato})\text{-}\{N\text{-fenil-N'}\text{-}[1\text{-}(\text{piridin-2-il})\text{etiliden}]\text{carbamohidrazontioatocupru(II)}\}\text{-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului}$ sus-numit este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Candida albicans*.

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

Complexul revendicat se obține la interacțiunea soluției apoase fierbinți (65-70°C) a trihidratului etilendiamintetraacetatobismutatului(III) de hexa(aqua)-cupru(II) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Bi}(\text{edta})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (H4edta – acidul etilendiamintetraacetic) [Sobanska S., Wignacourt J.-P., Conflant P., Drache M., Bulimestru I., Gulea A. A new CuBi_2O_4 precursor: synthesis, crystal structure and thermal behaviour of $\text{Cu}(\text{BiEDTA})_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Eur. J. Solid State Inorg. Chem., 1996, vol.33, nr.8, p.701-712] cu soluția metanolică, care conține N-fenil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoioamida (4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) [Haba P., Tamboura F.B., Sy A., Sarr M., Diallo B.A M., Thiam I.E., Gaye M., Retaillieu P. and Ellena J. Synthesis, structural study and X-ray structure determination of transition metal complexes of 4-phenyl-1-(1-(pyridin-2-yl)ethylidene)thiosemicarbazide. J. Appl. Chem., 2019, vol.12, nr. 8, p.1–11. doi: 10.9790/5736-1208010111 și Richardson D., S.; Kalinowski D. S., Richardson V., Sharpe P., Lovejoy D. B., Islam M., Bernhardt D. 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, p. 1459-1470], luate în raport molar 1:1. Reacția decurge conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date constă în substituirea din sfera internă a hexaaquacationului de cupru(II) a moleculelor de apă prin o moleculă tridentată monodeprotonată de N-fenil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoioamidă (4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) și formarea unei particule coordinativ nesaturate, care își mărește numărul de coordinare până la patru coordinând la atomul de oxigen al unei grupe carboxil din compoziția etilendiamintetraacetatobismutat(III)-anionului. Formarea complexelor polinucleare cu punți de fragment carboxilic a fost descris în literatură [Bulimestru I. Precursori și noi materiale în baza combinațiilor heteronucleare ale bismutului(III) cu unele elemente 3d. Teza de doctor în științe chimice, 2007, fig. 2.16, p. 52], iar structura lor cristalină a fost confirmată folosind analiza cu raze X pe monocristal. Acest anion apare în amestecul reactant în rezultatul scindării anionului polinuclear de bismut(III) din compoziția precursorului. Numărul de coordinare al bismutului este egal cu opt datorită coordinării și a două molecule de apă.

Exemplu de obținere a $(\mu_2\text{-etilendiamin-N,N,N',N'}\text{-tetraacetato})\text{-}\{[\text{N-fenil-N'}\text{-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}]\text{-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului}$. În 20 mL apă distilată au fost adăugate 0,122 g (0,1 mmol) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Bi}(\text{edta})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ la agitare și încălzire permanentă până la dizolvare completă. La soluția obținută au fost adăugate 0,026 g (0,1 mmol) N-fenil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoioamida (4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) dizolvată în 10 mL alcool metilic. Soluția obținută a fost lăsată pentru cristalizare la temperatura camerei. Peste 24 ore în amestecul reactant s-au format cristale prismatice de culoare verde, care au fost separate din soluție prin filtrare și spălate cu puțină apă distilată și uscate la temperatura camerei. Masa - 0,066 g, randamentul - 79%.

S-a determinat, %: C - 31,03; H - 3,75; Bi - 22,01; Cu - 6,52; N - 8,82; S - 3,33.

Pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{BiCuN}_6\text{O}_{14}\text{S}$ s-a calculat, %: C - 30,73; H - 3,98; Bi - 22,30; Cu - 6,78; N - 8,96; S - 3,42.

