



MD 1812 C2 2001.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1812 (13) C2
(51) Int. Cl. 7: C 07 F 1/08; C 07 C 337/06, 337/08; A 61 K 31/30, A 61 K 31/175, A 61 P 31/04; A 61 P 31/10

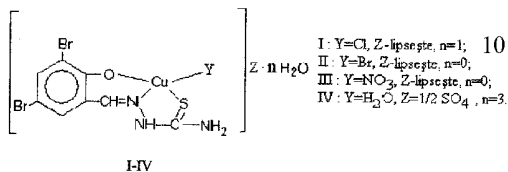
(12) BREVET DE INVENȚIE

Table with 2 columns: (21) Nr. depozit: a 2001 0010, (22) Data depozit: 2000.12.29, (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2001.12.31, BOPI nr. 12/2001, (71) Solicitant: Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova, MD, (72) Inventatori: PRISACARI Viorel, MD; ȚAPCOV Victor, MD; BURACIOVA Svetlana, MD; BĂRCĂ Maria, MD; GULEA Aurelian, MD, (73) Titular: Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova, MD, (74) Reprezentant: VOZIANU Maria, MD

(54) Complecși de cupru ca inhibitori de bacterii și fungi

(57) Rezumat:

1 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la compuși coordinați biologic activi ai clasei tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. 5 Esența invenției constă în obținerea compușilor coordinați cu formula generală,



2 care manifestă activitate atât bactericidă față de bacterii gram-pozitive și gram-negative, cât și fungicidă față de fungii levurici și miceliari. Ei pot găsi aplicare în medicină și medicina veterinară în calitate de preparate antibacteriene și antifungice cu spectru larg de acțiune biologică sau în calitate de ingrediente pentru obținerea mediilor nutritive selective.

Revendicări: 1

MD 1812 C2 2001.12.31

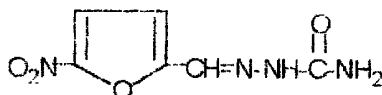
3

Descriere:

Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la compuși coordinați biologic activi ai clasei tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție.

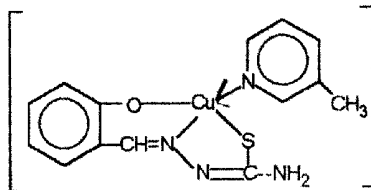
- 5 Acești compuși manifestă activitate atât bactericidă față de bacterii gram-pozitive și gram-negative, cât și fungicidă față de fungii levurici și miceliari. Ei pot găsi aplicare în medicină și medicina veterinară în calitate de preparate antibacteriene și antifungice cu spectru larg de acțiune biologică sau în calitate de ingrediente pentru obținerea mediilor nutritive selective.

- 10 În practica medicală pentru tratamentul și profilaxia proceselor inflamatorii și purulente se utilizează furacilina - semicarbazona aldehidei 5-nitro-2-furanice (cea mai apropiată soluție), care are următoarea formulă:



- 15 Acest compus inhibă creșterea și multiplicarea majorității microorganismelor gram-pozitive și gram-negative în limitele concentrațiilor 9,35...300 μg/ml, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicrobiană mai înaltă a preparatului față de bacteriile sus-numite [1]. În afară de aceasta, el nu posedă o activitate antimicrobică și nu poate fi folosit pentru tratamentul micozelor provocate de fungii levurici și miceliari.

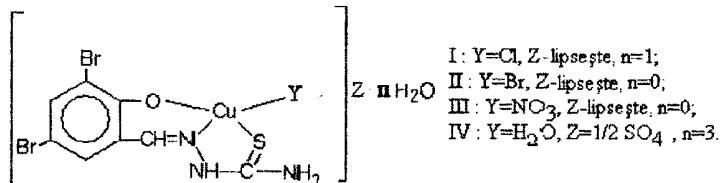
Complecșii declarați se aseamănă după structură cu salicilidentiosemicarbazido-3-picolincupru (analogul structural) [2], cu formula:



- 20 Compusul coordinațional dat este de 3-10 ori (în funcție de tulpina microorganismului) mai activ față de stafilococi în comparație cu furacilina, dar absolut nu manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile gram-negative. Informație despre proprietățile lui antimicrobice în literatura de specialitate lipsește.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea arsenalului de preparate care posedă activitate antimicrobiană și antifungică.

