



MD 2942 B2 2005.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 2942 (13) B2

(51) Int. Cl.: C07F 1/08 (2006.01); C07C 47/55 (2006.01) C07C 47/56 (2006.01); C07C 337/08 (2006.01) C07C 215/16 (2006.01); A61K 31/175 (2006.01) A61K 31/30 (2006.01); A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

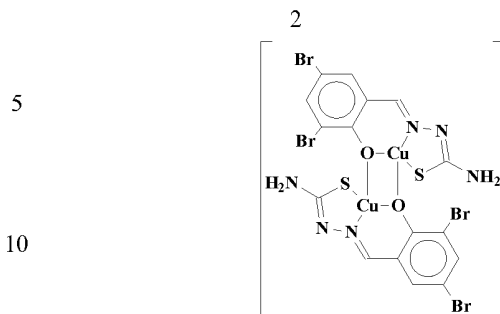
Table with 2 columns: (21) Nr. depozit: a 2004 0095, (22) Data depozit: 2004.04.27, (41) Data publicării cererii: 2005.10.31, BOPI nr. 10/2005; (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.12.31, BOPI nr. 12/2005; (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE 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) Di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru)

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie, și anume la sinteza compușilor coordinativi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină și în medicina veterinară în calitate de remediu antimicrobian cu un spectru larg de acțiune biologică sau în calitate de ingredient la crearea mediilor nutritive selective necesare pentru cultivarea microorganismelor.

Esența invenției constă în obținerea complexului intern de cupru(II) cu formula:



Compusul manifestă activitate antibacteriană înaltă.

Revendicări: 2

MD 2942 B2 2005.12.31

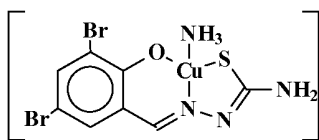
MD 2942 B2 2005.12.31

3

Descriere:

Invenția se referă la chimie, și anume la sinteza compușilor coordinați din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină și în medicina veterinară în calitate de remediu antimicrobian cu un spectru larg de acțiune biologică sau în calitate de ingredient la crearea mediilor nutritive selective necesare pentru cultivarea microorganismelor.

Este cunoscut compusul 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidoamincupru (cea mai apropiată soluție și analogul structural [1]) cu formula:



10

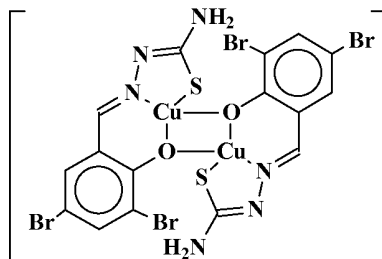
cu acțiune antimicrobiană și antimicotică.

Complexul dat inhibă creșterea și multiplicarea majorității microorganismelor gram-pozitive în limitele concentrațiilor 0,036...0,58 μg/ml, însă nu găsește aplicare în practica medicală din cauza activității scăzute față de microorganismele gram-negative.

15

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este obținerea unui compus nou, care ar poseda un spectru larg de acțiune antimicrobiană.

Esența invenției constă în obținerea compusului nou di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatoamincupru) cu formula:



20

care manifestă activitate antibacteriană.

Rezultatul invenției constă în sinteza unui compus nou, care manifestă activitate antimicrobiană înaltă.

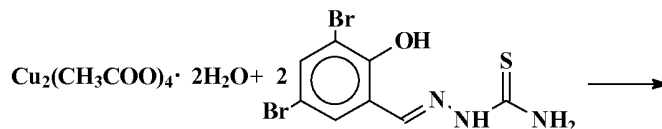
Complexul dat, proprietățile lui și metoda de sinteză nu sunt descrise în literatură.

