

Invenția se referă la domeniul medicinei și chimiei, și anume la materiale antibacteriene polimerice noi pe bază de lignină.

La această grupă de preparate se referă furacilina, furazalidonul și altele. Aceste preparate, ce fac parte din grupa derivaților nitrofuranului, reprezintă preparate chimioterapeutice de sinteză cu spectru larg de acțiune. Compușii nitrofuranului se caracterizează printr-un spectru larg de acțiune, fiind active față de multe bacterii Gram-negative (*E. coli*, *K. pneumoniae*) și Gram-pozitive, unele anaerobe, micoze (*Candida*), Furazalidonul activ în infecții cu Leamblii, Trihomonade, paratif, Salmonelle, vibriionul choleric, staphilococ, virusuri mari, agentul gangrenei gazoase.

Din această grupă este cunoscut compusul (E)-N'-((5-nitrofuran-2-il)metilen) isonicotinohidrazida, numit și izofural [1], propus ca preparat antibacterian pe piața medicamentelor din Republica Moldova., ce are o activitate de 4...5 ori mai înaltă decât alte preparate antibacteriene. Însă compus posedă și dezavantaje:

- Solubilitate neînsemnată în apă
- Timp real, dar scurt de acțiune în organismul viu
- Toxicitate chimică ca toate preparatele medicinale sintetice

Cel mai aproape de invenția propusă este un material polimeric biologic activ, care constă dintr-un copolimer de N-vinilpirolidonă cu acid metacrilic sau crotonic, grefat similar cu izofural cu ajutorul aceluiași reagent de legătură (linker) – cloroformat de etil [2]. Printre neajunsurile acestui material se numără toxicitatea relativ mare și costurile mai înalte ale materialului deoarece se utilizează în calitate de reagent un copolimer sintetic.

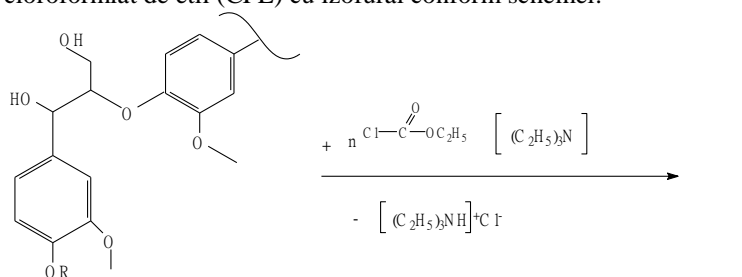
Problema soluționată de invenție constă în extinderea gamei de materiale polimerice antibacteriene pe bază de polimeri naturali, grefate cu N'-((nitrofurfuriliden)isonicotinohidrazidă.

Esența invenției constă în faptul că se propune un material polimerice cu proprietăți antibacteriene, care reprezintă o lignină grefată cu preparatul medicinal (E)-N'-((5-nitrofuran-2-il)metilen) isonicotinohidrazidă (izofural), în care conținutul preparatului medicinal variază de la 30...50% mas. Totodată grefarea se efectuează prin activarea prealabilă a ligninei cu cloroformat de etil în prezența unei baze organice în dimetilformamidă la 0 °C.

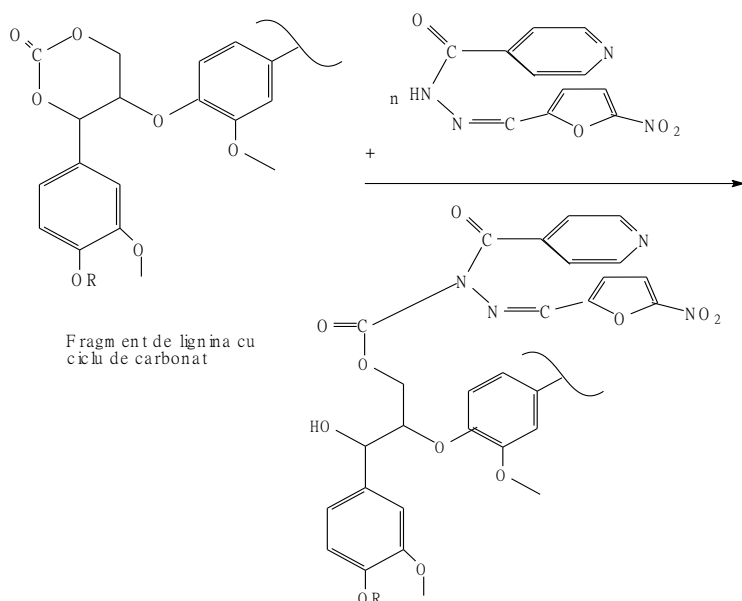
Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că materialul polimeric propus posedă un efect antibacterian la nivelul izofuralului micromolecular, toxicitatea redusă și este solubil în amestec dimetilformamidă-apă (1:1).

Rezultatul tehnic obținut se datorează grefării izofuralului la lignină care este un material biopolimeric inert și la disociere asigură ținta (zone exterioare ale organismului viu) cu preparat antibacterian la o concentrație satisfăcătoare, care disociază mai lent și se reține mai mult timp în organismul viu.

