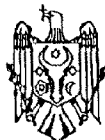




MD 4648 B1 2019.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4648** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A61K 31/175* (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
C07D 213/16 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

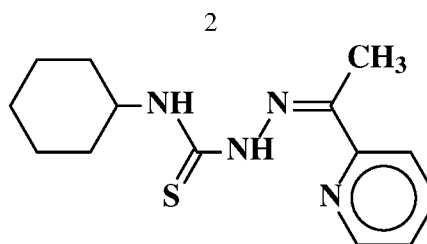
In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2018 0079 (22) Data depozit: 2018.09.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.09.30, BOPI nr. 9/2019
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; BURDUNIUC Olga, MD; BĂLAN Greta, MD; RUSNAC Roman, MD; ȚAPCOV Victor, MD; RUDIC Valeriu, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Utilizare a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotioamidei în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor *Candida albicans*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compusului din clasa tiosemicarbazonelor, care manifestă o activitate antimicrobiană și antimicotică înaltă și poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat cu acțiune antimicrobiană și antimicotică sau de ingredient la crearea mediilor nutritive selective de cultivare a microorganismelor și fungilor.

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor *Candida albicans* a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotioamidei cu formula



Rezultatul invenției constă în sporirea activității bacteriostatice și bactericide față de microorganismele gram-pozitive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* de 2...12 ori și asigurarea unei activități antimicotice înalte față de fungii *Candida albicans*.

Revendicări: 1

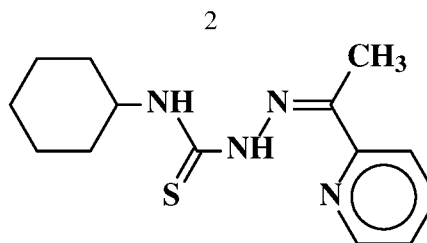
MD 4648 B1 2019.09.30

(54) Use of N-cyclohexyl-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbothioamide as an inhibitor of reproduction of gram-positive microorganisms and *Candida albicans* fungi

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to the use of a compound of the class of thiosemicarbazones, which exhibits high antimicrobial and antifungal activity, and can find application in medicine and veterinary medicine as an antimicrobial and antifungal drug or ingredient in creating selective nutrient media for growing microorganisms and fungi.

Summary of the invention consists in the use of N-cyclohexyl-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbothioamide of the formula:



as an inhibitor of reproduction of gram-positive microorganisms and *Candida albicans* fungi.

The result of the invention consists in increasing the bacteriostatic and bactericidal activity against gram-positive microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* 2...12 times and in providing high antifungal activity against *Candida albicans* fungi.

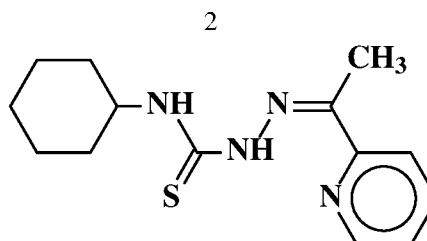
Claims: 1

(54) Использование N-циклогексил-2-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]гидразинкарботиоамида в качестве ингибитора размножения грамм-положительных микроорганизмов и грибов *Candida albicans*

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к применению соединения класса тиосемикарбазонов, которое проявляет высокую противомикробную и противогрибковую активность, и может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробного и противогрибкового препарата или ингредиента при создании селективных питательных сред для выращивания микроорганизмов и грибов.

Сущность изобретения заключается в использовании N-циклогексил-2-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]гидразинкарботиоамида формулы:



в качестве ингибитора размножения грамм-положительных микроорганизмов и грибов *Candida albicans*.

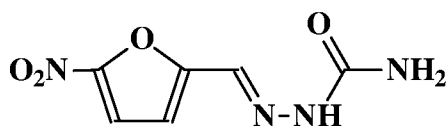
Результат изобретения состоит в повышении бактериостатической и бактерицидной активности в отношении грамм-положительных микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* в 2...12 раз и в обеспечении высокой противогрибковой активности в отношении грибов *Candida albicans*.

П. формулы: 1

Descriere:

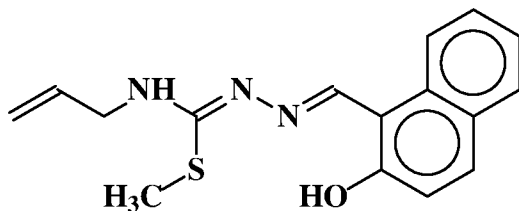
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compusului organic biologic activ din clasa tiosemicarbazonelor, care manifestă activitate antimicrobiană și antimicotică față de un spectru larg de microorganisme gram-pozitive și fungii din specia *Candida albicans*. Datorită acestor proprietăți el poate găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparat cu acțiune antimicrobiană și antimicotică sau în calitate de ingredient la crearea mediilor nutritive selective de cultivare a microorganismelor și fungilor.

