



MD 4886 B1 2024.02.29

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4886** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07F 1/08* (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/155 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

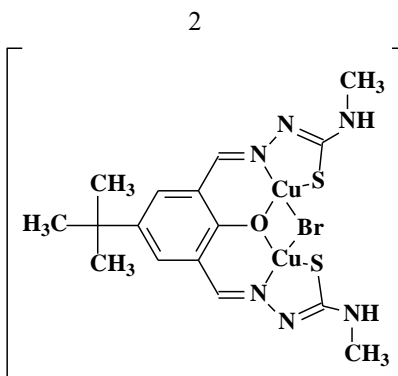
În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2022 0041 (22) Data depozit: 2022.09.14	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.02.29, BOPI nr. 2/2024
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; CEBOTARI Diana, MD; FLOQUET Sébastien, FR; ȚAPCOV Victor, MD; BĂLAN Greta, MD; LOZAN-TÎRȘU Carolina, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) $(\mu_2\text{-Bromo})\text{-}\{\mu_2\text{-}2,2'\text{-}[(5\text{-}terf\text{-}butil\text{-}2\text{-}oxido\text{-}1,3\text{-}fenilen)\text{dimetaniliden}]\text{bis}(\text{N}\text{-metilhidrazin}\text{-}1\text{-}carbotioamido)\}\text{-di-cupru(II)}$, care manifestă activitate antimicotică față de *Candida albicans*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la un compus coordinativ binuclear de cupru, biologic activ, din clasa bis-tiosemicarbazonaților metalelor, care poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

Conform invenției, se revendică compusul coordinativ $(\mu_2\text{-bromo})\text{-}\{\mu_2\text{-}2,2'\text{-}[(5\text{-}terf\text{-}butil\text{-}2\text{-}oxido\text{-}1,3\text{-}fenilen)\text{dimetaniliden}]\text{bis}(\text{N}\text{-metilhidrazin}\text{-}1\text{-}carbotioamido)\}\text{-di-cupru(II)}$ cu formula:



Compusul coordinativ menționat manifestă activitate antimicotică înaltă față de fungii din specia *Candida albicans*.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4886 B1 2024.02.29

(54) (μ_2 -Bromo)- $\{\mu_2$ -2,2'-[(5-*tert*-butyl-2-oxido-1,3-phenylene)dimethanylidene]bis(N-methylhydrazine-1-carbothioamido)}-di-copper(II), exhibiting antifungal activity against *Candida albicans*

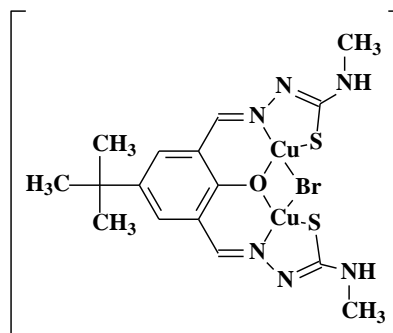
(57) Abstract:

1

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to a biologically active binuclear coordination compound of copper, of the class of metal bis-thiosemicarbazones, which can be used in medicine and veterinary medicine for the prevention and treatment of mycoses.

According to the invention, claimed is the coordination compound (μ_2 -bromo)- $\{\mu_2$ -2,2'-[(5-*tert*-butyl-2-oxido-1,3-phenylene)dimethanylidene]bis(N-methylhydrazine-1-carbothioamido)}-di-copper(II) of the formula:

2



The said coordination compound exhibits high antifungal activity against fungi of the species *Candida albicans*.