25

Analiza comparativă a compusului revendicat cu cea mai apropiată soluție demonstrează că ei se deosebesc numai prin aceea că în analogul structural molecula de amoniac este înlocuită prin atomul fenolic de oxigen al moleculei vecine. Totodată, în molecula vecină al patrulea loc coordinațiv este ocupat de atomul de oxigen fenolic al primei molecule din complex. Datorită acestor particularități în structura compusului coordinațiv revendicat se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

30

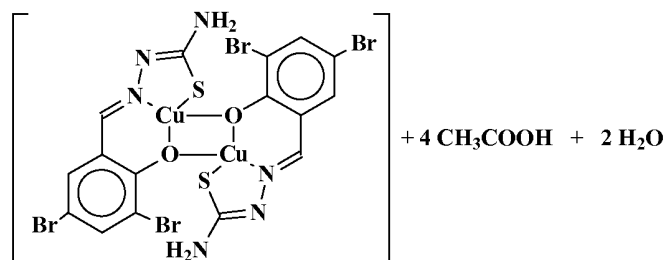
Complexul revendicat se obține la interacțiunea suspensiei metanolice fierbinți (50...55°C) a hidratului diacetatului de cupru(2+) cu tiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromsalicilice luate în raport molar 1:1. Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme a ecuației :



35

MD 2942 B2 2005.12.31

4



Mecanismul reacției date constă în deprotonizarea grupelor fenolice și tiolice ale tiosemicarbazonei în prezența acetat-ionilor sării inițiale, care joacă rolul de acceptor de protoni. Astfel obținut, anionul 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidic coordonează la ionul de cupru(2+) ca ligand O,N,S-tridentat dublu deprotonizat. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central îl ocupă atomul fenolic de oxigen al moleculei vecine. La rândul său, în molecula vecină al patrulea loc coordonativ este ocupat de atomul de oxigen fenolic al primului fragment de complex.

Procedeele de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 78% față de cel teoretic calculat. Complexul sintetizat are culoarea verde întunecată, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, este solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere a di(μ -O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru)

La suspensia metanolică, care conține 10 mmol de hidrat al acetatului de cupru(II) în 50 ml metanol, încălzită (50...55°C) și amestecată în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă soluție de 10 mmol de tiosemicarbazona a aldehidei 3,5-dibromsalicilice în 50 ml de alcool metilic. După aceasta, amestecul reactant se încălzește în continuare cu refrigerent ascendent în decurs de 50...60 min. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care se filtrează prin filtru din sticlă, se spală cu CH₃OH, eter și se usucă în aer.

S-a determinat, %: C – 23,01, H – 0,99, Br – 38,46, Cu – 15,30, N – 9,94, S – 7,52. Pentru C₈H₅Br₂CuN₃OS calculat, % : C – 23,13, H – 1,20, Br – 38,55, Cu – 15,42, N – 10,12, S – 7,71.

Cercetarea vizuală la microscop a compusului coordonativ sintetizat demonstrează că el posedă omogenitate fizică. Din cauza dimensiunilor mici și a absenței monocristalelor acestui complex, pentru determinarea individualității componenteii lui și a structurii au fost utilizate metode de analiză a elementelor, spectroscopia IR, magnetochimia și termogravimetria.

În baza determinării în dimetilformamidă a conductibilității electrice molare a di(μ -O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru) revendicat s-a determinat că el este un neelectrolit [κ = 3 $\Omega^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$, 20°C, C_M=0,001 mol/l].

În baza cercetărilor magnetochimice la temperatura camerei (291K) s-a stabilit că complexul dat posedă momentul magnetic mai mic (μ_{ef} =1,64 M B) comparativ cu cel spinic (S=½), fapt care vorbește despre structura lui polinucleară.