În practica medicală pentru tratarea și profilaxia proceselor inflamatorii și purulente se utilizează furacilina (nitrofurul) – [(5-nitrofuran-2-il)metiliden]aminourea [1], care are următoarea formulă :



Acest compus inhibă creșterea și multiplicarea majorității microorganismelor gram-pozitive și gram-negative în limitele concentrațiilor 2,34...9,37 μg/ml, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicrobiană mai înaltă a preparatului față de bacteriile susnumite și nu este utilizat pentru tratarea micozelor din cauza lipsei activității antifungice.

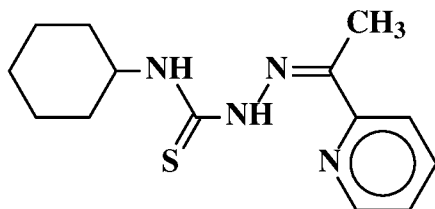
Din compușii chimici care conțin în componența lor fragmentul tiosemicarbazidic și care simultan inhibă creșterea și multiplicarea microorganismelor gram-pozitive și fungilor din specia *Candida albicans*, cel mai înalt efect antimicrobian și antifungic a fost obținut în cazul metil-N'-[(2-hidroxinaftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioatului [2] cu formula :



După activitatea antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus* el depășește de 13,4...3,3 ori activitatea bacteriostatică și bactericidă a furacilinei, iar față de alte microorganisme gram-pozitive manifestă activitatea la nivelul nitrofurului. În același timp el manifestă și activitate antimicotică față de fungii din specia *Candida albicans*, care depășesc de 110...115 ori caracteristicile respective ale nistatinei, utilizată actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor (cu furacilină nu se compară din cauza lipsei activității antimicotice). Dezavantajul metil-N'-[(2-hidroxinaftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioatului constă în faptul că el nu posedă o activitate antimicrobiană și antimicotică simultană suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină sau medicina veterinară.

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

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor din specia *Candida albicans* a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidei (N-ciclohexiltiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei) cu formula :



Procedul de sinteză a tioamidei date, structura și proprietățile ei sunt descrise în literatură (Salam M. A., Affan M. A., Ahmad F. B., Ng S. W., Tiekink E. R. T.

- 1-Cyclohexyl-3-[(E)-[1-(pyridine-2-yl)ethylidene]amino]thiourea. Acta Cryst., Sect. E., 2011, 67, p. 955; Ming-Xue Li, Dong Zhang, Li-Zhi Zhang, Jing-Yang Niu, Bian-Sheng Ji. Synthesis, crystal structures and biological activities of 2-acetylpyridine N(4)-cyclohexylthiosemicarbazone and its manganese(II) and nickel(II) complexes. Inorg. Chem. Com., 2010, Vol. 13, nr. 12, p. 1572-1575).

- Investigând proprietățile ei biologice a fost stabilit că ea inhibă proliferarea unor bacterii și unor celule canceroase (Kovala-Demertzi D., Galani A., Kourkoumelis N., Miller J. R., Demertzis M. A. Synthesis, characterization, crystal structure and antiproliferative activity of platinum(II) complexes with 2-acetylpyridine-4-cyclohexyl-thiosemicarbazone. Polyhedron, 2007, Vol. 26, p. 2871-2879) și a micobacteriilor tuberculozei (Pavan F. R., Maia P. I. S., Leite S. R. A., DeFlon V. M., Batista A. A., Sato D. N., Franzblau S. G., Leite C. Q. F. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide-hydrazones: anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity and cytotoxicity. Eur. J. Med. Chem., 2010, Vol. 45, p. 1898-1905).

Proprietățile antimicrobiene ale acestui compus sunt puțin studiate, iar antifungice - nu sunt descrise în literatură.

- Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea activității bacteriostatice și bactericide față de microorganismele gram-pozitive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* de 2...12 ori și asigurarea unei activități antimicotice față de fungii *Candida albicans* la nivelul celei mai apropiate soluții.

- Determinarea activității antimicrobiene a compusului revendicat 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*” au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (FICK 8035), *Enterococcus faecalis* și *Escherichia coli* (ATCC 25922). Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minimale bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură.

- Proprietățile antimicotice ale N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotioamidei au fost cercetate „*in vitro*” pe tulpina de laborator *Candida albicans*. 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) · 10⁶ unități formatoare de colonii într-un mililitru.

