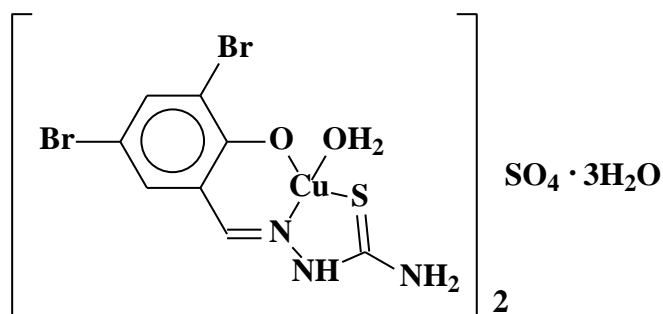


Invenția se referă la chimie și medicină și anume, la un șir de compuși coordinativi biologic activi ai cuprului din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acești complecși manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de microorganismele gram-pozitive și datorită acestor proprietăți pot găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparate antimicrobiene.

Compușii coordinativi declarați se aseamănă după structură cu trihidratul sulfatului de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru(II) (cea mai apropiată soluție și analogul structural [1]) cu formula:

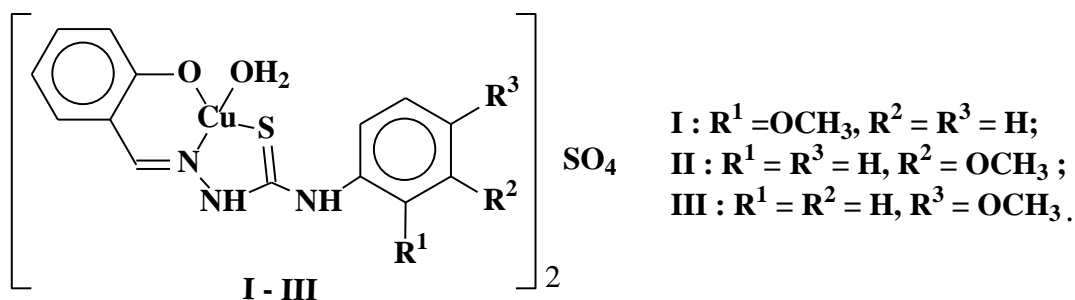


Acest compus coordinativ manifestă cea mai înaltă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive din toți compușii coordinativi biologic activi ai sulfatului de cupru(II) cu tiosemicarbazonele aldehidelor salicilice substituie, descriși în literatură.

Dezavantajul complexului dat constă în faptul că el inhibă creșterea și multiplicarea numai a unor tulpini de microorganisme gram-pozitive în diapazonul concentrațiilor 0,145...1000 $\mu\text{g/mL}$ și din acest motiv nu găsește aplicare în practica medicală.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui șir de compuși coordinativi noi, care posedă activitate mai înaltă și un spectru mai larg de acțiune antimicrobiană.

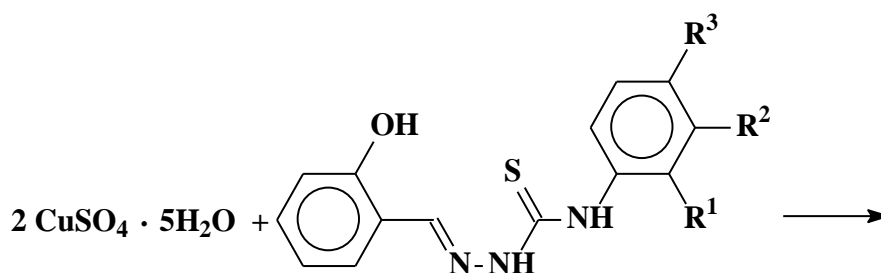
Esența invenției constă în obținerea compușilor coordinativi I-III ai sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (I), 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (II) și 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (III) cu formula generală:

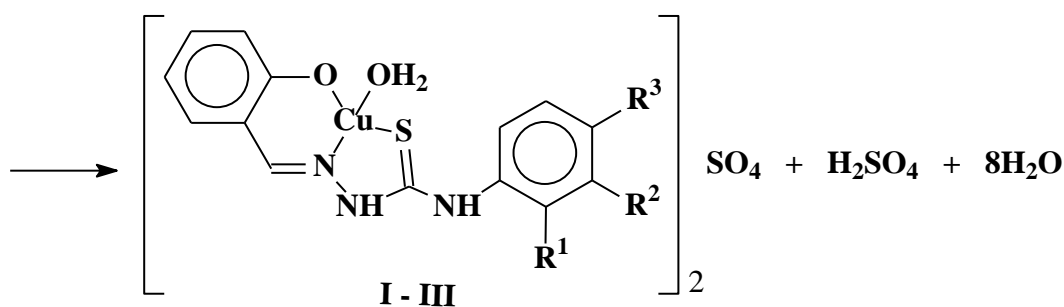


Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unui șir de complecși, care manifestă activitate antimicrobiană bacteriostatică și bactericidă față de microorganismele gram-pozitive, ce depășește de 1,2...256 ori activitatea prototipului și analogului structural [1].

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului, că în compușii propuși în invenție se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Complecșii revendicați se obțin la interacțiunea soluțiilor apoase fierbinți (50...55°C) ale pentahidratului sulfatului de cupru(2+) cu soluția etanolică, care conține 4-(2-metoxifenil)-, 4-(3-metoxifenil)- sau 4-(4-metoxifenil)-tiosemicarbazonele aldehidei salicilice luate în raport molar 1 : 1. Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme:





I : $\text{R}^1 = \text{OCH}_3$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$;

II : $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OCH}_3$;

III : $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{OCH}_3$.

Mecanismul reacției date constă în adădirea la ionul de cupru(2+) a moleculei de tiosemicarbazonă respectivă, care, față de atomul de cupru joacă rolul de ligand-O,N,S tridentat monodeprotonat. Al patrulea loc în sfera coordinativă interioară a acestui atom central este ocupat de molecula de apă. În sfera exterioară a complexului format se află un sulfat-ion.

Exemplu de obținere a sulfatului de aqua-[2-(2-hidroxibenziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamido(1-)]-cupru(II). Se amestecă 30 mL de soluție etanolică, care conține 10 mmol de 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamidă (2-metoxifeniltiosemicarbazona aldehidei salicilice) cu 10 mmol de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, dizolvat în 20 mL de apă distilată. Amestecul reactant este încălzit ($50 \dots 55^\circ\text{C}$) și amestecat în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic timp de $50 \dots 60$ min. La răcire, din soluție se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

După o metodă analogică, folosind în calitate de substanțe inițiale pentahidratul sulfatului de cupru(2+) și 4-(3-metoxifenil)- (în cazul complexului II) sau 4-(4-metoxifenil)tiosemicarbazona (în cazul complexului III) aldehidei salicilice luate în raport molar 1:1 se sintetizează compușii II și III. Denumirile lor chimice și unele caracteristici fizico-chimice sunt prezentate în tabelele 1 și 2. Complecșii revendicați sunt stabili în contact cu aerul, puțin solubili în apă și alcoolii, sunt solubili în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubili în eter. Hidrazincarbotoamidele inițiale H_2L^{1-3} au fost sintetizate după metodele descrise în literatură (Saswati Dinda R., Schmiesing C., Sinn E., Patil Y. P., Nethaji M., Stoeckli-Evans H., Acharyya R. Mixed-ligand nichel(II) thiosemicarbazone complexes: Synthesis, characterization and biological evaluation. Polyhedron, 2013, vol. 50, pag. 354-363).

