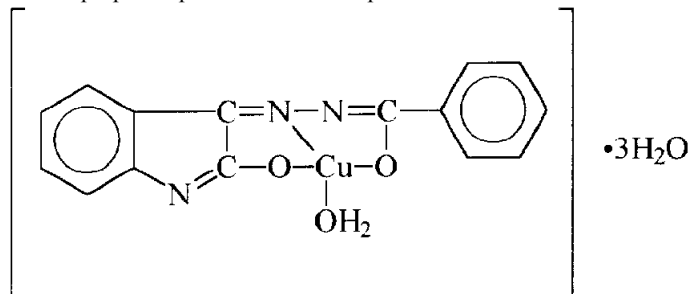


Descriere:

Invenția se referă la substanțele biologice active din clasa compușilor coordinativi ai metalelor de tranziție cu hidrazoni și anume di(μ -O)-di[N-(2-oxo-1-naftal)-N'- α -oxobenzalhidrazincupru] dihidrat. Complexul declarat posedă proprietăți antimicrobiene selective și poate fi aplicat în medicină (microbiologie) în calitate de ingredient pentru crearea mediilor nutritive selective.

În practica medicală în calitate de preparat antimicrobian se utilizează furacilina. Ea inhibă creșterea și multiplicarea majorității speciilor de microorganisme grampozitive și gramnegative în limitele concentrației de 4,67-9,35 $\mu\text{g/ml}$ [1]. Totodată furacilina nu posedă proprietăți selective, în special față de stafilococi, și nu poate fi utilizată în cazurile când se cere o activitate antimicrobiană mai înaltă.

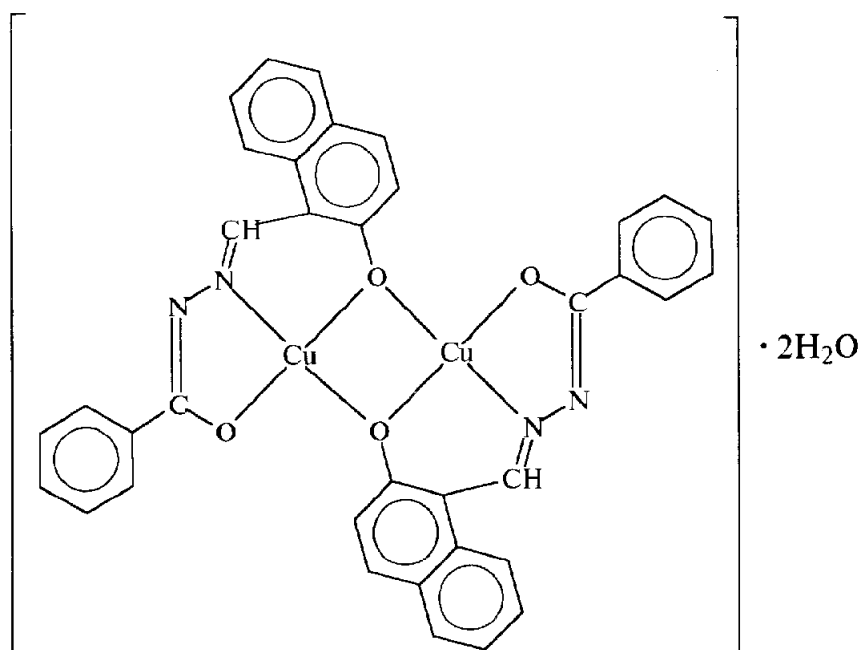
Cel mai apropiat după structură de compusul coordinativ declarat este complexul cuprului (II) cu formula:



Acest compus manifestă activitate antimicrobiană față de stafilococi și Escherihia coli în concentrații mai mari de 300 $\mu\text{g/ml}$ [2].

Problema pe care o rezolvă invenția este elaborarea unui compus cu o activitate antimicrobiană înaltă și proprietăți antimicrobiene selective față de stafilococi.

Esența invenției constă în aceea că se propune o substanță nouă di(μ -O)-di[N-(2-oxo-1-naftal)-N'- α -oxobenzalhidrazincupru] dihidrat, cu formula:



care manifestă proprietăți antimicrobiene selective față de microorganismele grampozitive și gramnegative.