Claims: 2

Fig.: 1

(54) (μ_2 -Бром)- $\{\mu_2$ -2,2'-[(5-*трет*-бутил-2-оксидо-1,3-фенилен)диметанилиден]бис(N-метилгидразин-1-карботиоамидо)}-ди-медь(II), проявляющий противогрибковую активность в отношении *Candida albicans*

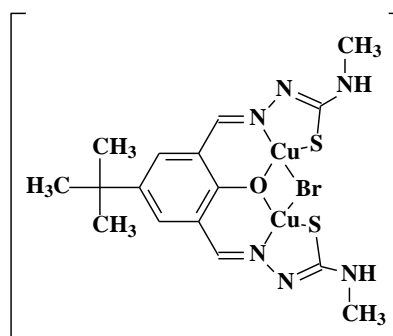
(57) Реферат:

1

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к биологически активному биядерному координационному соединению меди, класса бистииосемикарбазонатов металлов, которое может найти применение в медицине и ветеринарии для профилактики и лечения микозов.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение (μ_2 -бром)- $\{\mu_2$ -2,2'-[(5-*трет*-бутил-2-оксидо-1,3-фенилен)диметанилиден]бис(N-метилгидразин-1-карботиоамидо)}-ди-медь(II) формулы:

2



Упомянутое координационное соединение проявляет высокую противогрибковую активность в отношении грибов вида *Candida albicans*.

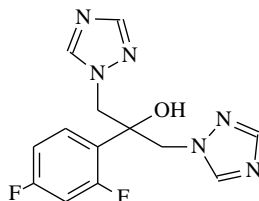
П. формулы: 2

Фиг.: 1

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

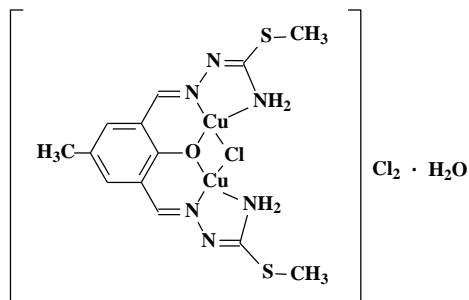
5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la sinteza unui compus coordinativ binuclear de cupru, biologic activ, din clasa bis-tiosemicarbazonaților metalelor. Acest complex manifestă activitate antimicotică înaltă față de fungii din specia *Candida albicans* și datorită acestei proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinărie la profilaxia și tratarea micozelor.

Dintre toți fungii patogeni pentru om, specia levuriformă *Candida albicans* provoacă cele mai multe infecții intestinale, alergii, disfuncții hormonale, afecțiuni cutanate, dureri articulare și musculare etc., care necesită tratament îndelungat și profilaxie secundară. Pentru terapia acestor infecții 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 antimicotică mai înaltă a preparatului față de fungii sus-numiți [1].

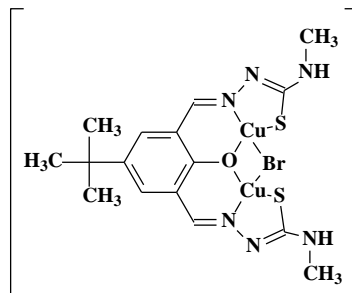
Dintre toți compușii coordinativi ai metalelor 3d, care conțin în componența sa liganzii din clasa bis-tiosemicarbazonelor și care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor din specia *Candida albicans*, cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul compusului hidrosolubil 2,6-bis(S-metilizotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru-hidrat – [conform nomenclaturii SI - { μ -cloro-[μ -2,6-bis(S-metilizotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato- N^1,N^4,N^1,N^4 , μ -O]-dicupru(II)-dicloro-hidrat] (cea mai apropiată soluție) [2] cu formula:



25 După activitatea antimicotică față de fungii din specia *Candida albicans* acest compus depășește de 1,95-3,9 ori caracteristicile respective ale fluconazolului, utilizat actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor. Dezavantajul { μ -cloro-[μ -2,6-bis(S-metilizotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato- N^1,N^4,N^1,N^4 , μ -O]-dicupru(II)-dicloro-hidrat} constă în faptul, că el nu posedă o activitate antimicotică suficient de înaltă și din această cauză nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinărie.