- 25 Esența invenției constă în obținerea compușilor coordinați cu formula generală



I-IV

Rezultatul constă în obținerea preparatelor ce posedă acțiune antimicrobiană și antifungică.

Analiza comparativă cu analogul structural demonstrează că I-IV diferă prin aceea că:

- 30 1) al patrulea loc în sfera lor coordinațională interioară este ocupat de ionii de clor, brom, nitrat sau de o moleculă de apă (în soluția apropiată - de piridină);
2) în fragmentul salicilidenic al tiosemicarbazonei doi atomi de hidrogen în pozițiile 3 și 5 sunt înlocuiți cu atomi de brom;
3) fragmentul tiosemicarbazidic al ligandului se află în forma tiolică-cheto nedeprotonizată (în soluția apropiată - în formă enolică deprotonizată);
35 4) în componența lor se află rămășița de acid (în I-III - în sfera internă, IV - externă), iar analogul structural este complex intern.

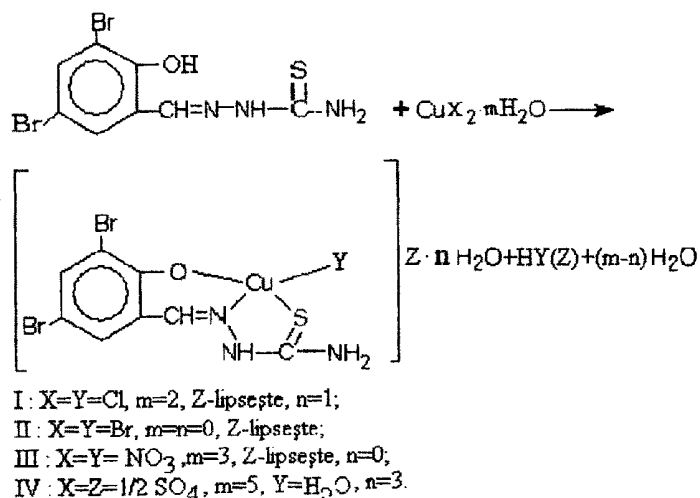
Datorită deosebirilor menționate mai sus, în complecșii I-IV se realizează o nouă combinație a tipurilor de legături chimice cunoscute și se obține un rezultat net superior în comparație cu analogul structural.

MD 1812 C2 2001.12.31

4

Compușii declarați se obțin la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (50...55°C) ale hidraților clorurii, bromurii, nitratului sau sulfatului de cupru (2+) cu tiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromsalicilice, luate în raport molar 1:1. Reacția decurge 30...40 min conform următoarei scheme:

5



Mecanismul prezentei reacții este legat de aditia la ionul de cupru (2+) a moleculei de tiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromsalicilice, care joacă rolul de ligand-O,N,S tridentat. Al patrulea loc în sfera coordinativă interioară îl ocupă ionii de clor, brom, nitrat sau molecula de apă. Paralel în amestecul reactant decurge procesul de deprotonizare a grupei hidroxilice a fragmentului fenolic al ligandului.

Procedeele de obținere a compușilor declarați este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 79...85% față de cel teoretic calculat. Complecșii I-IV sunt stabili în contact cu aerul, puțin solubili în apă și alcooli, sunt solubili în dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubili în eter.

Cercetarea vizuală sub microscop a compușilor sintetizați demonstrează că ei posedă omogenitate fizică. Din cauza dimensiunilor mici și absenței monocristalelor acestor compuși, pentru determinarea individualității componenței și structurii lor au fost utilizate metodele analizei elementelor, spectroscopiei IR, magnetochimiei și termogravimetriei.

În baza determinării în dimetilformamidă a conductibilității electrice molare a compușilor declarați s-a determinat, că I-III sunt neelectroliti ($\mu_{1000}^{20} = 4...9 \Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$), iar IV - electrolit triplu ($\mu_{1000}^{20} = 149 \Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$).