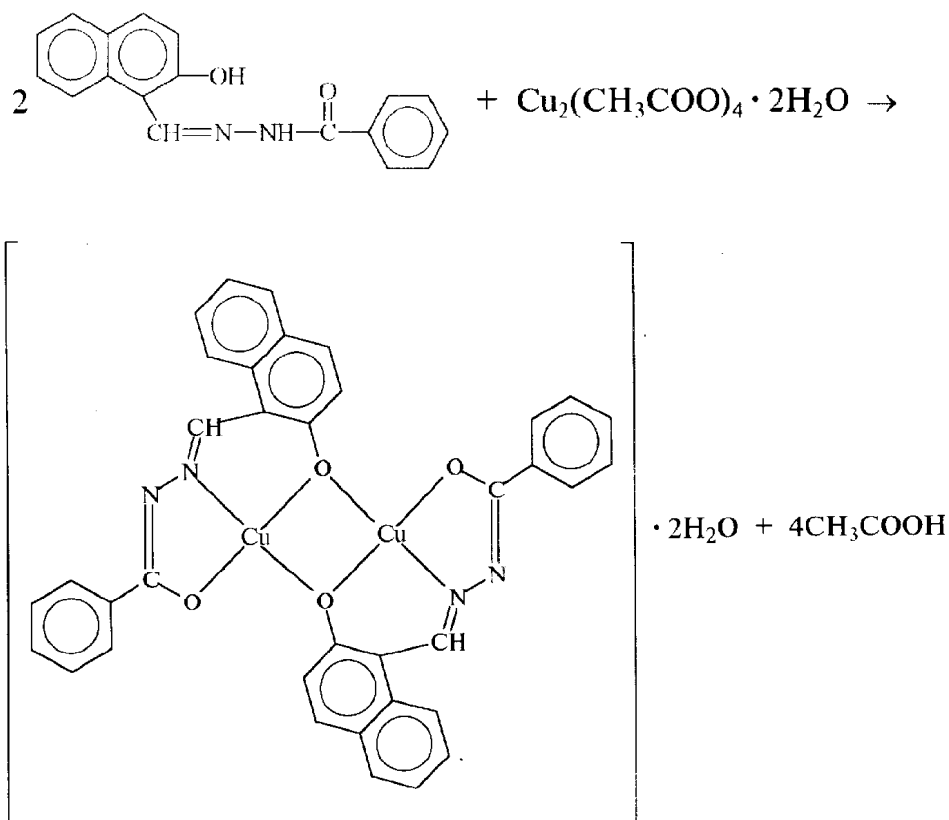
Rezultatul tehnic al invenției constă în aceea că activitatea antimicrobiană a complexului declarat față de bacteriile din genul Staphylococcus crește în comparație cu analogul cel mai apropiat cel puțin de 129 de ori, iar față de Escherihia coli rămâne la același nivel.

Analiza comparativă a complexului declarat și a celui mai apropiat analog demonstrează următoarele particularități:

- 1) primul are o structură dimerică, al doilea - monomerică;
- 2) în analogul cel mai apropiat - ligandul (hidrazona) reprezintă un fragment isatin-lactimic, iar în compusul declarat - naftalidenic;
- 3) al patrulea loc coordinativ în sfera internă a complexelor îl ocupă liganzii de natură diferită.

Datorită prezenței în compusul declarat a particularităților menționate se realizează o combinație nouă a tipurilor de legături cunoscute, ce asigură obținerea rezultatului tehnic al invenției.

Complexul se obține prin interacțiunea suspensiei etanolice fierbinți (50-55°C) de $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ cu benzoilhidrazona 2-hidroxi-naftaldehidei luate în raportul molar de 1:1 timp de 25-30 de min conform următoarei reacții:



Mecanismul de obținere a compusului declarat constă în aceea că în amestecul reactant grupa —NH—C(O)—C₆H₅ a hidrazinei trece din forma cetonică tautomeră în formă enolică (—N=C(OH)—C₆H₅). În prezența acetat-ionului, cu rol de reagent protonoacceptor, decurge deprotonizarea grupelor hidroxilice ale fragmentelor naftolice și hidrazinice. Obținut în acest mod, anionul naftalidenbenzhidrazinic cu încărcătură dublă se coordonează cu ionul de cupru (II), având rolul de ligand tridentat. Al patrulea loc coordinativ la ionul central îl ocupă atomul de oxigen naftolic, având rolul de ligand de punte.

