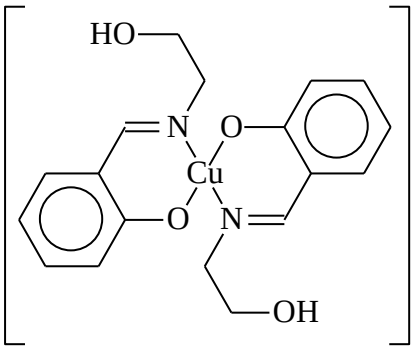
Invenţia se referă la chimie şi medicină, şi anume la sinteza compusului coordinativ tetranuclear de cupru din clasa saliciliden-aminobutanolaţilor metalelor de tranziţie de un nou tip structural. Acest complex manifestă activitate antimicrobiană şi antimicotică faţă de un spectru larg de microorganisme gram-pozitive, gram-negative şi micete levuriforme. Datorită acestor proprietăţi el poate găsi aplicare în medicină şi veterinărie în calitate de preparat cu acţiune antimicrobiană şi antifungică sau în calitate de ingredient în crearea mediilor nutritive selective de cultivare a microorganismelor şi fungilor.

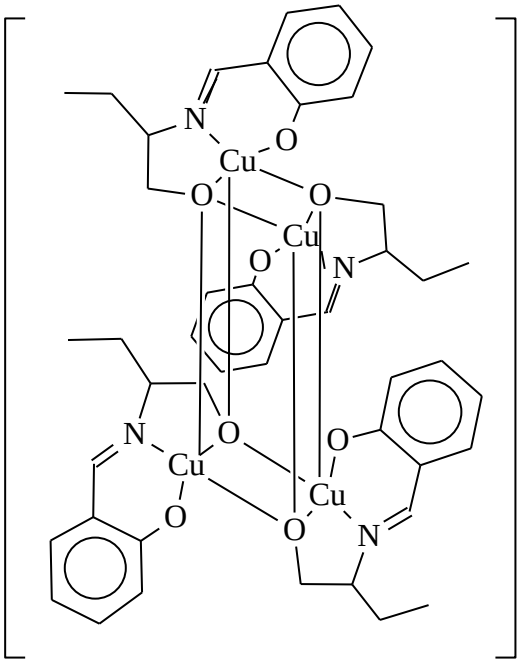
Compusul coordinativ revendicat se aseamănă după structură cu bis{2-[(2-hidroxietil)imino]metal}fenolocupru (cea mai apropiată soluţie şi analogul structural [1]) cu formula:



Acest compus manifestă activitate bacteriostatică faţă de microorganismele gram-pozitive şi gram-negative la 300 μg/mL. Dezavantajul lui constă în faptul, că activitatea depistată, totuşi, nu este suficient de înaltă şi din această cauză compusul respectiv nu a găsit aplicare în medicină sau veterinărie.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenţie constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai microorganismelor gram-pozitive, gram-negative şi fungilor cu activitate antimicrobiană şi antifungică înaltă.

Esenţa invenţiei constă în sinteza compusului coordinativ tetranuclear de cupru, care reprezintă un nou tip structural - tetrakis{[μ_3-2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolato(2-)-O,N,O-O_{alc}}-tetracupru(II), cu formula:

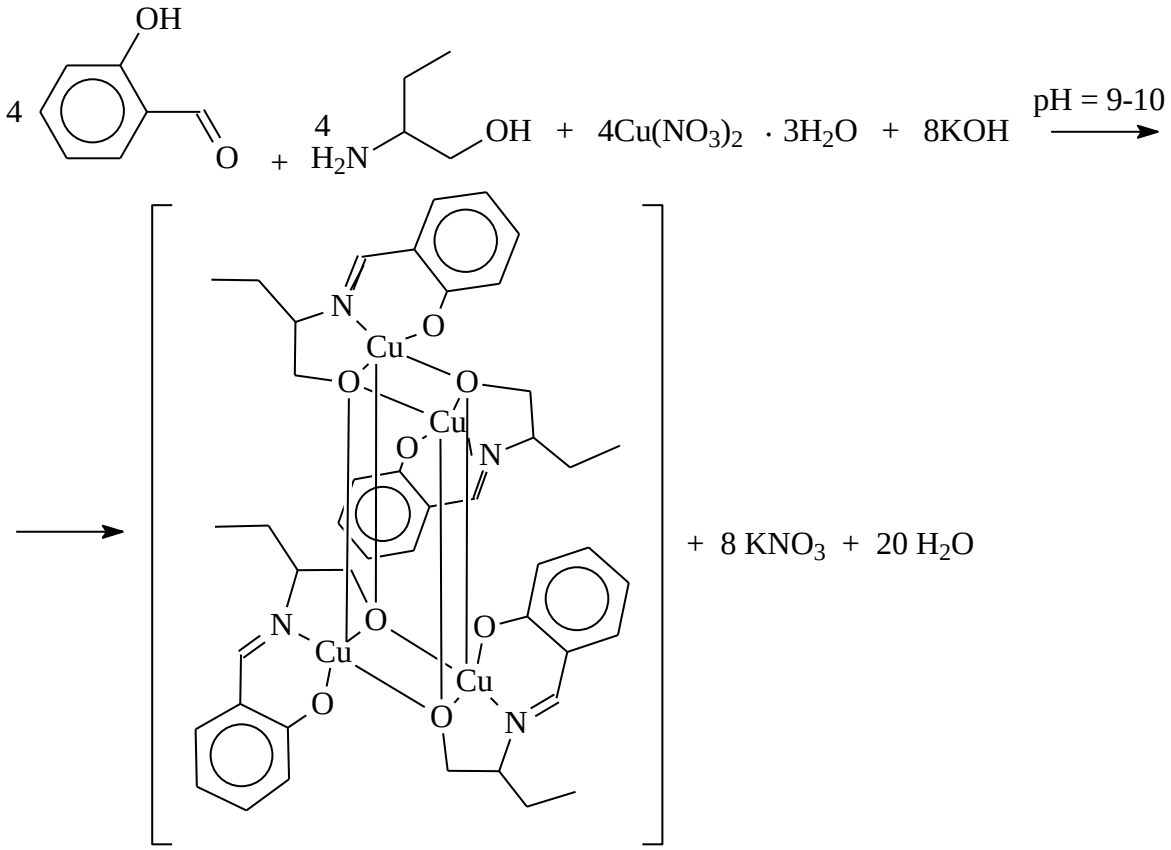


Conform bazei de date din Cambridge (November 2017 release of the Cambridge Structural Database System (version 5.39)), nu sunt cunoscuţi compuşi coordinativi tetranucleari ai cuprului(II) cu saliciliden-2-aminobutanol de un atare tip structural.

Rezultatul tehnic al invenţiei constă în obţinerea unui compus coordinativ tetranuclear de un nou tip structural, care manifestă activitate antimicrobiană şi antifungică faţă de un spectru larg de bacterii şi fungi, ce depăşeşte de 38,4…3,8 ori activitatea prototipului şi analogului structural [1].

Rezultatul tehnic obţinut se datorează faptului, că se realizează o combinare nouă de legături chimice deja cunoscute.

Complexul revendicat se obţine prin metoda template la interacţiunea soluţiilor etanolice fierbinţi (50…55°C) a trihidratului nitratului de cupru(II) cu 2-hidroxibenzaldehida şi 2-aminobutan-1-ol luate în raport molar 1 : 1: 1, în prezenţa hidroxidului de potasiu la pH 9…10. Reacţia decurge în 50…60 min conform următoarei scheme:



Mecanismul prezentei reacţii este legat de faptul, că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc condensarea template 2-hidroxibenzaldehidei cu 2-aminobutan-1-olul şi formarea 2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolului, care fiind deprotonat de două ori cu exces de KOH, coordinează la ionii de cupru(2+) ca ligand tridentat-O,N,O. Atomul de oxigen alcoolic al azometinei formate joacă rolul de atom-punte între trei atomi centrali de cupru. Atomii de oxigen alcoolici şi patru atomi de cupru formează în spaţiu un cub.

