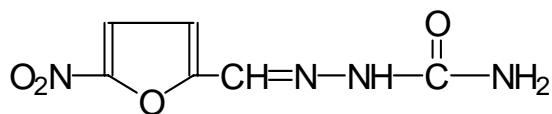


**Descriere:**

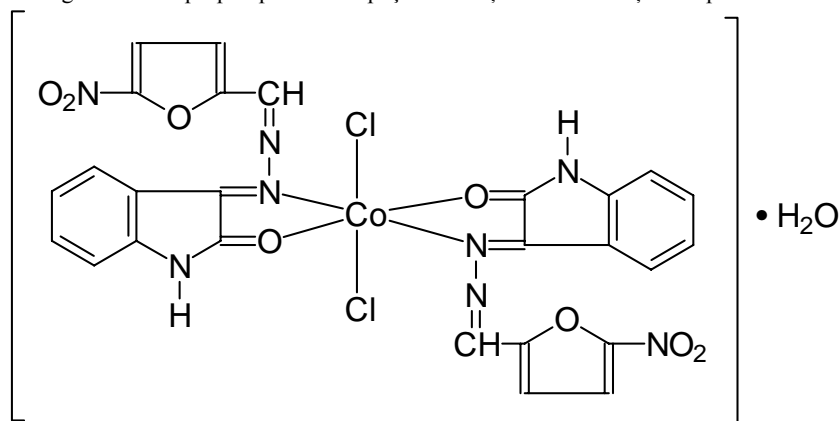
Invenția se referă la industria chimico-farmaceutică și este destinată obținerii substanțelor ce posedă acțiuni antimicrobiană și antimicotică.

Ca analog structural pentru compușii declarați este furacilina, care este pe larg folosită în medicină și care are următoarea structură:



Toxicitatea ei - LD<sub>50</sub> = 166,7 mg/kg, iar concentrația minimă care inhibă creșterea majorității tulpinilor de microorganisme alcătuiește 11,7-23,2 μg/ml [1].

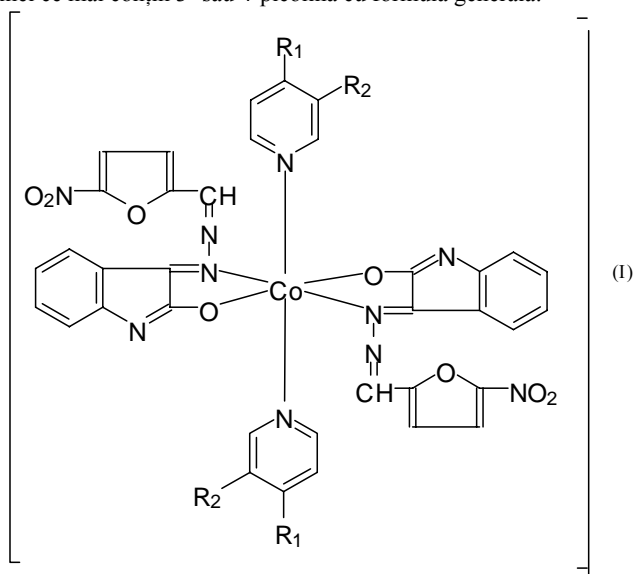
Analogul cel mai apropiat pentru compușii declarați este combinația complexă a cobaltului (2<sup>+</sup>) cu formula:



Această substanță posedă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile din genul *Staphylococcus*, *Bacillus anthracis* și *Escherichia coli* în concentrație de 3,12-300 μg/ml [2].

Problema invenției constă în cercetarea noilor combinații coordonative cu activitate antimicrobiană mai sporită.

Problema s-a realizat în urma sintezei combinațiilor complexe interne ale cobaltului cu β-(5-nitrofuril-2-metilenhidrazona) isatinei ce mai conțin 3- sau 4-picolină cu formula generală:



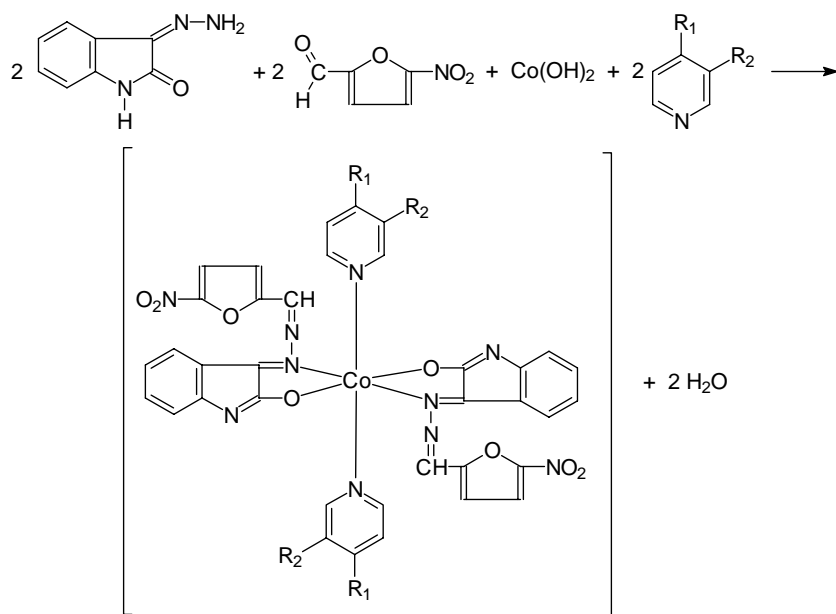
în care R<sub>1</sub> = H, CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>, H.

Analiza comparativă cu analogul structural demonstrează că compușii solicitați se deosebesc de analogul cel mai apropiat prin următoarele:

- fragmentul isatinic al hidrazonei se află în formă tautomică isatin-lactică deprotonată;
- în sfera internă a complexului în locul ionilor de clor au fost introduse picolinele 3 și 4.

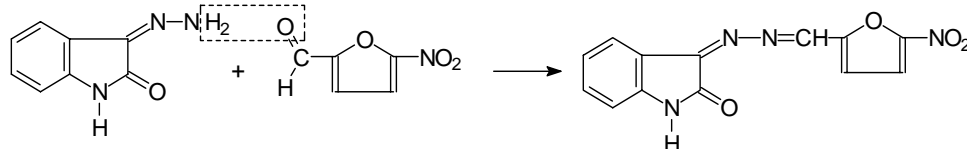
Datorită acestor deosebiri în substanțele cu formula I apare o nouă combinație a tipurilor cunoscute de legături.

Compușii cu formula I au fost obținuți la interacțiunea suspensiei hidroxidului de cobalt (2<sup>+</sup>) în etanol cu soluția alcoolică a β-hidrazonei isatinei și 5-nitrofurufurului luați în raport molar de 1:2:2 în prezența 3- sau 4-picolinei (pH=8-9) după următoarea reacție:



în care  $R_1=H, CH_3$ ;  $R_2=CH_3, H$ .

Mecanismul formării substanțelor cu formula I constă în următoarele: în amestecul reactant are loc condensarea  $\beta$ -hidrazonului isatinei cu 5-nitrofurfurul la azotul  $N^2$  și se formează  $\beta$ -(5-nitrofuril-2-metilenhidrazona) isatinei



care în prezența ionilor de hidroxid se transformă în forma tautomică isatin-lactimică cu deprotonare și formează cu ionul generator de complex în prezența 3- sau 4-picolinei produse finale: compusul I cu  $R_1 = H$  și  $R_2 = CH_3$  și compusul II cu  $R_1=CH_3$  și  $R_2=H$ .

Metoda de obținere a substanțelor declarate este simplă, substanțele inițiale sunt accesibile, iar randamentul sintezei alcătuiește 72-74%. Substanțele se depun în precipitat în formă de cristale mărunte de culoare cafeniu-întunecată. Ele sunt stabile în aer, ușor solubile în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, puțin solubile în alcoolii alifatici, acetonă, apă și practic insolubile în eter.

Determinarea conductivității molare a compușilor I și II în dimetilformamidă a demonstrat că aceștia nu sunt electroliți ( $\mu_{100}^{20}$  (I)= $2 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $\mu_{100}^{20}$  (II)= $4 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

Pe baza cercetărilor magnetochimice s-a stabilit că substanțele declarate sunt paramagnetice. După valorile momentelor magnetice ( $\mu_{\text{ef}}(\text{I})=5,03 \text{ mB}$ ,  $\mu_{\text{ef}}(\text{II})=4,93 \text{ mB}$ ) la temperatura camerei ( $293^\circ \text{ K}$ ), concluzionăm că ele au structură octaedrică.

