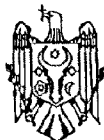




MD 4125 B1 2011.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4125** ⁽¹³⁾ **B1**

(51) Int. Cl.: *C07D 271/10* (2006.01)
C07D 271/113 (2006.01)
C07C 335/08 (2006.01)
C07C 335/14 (2006.01)
A61K 31/17 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

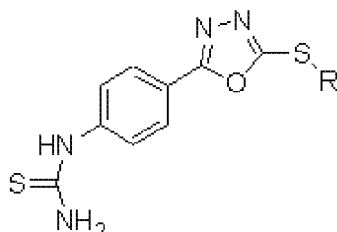
Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2010 0103 (22) Data depozit: 2010.09.17	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2011.08.31, BOPI nr. 8/2011
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: MACAEV Fliur, MD; RIBKOVSKAIA Zinaida, MD; POGREBNOI Serghei, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) **Compuși 1,3,4-oxadiazolici cu proprietăți antituberculoase conținând tiouree monosubstituită**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la compuși 1,3,4-oxadiazolici, ce conțin tiouree monosubstituită, în special la derivații lor care manifestă proprietăți antituberculoase.

Compușii, conform invenției, corespund formulei generale:



unde:

R = benzil (1a);
R = 2,4-diclorfenacil (1b);
R = alil (1c);
R = piridin-4-ilmetil (1d).

Sinteza include următoarele etape: hidrazinoliza p-aminobenzoatului de etil, ciclizarea-izotiocianarea-tiolarea hidrazidei obținute cu disulfură de tetrametiltiuram în DMF, tioalchilarea și, în final, amonoliza grupei izotiocanat cu soluție apoasă de amoniac.

Compușii manifestă proprietăți de inhibare a creșterii culturilor *Mycobacterium tuberculosis*.

Revendicări: 1

(54) **1,3,4-Oxadiazole compounds with antituberculous properties containing**

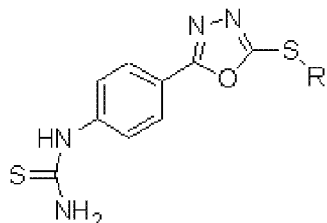
MD 4125 B1 2011.08.31

monosubstituted thiourea

(57) Abstract:

The invention relates to 1,3,4-oxadiazole compounds containing monosubstituted thiourea, in particular to their derivatives manifesting antituberculous properties.

The compounds, according to the invention, correspond to general formula:



where:

R = benzyl (1a);
R = 2,4-dichlorophenacyl (1b);
R = allyl (1c);
R = pyridin-4-ylmethyl (1d).

The synthesis includes the following stages: hydrazinolysis of ethyl-p-aminobenzoate, cyclization-isothiocyanation-thiolation of the obtained hydrazide with tetramethylthiuram disulphide in DMF, thioalkylation and finally ammonolysis of the isothiocyanate group with ammonia aqueous solution.

The compounds manifest *Mycobacterium tuberculosis* culture growth inhibition properties.

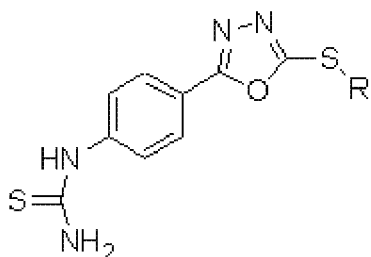
Claims: 1

(54) 1,3,4-Оксадiazольные соединения с антитуберкулезными свойствами содержащие однозамещенную тиомочевину

(57) Реферат:

Изобретение относится к 1,3,4-оксадiazольным соединениям, содержащим однозамещенную тиомочевину, в частности к их производным, проявляющим анти-туберкулезные свойства.

Соединения, согласно изобретению, соответствуют общей формуле:



где:

R = бензил (1a);
R = 2,4-дихлорфенацил (1b);
R = аллил (1c);
R = пиридин-4-илметил (1d).

Синтез включает следующие стадии: гидра-зинолиз этил-п-аминобензоата, циклизацию-изотиоцианирование-тиолирование полученного гидразида с тетраметилтиурамдисульфидом в ДМФА, тиоалкилирование и в завершении аммонолиз изотиоцианат группы водным раствором аммиака.