Cercetarea magnetochimică la temperatura camerei (293 K) a complecșilor I-IV a demonstrat că valorile calculate ale momentelor lor magnetice efective sunt apropiate de valoarea de spin pentru un electron necuplat și reprezintă 1,93 (I), 1,85 (II), 1,99 (III) și 2,09 (calculând pentru un atom paramagnetic) mB. Faptul acesta ne permite să presupunem că substanțele cercetate au structura monomerică.

În scopul determinării modului de coordonare a azometinei cu ionul de cupru (2+), a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compușilor declarați, tiosemicarbazonei aldehidei 3,5-dibromsalicilice și a analogului lor structural, descris în [2]. S-a stabilit că tiosemicarbazona în I-IV se comportă ca un ligand tridentat monodeprotonizat, unindu-se cu ionii centrali prin intermediul atomului de oxigen fenolic deprotonizat, al azotului azometinic și al sulfului, formând metalocicluri din cinci și șase atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția în spectrele IR ale substanțelor declarate și al analogului structural a benzii de absorbție $\delta(\text{OH})$, care în tiosemicarbazona liberă se observă în domeniul 1245...1240 cm^{-1} . În complecșii I-IV și analogul lor structural banda de absorbție $\nu(\text{C}=\text{N})$ se deplasează cu 35...30 cm^{-1} spre frecvența mai mică (în tiosemicarbazona inițială $\nu(\text{C}=\text{N})$ se observă în domeniul 1620...1610 cm^{-1}). În favoarea modului sus-numit de coordonare a tiosemicarbazonei aldehidei 3,5-dibromsalicilice vorbește și faptul apariției în domeniul 630...405 cm^{-1} a unui șir de benzi de absorbție noi, care conform datelor luate din literatură, se detectează ca $\nu(\text{Cu}-\text{O})$, $\nu(\text{Cu}-\text{N})$ și $\nu(\text{Cu}-\text{S})$. În afară de aceasta, confruntarea maximurilor benzilor de absorbție determinate cu cele descrise în literatură dovedește că grupa nitrat în compusul III este coordonată la ionul central și se comportă în sfera interioară de coordonație ca ligand monodentat [coincid intervalele principalelor frecvențe de oscilație: $\nu_1(\text{A}_1)=1295...1250 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_2(\text{A}_1)=1035...970 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_4(\text{B}_1)=1530...1480 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_6(\text{B}_2)=800...780 \text{ cm}^{-1}$ și sunt prezente două benzi slabe de absorbție la 1780 și 1720], iar ionul sulfat în

MD 1812 C2 2001.12.31

5

IV se află în sfera exterioară [în domeniul 1110...1120 cm^{-1} se observă o singură bandă de absorbție, caracteristică acestui anion necoordonat].

5 Analiza termică a complexilor declarați a demonstrat că termoliza lor decurge în trepte: pe curba DTA a derivatogramelor compușilor II și IV în intervalul de temperaturi 75...95°C are loc un efect endotermic, care după scăderea de masă corespunde ruperii moleculelor de apă de cristalizare (deshidratării); în cazul IV la 155°C cu efect endotermic decurge un proces de deshidratare, iar la 470(I), 460(II), 425(III) și 430(IV) °C cu efect exotermic are loc distrucția termooxidativă completă a tiosemicarbazonei coordonate.

10 Exemplu de obținere a cloro-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocuprului (complexului 1). La soluția etanolică, care conține 10 mmol de dihidrat al clorurii de cupru (2+) în 30 ml alcool, încălzită (50...55°C) și amestecată în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă soluție de 10 mmol de tiosemicarbazona aldehydei 3,5-dibromsalicilice în 120 ml de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ și se încălzește în decurs de 30...40 min. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare verde, care se filtrează pe filtru de sticlă, se spală cu etanol, eter și se usucă în aer. Randamentul alcătuiește 81% de la cel teoretic calculat.