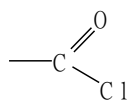
Polimerii medicinali se obțin prin tratarea soluției de lignină în dimetilformamidă cu adaos de trietilamină (TEA) și cloroformat de etil (CFE) cu izofural conform schemei:



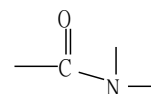
Fragm ent de lignina

Fragm ent de lignina cu
ciclu de carbonat

Polim er medicinal



Cloroformiatul de etil ce conține gruparea chimică activă ---C(=O)C1 reacționează ușor la temperatura 0...2 °C cu grupa –OH din lignină formând un compus nestabil, ce ușor reacționează cu grupe amine primare sau secundare. Structura chimică a materialului polimeric grefat a fost confirmată cu ajutorul spectroscopiei IR și analizei elementare.



Din spectre se observă apariția vibrațiilor noi la $\nu=1760 \text{ cm}^{-1}$ ce confirmă gruparea ---C(=O)N--- , cât și altele (fig.1 și 2). După cum se observă din fig.1, 2 intensitatea benzii crește la majorarea concentrației de izofural în polimerul grefat.

Exemplu de realizare a invenției

Într-un pahar de 50 mL se introduce 0,5 g de lignină comercială produsă de firma Aldrich, care se dizolvă în 30 mL dimetilformamidă (DMF) (soluția 1). În alt pahar se dizolvă 0,5 g de izofural în 30 mL dimetilformamidă (DMF) (soluția 2).

Soluția 1 se răcește într-o baie cu gheață până la 0 °C la care se adaugă cu picătura 1,0 mL trietilamină, iar peste 20 min la agitare 0,8 mL cloroformiat de etil. Agitarea la 0 °C se mai prelungește 20 minute, după care cu picătură se adaugă soluția 2. După 30 minute amestecul se aduce la temperatura camerei și se menține 2...3 ore. Soluția obținută se evaporă până la o concentrație de 15...20%, apoi se purifică prin sedimentare în hexan (sedimentarea 1), apoi se înfăptuiește sedimentarea 2 în eter etilic. Polimerul obținut ("Lignin-izofural 50/50%") se usucă la temperatura camerei și în etuvă cu vid la ~40 °C. Similar a fost obținut și "Lignin-izofural 70/30%", variind respectiv raportul lignină:izofural.

Cercetarea activității antibacteriene (bacteriostatice și bactericide) a materialului revendicat a fost efectuată față de microorganismele: *Staphilococcus aureus* (tulpina 209-P), *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (tulpina ATCC25922), *Proteus vulgares* (tulpina HX 19222), *Pseudomonas aeruginosa* (tulpina ATCC 27853) prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne 2%, pH=7,0). Probele au fost dizolvate în dimetilformamidă (cu concentrația de 10mg/mL). Pentru însămânțare au fost folosite culturi ale microorganismelor indicate, crescute pe geloză timp de 18 ore, spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare constituie 500 de mii de corpi microbieni la 1 mL de mediu nutritiv. În calitate de control au servit mediile nutritive însămânțate cu aceleași tulpini fără conținutul materialelor cercetate. Evaluarea activității bacteristatice (concentrația minimă de inhibiție - (CMI) a fost efectuată vizual, conform lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid. Activitatea bactericidă (concentrația minimă bactericidă - (CMB) s-a determinat în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțare repetată pe geloză peptonată cu termostatarea ulterioară timp de 24, 48 de ore. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabel pentru materialul "Lignin-izofural 50/50%" și "Lignin-izofural 70/30%". Pentru comparație în același tabel se aduc date privind activitatea izofuralului molecular precum și a ligninei. Rezultatele investigației demonstrează că substanțele cercetate manifestă o activitate antibacteriană înaltă față de culturile sus menționate.

În baza datelor tabelare observăm că preparatul polimeric „Lignina-Izofural” este foarte sensibil pentru bacteria *S. aureus*, *E. fecalis* și *Pr. vulgaris*. La fel, preparatul sintetizat manifestă activitate înaltă față de *E. fecalis* și alte bacterii.

Tabel. Activitatea antibacteriană a substanțelor „Lignin-izofural 50/50%” și „Lignin-izofural 70/30%”

Substanța	Test-culturi bacteriene									
	<i>S.aureus</i> (tulpina 209)		<i>E. faecalis</i>		<i>E.coli</i> (tulpina ATCC25922)		<i>Ps.aeruginosa</i> (tulpina ATCC 27853)		<i>Pr. vulgaris</i> (tulpina HX 19222)	
	*CMI	**CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Lignină	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
„Lignin-izofural 50/50%”	9,37	9,37	9,37	150	37,5	300	300	300	75	150
Izofural	2,34	9,37	15,35	75,05	18,75	300	300	300	18,75	37,5
„Lignin-izofural 70/30%”	13,25	15,12	18,16	26,55	38,6	300	>300	>300	>300,6	>300,8

*CMI – concentrația minimă de inhibiție ($\mu\text{g/mL}$)

**CMB - concentrația minimă bactericidă ($\mu\text{g/mL}$)