Metoda de obținere a compusului declarat este simplă în utilizare, iar substanțele inițiale sunt accesibile.

Exemplu de obținere a di(μ-O)-di[N-(2-oxo-1-naftal)-N'-α-oxobenzalhidrazincupru] dihidratului.

Se amestecă 50 ml de soluție etanolică, care conține 2.90 g (10 mmoli) de benzoilhidrazona 2-hidroxi-1-naftaldehidei cu 2.0 g (5 mmoli) de Cu₂(CH₃COO)₄·2H₂O, suspendată în 25 ml de alcool. Amestecul reactant este încălzit la baie de apă (50-55°C) cu refrigerent ascendent timp de 25-30 de min. La răcire din soluție se sedimentează un precipitat în formă de cristale mărunte de culoare verde-cafenie, care este filtrat prin filtru de sticlă, spălat cu etanol, eter și uscat la aer. Rândamentul este de 84% (3.11 g) față de cel calculat teoretic.

Găsit, în %: C - 58,11; H - 3,51; N - 7,32; Cu - 17,18. Pentru C₁₈H₁₄N₂O₃Cu este calculat, în %: C - 58,38; H - 3,78; N - 7,57; Cu - 17,30.

Compusul sintetizat este stabil în aer, se dizolvă ușor în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, puțin solubil în alcoolii alifatici și apă, practic insolubil în eter.

Cercetarea vizuală microscopică a complexului declarat a demonstrat, că el se caracterizează prin omogenitate de fază. În absența monocristalelor acestui compus pentru stabilirea individualității componenței și structurii au fost utilizate metode de analiză elementară, magnetochimică, spectroscopică IR și termogravimetrică.

Determinarea conductibilității electrice moleculare a compusului declarat în dimetilformamidă a demonstrat că el nu este electrolit.

În baza cercetărilor magnetochimice s-a stabilit, că complexul posedă momentul efectiv magnetic mai mic (1.51 M.B.) comparativ cu cel spinic (S=1/2), ceea ce demonstrează structura lui polinucleară.

În scopul determinării modului de coordonare a ligandului cu ionul central a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului declarat și benzoilhidrazinei 2-hidroxi-1-naftaldehidei (H₂L). A fost determinat că în spectrele IR ale complexului lipsesc benzile oscilațiilor de valență n(NH) și n(C=O), care în spectrul H₂L sunt prezente la 3215 și 1720 cm⁻¹. Banda la 1750 cm⁻¹ în spectrul hidrazinei este condiționată de oscilațiile de valență C-NH și oscilațiile de deformație NH. În spectrul compusului declarat ea lipsește, dar apar noi benzi la 1665 și 1645 cm⁻¹, condiționate de oscilațiile de valență n(O-C=N) și n(C=N), iar banda la 1600-1595 cm⁻¹ este condiționată de oscilațiile de valență >C=N-N=C<. Acest caracter al spectrului IR demonstrează enolizarea ligandului în procesul de formare a complexului. În afară de aceasta, în spectrul IR al complexului lipsește banda oscilației de valență a grupei OH naftolice, iar banda n(C-O), menționată în spectrul H₂L la 1530 cm⁻¹, este deplasată la 35 cm⁻¹ în domeniul undelor scurte. Așa o deplasare de frecvență înaltă a n(C-O) naftolei, de obicei, se utilizează ca diagnostic la determinarea caracterului de punte al atomului de oxigen naftolic. Prin urmare, hidrazona H₂L în compusul declarat se manifestă ca ligand de punte tridentat deprotonizat de două ori, asociindu-se la atomul de cupru prin oxigenul hidroxidului naftolic, azotul azometinic și oxigenul grupei amidice cu formarea metalociclurilor din cinci și șase atomi. Confirmă aceasta și apariția în spectrul IR al complexului a trei benzi de absorbție noi în domeniul 530-405 cm⁻¹, condiționate de oscilațiile de valență a legăturilor metal-azot (530, 405 cm⁻¹) și metal-oxigen (475 cm⁻¹).