30 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 (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) cu formula:

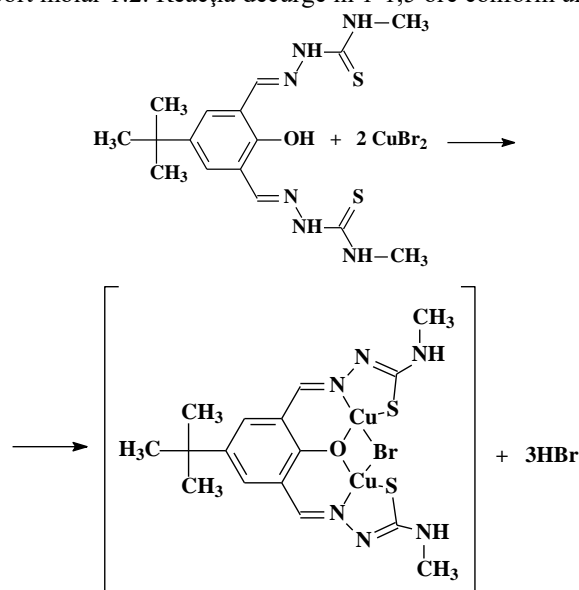


Complexul dat reprezintă un compus coordinativ binuclear al cuprului(II) în care în calitate de ligand organic servește 2,2'-[(5-(*tert*-butil)-2-hidroxi-1,3-fenilen)bis(metaniliden)]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamida), care în compusul complex îndeplinește și funcția de ligand-punte.

5 Rezultatul tehnic al invenției constă în propunerea unui compus coordinativ binuclear, care manifestă activitate antimicotică față de fungii din specia *Candida albicans* de 3905-1952,5 ori mai înaltă decât fluconazolul și de 1000 ori mai înaltă decât cea mai apropiată soluție. Proprietatea stabilită a (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-*tert*-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Candida albicans*.

10 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 etanolice fierbinți (65-70°C) a 2,2'-[(5-*tert*-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamidei) [bis-(4-metil-3-tiosemicarbazona) de 4-*tert*-butil-2,6-diformilfenolului] cu soluția etanolică, care conține bromură de cupru(II) CuBr_2 , luate în raport molar 1:2. Reacția decurge în 1-1,5 ore conform următoarei scheme:



20 Mecanismul prezentei reacții este legat de faptul, că în timpul sintezei, în amestecul reactant, are loc adiția la doi ioni de cupru(2+) a unei molecule de 2,2'-[(5-*tert*-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamidei) [bis-(4-metil-3-tiosemicarbazona) de 4-*tert*-butil-2,6-diformilfenolului], care joacă rolul de ligand-S,N,O,N,S pentadentat-punte dublu deprotonat. Al patrulea loc în sfera internă a atomilor centrali de cupru îl ocupă atomul de brom, care de asemenea joacă rolul de ligand-punte. În rezultatul acestor procese are loc formarea complexului binuclear de cupru(II) revendicat.

25 Invenția se explică cu ajutorul figurii, care reprezintă: Spectrul de masă a $[\text{Cu}_2(\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{OS}_2)\text{Br} + \text{H}]^+$.

Exemplu de obținere a (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-*tert*-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II).

30 La soluția ce conține 0,1 g (0,178 mmol) de bis-(4-metil-3-tiosemicarbazona) de 4-*tert*-butil-2,6-diformilfenol în 30 mL de etanol se adaugă 0,08 g (0,357 mmol) de CuBr_2 . Amestecul de reacție se agită

și se încălzește timp de 60-90 min. După răcire precipitatul format se filtrează, se spală cu o cantitate minimă de etanol, eter dietilic și se usucă la aer.

S-a determinat, %: C – 33,03; H – 3,75; Br – 13,51; Cu – 21,52; N – 14,08; S – 10,83. Pentru $C_{16}H_{21}BrCu_2N_6OS_2$ s-a calculat, % : C – 32,88; H – 3,62; Br – 13,67; Cu – 21,74; N – 14,38; S – 10,97.

