



MD 4883 B1 2024.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4883** (13) **B1**
(51) Int.Cl: C07D 213/48 (2006.01)
C07F 15/04 (2006.01)
C07C 337/08 (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 2022 0028 (22) Data depozit: 2022.05.26 (41) Data publicării cererii: 2023.11.30, BOPI nr. 11/2023	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.01.31, BOPI nr. 1/2024
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; RUSNAC Roman, MD; ȚAPCOV Victor, MD; BĂLAN Greta, MD; LOZAN-TÎRȘU Carolina, MD; CEBAN Emil, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

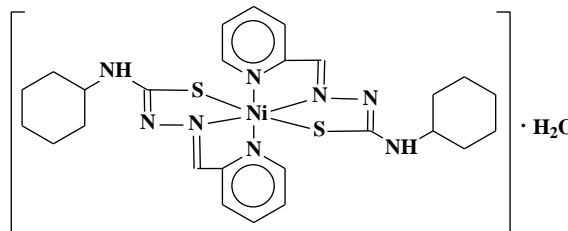
(54) Hidratul de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamoimidrazontioato}nichel, care manifestă activitate bacteriostatică față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*

(57) Rezumat:

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

Esența invenției constă în sinteza și utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* a hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-

il)metiliden]carbamoimidrazontioato}nichel cu formula:



Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4883 B1 2024.01.31

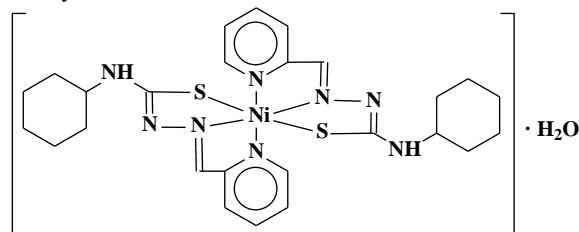
(54) Bis{N-cyclohexyl-N'-[(pyridin-2-yl)methylidene]carbamohydrazone}nickel hydrate, exhibiting bacteriostatic activity against *Streptococcus pneumoniae* bacteria species

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to a biologically active coordination compound of nickel of the class of transition metal thiosemicarbazones. This complex exhibits high bacteriostatic activity against *Streptococcus pneumoniae* bacteria species and due to these properties can be used in medicine and veterinary medicine as an antimicrobial drug.

Summary of the invention consists in the synthesis and use as a *Streptococcus pneumoniae* bacteria species proliferation inhibitor of bis{N-cyclohexyl-N'-[(pyridin-2-

yl)methylidene]carbamohydrazone}nickel hydrate with the formula:



Claims: 2

Fig.: 1

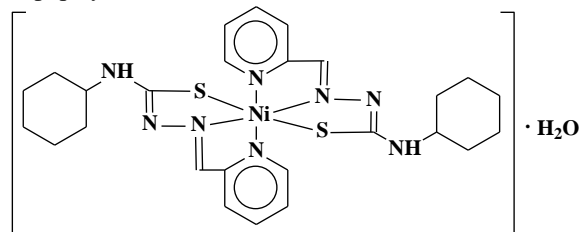
(54) Гидрат бис{N-циклогексил-N'-[(пиридин-2-ил)метилен]карбамогидразонтиоато}никель, проявляющий бактериостатическую активность в отношении бактерий вида *Streptococcus pneumoniae*

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к биологически активному координационному соединению никеля класса тиосемикарбазонатов переходных металлов. Этот комплекс проявляет высокую бактериостатическую активность в отношении бактерий вида *Streptococcus pneumoniae* и благодаря этим свойствам может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробного препарата.

Сущность изобретения заключается в синтезе и применении в качестве ингибитора размножения бактерий вида *Streptococcus pneumoniae* гидрата бис{N-

циклогексил-N'-[(пиридин-2-ил)метилен]карбамогидразонтиоато} никеля формулы:



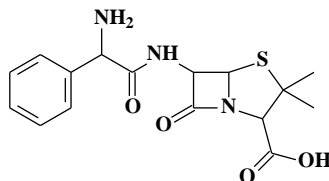
П. формулы: 2

Фиг.: 1

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

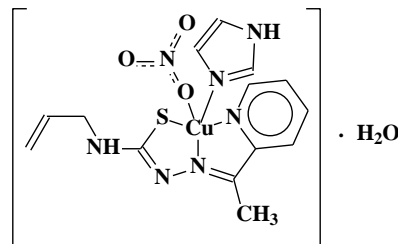
Invenția se referă la chimie și medicină și anume, la un compus coordinativ de nichel biologic activ, din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acest complex manifestă activitate bacteriostatică înaltă față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* și datorită acestor proprietăți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

Streptococcus pneumoniae sunt bacterii gram-pozitive, care provoacă meningită, otită, sinuzită, pneumonii, endocardită, artrită septică, peritonită primară etc. În practica medicală și veterinară pentru tratarea și profilaxia bolilor provocate de microorganismul sus-numit se utilizează medicamentul Ampicilina [1] - antibiotic semisintetic cu formula:



Acest medicament inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* la concentrația 0,5 μg/mL, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicrobiană mai înaltă a preparatului față de acest microorganism.