15 Determinată, în %: C-21,01; H-1,09; Br-35,58; Cu-13,84; N-9,11; S-6,82; pentru $\text{C}_8\text{H}_6\text{Br}_2\text{ClCuN}_3\text{OS}$ calculată, %: C-21,26; H-1,33; Br-35,44; Cl-7,86; Cu-14,17; N-9,30; S-7,09.

20 După metoda analogică, folosind în calitate de substanțe inițiale bromură (în cazul II), trihidrat nitratul (în cazul III) sau pentahidrat sulfatul de cupru (2+) (în cazul IV) și tiosemicarbazona aldehydei 3,5-dibromsalicilice, luate în raport molar 1:1, se sintetizează corespunzător bromo-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru monohidrat, nitrato-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru și sulfat de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru trihidrat. Pentru II randamentul alcătuiește 85%, III - 79%, iar IV - 80% de la cel teoretic calculat. Rezultatele analizei elementelor:

Complexul II. Determinată, %: C-18,49; H-1,28; Br-46,51; Cu-12,40; N-8,09; S-6,03, pentru $\text{C}_8\text{H}_8\text{Br}_2\text{CuN}_3\text{O}_2\text{S}$ calculată, %: C-18,68; H-1,56; Br-46,69; Cu-12,45; N-8,17; S-6,23.

25 Complexul III. Determinată, %: C-19,79; H-1,01; Br-33,20; Cu-13,18; N-11,65; S-6,45; pentru $\text{C}_8\text{H}_6\text{Br}_2\text{CuN}_4\text{O}_4\text{S}$ calculată: C-20,08; H-1,26; Br-33,47; Cu-13,39; N-11,72; S-6,69.

Complexul IV. Determinată, %: C-18,59; H-2,01; Br-31,14; Cu-12,30; N-8,01; S-9,16; pentru $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Br}_4\text{Cu}_2\text{N}_6\text{O}_{11}\text{S}_3$ calculată: C-18,86; H-2,16; Br-31,43; Cu-12,57; N-8,25; S-9,43.

30 Determinarea activității antimicrobiene a cloro-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocuprului bromo-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru monohidratului, nitrato-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocuprului, sulfatului de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru trihidrat și, de asemenea, a celei mai apropiate soluții a lor, a fost efectuată în mediu nutritiv lichid [bulion peptonat (pH 7,0) de 2%] prin metoda diluțiilor succesive [3]. În calitate de cultură de referință în experimentul *in vitro* au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus* (Wood-46, Smith, 209-P), *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* (0-111), *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* și *Proteus mirabilis*. Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea dozei minime de inhibare (DMI) și concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda descrisă în "Методы экспериментальной химиотерапии" (под ред. Першина Г.Н., Москва, Медицина, 1971, с. 357).

40 Proprietățile antimicotice ale substanțelor declarate I-IV au fost cercetate *in vitro* pe tulpini de laborator: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* și *Penicillium*. Activitatea s-a determinat în mediul nutritiv lichid Sabouroud (pH 6,8). Inoculatele se pregăteau din tulpini de fungi recoltate în decurs de 3...7 zile. Concentrația lor în suspensie constituie $(2...4) \cdot 10^6$ unități formatoare de colonii într-un mililitru. Însămânțările pentru levuri au fost incubate în decurs de 7, iar miceliile - de 14 zile la temperatura de 37°C.

45 Rezultatele experimentale obținute la studierea activității antimicrobiene ale complexilor I-IV sunt prezentate în tabelul 1, din care se vede că ele posedă activitate bacteriostatică în concentrație 0,018...150 $\mu\text{g/ml}$ față de bacteriile atât gram-pozitive, cât și gram-negative (excepție face *Pseudomonas aeruginosa*, pentru care DMI 300...2000 $\mu\text{g/ml}$). Pentru comparație în același tabel sunt prezentate datele antimicrobiene caracteristice furacilinei (cea mai apropiată soluție) utilizate în practica medicală și salicilidentiosemicarbazido-3-picolincuprului - analogului structural al compușilor declarați, care manifestă una din cele mai înalte activități dintre substanțele din șirul tiosemicarbazonic cunoscute în literatură. Datele experimentale obținute demonstrează că complexii I-IV manifestă o activitate antimicrobiană de 16...1042 ori mai înaltă față de stafilococi și streptococi decât furacilina și de 16...517 ori depășește activitatea ei bacteriostatică față de majoritatea microorganismelor gram-negative. În același timp, compușii declarați sunt 55 mai activi decât analogul lor structural (după DMI) de 4...9 ori față de bacteriile gram-pozitive și nu mai puțin de 130 ori - față de microorganismele gram-negative.