5 2,2'-[(5-terț-Butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamida) - [bis-(4-metil-3-tiosemicarbazona) de 4-terț-butil-2,6-diformilfenolului] a fost sintetizată după metoda descrisă în literatură [Yu Shasha et al. Structure, thermal stability, antioxidant activity and DFT studies of trisphenols and related phenols. Inorganica Chimica Acta, 2017, vol. 468, pp. 159-170]. Complexul revendicat este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcoolii alifatici, este solubil în
10 dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

Compusul sintetizat reprezintă o pulbere brună (randament 75%) FT-IR/cm⁻¹, (Diamond ATR): 3240; 3126; 3017; 2965; 2879; 1613; 1589; 1539; 1463; 1442; 1405; 1337; 1299; 1249; 1234; 1078; 1026; 954; 896; 844; 812; 767; 749; 666; 583; 506. Spectrul de masa MALDI-TOF: m/z calc. (găsit)
15 585,51 (584,92) pentru $[Cu_2(C_{16}H_{21}N_6OS_2)Br + H]^+$. Analiza MALDI-TOF (figură) este efectuată pe pulbere cu un spectrometru de masă UltrafleXtreme. Este calibrat extern folosind PEG1500, PEG4500 și achizițiile sunt efectuate în modul ion pozitiv. Toate datele sunt procesate cu programul FlexAnalysis și în calitate de matrice este utilizat *trans*-2-[3-(4-terț-butilfenil)-2-metil-2-propeniliden]malononitril. Proba este preparată la o concentrație de 60 μM în MeOH și soluția de matrice este preparată la o concentrație de 6 mM. Probele se prepară prin amestecarea soluției de probă cu soluția matricei într-un raport de
20 volum de 1:9 și după uscare reziduurile sunt analizate prin MALDI-TOF.

Exemplu al utilizării (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)-dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) 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* ATCC 10231. Activitatea s-a
25 determinat în mediul nutritiv lichid Sabouraud (pH 6,8). Inoculatele se pregăteau din tulpini de fungi recoltate în decurs de 3-7 zile. Concentrația lor în suspensie constituie (2-4) · 10⁶ unități formatoare de colonii într-un mililitru.

Datele experimentale obținute, privind studierea proprietăților antimicotice ale (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)-dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II)
30 sunt prezentate în tabel, care demonstrează, că acest compus manifestă activitate antimicotică față de fungii din specia *Candida albicans* de 3905-1952,5 ori mai înaltă decât fluconazolul și de 1000 ori mai înaltă decât cea mai apropiată soluție.

Proprietățile depistate ale (μ_2 -bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) prezintă interes pentru practica
35 medicală și veterinară din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicotice.

Tabel

Activitatea antimicotică (μg/mL) a compusului revendicat față de *Candida albicans* ATCC 10231 în comparație cu precursorii, fluconazolul și cea mai apropiată soluție

Compusul	CMI	CMF
Precursorii: CuBr ₂ și 2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamidă)	> 10 000	>10 000
Fluconazol	15,62	a*
{ μ -Cloro-[μ -2,6-bis(S-metilizotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-N ¹ ,N ⁴ ,N ¹ ,N ⁴ , μ -O]dicupru(II)}-dicloro-hidrat (cea mai apropiată soluție)	4,0	8,0
(μ_2 -Bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-terț-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) (compusul declarat)	0,004	0,008

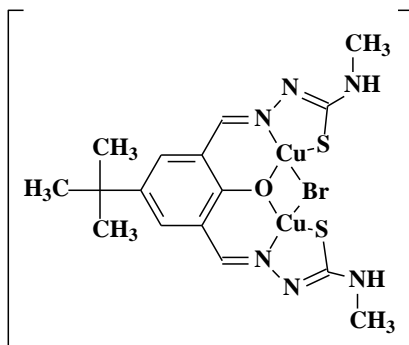
*Notă: a) CMI - concentrația minimă de inhibare și CMF - concentrația minimă fungicidă; b) CMF în [1]
40 nu a fost studiată.

(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 4696 B1 2020.05.31

(57) Revendicări:

1. (μ_2 -Bromo)-{ μ_2 -2,2'-[(5-*tert*-butil-2-oxido-1,3-fenilen)dimetaniliden]bis(N-metilhidrazin-1-carbotioamido)}-di-cupru(II) cu formula:



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