Exemplu de obţinere al tetrakis{[μ_3-2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolato(2-)-O,N,O-O_{alc}}-tetracupru(II). Se amestecă 30 mL de soluţie etanolică, care conţine 10 mmol de 2-hidroxibenzaldehidă şi 10 mmol de 2-aminobutan-1-ol cu 10 mmol de $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, dizolvat în 20 mL de alcool. În amestecul reactant se adaugă soluţia alcoolică de KOH până la pH = 9…10 şi se încălzeşte (50…55°C) cu amestecarea în permanenţă cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 50…60 min. La răcire, din soluţie se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter şi uscate la aer.
S-a determinat, %: C – 51,72; H –5,04; Cu – 24,72; N – 5,39.
Pentru $C_{44}H_{52}Cu_4N_4O_8$ s-a calculat, % : C –51,86; H –5,14; Cu –24,94; N –5,50.
Benzile de absorbţie în spectrul IR, cm^{-1}: $\nu(C\text{-}H)_{Alc}$ = 2969, 2912 cm^{-1}; $\nu(C\text{-}H)_{Ar}$ = 3033, 2878, 2853 cm^{-1}; $\nu(C{=}N)$ = 1605 cm^{-1}; $\nu(C\text{-}O)_{Ar}$ = 1302 cm^{-1}; $\nu(C\text{-}O)_{Alc}$ = 1030, 1100 cm^{-1}; $\nu(Cu\text{-}N)$ = 525, 415 cm^{-1}; $\nu(Cu\text{-}O)$ = 470, 459 cm^{-1}.
Atribuirea benzilor de absorbţie din spectrele IR a arătat, că, 2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolul în complex se comportă ca un ligand tridentat dublu deprotonizat, ce se confirmă prin:
a) dispariţia benzilor de absorbţie $\nu(OH)$ şi $\delta(OH)$, care în 2-hidroxibenzaldehida şi 2-aminobutan-1-olul iniţiale se observă în domeniile 3300-3100 şi 1250-1230 cm^{-1};
b) deplasarea cu 20-15 cm^{-1} spre frecvenţe mai mici a benzii de absorbţie $\nu(C{=}N)$ în comparaţie cu poziţia acestei benzi în spectrele IR ale bazelor Schiff analoage, descrise în literatura de specialitate;
c) apariţia unui şir de benzi de absorbţie în domeniul 550-400 cm^{-1}, care corespund $\nu(Cu\text{-}N)$ = 525 şi 415 cm^{-1} şi $\nu(Cu\text{-}O)$ = 470 şi 459 cm^{-1}.
La temperatura camerei (292 K) complexul dat are momentul magnetic efectiv egal cu 1,73 m. B.
Procedeul de obţinere al compusului coordinativ tetranuclear revendicat este simplu în executare, substanţele iniţiale accesibile, randamentul constituie 70% faţa de cel teoretic calculat. Complexul este stabil în contact cu aerul, puţin solubil în apă şi alcooli, este solubil în dimetilformamidă şi dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.
La recristalizarea compusului sintetizat din soluţie dimetilformamid-etanolică (2:1) au fost obţinute monocristale, structura cărora a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X (Formula moleculară - $C_{44}H_{52}Cu_4N_4O_8$, masa molară – 1016,10 g/mol, a = 16,1843(8 Å, b = 16,1843(8) Å, c = 26,0141(13) Å, α = 90 grad, β = 90 grad, γ = 90 grad, volumul celulei -6813,94 $Å^3$). Experimentul s-a efectuat la difractometrul Xcalibur-Gemini “Oxford Diffraction”.

Structura a fost determinată prin metoda directă şi stabilită folosind metoda pătratelor minime în apropieri anizotrope pentru atomii de hidrogen după programele SHELX-97. Atomii de hidrogen sunt incluşi în poziţiile geometrice prevăzute, iar factorul lor de temperatură U_H este luat de 1,2 ori mai mare, decât în cazul atomilor de carbon şi oxigen legaţi cu ei.

A fost stabilit, că în compusul revendicat patru atomi de cupru coordinează concomitent cu patru molecule tridentate dublu deprotonate de 2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenol (figură - structura tetrakis{[μ_3-2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolato(2-)-O,N,O-O_{alc}}-tetracupru(II)). Cristalul complexului reprezintă un tetramer de tipul cubului, în care fiecare atom de cupru are o coordonare tetragonal-piramidală distorsionată. Trei locuri de la baza piramidei tetragonale ocupă molecula de 2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenol dublu deprotonată, care este ataşată la metal prin atomul de azot azometinic şi atomii de oxigeni alcoolic şi fenolic. Oxigenul alcoolic îndeplineşte rolul de o punte între trei atomi de cupru. Acest atom de oxigen, atomul de cupru şi atomii echivalenţi ai fragmentului analogic vecin formează un cub distorsionat. Aceste distorsiuni sunt cauzate de diferenţa în lungimile legăturilor ale atomului de cupru cu atomii de oxigen alcoolici situaţi în baza piramidei, pe de o parte, şi componentele sale de sus, pe de altă parte. Feţele cubului - cicluri din patru atomi de cupru şi atomi de oxigen - sunt practic plane. Atomii donori în baza piramidelor de cupru nu se află într-un plan şi formează un tetraedru deformat. Lungimile legăturilor între atomii donori ai ligandului organic şi ionul de metal sunt în concordanţă cu datele din literatură. Ambalarea complexelor tetramerice într-un cristal se efectuează prin interacţiunile Van der Waals.