Datele experimentale obținute la studierea proprietăților antimicotice ale compușilor declarați sunt prezentate în tabelul 2, care demonstrează că ele manifestă activitate selectivă în limitele concentrațiilor

MD 1812 C2 2001.12.31

6

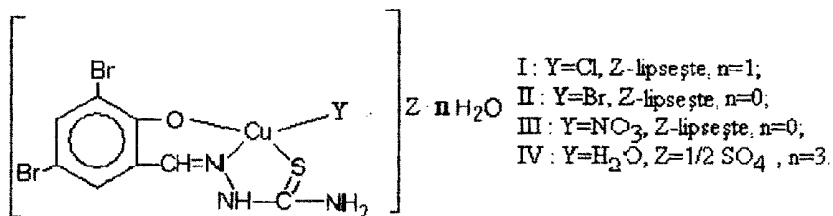
18,7...300 µg/ml și față de toate tulpinile cercetate de fungi. Pentru comparație în același tabel se dau date privind activitatea nistatinei utilizate în medicină pentru tratamentul micozelor. Datele prezentate în tabelul 2 demonstrează că substanțele declarate manifestă față de majoritatea fungilor miceliari și levurici o activitate antimicrobică de 6,4...1,1 ori mai înaltă decât nistatina (mai puțin sensibilă *Aspergillus niger* față de complexii I-III, *Penicillium* - față de I și *Candida albicans* - față de IV).

Proprietățile depistate ale compușilor coordinativi sintetizați și studiați prezintă interes din punct de vedere a lărgirii arsenalului de remedii antimicrobiene și antimicotice.

10

(57) Revendicare:

Complecși de cupru ca inhibitori de bacterii și fungi cu formula generală



I-IV

15

(56) Referințe bibliografice:

1. Алексеева Л. Н. Антибактериальные препараты - производные 5-нитрофурана. Рига, Изд-во АН Латв. ССР, 1963, 218 с.
2. SU 1586155 B1

Șef Secție:

EGOROVA Tamara

Examinator:

IUSTIN Viorel

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2001 0010		
(22) Data depozit: 2000.12.29		
<p>Prioritatea invocată :</p> <p>(51) Int. Cl. (7) : C 07 F 1/08 ; C 07 C 337/06; C 07 C 337/08; A 61 K 31/30 ; A61K 31/175; A 61 P 31/04; A 61 P31/10</p> <p>Alți indici de clasificare:</p> <p>(54) Titlul : Complecși de cupru - inhibitori de bacterii și fungi.</p> <p>(71) Solicitantul : Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova, MD</p> <p>Termeni caracteristici :</p> <p>a) limba română: Inhibitori de bacterii; Inhibitori; Gulea;</p>		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.- 7)		
Au fost consultate brevetele și cererile de brevete ale MD și EA in perioada 1993-2000; și respectiv 1996 2000 pe clasa C 07 F 1/08 ; C 07 C 337/06; C 07 C 337/08; A 61 K 31/30 ; A61K 31/175; A 61 P 31/04; A 61 P31/10		
II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)		
III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)		
Au fost consultate brevetele și cererile de brevete ale RU 1992-2000; FR, GB, DE, US, SU, RO in perioada 1972-2000; CH, PCT 1982-2000; EP 1980-2000;		
IV. Documente considerate ca relevante		
Categorია*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
<input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii IV		<input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozitului național reglementat dar după data priorității invocate
A - document care definește statutul general al tehnicii	T - document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria care conține baza invenției	
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data	X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă	
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la data publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)	Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă	& - document care face parte din aceeași familie de documente	
Data efectuării de documentare		19.04.2001
Examinatorul		Iustin Viorel

