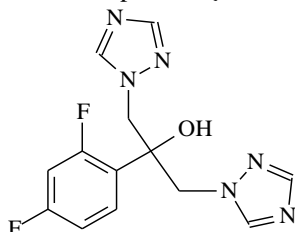


Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea unui compus coordinativ biologic activ din clasa carboxilaților heterometalici, care selectiv inhibă proliferarea fungilor *Cryptococcus neoformans* și poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

Genul *Cryptococcus* cuprinde peste 50 de specii, doar speciile *Cryptococcus neoformans* și *Cryptococcus gattii* fiind agenți patogeni importanți la om. În corpul gazdei și pe majoritatea mediilor de cultură celula levurică este înconjurată de o capsulă groasă polizaharidică, care determină rezistența la fagocitoză. Riscul de infectare cu criptococ apare la dereglarea imunității T-celulare: infecția HIV/SIDA, limfoamele, leucemiile limfocitare cronice, sarcoidoza, transplantul de organe, tratamentele îndelungate cu glucocorticosteroizi și cu imunosupresoare, chimioterapia antitumorală. Alți factori predispozanți sunt diabetul zaharat, patologia renală și hepatică, fumatul. Rata de letalitate de la *Cryptococcus neoformans* este mare: letalitatea în meningoencefalită fără tratament este de 100%. La supraviețuitori sunt frecvente sechelele neurologice, inclusiv pierderea vederii, scăderea funcției mentale, hidrocefalia și paraliziiile nervilor cranieni. La imunocompromiși criptococoza necesită terapie antifungică sistemică îndelungată.

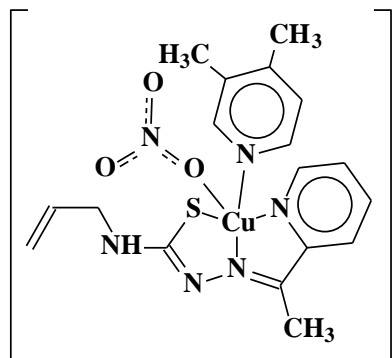
Pentru terapia infecțiilor sistematice în medicină sunt utilizați azolii, cu reprezentantul de seamă fluconazolul:



Toți azolii sunt fungistatici, dar în funcție de doză, pot fi și fungicizi, totodată eficienți împotriva speciilor de *Candida* și *Cryptococcus*. Cu toate aceste progrese, terapia antifungică, ca și cea antibacteriană, semnalează apariția fenomenului de rezistență la preparatele actuale.

Fluconazolul inhibă creșterea și multiplicarea majorității micetelor levuriforme la concentrația de 16  $\mu\text{g/mL}$ , însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicotică mai înaltă a preparatului față de fungii susnumiți [1].

Din toți compușii chimici, care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor *Cryptococcus neoformans*, cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru [2] cu formula:

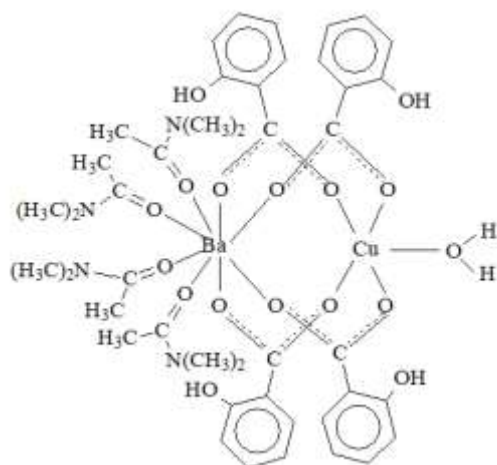


După activitatea antimicotică față de fungii *Cryptococcus neoformans* acest compus depășește de 133 ori caracteristicile respective ale fluconazolului, utilizat actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor.

Dezavantajul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru constă în faptul, că el nu posedă o activitate antimicotică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinarie. Totodată ligandul utilizat este destul de scump.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării fungilor *Cryptococcus neoformans* pe bază de compuși coordinativi cu liganzi simpli și ieftini și cu activitate antimicotică înaltă.

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor *Cryptococcus neoformans* a tetrasalicilatului de bariu-cupru cu formula:



Structura, proprietățile fizico-chimice și procedeul de obținere a acestui tetrasalicilat de bariu-cupru sunt descrise în literatura științifică (Горинчой В. В., Симонов Ю. А., Шова С. Г., Шофрански В. Н., Туртэ К. И. Кристаллические и молекулярные структуры двоядерных  $\{Cu-M, M=Cu, Sr, Ba\}$  комплексов на основе салициловой кислоты. Ж. структ. химии, 2009, v. 50, № 6, p. 1196-1202). Totodată informația despre structura lui cristalină a fost înregistrată în baza de date Cambridge sub numărul 695770.

Tetrasalicilatul de bariu-cupru posedă o structură de tip „felinar”, în care ionii de bariu(II) și cupru(II) sunt legați prin punți de salicilat cu utilizarea grupărilor carboxilice. Totodată moleculele de dimetilacetamid se coordonează la ionul de bariu(II), iar molecula de apă – la ionul de cupru(II). Reieșind din structura de mai sus, conform nomenclurii IUPAC, compusul poate fi numit aqua-2κO-tetrakis(N,N-dimetilacetamid-1κO)-tetrakis(μ-salicilato-1κO:2κO’)-bariu(II)cupru(II).

