



MD 4880 B1 2023.12.31

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4880** (13) **B1**  
(51) Int.Cl.: C07F 1/08 (2006.01)  
C07F 9/94 (2006.01)  
C07C 337/08 (2006.01)  
C07C 229/76 (2006.01)  
A61K 31/30 (2006.01)  
A61K 31/29 (2006.01)  
A61K 31/175 (2006.01)  
A61P 31/10 (2006.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE

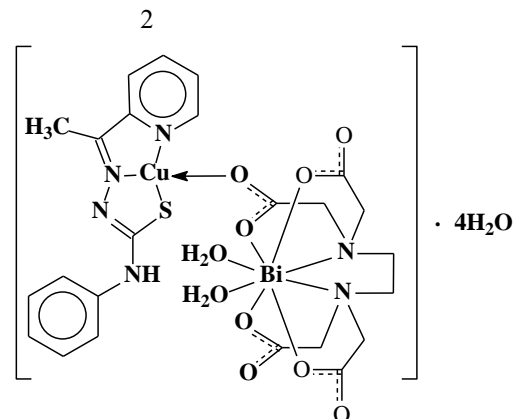
În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2022 0022 (22) Data depozit: 2022.04.21 (41) Data publicării cererii: 2023.10.31, BOPI nr. 10/2023	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.12.31, BOPI nr. 12/2023
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: BULIMESTRU Ion, MD; NEGUȚA Elena, MD; NEGUȚA Andrei, MD; BĂLAN Greta, MD; LOZAN-TÎRȘU Carolina, MD; ȚAPCOV Victor, MD; GULEA Aurelian, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) ( $\mu_2$ -Etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamoimidazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat, care manifestă activitate antimicotică față de *Candida albicans*

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la un compus coordinativ heterometalic al cuprului(II) și bismutului(III) biologic activ din clasa poliaminopolicarboxilaților și tiosemicarbazonaților metalelor, care manifestă activitate antimicotică înaltă față de *Candida albicans* și poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamoimidazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat cu formula:



Compusul coordinativ menționat manifestă activitate fungicidă față de *Candida albicans*.

Revendicări: 2

Figuri: 1

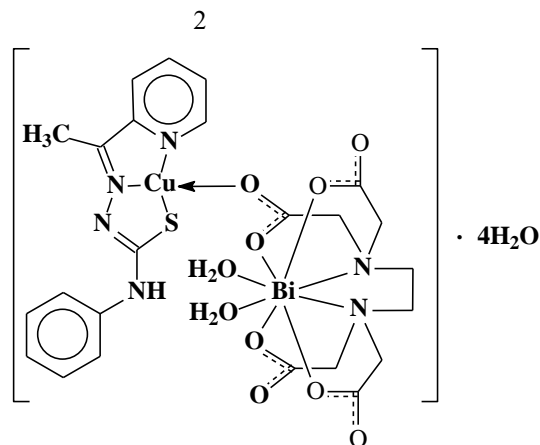
MD 4880 B1 2023.12.31

**(54) ( $\mu_2$ -Ethylenediamine-N,N,N',N'-tetraacetate)-{N-phenyl-N'-[1-(pyridine-2-yl)ethylidene]carbamohydrazone}thioatocopper(II)}-di(aqua)bismuth(III) tetrahydrate, exhibiting antifungal activity against *Candida albicans***

**(57) Abstract:**

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to a biologically active heterometallic coordination compound of copper(II) and bismuth(III) of the class of metal polyaminopolycarboxylates and thiosemicarbazones, which exhibits high antifungal activity against *Candida albicans* and can be used in medicine and veterinary medicine for prevention and treatment of mycoses.

According to the invention, claimed is the coordination compound ( $\mu_2$ -ethylenediamine-N,N,N',N'-tetraacetate)-{N-phenyl-N'-[1-(pyridine-2-yl)ethylidene]carbamohydrazone}thioatocopper(II)}-di(aqua)bismuth(III) tetrahydrate of the formula:



Said coordination compound exhibits fungistatic activity against *Candida albicans*.

Claims: 2

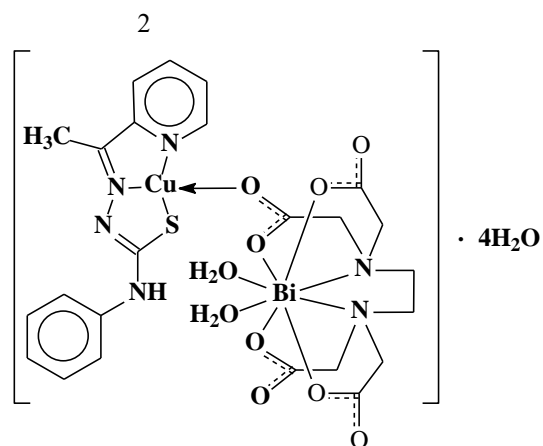
Fig.: 1

**(54) ( $\mu_2$ -Этилендиамин-N,N,N',N'-тетраацетато)-{N-фенил-N'-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]карбамогидразонтиоатомедь(II)}-ди(аква)висмут(III) тетрагидрат, проявляющий противогрибковую активность в отношении *Candida albicans***

**(57) Реферат:**

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к биологически активному гетерометаллическому координационному соединению меди(II) и висмута(III) класса полиаминополикарбоксилатов и тиосемикарбазонатов металлов, проявляющему высокую противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* и может найти применение в медицине и ветеринарии для профилактики и лечения микозов.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение ( $\mu_2$ -этилендиамин-N,N,N',N'-тетраацетато)-{N-фенил-N'-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]карбамогидразонтиоатомедь(II)}-ди(аква)висмут(III) тетрагидрат формулы:



Упомянутое координационное соединение проявляет фунгистатическую активность в отношении *Candida albicans*.