Pentru a determina modul de coordonare a liganzilor cu ionul de cobalt ( $2^+$ ) au fost examinate spectrele IR ale acestor substanțe. S-a stabilit că hidrazona în complexii I și II se află în forma isatin-lactimică deprotonată și se comportă ca un ligand bidentat ce adăunează la atomul central prin intermediul atomului de oxigen al isatinei și azotului  $N^1$ , formând un ciclu din cinci atomi. Dispariția în spectrele IR ale complexilor I și II a benzilor de absorbție  $\nu(\text{NH})$  în domeniul  $3460 - 3450 \text{ cm}^{-1}$  și  $\nu(\text{C=O})$  în domeniul  $1770-1760 \text{ cm}^{-1}$  confirmă această idee. De asemenea, are loc scindarea benzii de absorbție  $\nu(\text{C=N})$  și deplasarea ei cu  $50-35 \text{ cm}^{-1}$  în domeniul cu frecvență mai joasă, iar în domeniul  $1295-1285$  și  $530-405 \text{ cm}^{-1}$  apare o serie de benzi noi cauzate de absorbțiile  $\nu(\text{C=O})$ ,  $\nu(\text{Co-N})$  și  $\nu(\text{Co-O})$  respectiv.

Participarea altor grupe funcționale ale hidrazonului la coordonare cu atomul de cobalt este exclusă, deoarece benzile lor de absorbție caracteristice practic nu se schimbă în comparație cu spectrele  $\beta$ -hidrazonului isatinei și 5-nitrofurfurului. Prezența 3- sau 4-picolinei în sfera coordonativă interioară a complexilor I și II este confirmată de prezența în spectrele IR ale acestor substanțe a benzilor de absorbție caracteristice pentru inelul picolinic:  $\nu(\text{CH})$   $3100, 3050 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(\text{C-C}) + \delta(\text{C-CH})$   $1610, 1485, 1425 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\delta(\text{C-CH})$   $1230, 1065, 1025 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\rho(\text{CH})$   $690, 600 \text{ cm}^{-1}$ .

Analiza termică a compușilor declarați I și II a demonstrat că descompunerea lor trece prin stadiul degajării aminelor ( $T(\text{I})=T(\text{II}) = 195^\circ \text{ C}$ , iar descompunerea lor termică totală are loc la temperatura de  $440^\circ \text{ C(I)} - 450^\circ \text{ C(II)}$ ).

Substanțele se sintetizează prin modul următor:

#### Exemplul I

Bis[ $\beta$ -(5-nitrofuril-2-metilenhidrazonă) isatină]di(3-picolină)cobalt. La soluția obținută prin dizolvarea  $\beta$ -hidrazonului isatinei cu masa de  $0,81 \text{ g}$  ( $5 \text{ mmol}$ ) și a 5-nitrofurfurului cu masa de  $0,76 \text{ g}$  ( $5 \text{ mmol}$ ) în  $30 \text{ ml}$  de etanol se adaugă  $0,23 \text{ g}$  ( $2,5 \text{ mmol}$ ) de hidroxid de cobalt proaspăt preparat și  $5 \text{ ml}$  de 3-picolină ( $\text{pH}=8-9$ ). Amestecul reactant este încălzit pe baie de apă timp de  $1,5 \text{ ore}$ , după care este răcit. Precipitatul depus este filtrat, spălat cu etanol, eter și uscat în aer. Randamentul este de  $1,49 \text{ g}$ , ceea ce alcătuiește  $74\%$  în comparație cu cel teoretic.

Determinat, în %: C-56,37; N-3,25; N-17,42; Co-7,19. Pentru  $\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{N}_{10}\text{O}_8\text{Co}$  s-a calculat, în %: C-56,23; H-3,45; N-17,26; Co-7,27.

### Exemplul II

Bis[ $\beta$ -(5-nitrofuril-2-metilenhidrazonă) isatină]di(4-picolină)cobalt. Compusul este sintetizat ca cel precedent la interacțiunea soluției ce conține 0,81 g (5 mmol) de  $\beta$ -hidrazonă a isatinei și 0,71 g (5 mmol) de 5-nitrofurfural în 30 ml de etanol cu 0,23 g (2,5 mmol) de hidroxid de cobalt proaspăt preparat și 5 ml de 4-picolină (pH=8-9). Randa mentul alcătuiește 1,45 g sau 72%.

Determinat, în %: C-56,16; H-3,37; N-17,31; Co-7,09. Pentru  $C_{38}H_{28}N_{10}O_8Co$  s-a calculat, în %: C-56,23; H-3,45; N-17,26; Co-7,27.

Cercetarea activității antimicrobiene a compușilor I și II a fost efectuată prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat de 2%, pH=7,0). Substanțele cercetate au fost dizolvate în dimetilsulfoxid cu concentrația de 1 mg/ml, iar diluțiile ulterioare până la concentrațiile necesare au fost efectuate în bulion peptonat.