Cercetarea vizuală sub microscop a compușilor coordinativi sintetizați demonstrează că ei sunt omogeni. Din cauza dimensiunilor mici și absenței monocristalelor acestor complecși, pentru determinarea individualității compoziției și structurii lor au fost utilizate metoda de analiză a elementelor, spectroscopia IR și magnetochimia.

În baza determinării conductibilității electrice molare (κ) ale I – III în dimetilformamidă s-a determinat (tabelul 2), că compușii sintetizați sunt electroliți tripli [$\kappa = 177 \dots 191 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, 20°C , $C_M = 0,001 \text{ mol/L}$].

Cercetarea magnetochimică la temperatura camerei (294 K) a compușilor revendicați a demonstrat (tabelul 2), că ei posedă momente magnetice efective ($\mu_{\text{ef}} = 1,79 \dots 2,02 \text{ m. B}$) caracteristice valorii spinice ($S = 1/2$) pentru un electron necuplat, fapt care vorbește despre structura lor monomerică.

Pentru determinarea modului de coordonare a liganzilor la ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compușilor revendicați cu cele ale analogului lor structural [1] și a tiosemicarbazonelor inițiale. S-a stabilit (tabelul 2), că tiosemicarbazonele studiate în complecșii I – III se comportă ca liganzi tridentati monodeprotonați, coordonând la ionul central prin intermediul atomilor de oxigen fenolic, azot azometinic și a sulfurii, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția din spectrele IR ale substanțelor declarate și ale analogului structural a benzilor de absorbție $\nu(\text{OH})$, care în tiosemicarbazonele libere se observă în domeniul $3330 \dots 3340 \text{ cm}^{-1}$. În toți complecșii analizați benzile $\nu(\text{C}=\text{N})$ și $\nu(\text{C}=\text{S})$ se deplasează cu $35 \dots 25 \text{ cm}^{-1}$ spre frecvențe mai mici [în tiosemicarbazonele inițiale $\nu(\text{C}=\text{N})$ se observă în domeniul $1600 \dots 1605 \text{ cm}^{-1}$]. În afară de aceasta, în domeniul $550 \dots 405 \text{ cm}^{-1}$ în spectrul complecșilor I – III se observă o serie de benzi de absorbție noi, care conform datelor luate din literatură, se detectează ca $\nu(\text{Cu}-\text{N})$, $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ și $\nu(\text{Cu}-\text{S})$. Sulfat-ionul în I-III se află în sferă exterioară [în domeniul $1110 \dots 1120 \text{ cm}^{-1}$ se observă o singură bandă de absorbție, caracteristică acestui anion necoordonat].

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și a cercetărilor fizico-chimice a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compușilor declarați.

Determinarea activității antimicrobiene a compușilor I-III declarați a fost efectuată în mediul nutritiv lichid [bulion peptonat din carne de 2%, pH 7,0] prin metoda diluțiilor succesive. În calitate de cultură de referință în experimentul „in vitro” au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, *Bacillus cereus* ГИСК 8035,

Enterococcus faecalis și *Escherichia coli*, ATCC 25922. Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard, descrisă în literatură.

Rezultatele studiului activității antimicrobiene pentru I-III sunt prezentate în tabelul 3, din care se observă că compușii declarați posedă activitate bacteriostatică și bactericidă față de microorganismele gram-pozitive în limitele concentrațiilor 0,0038...62,5 μg/mL și nu manifestă activitate față de *Escherichia coli*, ATCC 25922 (reprezentantul microorganismelor gram-negative). Pentru comparație, în aceleași tabel sunt prezentate rezultatele cercetării activității antimicrobiene caracteristice tioamidelor H₂L¹⁻³ inițiale și sulfatului de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru(II) – analogului structural al compușilor declarați [1], care manifestă cea mai înaltă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile gram-pozitive dintre compușii coordinați ai sulfatului de cupru(2+) cu tiosemicarbazonele alchidelor substituie, descrise în literatură. Datele experimentale obținute demonstrează, că tiosemicarbazonele inițiale H₂L¹⁻³ nu manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive și gram-negative, iar compușii coordinați revendicați manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă numai față de microorganismele gram-pozitive. După cum se vede din tabelul 3, activitatea antimicrobiană a compușilor cercetați depinde de poziția grupei metoxi în inelul fenilic al fragmentului tiocarbamidic și se schimbă conform următorului șir: *orto*- > *meta*- > *para*-.

