

Invenția se referă la chimia bioorganică, în special la un nou compus chimic biologic activ - tomatozidul oxidat, care poate fi utilizat în medicină ca agent antiviral.

Sunt cunoscute unele substanțe chimice, care posedă acțiune antivirală [1].

Însă aplicarea largă a acestor substanțe chimice este limitată din motivul prețului înalt.

Este cunoscută glicozida steroidică - tomatozid, analogul structural al substanței propuse în invenție, care manifestă proprietăți antivirale [2], (fig. 1). Dezavantajul este acela că tomatozidul are proprietăți antivirale slabe.

Problema pe care o rezolvă invenția dată constă în lărgirea sortimentului de preparate cu proprietăți antivirale.

Problema se soluționează prin aceea că se propune tomatozidul oxidat cu proprietăți antivirale mai înalte decât ale tomatozidului având formulă din fig. 2.

Tomatozidul oxidat este rezultatul oxidării lanțului polizaharidic din molecula produsului inițial de tomatozid.

Rezultatul invenției constă în lărgirea spectrului de agenți antivirali - preparate cu acțiune antivirală.

Tomatozidul oxidat are masa moleculară mai mică de 10000 Da și prezintă de asemenea avantajul unei activități antivirale prelungite, este ușor de obținut, mult mai ieftin decât preparatele cunoscute până în prezent.

Tomatozidul oxidat poate fi obținut prin următorul procedeu:

Pentru prima fază de oxidare (fig. 3) s-au adăugat peste pulberea de tomatozid apă distilată și acid periodic. Reacția de oxidare decurge la întuneric, timp de 150 ore, la temperatura camerei de 15-20°C. Cantitățile de acid periodic s-au adăugat în exces. Oxidarea cu periodat are o valoare constantă, cantitatea de periodat consumată în procesul de reacție fiind determinată prin măsurarea absorbției la 200 nm a lichidului supernatant în funcție de timp.

După descompunerea excesului de periodat cu etilenglicol, produsul obținut a fost separat într-un precipitat insolubil în apă și un lichid supernatant prin centrifugare.

Oxidarea cu clorit de sodiu a precipitatului (fig. 4) a fost condusă într-un vas închis, imersat într-o baie de apă, la 25°C. Cloritul de sodiu și acidul acetic au fost adăugate prin picurare dintr-o pâlnie de separare. Apoi, amestecul de reacție a fost adus la pH=8,5 cu 10 N hidroxid de sodiu.

Punctul de topire a tomatozidului oxidat este de 210°C și unghiul de rotație - $[\alpha]_D^{20} - 150$ (1,0:MeOH); LD₅₀=1000 mg/kg.

Invenția se explică cu ajutorul figurilor, care reprezintă:

- fig. 1, structura chimică a tomatozidului;
- fig. 2, structura chimică a tomatozidului oxidat;
- fig. 3, reacția de oxidare a tomatozidului cu acid periodic;
- fig. 4, reacția de oxidare a tomatozidului cu clorit de sodiu.

Structura chimică a tomatozidului oxidat a fost determinată prin spectroscopie de masă (SM), infraroșie (IR), cromatografia performantă de gaz (CPG) și titrare potențiometrică a grupărilor carboxilice (efectuată cu un PH-metru de tip "Digital OP 211/1 Radelkis").

Valorile masei moleculare a tomatozidului oxidat (1.128 Da) s-au determinat folosind un cromatograf Knouer echipat cu refractometru diferențial și coloană Sephadex LH-20, în prezența polietilenglicolului folosit ca standard.

Evaluarea activității antivirale

Activitatea antivirală *in vitro* a fost pusă în evidență prin inhibarea efectului citopatic (ECP al tulpinii virusului Cocsakie B-2 linia celulară BS-C-1, iar *in vivo* experimentele s-au efectuat pe tulpina de virus Cocsakie A-2.

Pentru a studia activitatea antivirală *in vitro* s-au luat 4 loturi:

- control normal (linie celulară din colecție BS-C-1+ mediu de cultură IBM 166 lipsit de ser);
- control pozitiv (BS-C-1 + IBM 166 + inoculum viral);
- lot de testare (BS-C-1 + IBM 166 + inoculum viral + tomatozid inițial 50 μg/ml);
- lot de testare (BS-C-1 + IBM 166 + inoculum viral + tomatozid oxidat 50 μg/ml).

Tabelul 1

Activitatea antivirală *in vitro*

Ziua	ECP martor	ECP tomatozid inițial	ECP tomatozid oxidat
7	85%	65%	30%
15	90-100%	55%	25%
Observații		Se izolează virusul după pasaje succesive	Virusul nu se izolează după pasaje succesive

Din datele obținute rezultă caracterul antiviral semnificativ (ECP=25%) în cazul tomatozidului oxidat la o doză de 50 μg/ml, în comparație cu tomatozidul inițial (ECP=55%) la aceeași doză.

Evaluarea activității antivirale *in vivo* a constat în punerea în evidență a leziunilor nervoase provocate de tulpina de virus Cocsakie A-2 după 14 zile, fiind folosite trei loturi:

- lot martor (șoricei inoculați doar cu tulpină de virus Cocsakie A-2 0,4 ml suspensie virală);
- lot de testare (șoricei inoculați doar cu tulpină de virus Cocsakie A-2 și tratați cu tomatozid inițial - 8 mg/kg);
- lot de testare (șoricei inoculați doar cu tulpină de virus Cocsakie A-2 și tratați cu tomatozid oxidat - 8 mg/kg).

Tabelul 2

Activitatea antivirală *in vivo*

Nr. experi- mentu lui	Ziua	Leziuni nervoase, %		
		Martor	Tomatozid inițial	Tomatozid oxidat
1	14	80	60	15
2	14	95	50	25

Din datele obținute rezultă caracterul antiviral semnificativ (15% leziuni nervoase) față de tomatozidul inițial (60% leziuni nervoase la aceeași doză).

Anexa 1

Fig. 1. Structura chimică a tomatozidului

Anexa 2

Fig. 2. Structura chimică a tomatozidului oxidat

Anexa 3

Fig.3. Reacția de oxidare a tomatozidului cu acid periodic

Anexa 4

Fig. 4. Reacția de oxidare a tomatozidului cu clorit de sodiu