Соединения проявляют свойства ингибирования роста культур *Mycobacterium tuberculosis*.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la compușii 1,3,4-oxadiazolici, ce conțin tiouree monosubstituită, în special la derivații lor care manifestă proprietăți antituberculoase.

5 Este cunoscut faptul că tuberculoza (TB), fiind contagioasă, este una dintre cele mai răspândite maladii și se caracterizează printr-o rată înaltă de mortalitate la nivel mondial [1].

Dezavantajele remediilor folosite la tratarea tuberculozei constau în eficacitatea redusă, toxicitatea lor, manifestarea diferitor efecte secundare. Dezavantajele menționate, precum și dezvoltarea rezistenței bacteriene la majoritatea preparatelor antituberculoase cunoscute în medicină sunt o motivare serioasă și

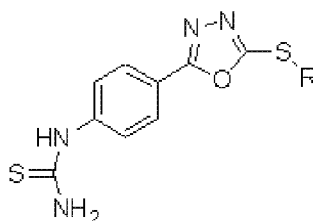
10 evidențiază necesitatea elaborării a noi remedii antituberculoase, mai sigure și mai eficiente [2].
1,3,4-Oxadiazolii reprezintă o clasă importantă a compușilor pentaatomici heterociclici cu o gamă largă de activități biologice. Posibilitatea de a varia substituenții inelului aromatic al acestor compuși heterociclici, prezența grupării reactive de tiol în moleculă și diversele reacții ale acestor grupări pot duce la diversificarea substanțelor cu acțiune fiziologică, inclusiv antimicrobiană.

15 Anterior, a fost sintetizată o serie de 1,3,4-oxadiazoli 2,5-disubstituiți și testată activitatea lor antituberculoasă împotriva tulpinii H37Rv [3].

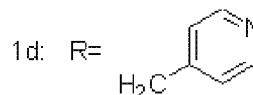
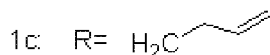
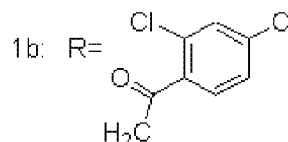
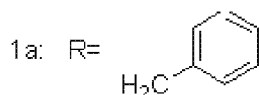
Este important de a menționa că un rol important în structura oxadiazolilor, care fac parte din substanțe-precursori pentru preparate medicamentoase noi cu activitate biologică pronunțată, are prezența în inelul aromatic a grupării lipofile sau hidrofile. O atenție specială merită derivații 1,3,4-oxadiazolilor care includ tiouree monosubstituită ca purtător de funcție hidrofilă, cum este grupa aminică.

20 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în lărgirea gamei de substanțe cu activitate antituberculoasă cu compuși noi heterociclici din clasa 1,3,4-oxadiazolilor 2,5-disubstituiți, care conțin suplimentar un reziduu de tiouree N-monosubstituită.

Compușii, conform invenției, corespund formulei generale:



25 unde



(R=benzil (1a); R=2,4-diclorfenacil (1b), R=alil (1c); R=piridin-4-ilmetil (1d)), și manifestă proprietăți de inhibare a creșterii tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis*.

30 Esența invenției constă în sinteza compușilor noi bioactivi: 1-(4-(5-(benziltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1a), 1-(4-(5-(2-(2,4-diclorfenil)-2-oxoetil)tiouree)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1b), 1-(4-(5-(aliltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1c), 1-(4-(5-(piridin-4-ilmetiltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1d) cu proprietăți antituberculoase.

35 Rezultatul invenției constă în aceea că au fost obținuți compuși noi, care la testarea împotriva *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv au manifestat activitate de inhibare mai mare de 90%.

Exemplu de realizare a invenției

Ca materie inițială a fost folosită anestezină (p-aminobenzoat de etil). Prin hidrazinoliza esterului cu hidrat de hidrazină a fost obținută hidrazida corespunzătoare, care într-un singur stadiu a fost ciclizată, concomitent în feniloxadiazolul rezultat fiind introduse grupările tiol și izotiocianat. Transformările

menționate au fost efectuate cu disulfură de tetrametiltiuram (DTMT) în DMF printr-o procedură descrisă anterior (Rusu G.G., Guțu E.E., Barba N. A. Russ. J. Org. Chem. 1995, 31, p. 1721).