П. формулы: 2

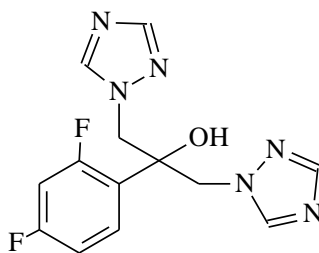
Фиг.: 1

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

5 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 antimicrobică înaltă față de fungii din specia *Candida albicans* și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

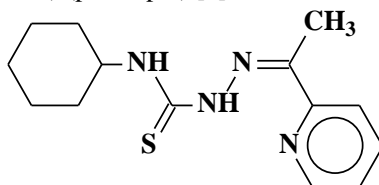
10 *Candida albicans* este o specie de fungi care provoacă probleme intestinale, alergii, disfuncții hormonale, afecțiuni cutanate, dureri articulare și musculare etc. De obicei, infecțiile provocate de acești fungi sunt eliminate de un tratament de scurtă durată cu medicamente antifungice.

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



15 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 antimicrobică mai înaltă a preparatului față de fungii sus-numiți [1].

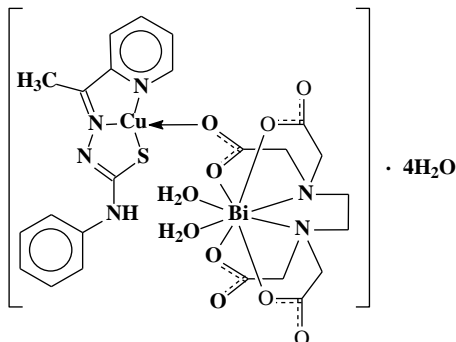
20 Dintre toți compușii chimici, care conțin în componența sa fragmentul tiosemicarbazidic și care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor din specia *Candida albicans*, cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoamidei (N-ciclohexiltiosemicarbazona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



25 După activitatea antimicrobică 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]-hidrazincarbotoamidei (N-ciclohexiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) constă în faptul, că ea nu posedă o activitate antimicrobică 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 antimicrobică înaltă.

30 Esența invenției constă în sinteza și utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Candida albicans* a  $(\mu_2\text{-etilendiamin-N,N,N',N'}$ -tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamoilhidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidratului cu formula:



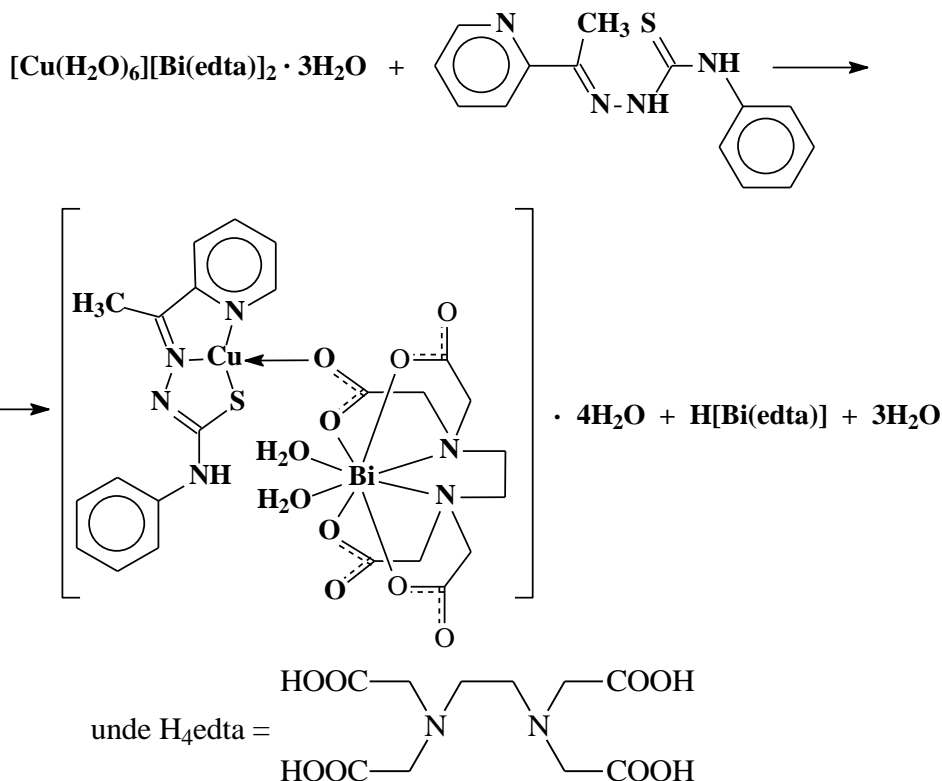
Complexul dat reprezintă un compus coordinativ heterometalic al cuprului(II) și bismutului(III); în care în calitate de liganzi organici servesc anioni de N-fenil-N'-[1-(piridin-2-