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 hidratului de nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru [2] (analogul structural) cu formula:

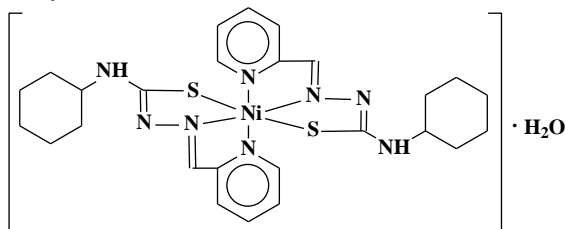


Acest compus după activitatea bacteriostatică față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* depășește de 16,7 ori caracteristicile respective ale Ampicilinei, utilizate actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia bolilor provocate de bacteria dată.

Dezavantajul hidratului de nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru constă în faptul, că el nu posedă o activitate antimicrobiană 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.

Esența invenției constă în sinteza și utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae* a hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel cu formula:



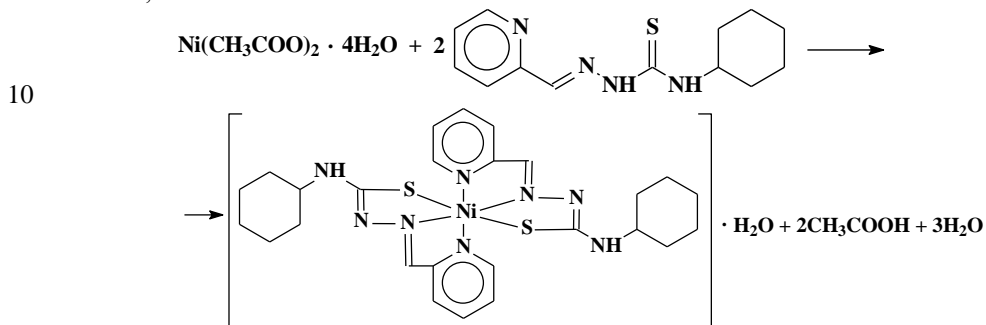
Structura cristalină a complexului dat, proprietățile lui și metoda de sinteză nu sunt descrise în literatura de specialitate.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea compusului coordinativ, care manifestă activitate bacteriostatică față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae*, ce depășește de 261,8 ori

activitatea medicamentului Ampicilina utilizată în medicină și de 15,7 ori depășește activitatea antimicrobiană a analogului său structural.

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

5 Hidratul de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți ale tetrahidratului diacetatului de nichel(II) și N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)-metiliden]carbamohidrazontioatului [N(4)-ciclohexiltiosemicarbazonei 2-formilpiridinei], luate în raport molar 1:2. Reacția decurge în 3 ore la reflux, conform următoarei scheme de sinteză:



Mecanismul reacției date constă în deprotonizarea grupei tiolice ale tiosemicarbazonei în prezența acetat-ionului, care joacă rolul de acceptor de protoni. Astfel fiind obținuți, doi anioni de N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)-metiliden]carbamohidrazontioatului, coordonează la ionul de nichel(2+) ca liganzi N,N,S-tridentați monodeprotonați, formând complex de tip neelectrolit cu geometria atomului central octaedrică.

15 Procedeu de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 76% față de cel teoretic calculat. N-Ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioatul (N(4)-ciclohexiltiosemicarbazona 2-formilpiridinei) se obține după metoda descrisă în literatură (West D. X., Billeh I. S., Jasinski J. P., Jasinski J. M., Butcher R. J. Complexes of N(4)-cyclohexylsemicarbazones, N(4)-cyclohexylthiosemicarbazones derived 2-formyl-, 2-acetyl- and 2-benzoylpyridine. Transition Met. Chem., 1998, vol. 23, p. 209-214). Complexul sintetizat are culoarea verde-închisă, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, solubil în N,N-dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

25 **Exemplu de obținere a hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)-metiliden]carbamohidrazontioato}nichel.**

Se amestecă 0,2488 g (1 mmol) de tetrahidrat al diacetatului de nichel(2+) cu 10 mL de soluție etanolică, care conține 0,5247 g (2 mmol) N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioat (N(4)-ciclohexiltiosemicarbazona 2-formilpiridinei). Amestecul obținut se omogenizează și se refluxează 3 ore. La răcire din soluție se depun cristale mărunte de culoare verde-închisă, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer. Se obține 0,4552 g ($\eta = 76\%$) de compus declarat. Solubilitatea complexului în etanol alcătuiește 10 mg în 2 mL; în DMSO/DMF = 10 mg – 1 mL (25°C).