Conform metodelor descrise mai jos s-a alchilat sulfurul tiolic, iar în final gruparea izotiocianat a fost transformată în tiouree N-monosubstituită prin amonoliză cu soluție apoasă de amoniac.

5 **Sinteza compusului 2-(benziltio)-5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol**

La o soluție de 5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiol 1 g (4,25 mmol) în 20 mL de acetonă și trietilamină 0,43 g (4,25 mmol), la temperatura camerei, a fost adăugată soluție de clorură de benzil 0,54 g (4,25 mmol) în 5 mL de acetonă la agitare. Amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore la temperatura camerei. Precipitatul voluminos a fost filtrat, spălat cu apă, acetonă și uscat la aer.

10 Randamentul 1,11 g (81%). Punctul de topire 139...141°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

$C_{16}H_{11}N_3OS_2$, 325,41

Calculat, %: C, 59,06; H, 3,41; N, 12,91.

Găsit, %: C, 59,11; H, 3,44; N, 12,96;

15 IR(cm^{-1}): 1603 (C=N), 2098 (NCS), 2724 (SCH₂);

RMN (DMSO- d_6): 4,51 (s, 2H, SCH₂), 7,23...8,11 (m, 9H, Ar).

Derivații apropiați au fost obținuți prin aceeași metodă.

1-(2,4-Diclorfenil)-2-(5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-iltio)etanon

20 Randamentul 83%. Punctul de topire 169...170°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

$C_{17}H_9Cl_2N_3O_2S_2$, 422,31

Calculat, %: C, 48,35; H, 2,15; N, 9,95.

Găsit, %: C, 48,39; H, 2,19; N, 9,92;

25 IR(cm^{-1}): 1517 (C=N), 1664 (C=O), 2135 (NCS), 2724 (SCH₂);

RMN (DMSO- d_6): 4,87 (s, 2H, SCH₂), 7,52...8,08 (m, 7H, Ar).

2-(Aliltio)-5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol

Randamentul 87%. Punctul de topire 119...120°C (substanță cristalină).

30 Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

$C_{12}H_9N_3OS_2$, 275,35

Calculat, %: C, 52,34; H, 3,29; N, 15,26.

Găsit, %: C, 52,36; H, 3,26; N, 15,28;

IR(cm^{-1}): 1603 (C=N), 2108 (NCS), 2566 (SCH₂);

35 RMN (DMSO- d_6): 3,98 (d, $J = 6,76$ Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 5,10...5,46 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 5,75...6,17 (m, 1H, CH₂-CH=CH₂), 7,63 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, Ar), 7,98 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, Ar).

2-(4-Piridilmetilsulfonil)-5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol

40 La o soluție de 5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiol 1,41 g (6 mmol) în 30 mL de acetonă și trietilamină 1,21 g (12 mmol), a fost adăugată suspensie de hidrociorură de 4-clormetilpiridină 1 g (6,1 mmol) în 10 mL de acetonă. Amestecul de reacție a fost încălzit cu reflux timp de două ore. Solventul a fost evaporat, precipitatul a fost spălat cu apă, acetonă și uscat la aer. Randamentul 1,56 g (80%). Punctul de topire 151...152°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

45 $C_{15}H_{10}N_4OS_2$, 326,39

Calculat, %: C, 55,20; H, 3,09; N, 17,17.

Găsit, %: C, 55,25; H, 3,11; N, 17,21;

IR(cm^{-1}): 1600 (C=N), 2096 (NCS), 2591 (SCH₂);

RMN (DMSO- d_6): 4,51 (s, 2H, SCH₂), 7,43...8,58 (m, 8H, Ar).

50 **1-(4-(5-(Benziltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1a)**

La o soluție de 2-(benziltio)-5-(4-izotiocianatofenil)-1,3,4-oxadiazol 3 g (9,23 mmol) în 40 mL de benzen a fost adăugat hidroxid de amoniu 0,7 g (20 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit cu reflux timp de trei ore. Substanța formată a fost filtrată, spălată cu benzen și uscată la aer. Randamentul 2,43 g (77%). Punctul de topire 179...180°C (substanță cristalină).

55 Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

$C_{16}H_{14}N_4OS_2$, 342,43

Calculat, %: C, 56,12; H, 4,12; N, 16,36.