- Rezultatele experimentale, obținute la studierea activităților antimicrobiene și antifungice ale compusului revendicat sunt prezentate în tabelul, din care se vede că el posedă activitate bacteriostatică și bacterică în concentrație de 0.06...250 μg/ml față de bacteriile gram-pozitive și *Candida albicans*. Pentru comparație în același tabel sunt prezentate datele antimicrobiene caracteristice furacilinei, utilizată în practica medicală și metil-N'-[(2-hidroxi-naftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioatului – analogului structural al compusului declarat, care manifestă una din cele mai înalte activități dintre substanțe din șirul tiosemicarbazonic, cunoscute în literatură. Datele experimentale obținute demonstrează, că N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotioamida manifestă o activitate antimicrobiană de 39...1,2 ori mai înaltă față de *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus* decât furacilina și de 12...2 ori depășește activitatea bacteriostatică și bacterică a celei mai apropiate soluții față de microorganismele gram-pozitive studiate, iar față de microorganismele gram-negative (*Escherichia coli*) și fungii din specia *Candida albicans* rămâne la nivelul metil-N'-[(2-hidroxi-naftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioatului.

Tabel

Activitatea antimicrobiană și antimicotică a compusului revendicat față de microorganismele gram-pozitive, *Escherichia coli* și *Candida albicans* în comparație cu furacilina și analogul structural, μg/ml

Tulpina microorganismului	Concentrația ^{a)}	Compusul		
		Furacilina (Nitrofurul)	Analogul structural ^{b)}	Compusul revendicat ^{c)}
<i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 25923	CMI	2,34	0,70	0,06
	CMB	9,37	0,70	0,24
<i>Bacillus cereus</i> , ГИСК 8035	CMI	4,68	3,90	1,95
	CMB	4,68	7,80	3,90
<i>Enterococcus faecalis</i>	CMI	37,5	250	125
	CMB	75,0	500	250
<i>Escherichia coli</i> , ATCC 25922	CMI	2,34	500	500
	CMB	9,37	500	500
<i>Candida albicans</i>	CMI	> 10 000	0,70	0,70
	CMB	> 10 000	0,70	0,70

5

Notă : ^{a)} CMI - concentrația minimă de inhibare și CBM - concentrația bactericidă minimală; ^{b)} metil-N'-[(2-hidroxinaftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioat;

^{c)} N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamida.

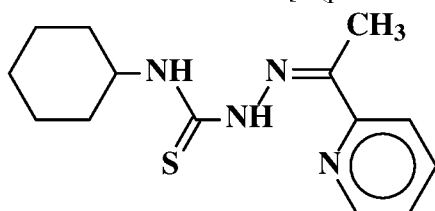
10 Proprietățile depistate ale N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidei prezintă interes pentru practica medicală și veterinară din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene și antimicotice.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Фармацевтическая химия. Ред. В.А. Абрамов. М., Медицина, 1976, v. 1, p. 381-387
2. MD 4402 B1 2016.02.29

(57) Revendicări:

Utilizare a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamidei cu formula :



în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor *Candida albicans*.

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2018 0079

(22) Data depozit: 2018.09.12

(71) Solicitant: **UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD**

(54) **Titlul: Utilizare a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamiei in calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor *Candida albicans***

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *A61K 31/175* (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01) *C07C 337/08* (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01) *C07D 213/16* (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta):

A61K 31/175; A61K 31/4402; A61P 31/10; A61P 31/04; C07C 337/08; C07D 213/16
 tiosemicarbazon, piridin, Candida albicans, antimicotic, antibacterial

"Worldwide" (Espacenet), PatSearch:

A61K 31/175; A61K 31/4402; A61P 31/10; A61P 31/04; C07C 337/08; C07D 213/16
 thiosemicarbazone, pyridine, Candida albicans, antifungal, antimycotic, antibacterial

EA, CIS (Eapatis), PatSearch:

A61K 31/175; A61K 31/4402; A61P 31/10; A61P 31/04; C07C 337/08; C07D 213/16
 тиосемикарбазон, пиридин, Candida albicans, противогрибковый. антибактериальный

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

www.google.com
 Google Scholar

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A,D	Фармацевтическая химия. Ред. В.А. Абрамов. М., Медицина, 1976, v. 1, p. 381-387	1
A,D,C	MD 4402 B1 2016.02.29	1
A	MD 4194 B1 2013.01.31	1
A	MD 1812 B1 2001.12.31	1
A	MD 4258 B1 2013.11.30	1
A	MD 4452 B1 2016.12.31	1

A	WO 2011026193 A1 2011.03.10	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	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 pe care se bazează invenția	
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție	
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete	
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării 02.05.2019		
Examinator	GUȘAN Ala	