Cercetările s-au efectuat cu următoarele tulpini de microorganisme: *Staphylococcus aureus* (Cowan-1, Wood-46, Smith, 209 P), *Staphylococcus epidermidis* (42-a), *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus anthracis* (STI), *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Pentru însămânțare au fost folosite tulpini ale microorganismelor indicate, crescute pe geloză în decurs de 18 ore, spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare constituie 500 mii corpi microbieni la 1 cm<sup>3</sup> de mediu (după standardul optic de opalescență). Eprubetele au fost agitate și termostatare la temperatura de 37°C, timp de 24 de ore. În calitate de control a servit mediul nutritiv însămânțat cu aceleași tulpini fără compușii I și II. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual. Activitatea bacteriostatică a fost apreciată în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid.

Proprietățile antimicotice ale complexelor I și II au fost studiate în cadrul cercetărilor efectuate asupra tulpinilor clinice de ciuperci *Candida albicans* și *Penicillium*. Activitatea lor a fost determinată în mediul nutritiv lichid Saburo (pH=6,8). Probele au fost pregătite din culturi de ciuperci de două săptămâni. Timpul de incubație a însămânțărilor ciupercii *Candida* constituia 24 de ore, ale *Penicillium* - 6 zile la temperatura de 37°C.

Cercetările la toxicitate s-au efectuat *in vivo* pe șoareci albi prin introducerea în stomac a suspensiei substanței în apă fiartă.

Rezultatele obținute sunt expuse în tabel, din care rezultă, că compușii declarați manifestă activitate bacteriostatică asupra tuturor microorganismelor cercetate în concentrația de 0,03-12,5  $\mu$ g/ml.

În tabel sunt prezentate, de asemenea, date despre activitatea antimicrobiană și toxicitatea furacilinei (analogul structural), folosit în practica medicală, de asemenea dicloro-bis [ $\beta$ -(5-nitrofuril-2-metilenhidrazonă) isatină] cobaltului monohidrat, care este analogul cel mai apropiat al substanțelor declarate. Datele prezentate în tabel dovedesc că complexii I și II posedă activitate bacteriostatică de 16-40 de ori mai înaltă decât furacilina și de 2,5-30 de ori mai înaltă decât analogul cel mai apropiat.

După toxicitate compușii declarați se referă la clasa substanțelor puțin toxice, în timp ce furacilina este mai toxică de 11,3-11,8 ori și se referă la clasa compușilor cu toxicitate medie. În tabel, de asemenea, sunt prezentate rezultatele cercetărilor proprietăților antimicotice ale compușilor declarați comparativ cu reprezentanții ciupercilor asemănători cu drojdiile și cu mușgaiul. S-a constatat că complexii I și II manifestă activitate antimicotică mai înaltă în comparație cu unele preparate, aplicate în practica medicală.

Proprietățile descoperite ale compușilor sintetizați prezintă interes din punct de vedere a lărgirii fondului de rezervă a mijloacelor antimicrobiene și antimicotice.

Tabel  
Complecși ai cobaltului cu proprietăți antimicrobiene și antimicotice

Tulpini de microorganisme	Compușii	Furacilină (analogul structural) $\mu$ g/ml	Dicloro-bis [ $\beta$ -(5-nitrofuril-2-metilenhidrazonă) isatină] cobalt monohidrat (analogul cel mai apropiat) $\mu$ g/ml	Compușii declarați $\mu$ g/ml	
				I	II
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	8,0	6,25
<i>Escherichia coli</i> (M-17)	10,0	75,0	75,0	2,5	2,5
<i>Proteus vulgaris</i>	-	37,5	37,5	3,1	3,1
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	75,0	75,0	2,5	2,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	0,6	0,6
<i>Bacillus cereus</i>	5,0	-	-	0,3	0,3
<i>Bacillus anthracis</i> (STI)	2,5	3,12	3,12	1,25	2,5
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	-	-	1,25	1,25
Cowan-1	10,0	-	-	0,6	0,6
(continuare)					
<i>Staphylococcus aureus</i> Wood-46	10,0	3,12	3,12	0,3	0,3
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	2,5	-	-	0,3	0,3
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	12,0	-	-	0,3	0,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,5	-	-	0,125	0,125
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	0,03	0,03
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	10,0	10,0
<i>Penicillium</i>	-	-	-	12,5	12,5
LD <sub>50</sub> , mg/kg	166,7	*	*	1960	1890

\*) LD<sub>50</sub> nu s-a determinat din cauza activității joase a compusului.