Găsit, %: C, 56,15; H, 4,17; N, 16,38;
 IR(cm^{-1}): 1469(C=S), 1656(C=N), 2727 (SCH₂), 3110 (NH), 3330 (NH₂);
 RMN (DMSO- d_6): 4,57 (s, 2H, SCH₂), 6,98...8,05 (m, 11H, Ar, NH₂), 9,93 (s, 1H, NH).
 Compușii 1b-1d au fost obținuți prin aceeași metodă.

5

1-(4-(5-(2-(2,4-Diclorfenil)-2-oxoetil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1b)

Randamentul 79%. Punctul de topire 170...171°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

C₁₇H₁₂Cl₂N₄O₂S₂, 439,33

10 *Calculat*, %: C, 46,47; H, 2,75; N, 12,75.

Găsit, %: C, 46,52; H, 2,79; N, 12,79;

IR(cm^{-1}): 1477(C=S), 1620(C=N), 1664(C=O), 2923(SCH₂), 3174 (NH), 3448 (NH₂);

RMN (DMSO- d_6): 5,01 (s, 2H, SCH₂), 7,38...8,11 (m, 9H, Ar, NH₂), 9,93 (s, 1H, NH).

15 **1-(4-(5-(Aliltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1c)**

Randamentul 79%. Punctul de topire 173...174°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

C₁₂H₁₂N₄OS₂, 292,37

Calculat, %: C, 49,29; H, 4,14; N, 19,16.

20 *Găsit*, %: C, 49,32; H, 4,17; N, 19,21;

IR(cm^{-1}): 1347(C=S), 1657(C=N), 2729(SCH₂), 3089 (NH), 3337 (NH₂);

RMN (DMSO- d_6): 3,94 (d, $J=6,81$ Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 5,07...5,41 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 5,74...6,24 (m, 1H, CH₂-CH=CH₂), 7,33...7,95 (m, 6H, Ar, NH₂), 10,05 (s, 1H, NH).

25 **1-(4-(5-(Piridin-4-ilmetiltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree (1d)**

Randamentul 82%. Punctul de topire 203...204°C (substanță cristalină).

Structura compusului a fost confirmată pe baza analizelor elementelor chimice:

C₁₅H₁₃N₅OS₂, 343,42

Calculat, %: C, 52,46; H, 3,82; N, 20,39.

30 *Găsit*, %: C, 52,49; H, 3,87; N, 20,43;

IR(cm^{-1}): 1473(C=S), 1669(C=N), 2742(SCH₂), 3087 (NH), 3343 (NH₂);

RMN (DMSO- d_6): 4,55 (s, 2H, SCH₂), 7,91...8,55 (m, 10H, Ar, NH₂), 9,93 (s, 1H, NH).

Activitatea biologică

35 Activitatea antituberculoasă a compușilor sintetizați a fost determinată prin metoda descrisă în MD 4009 C2.

Compușii sintetizați (1a-d) au fost testați *in vitro* pentru activitatea antimicobacteriană împotriva *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Valorile procentului de inhibare (P.I. - inhibarea relativă a creșterii bacteriene la concentrația minimă de inhibare (CMI) - 6,25 mg/mL) pentru compușii sintetizați împotriva tuberculozei H37Rv sunt prezentate în tabelul de mai jos. Rifampicina a fost folosită ca standard de control în testele de inhibare *in vitro* a tuberculozei H37Rv.

40

Tabel

Activitatea de inhibare antituberculoasă a compușilor revendicați

45

	1a	1b	1c	1d	Rifampicină
P.I.(%)	91	93	98	97	100
CMI (mg/mL)	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25

După cum se vede din datele obținute, compușii revendicați: 1-(4-(5-(benziltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree, 1-(4-(5-(2-(2,4-diclorfenil)-2-oxoetil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree, 1-(4-(5-(aliltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree, 1-(4-(5-(piridin-4-ilmetiltio)-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil)tiouree posedă activitate antituberculoasă pronunțată și pot fi utilizați în chimia farmaceutică.