Pentru determinarea modului de coordonare a tiosemicarbazonei aldehidei 3,5-dibromsalicilice cu ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului revendicat și a analogului lui structural. S-a stabilit că tiosemicarbazona în di(μ -O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru) se comportă ca un ligand tridentat dublu deprotonizat, unindu-se cu ionul central prin intermediul atomului de oxigen fenolic, al azotului azometinic și al sulfului, formând două metalocicluri din cinci și șase atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția în spectrele IR a substanței revendicate și a analogului structural a benzilor de absorbție $\delta(\text{OH})$, $\nu(\text{NH})$ și $\nu(\text{C}=\text{S})$, care în tiosemicarbazona liberă se observă corespunzător în domeniile 1245...1240, 1540...1535 și 1125...1120 cm^{-1} . În ambii complecși se observă banda de absorbție $\nu(\text{C}-\text{S})$ în domeniul 750...740 cm^{-1} , iar banda $\nu(\text{C}=\text{N})$ se deplasează cu 35...30 cm^{-1} spre frecvențe mai mici [în tiosemicarbazona inițială $\nu(\text{C}=\text{N})$ se observă în domeniul 1620...1610 cm^{-1}], fiind însoțită de scindare în doi componenți. În domeniul 1570...1560 cm^{-1} al spectrului di(μ -O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru) se observă banda de absorbție, care este condiționată de oscilațiile de valență $>\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}<$. Acest caracter al spectrelor IR demonstrează enolizarea tiosemicarbazonei în procesul de formare a complexului revendicat. În afară de aceasta, în cazul compusului revendicat banda $\nu(\text{C}-\text{O})$, menționată în spectrele azometinei inițiale la 1520...1518 cm^{-1} , este deplasată la 15...10 cm^{-1} în domeniul undelor scurte. O asemenea deplasare de frecvență înaltă a $\nu(\text{C}-\text{O})$ fenolic, de obicei, se utilizează ca diagnostic la determinarea caracterului de punte al atomului de oxigen fenolic. În domeniul 600...405 cm^{-1} în spectrul complexului se observă o serie de noi benzi de absorbție, care conform datelor luate din literatură, se detectează ca $\nu(\text{Cu}-\text{N})$, $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ și $\nu(\text{Cu}-\text{S})$.

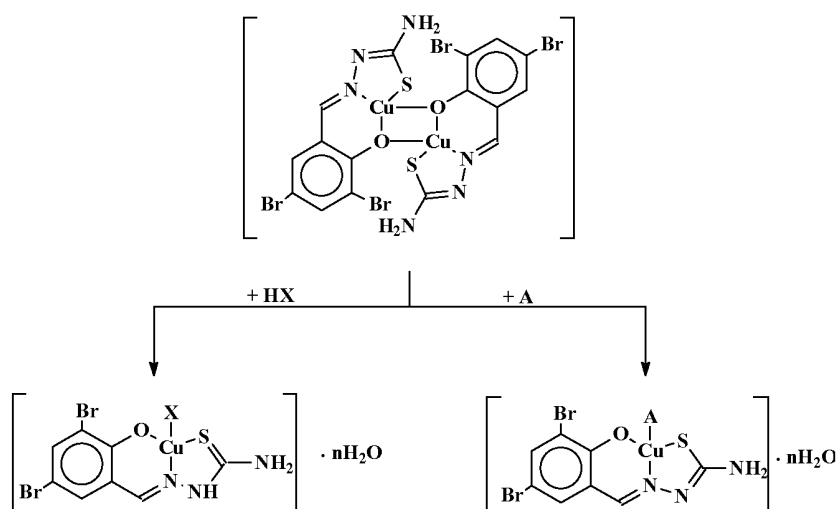
MD 2942 B2 2005.12.31

5

Analiza termică a demonstrat că pe derivatograma compusului revendicat se observă un singur efect exotermic la 300°C, care corespunde procesului de destrucție termooxidativă a tiosemicarbazonei în complex.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și cercetărilor fizico-chimice a fost stabilită componența și structura probabilă a compusului revendicat.

- 5 Avantajul compusului revendicat constă și în aceea că el poate servi ca precursor unui șir larg de compuși coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazona aldehidei 3,5-dibromsalicilice care manifestă un spectru larg de activitate biologică. Sinteza lor poate fi efectuată conform următoarei scheme:



10

unde X = Cl, Br, NO₃; A = NH₃, C₅H₅N, 2-CH₃C₅H₄N, 3-CH₃C₅H₄N, 4-CH₃C₅H₄N, 2-NH₂C₅H₄N, 4-NH₂C₅H₄N.

15

Determinarea activității antimicrobiene a complexului sintetizat, precum și a celei mai apropiate soluții a lui, a fost efectuată în mediu nutritiv lichid [bulion peptonat din carne (pH 7,0) de 2%] prin metoda diluțiilor succesive. 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* grupa A, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (O-111), *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Proteus vulgaris*. Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea dozei minime de inhibare (DMI) și a concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda descrisă în literatură.

20

Studierea toxicității complexului revendicat s-a efectuat *in vivo* pe șobolani albi prin introducerea în stomac a suspensiei substanței în apă fiartă.