Astfel, în baza rezultatelor analizei cu raze X a fost stabilită structura compusului revendicat.

Determinarea activităţii antimicrobiene a complexului declarat a fost efectuată în mediu nutritiv lichid [bulion peptonat din carne de 2%, pH = 7,0] prin metoda diluţiilor succesive. În calitate de cultură de referinţă în experimentul „*in vitro*" au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Bacillus cereus (ГИСК 8035), Bacillus subtilis, Streptococcus pyogenes, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli (ATCC 25922), Enterobacter cloacae.* Dizolvarea substanţelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obţinerea suspensiei, determinarea concentraţiei minime de inhibare (CMI) şi concentraţiei minimale bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură.

Proprietăţile antimicotice ale tetrakis{[μ_3-2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolato(2-)-O,N,O-O_{alc}}-tetracupru(II) au fost cercetate "*in vitro*" pe tulpini de laborator micete levuriforme *Cryptococcus neoformans, Candida parapsilosis ATCC 2219, Candida krusei ATCC 6258* şi *Candida albicans ATCC 90028.* Activitatea s-a determinat în mediul nutritiv lichid Sabouraud (pH 6.8). Inoculatele se pregăteau din tulpini de fungi recoltate în decurs de 3-7 zile. Concentraţia lor în suspensie constituie (2-4) $\cdot 10^6$ unităţi formatoare de colonii într-un mililitru.

Rezultatele studiului activităţii antimicrobiene ale compusului revendicat sunt prezentate în tabel, din care se vede, că el posedă activitate bacteriostatică şi bactericidă în limitele concentraţiilor 1,95…125,0 μg/mL faţă de bacteriile gram-pozitive, 31,25…500,0 μg/mL faţă de microorganismele gram-negative şi 31,25…500,0 μg/mL faţă de micete levuriforme. Pentru comparaţie în aceleaşi tabel sunt prezentate rezultatele activităţii antimicrobiene caracteristice – bis{2-[(2-hidroxietil)imino]metal}-fenolocupru (prototipului şi analogului structural al compusului declarat [1], care manifestă cea mai înaltă activitate dintre substanţele din clasa saliciliden-aminobutanolaţilor metalelor de tranziţie, cunoscute în literatură. Datele experimentale obţinute demonstrează, că compusul coordinativ declarat manifestă activitate antimicrobiană şi antifungică faţă de un spectru larg de bacterii şi fungi, ce depăşeşte de 38,4…3,8 ori activitatea prototipului şi analogului structural [1].

Proprietăţile depistate ale compusului nominalizat prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene şi poate fi utilizat în cazul rezistenţei microorganismelor faţă de medicamentele tradiţionale.

Tabel

Activitatea antimicrobiană şi antimicotică (μg/mL) a compusului revendicat în comparaţie cu prototipul

Tulpina		Compusul declarat		Cea mai apropiată soluţie[a]	
		CMI	CMB	CMI	CMB
Staphylococcus aureus	GP[b]	7,81	15,6	300	>300
Bacillus cereus	GP[b]	15,63	31,25	>300	>300
Bacillus subtilis	GP[b]	15,63	31,25	e	e
Streptococcus pyogenes	GP[b]	1,95	3,91	e	e
Enterococcus faecalis	GP[b]	15,63	31,25	e	e
Enterococcus faecium	GP[b]	62,50	125,0	e	e
Escherichia coli	GN[c]	31,25	62,50	300	>300
Enterobacter cloacae	GN[c]	250,0	500,0	e	e
Cryptococcus neoformans	ML[d]	62,50	125,0	e	e
Candida parapsilosis ATCC 2219	ML[d]	250,0	500,0	e	e
Candida krusei ATCC 6258	ML[d]	250,0	500,0	e	e
Candida albicans ATCC 90028	ML[d]	250,0	500,0	e	e

[*]Notă: a) Cea mai apropiată soluţie – bis{2-[(2-hidroxietil)imino]metal}-fenolocupru, b) GP –gram-pozitive, c) GN – gram-negative, d) ML – micete levuriforme, e) activitatea faţă de aceste tulpini în [1] nu a fost studiată.