Proprietățile depistate ale compușilor nominalizați prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene și permit utilizarea acestora în cazul rezistenței microorganismelor față de medicamentele tradiționale.

Tabelul 1

DENUMIREA ȘI ANALIZA CHIMICĂ A COMPUȘILOR COORDINATIVI REVENDICAȚI

Com-pusul	Denumirea chimică	Formula brută	Randa-mentul, %	Determinat / calculat, %				
				C	H	Cu	N	S
I	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	70	41,77/ 41,90	3,60/ 3,75	14,51 /14,7 8	9,52/ 9,77	11,00/ 11,19
II	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	64	41,73/ 41,90	3,57/ 3,75	14,57 /14,7 8	9,60/ 9,77	10,90/ 11,19
III	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	72	41,68/ 41,90	3,50/ 3,75	14,47 /14,7 8	9,51/ 9,77	10,94/ 11,19

Tabelul 2

UNELE PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE A COMPUȘILOR COORDINATIVI REVENDICAȚI

Com-pusul ^{a)}	æ ^{b)} , Ω ⁻¹ · cm ² · mol ⁻¹	μ _{ef.} , m. B. (293 K)	Unele benzi (cm ⁻¹) de absorbție prezente în spectre IR a compușilor I – III							
			ν(OH)	ν(OCH ₃)	ν(C=N)	ν(NH)	δ(C-N)	ν(C=S)	ν(C-N)	ν(Cu-N), ν(Cu-O), ν(Cu-S)
H ₂ L ¹	-	-	3332	2832	1600	1521	1197, 1152	1113	1030, 949	-
I	177	1,84	-	2831	1576	1510	1206, 1155	1077	1025, 947	567, 496, 451, 430
H ₂ L ²	-	-	3336	2832	1605	1520	1201, 1152	1118	1039, 953	-
II	189	2,02	-	2832	1575	1515	1204, 1160	1180	1020, 945	560, 477, 449, 432
H ₂ L ³	-	-	3336	2831	1600	1526	1197, 1163	1112	1032, 947	-
III	191	1,79	-	2830	1578	1517	1205, 1155	1179	1025, 947	555, 480, 450, 425

Notă : ^{a)} H₂L¹ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamida, H₂L² - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamida, H₂L³ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbonat ioamida; ^{b)}æ – Conductibilitatea electrică molară în dimetilsulfoxidă (293 K)

Tabelul 3

CONCENTRAȚIA MINIMĂ DE INHIBARE (CMI) ȘI CONCENTRAȚIA BACTERICIDĂ MINIMALĂ (CBM) A COMPUȘILOR COORDINATIVI REVENDICAȚI FAȚĂ DE MICROORGANISMELE GRAM-POZITIVE ȘI GRAM-NEGATIVE ($\mu\text{g/mL}$)

Compusul ^{a)}	<i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 25923		<i>Bacillus cereus</i> ГИСК 8035		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Escherichia coli</i> , ATCC 25922	
	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
H ₂ L ¹⁻³	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
I	0,0038	0,0075	1,95	6,91	7,81	31,25	>1000	>1000
II	0,1221	0,2441	0,98	3,91	3,91	15,63	>1000	>1000
III	0,1221	0,2441	1,95	3,91	15,63	62,50	>1000	>1000
AS	0,145	0,145	2,33	4,67	>1000	>1000	>1000	>1000

Notă : ^{a)} H₂L¹ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamida, H₂L² - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbotoamida, H₂L³ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamida; AS - analogul structural.