25

Rezultatele studiului activității antimicrobiene a di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru) sunt prezentate în tabel, din care se vede că compusul revendicat posedă activitate bacteriostatică și bactericidă în limitele concentrațiilor 0,072...600 μg/ml față de bacteriile atât gram-pozitive, cât și gram-negative. Pentru comparație în același tabel sunt prezentate rezultatele activității antimicrobiene caracteristice 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidoamincuprului – celei mai apropiate soluții și analogului structural al compusului revendicat, care manifestă una din cele mai înalte activități dintre substanțele din șirul tiosemicarbazonic, cunoscute în literatură. Datele experimentale obținute demonstrează că compusul coordinativ revendicat manifestă activitate antimicrobiană față de majoritatea microorganismelor la nivelul celei mai apropiate soluții, iar în cazul tulpinilor *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* și *Pseudomonas aeruginosa* manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă de 2...6,7 ori mai înaltă în comparație cu a celei mai apropiate soluții.

30

35

Toxicitatea (LD₅₀) la di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru) constituie >1500 mg/kg (face parte din clasa compușilor cu toxicitate joasă).

MD 2942 B2 2005.12.31

6

Doza minimă de inhibare (DMI, $\mu\text{g/ml}$), concentrația bactericidă minimă (CBM, $\mu\text{g/ml}$) și toxicitatea (LD_{50} , mg/kg) a compusului revendicat față de microorganismele gram-pozitive și gram-negative

Tulpina microorganismului		Compusul revendicat		Cea mai apropiată soluție ^a	
		DMI	CBM	DMI	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Wood-46</i>	0,145	0,145	0,29	0,29
	<i>Smith</i>	0,072	0,145	0,29	0,58
	<i>209-P</i>	0,29	0,29	0,58	0,58
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		0,58	0,58	0,29	0,29
<i>Streptococcus</i> grupa A		0,145	0,145	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>		0,29	0,58	0,036	0,072
<i>Escherichia coli</i>	<i>O-111</i>	18,7	37,5	1,16	37,5
<i>Salmonella typhimurium</i>		18,7	75,0	2,33	9,35
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		18,7	18,7	0,58	600
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		600	600	2000	>4000
<i>Proteus vulgaris</i>		18,7	300	0,29	2000
LD_{50}		>1500 ^b		-	

5

Notă: ^{a)} Cea mai apropiată soluție și analogul structural – 3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidoamincupru [1];
^{b)} Stabilirea mai exactă a toxicității este imposibilă din cauza suprasaturării soluției ce face imposibilă trecerea ei prin acul seringii.

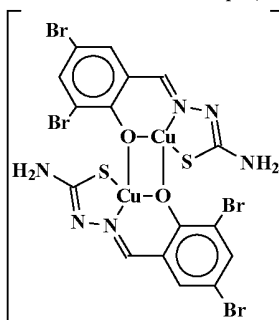
10

Proprietățile depistate ale compusului sintetizat și studiat prezintă interes din punct de vedere al lărgirii arsenalului de remedii antimicrobiene.

(57) Revendicări:

15

1. Di(μ -O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru) cu formula:



2. Compus conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că manifestă activitate antibacteriană.

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 2003 C2 2002.09.30

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

EGOROVA Tamara

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2004 0095		
(22) Data depozit: 2004.04.27		
(51) ⁷ : C 07 F 1/08; C 07 C 47/55, 47/56, 337/08, 215/16; A 61 K 31/175, 31/30; A 61 P 31/04		
Alți indici de clasificare:		
(54) Titlul : Di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru)		
(71) Solicitantul : UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD		
Termeni caracteristici :		
a) limba română: Di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru)		
b) limba engleză: Di(μ-O)-bis(3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazonatocupru)		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.- 7)		
Int. Cl. ⁷ C 07 F 1/08; C 07 C 47/55, 47/56, 337/08, 215/16; A 61 K 31/175, 31/30; A 61 P 31/04 MD 1994-2004 EA 1995-2004 SU 1970-1991		
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)		
1. Bazele de date internaționale (Internet) BD FIPS (RU) Oficiul European de Brevete (ep. Espacenet.com) SUA (www.uspto.gov) Romania (www.osim.ro) 2. CD-rom (Rusia, SUA)		
IV. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 2003 C2 2002.09.30	1
<input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV		<input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate
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
E - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă cand documentul este luat de unul singur
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau poate contribui la determinarea datei 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 divulgare		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2005.10.20
Examinatorul		EGOROVA Tamara