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 fungiostatică 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 ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-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 combinare 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)  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Bi}(\text{edta})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{H}_4\text{edta}$  – acidul etilendiamintetraacetic) [Sobanska S., Wignacourt J.-P., Conflant P., Drache M., Bulimestru I., Gulea A. A new  $\text{CuBi}_2\text{O}_4$  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]-hidrazincarbotoamida (4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) [Haba P., Tamboura F.B., Sy A., Sarr M., Diallo B.A.M., Thiam I.E., Gaye M., Retailleau 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 substituția 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]-hidrazincarbotoamidă (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 polinucleari cu punții 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 ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatocupru(II)}-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]-hidrazincarbonat (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  $1185\text{ cm}^{-1}$  dispare din spectrul compusului heterometalic (figură - spectrul IR a complexului revendicat), în schimb apare semnalul  $\nu(\text{C}-\text{S})$  la  $749\text{ cm}^{-1}$ , datorat formei tiolice a ligandului coordinat prin atomul de sulf. Semnalul condiționat de oscilațiile de valență  $\nu(\text{C}=\text{N})$ , prezent la  $1581\text{ cm}^{-1}$  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  $\nu_{\text{as}}(\text{COO})$  din grupările carboxilat ale liganzilor  $\text{edta}^{4-}$ , cu maximul de absorbție la  $1579\text{ cm}^{-1}$ , iar componenta  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO})$  apare la  $1367\text{ cm}^{-1}$ . Diferența  $\Delta\nu_{\text{as}}(\text{COO})-\nu_{\text{sim}}(\text{COO})$  egală cu  $212\text{ cm}^{-1}$ , care este mai mare de  $200\text{ cm}^{-1}$ , face posibilă presupunerea despre coordonarea preponderent monodentată a grupelor carboxilat ale ligandului  $\text{edta}^{4-}$  la ionii de metale în complex. Maximurile benzilor de absorbție  $\nu(\text{C}-\text{C})$  ale fragmentelor acetat și etilenic din liganzii  $\text{edta}^{4-}$  apar la  $919$  și  $856\text{ cm}^{-1}$ , respectiv, valori obișnuite pentru complecși atât homo- cât și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu liganzi aminopolicarboxilat. Prezența unei legături coordinative între fragmentul cationic  $\{\text{Cu}(\text{4Ph-AcPytsc})\}^+$  (4Ph-AcPytsc - 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<sup>-</sup> este monoanionul semicarbazonei aldehidei salicilice.

**Exemplu al utilizării ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[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 McFarland (cca.  $2 \cdot 5 \times 10^6$  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 spectofotometru, 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 ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[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 ( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[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.

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

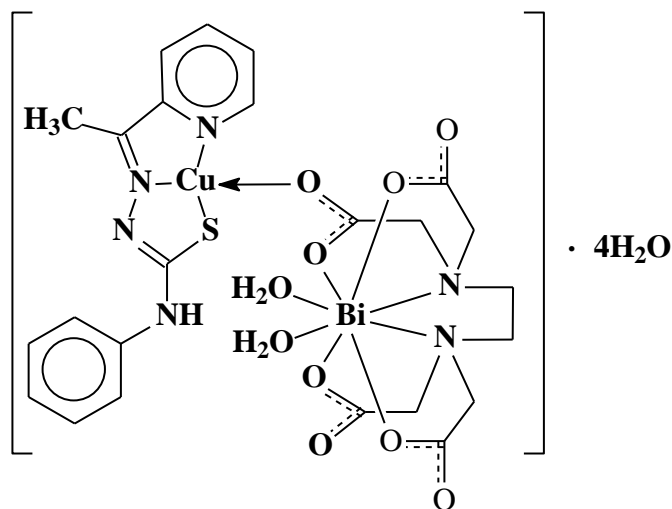
Compusul	Concentrația minimă de inhibare
Fluconazol	15,62
N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotoamida (prototipul)	0,7
( $\mu_2$ -etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamoahidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat (compusul revendicat)	0,49

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Anca-Maria Borcea et al. A novel series of acylhydrazones as potential anti-*Candida* agents: Design, synthesis, biological evaluation and in silico studies. *Molecules*, 2019, vol. 24 (1), p. 184.
2. MD 4648 B1 2019.09.30

**(57) Revendicări:**

1. ( $\mu_2$ -Etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetato)-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamoahidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat cu formula:



2. Compus coordinativ, conform revendicării 1, care manifestă activitate antimicrobică față de *Candida albicans*.

# MD 4880 B1 2023.12.31

7