35 Analiza elementală (%) pentru $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{NiOS}_2$ (calculat/determinat): C -52,09 / 52,10%; H - 6,05 / 6,09%; N -18,69 / 18,71%; Ni -9,79 / 9,81%; S -10,70 / 10,72%. Conductivitatea specifică (σ în EtOH-H₂O): 6,4 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. În baza analizei conductivității specifice putem concluziona că compusul obținut este neelectrolit.

40 FT-IR, (ν_{max} , cm^{-1}): 3203, m, lat, (N⁴-H); 3054, s, (C-H, Py); 2922, m, as, (C-H, din CH₂ al Cy); 2849, m, si, (C-H, din CH₂ al Cy); 1597, s, (C=N, azometin); 1492, m, lat, (δ , N-H); 1469, s; 1448, s; 1395, m, lat; 1366, s; 1336, s; 1270, s; 1250, s; 1237, s; 1211, m; 1186, s; 1147, m; 1129, m; 1104, s; 1083, m, (N-N); 973, s; 882, p; 768, m; 744, m; 675, m; 634, m; 568, s; 519, s; 457, s; 424.

45 La evaporarea filtratului la temperatura camerei au fost obținute monocristale ale hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel, 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_{α} . 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 este $C_{26}H_{36}N_8NiOS_2$, grupa spațială $P 2_1/n$, parametrii celei elementare, [Å]: $a = 12,8803(10)$; $b = 12,7180(14)$, $c = 46,701(6)$; $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 96,881(9)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$; volumul celei 7595,03 Å³.

5 A fost stabilit (figură – Structura cristalină a compusului revendicat cu notarea parțială a atomilor, atomii de hidrogen au fost omiși pentru claritate), că compusul investigat reprezintă un monomer, în care poliedrul coordinativ al generatorului de complex reprezintă o bipiramidă tetragonală distorsionată. În sfera internă a atomului central se află două molecule de tiosemicarbazone tridentate, care coordonează la atomul de nichel prin atomii de azot piridinici [$d(Ni-N) = 2,053$ și $2,117$ Å],
10 azometinici [$d(Ni-N) = 1,998$ și $2,003$ Å] și atomii de sulf în forma tiolică deprotonată [$d(Ni-S) = 2,403$ și $2,407$ Å], formând câte două metalocicluri din cinci atomi. Legătura dublă în molecula de izotiosemicarbazonă coordonată este localizată între atomii de carbon și azot N^4 [$d(C-N^4) = 1,304$ și $1,370$ Å, iar $d(C-N^2) = 1,506$ și $1,374$ Å]. Alte distanțe interatomice și unghiuri de valență sunt standarde pentru compușii din această clasă. În sfera externă a complexului se află o moleculă de apă de
15 hidratare. Structura cristalului este stabilizată de numeroasele legături de hidrogen cu participarea acestei molecule de apă.

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

20 Cercetarea activității antimicrobiene a hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel declarat 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 N,N-dimetilformamidă, cultivarea microorganismului, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) a fost efectuată după metoda standard
25 descrisă în literatură.

Rezultatele studiului activității antimicrobiene a hidratului de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel declarat sunt prezentate în tabel, din care se observă, că compusul declarat posedă activitate bacteriostatică la concentrația 0,00191 μg/mL. Pentru comparație, în același tabel, sunt prezentate rezultatele cercetării activității antimicrobiene caracteristice Ampicilinei și
30 nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru – analogului structural al compusului declarat. Datele experimentale obținute demonstrează, că hidratul de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel în calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Streptococcus pneumoniae*, manifestă o activitate bacteriostatică față de aceste bacterii, ce depășește de 261,8 ori activitatea medicamentului Ampicilina utilizată în medicină și
35 de 15,7 ori depășește activitatea antimicrobiană a analogului său structural [2].

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

40 Concentrația minimă de inhibare (CMI) a compusului declarat față de bacteriile din specia *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 în comparație cu Ampicilina și analogul structural, μg/mL

Nº	Compusul	CMI
1	Compușii inițiali ^{a)}	>10 000,0
2	Ampicilina	0,5
3	Hidratul de nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)-etiliden]carbamohidrazontioato}imidazolcupru (analogul structural)	0,03
4	Hidratul de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel	0,00191

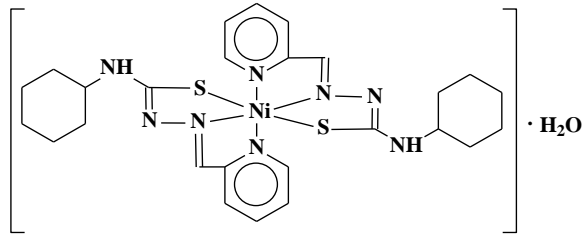
*Notă: a) Compușii inițiali – $Ni(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ și N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)-metiliden]carbamohidrazontioat [N(4)-ciclohexiltiosemicarbazona 2-formilpiridinei].

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

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

(57) Revendicări:

1. Hidratul de bis{N-ciclohexil-N'-[(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazontioato}nichel cu formula:



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