Pentru Bazele Schiff cele mai informative în spectrele IR sunt oscilațiile de valență $\nu(\text{C}=\text{N})$ și $\nu(\text{C}=\text{S})$ sau $\nu(\text{C}-\text{S})$, ultimele permit și identificarea formelor tionice sau tiolice ale tiosemicarbazonelor, făcând posibilă deosebirea

dintre liganzii nedeprotonați și deprotonați. Din cauza deprotonării 4-feniltiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei, semnalul oscilațiilor $\nu(\text{C}=\text{S})$ prezent în spectrul tiosemicarbazonei necoordinate la 1185 cm^{-1} dispare din spectrul compusului heterometalic (figură – spectrul IR a complexului revendicat), în schimb apare semnalul $\nu(\text{C}-\text{S})$ la 749 cm^{-1} , datorat formei tiolice a ligandului coordinat prin atomul de sulf. Semnalul condiționat de oscilațiile de valență $\nu(\text{C}=\text{N})$, prezent la 1581 cm^{-1} în tiosemicarbazona liberă și care se deplasează spre numere de undă mai mari în rezultatul coordinării, nu a putut fi identificat în spectrul IR al complexului declarat. Cauza este mascarea acestuia de către semnalul foarte lat și puternic corespunzător vibrațiilor $\nu(\text{C}=\text{O})$ din grupările carboxilat ale liganzilor edta⁴⁻, cu maximul de absorbție la 1579 cm^{-1} , iar componenta $\nu(\text{C}=\text{O})$ apare la 1367 cm^{-1} . Diferența $\Delta\nu(\text{C}=\text{O})-\nu(\text{C}=\text{O})$ egală cu 212 cm^{-1} , care este mai mare de 200 cm^{-1} , face posibilă presupunerea despre coordinarea preponderent monodentată a grupelor carboxilat ale ligandului edta⁴⁻ la ionii de metale în complex. Maximurile benzilor de absorbție $\nu(\text{C}-\text{C})$ ale fragmentelor acetat și etilenic din liganzii edta⁴⁻ apar la 919 și 856 cm^{-1} , respectiv, valori obișnuite pentru complecși atât homo- cât și heterometalici ai $\text{Cu}(\text{II})$ și $\text{Bi}(\text{III})$ cu liganzi aminopolicarboxilat. Prezența unei legături coordinative între fragmentul cationic $\{\text{Cu}(\text{4Ph-AcPyts})\}^+$ (4Ph-AcPyts – 4-feniltiosemicarbazona 2- acetilpiridinei) și cel anionic $\{\text{Bi}(\mu\text{-edta})\}^-$ prin intermediul unui atom de oxigen carboxilat a fost presupusă în baza unei structuri similare ($\{\text{Cu}(\text{Hssa})(\text{H}_2\text{O})\text{Bi}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})\} \cdot 3,88\text{H}_2\text{O}$)₂ din sursa: Bulimustru I. Precursori și noi materiale în baza combinațiilor heteronucleare ale bismutului(III) cu unele elemente 3d. Teza de doctor în științe chimice, 2007, p. 53, unde Hssa- este monoanionul semicarbazonei aldehidei salicilice.

Exemplu al utilizării (μ 2-etilendiamin- N,N,N',N' -tetraacetato)-{ N -fenil- N^{\prime} -[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Candida albicans*.

Proprietățile antimicotice ale compusului revendicat au fost cercetate in vitro pe tulpina de laborator *Candida albicans* (analogic metodicii descrise în brevetul MD 4675 B1 2020.02.29. 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 $0,5 \text{ McFarland}$ (cca. $2-5 \times 10^6 \text{ UFC/mL}$), după care se efectua o a doua diluție cu apă distilată sterilă de 1:10, obținându-se inoculul final. Rezultatul final se interpreta 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).

Datele experimentale obținute, privind studierea proprietăților antimicotice ale (μ 2-etilendiamin- N,N,N',N' -tetraacetato)-{ N -fenil- N^{\prime} -[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului sunt prezentate în tabel, care demonstrează, că acest compus manifestă activitate fungiostatică față de fungii din specia *Candida albicans* de 31,9 ori mai înaltă decât fluconazolul, utilizat în medicină pentru profilaxia și tratarea micozelor și de 1,4 ori mai înaltă decât prototipul [2].

Proprietățile depistate ale (μ 2-etilendiamin- N,N,N',N' -tetraacetato)-{ N -fenil- N^{\prime} -[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului prezintă interes pentru practica medicală și veterinară din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicotice.

Tabel

Activitatea fungiostatică ($\mu\text{g/mL}$) a compusului revendicat față de *Candida albicans* în comparație cu fluconazolul și prototipul

Compusul	Concentrația minimă de inhibare
Fluconazol	15,62
N -ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotioamida (prototipul)	0,7
(μ 2-etilendiamin- N,N,N',N' -tetraacetato)-{ N -fenil- N^{\prime} -[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat (compusul revendicat)	0,49