Analiza termică a compusului declarat a demonstrat că termoliza decurge în două trepte: pe derivatogramă la 90°C are loc efectul endotermic cu micșorarea masei, care corespunde detașării moleculelor de apă de cristalizare, iar la 380°C cu efect exotermic are loc destrucția termooxidativă completă a ligandului în complex.

Astfel în baza rezultatelor analizei elementare și cercetării fizico-chimice a fost stabilită componența și structura di(μ-O)-di[N-(2-oxo-1-naftal)-N'-α-oxobenzalhidrazincupru] dihidratului.

Cercetarea activității antimicrobiene a compusului declarat a fost efectuată prin metoda diluțiilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat de 2%, pH=7.0). Substanța cercetată a fost dizolvată în dimetilsulfoxid cu concentrația de 1 mg/ml, iar diluțiile ulterioare până la concentrațiile necesare au fost efectuate în bulion peptonat. În calitate de culturi de referință au fost folosite tulpini de *Staphylococcus aureus* (Wood-46, Cowan-1, Smith, 209P) *Staphylococcus epidermidis* (42-a), *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus anthracis* (STI), *Escherichia coli* (M-17), *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*. Pentru însămânțare a fost folosită cultura microorganismelor indicate crescute pe geloză în decurs de 18 ore, spălată cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare constituie 500 mii corpi microbieni la 1 ml de mediu (după standardul optic de turbiditate). Eprubetele au fost agitate și termostatate la temperatura de 37°C, timp de 24 ore. În calitate de control a servit mediul nutritiv însămânțat cu aceleași tulpini fără adăugarea compusului cercetat. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual. Activitatea bacteriostatică a fost apreciată în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid, iar activitatea bactericidă a fost apreciată în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe mediu nutritiv-geloză peptonată cu termostatare ulterioară.

Datele analitice ale probei microbiologice a compusului declarat sunt prezentate în tabel în comparație cu activitatea antimicrobiană a furacilinei folosite în practica medicală și a celui mai apropiat analog.

Rezultatele obținute demonstrează că furacilina manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă față de toate tulpinile microbilor test, pe când complexul declarat este activ numai față de stafilococi și *Bacillus anthracis* (STI).

Activitatea compusului declarat față de microorganismele grampozitive în dependență de microbii test este de 2-4 ori mai înaltă sau rămâne la nivelul furacilinei folosite în practica medicală. Totodată, după proprietățile bacteriostatice și bactericide el este cel puțin de 129 ori mai activ față de microorganismele grampozitive decât analogul cel mai apropiat lui.

Proprietățile depistate ale compusului sintetizat prezintă interes pentru microbiologia practică în aspectul optimizării proprietăților selective ale mediilor nutritive.

Tabel

Concentrațiile minime de inhibare (CMI) și concentrațiile minime bactericide (CMB) ale complexului declarat privitor la microbii test (mg/ml)

Compusul *)	Staphylococcus aureus								Staphylococcus epidermidis (42-a)	Staphylococcus saprofiticus	Bacillus anthracis (STI)	Escherichia coli (M-17)	Salmonella typhimurium	Proteus vulgaris	Pseudomonas aeruginosa								
	Wood 46		Cowan-1		Smith		209P																
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB															
Furacilina	4.67	9.35	4.67	9.35	4.67	4.67	4.67	9.35	4.67	4.67	4.67	4.67	—	—	4.67	4.67	9.35	18.7	4.67	4.67	4.67	9.35	
Complexul declarat	2.33	2.33	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	4.67	9.35	9.35	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300

*) Referință: proprietățile bacteriostatice și bactericide ale celui mai apropiat analog se manifestă la concentrațiile mai mari de 300 μg/ml.