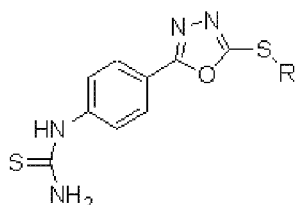
50

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Gabriel Navarrete-Vazquez, Gloria Mar ?a Molina-Salinas, Zetel Vahi Duarte-Fajardo, Javier Vargas-Villarreal, Samuel Estrada-Soto, Francisco Gonzalez-Salazar, Emanuel Hernandez-Nunez, Salvador Said-Fernandez. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 15, Issue 16, 15 August 2007, p. 5502-5508
2. Hamish S. Sutherland, Adrian Blaser, Iveta Kmentova, Scott G. Franzblau, Baojie Wan, Yuehong Wang, Zhenkun Ma, Brian D. Palmer, William A. Denny, and Andrew M. Thompson. *J. Med. Chem.* 2010, 53, pp. 855-866.
3. Fliur Macaev, Ghenadie Rusu, Serghei Pogrebnoi, Alexandru Gudima, Eugenia Stingaci, Ludmila Vlad, Nathaly Shvets, Fatma Kandemirli, Anatholy Dimoglo, and Robert Reynolds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 13, 2005, p. 4842-4850

(57) Revendicări:

Compuși 1,3,4-oxadiazolici conținând tiouree monosubstituită cu formula generală:



unde:

R = benzil (1a);

R = 2,4-diclorfenacil (1b);

R = alil (1c);

R = piridin-4-ilmetil (1d);

care manifestă proprietăți de inhibare a creșterii culturilor *Mycobacterium tuberculosis*.

Director adjunct Departament:

GROSU Petru

Examinator:

JOVMIR Tudor

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: a 2010 0103 (22) Data depozit: 2010.09.17 (54) Titlul: Compuși 1,3,4-oxadiazolici cu proprietăți antituberculoase conținând tiouree monosubstituită (71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (51) (Int.Cl): Int. Cl.: C07D 271/10 (2006.01) <i>C07D 271/113</i> (2006.01) <i>C07C 335/08</i> (2006.01) <i>C07C 335/14</i> (2006.01) <i>A61K 31/17</i> (2006.01) <i>A61P 31/06</i> (2006.01) (32) Data de prioritate recunoscută: Raport de documentare internațională: ☐ da		
II. Condiții de unitate a invenției: ☒ satisface ☐ nu satisface Note:		
III. Revendicări: claritatea, susținerea de descriere Note: ☒ satisface ☐ nu satisface		
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare) MD « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stânga/dreapta) – oxadiazol; tuberculo; "Worldwide" (Espacenet) – oxadiazol* ; « 1,3,4, oxadiazol-5-ylthio » antituberculo* ; tuberculo* ; «T.B.» EA, CIS (Eapatis) – оксадиазол*- SU (nonpublic) – Alte BD –		
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate SCIRUS Google		
VI. Documente considerate a fi relevante		
Categorie*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	JP72582234 (1995.10.09)	
A	GB729891 (1955.05.11)	

A	GB925911 (1963.05.15)	
A	Chang Hoon Lee, Hyun In Cho, and Kee-Jung Lee. Bull. Korean Chem. oc. 2001, vol.22, No. 1153 (regăsit in Internet la 2011.05.12, url: http://pdf.easechem.com/pdf32/f0038874-65de-4d17-ad40-5ca8992fa8b7.pdf)	
A	Harish Rajak, Murli Dhar Khary and Pradeep Mishra. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 2009, vol. 2, issue 1, p.390. (regăsit în Internet la 2011.05.12, url: http://ijpsnonline.com/Issues/310.pdf)	
A	MD613 G2 (1996.11.30)	
A	JP72582234 (1995.10.09)	
A	GB925911 (1963.05.15)	
A	GB729891 (1955.05.11)	
A	Harish Rajak, Murli Dhar Khary and Pradeep Mishra. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 2009, vol. 2, issue 1, p390. (Regăsit în Internet la 2011.05.12, url: http://ijpsnonline.com/Issues/310.pdf)	
A	Chang Hoon Lee, Hyun In Cho, and Kee-Jung Lee. Bull. Korean Chem. Soc. 2001, Vol. 22, No. 10 1153 (regăsit în Internet la 2011.05.12, url: http://pdf.easechem.com/pdf/32/f0038874-65de-4d17-ad40-5ca8992fa8b7.pdf)	
* 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 inainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării 2011.05.24		
Examinator JOVMIR Tudor		