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la aqua-2κO-tetrakis(N,N-dimetilacetamid-1κO)-tetrakis(μ-salicilato-1κO:2κO’)bariu(II)cupru(II) a activității fungistatice și fungicide față de fungii *Cryptococcus neoformans*, ce depășește de 160 ori activitatea fluconazolului utilizat în medicină și de 1,2 ori depășește activitatea analogului proxim.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al proliferării fungilor *Cryptococcus neoformans* se propune un compus coordinativ din clasa carboxilaților heterometalici.

Un avantaj al invenției revendicate, pe lângă activitatea mai înaltă și selectivitate față de specia *Cryptococcus neoformans*, constă în aceea că compușii inițiali pentru obținerea acestui tetrasalicilat de bariu-cupru sunt ușor accesibili și ieftini.

#### Exemple de realizare a invenției

Sinteza aqua-2κO-tetrakis(N,N-dimetilacetamid-1κO)-tetrakis(μ-salicilato-1κO:2κO’)-bariu(II)cupru(II)

Sinteza compusului utilizat în revendicare s-a realizat în fond conform procedurii dezvăluit anterior (Горинчой В. В., Симонов Ю. А., Шова С. Г., Шофрански В. Н., Туртэ К. И. Кристаллические и молекулярные структуры двоядерных  $\{Cu-M, M=Cu, Sr, Ba\}$  комплексов на основе салициловой кислоты. Журнал структурной химии, 2009, v. 50, № 6, p. 1196-1202), după cum urmează.

La o soluție de 7,11 g (16,55 mmol) de salicilat de bariu monohidrat ( $Ba(SalH)_2 \cdot H_2O$ ) în 25 mL metanol s-a adăugat la temperatura camerei și agitare constantă 1 g (4,13 mmol) de  $Cu(NO_3)_2 \cdot H_2O$ . După 30 de min soluția se filtrează și se evaporă complet pe o baie de apă. Masa uscată obținută se tratează cu un amestec de solvenți format din 18 mL tetrahidrofuran și 7 mL N,N-dimetilacetamid și se amestecă 20 de min la temperatura camerei. Soluția obținută de culoare verde-închis se filtrează și se lasă să se evapore la temperatura camerei pentru 7 zile, timp în care se depun cristale albastre-închise sub formă de prizme. După separare și uscare se obțin 4,23 g (91%) de compusul sus-indicat.

#### Rezultatele analizei elementale:

Găsit, %: C 47,22; H 5,23; N 4,76.

Calculat pentru  $C_{44}H_{58}BaCuN_4O_{17}$ , %: C 47,36; H 5,23; N 5,02.

Exemplu de utilizare a aqua-2κO-tetrakis(N,N-dimetilacetamid-1κO)-tetrakis(μ-salicilato-1κO:2κO’)bariu(II)cupru(II) în calitate de inhibitor al proliferării fungilor *Cryptococcus neoformans*

Proprietățile antimicotice ale tetrasalicilatului de bariu-cupru sus-indicat au fost cercetate *in vitro* pe tulpina de laborator de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans*. Activitatea antimicotică s-a determinat, utilizând mediul RPMI 1640 suplimentat cu glucoză. Inoculul se pregătea din subcultura de 48 ore cultivată pe Agar Sabouraud, în apă distilată sterilă, până la o densitate de 0,5 McFarland (cca.  $(2...5) \cdot 10^6$  UFC/mL), după care se efectua o a doua diluție cu apă distilată sterilă de 1:10, obținându-se inoculul final. Rezultatul final se interpreta prin folosirea unui spectrofotometru, înregistrându-se absorbanta fiecărui godeu la 405 nm. CMI-ul se calcula ca fiind cea mai mică concentrație care inhibă creșterea (comparativ cu martorul pozitiv).

Rezultatele studiului activității antiproliferative a compusului revendicat sunt prezentate în Tabel, din care se vede, că el posedă activitate fungistatică și fungică față de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans* în limitele concentrațiilor 0,10...0,20 μg/mL. Trebuie de menționat, că paralel cu proprietățile antifungice au fost cercetate și proprietățile lui bacteriostatice și bactericide față de tulpinile standard de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, micete levuriforme *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* și *Candida albicans*. În toate aceste cazuri concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă bacterică (CMB) aveau valori mai mari de 10,0 mg/mL. Același tablou se observă și pentru dimerul cuprului respectiv dezvoltat în sursa sus-indicată.

Aceste date experimentale vorbesc despre selectivitatea activității antifungice a aqua-2κO-tetrakis(N,N-dimetilacetamid-1κO)-tetrakis(μ-salicilato-1κO:2κO')bariu(II)cupru(II) față de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans*. Acest fapt este neobișnuit, având în vedere că tetrasalicilatul include cupru, care este un element cu un spectru larg de activitate fungică. După cum reiese din tabelul de mai jos, complexul studiat manifestă o activitate antimicotică, ce depășește de 160 ori activitatea fluconazolului, utilizat în medicină, și respectiv de 1,2 ori activitatea analogului proxim.

Proprietățile depistate ale compusului nominalizat prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicotice și permite utilizarea lui în cazul rezistenței fungilor față de medicamentele tradiționale.

Tabel

Concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă fungică (CMF) (μg/mL) a compusului utilizat în comparație cu fluconazolul și analogul proxim

Tulpina	Compusul utilizat		Fluconazol		Analogul proxim	
	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Cryptococcus neoformans</i> CECT 1043	0,10	0,20	16,0	-	0,12	0,24