

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 615.281 : 616.095

LOZAN-TÎRȘU CAROLINA

**EFECTE ANTIMICROBIENE ALE UNOR SUBSTANȚE CHIMICE
DIN PRODUSE AUTOHTONE**

313.02 – MICROBIOLOGIE, VIRUSOLOGIE MEDICALĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2016

Teza a fost elaborată la Catedra de microbiologie, virusologie și imunologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și în laboratorul microbiologic al Centrului de Epidemiologie a Bolilor Extrem de Contagioase și Securitate Biologică a Centrului Național de Sănătate Publică.

Conducător științific:

Rudic Valeriu doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

Consultant științific:

Gulea Aurelian doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

Referenți oficiali:

Gudumac Valentin doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Burduniuc Olga doctor în științe medicale, conferențiar cercetător

Componența Consiliului științific specializat:

Spînu Constantin **președinte**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Vorojbit Valentina **secretar științific**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Tagadiuc Olga doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Ghindă Serghei doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

Balan Greta doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Cojocaru Radu doctor în științe medicale, conferențiar cercetător

Susținerea va avea loc la 19 ianuarie 2017, ora 14⁰⁰
în ședința Consiliului științific specializat D 54. 313.02 - 01 din cadrul Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, or. Chișinău, str. C. Vârnav 13.

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu” și la pagina web a C.N.A.A. (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la 15 decembrie 2016.

Secretar științific al Consiliului științific specializat:

Valentina Vorojbit doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Conducător științific:

Rudic Valeriu doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

Consultant științific:

Gulea Aurelian doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

Autor

LOZAN-TÎRȘU Carolina

© Lozan-Tîrșu Carolina, 2016

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. În prezent antibioticele constituie elementele-cheie ale medicinei moderne, fiind indispensabile în tratamentul maladiilor bacteriene. Efectuarea chimioterapiei, transplantului de organe, intervențiilor chirurgicale, tratarea și îngrijirea arșilor și multe altele sunt imposibile fără administrarea adecvată de preparate antibacteriene [6, 14]. În perioada dintre anii 2000 și 2010 consumul total mondial de antibiotice a crescut cu 30% – de la 50 la 70 miliarde Unități Standard (US). Penicilinele și cefalosporinele au constituit aproximativ 60 la sută din consumul total de antibiotice în 2010. Utilizarea lor s-a majorat cu 41 la sută în anii 2000-2010. De asemenea, a fost înregistrată o creștere a utilizării antibioticelor „în ultimă instanță”: cu 40% a crescut consumul carbapenemelor și cu 13% – cel al polimixinelor. Țările cu cel mai mare consum de antibiotice în 2010 au fost: India, cu 13 miliarde US; China, cu 10 miliarde US, și Statele Unite ale Americii, cu 7 miliarde US. Cel mai mare consum de antibiotice pe cap de locuitor a fost înregistrat în SUA – 22 US, urmată de India, cu 11 US, și de China, cu 7 US [26]. O consecință directă a creșterii nivelului de utilizare a antibioticelor este rezistența microorganismelor patogene la antibiotice. În Europa, aproximativ 25.000 de decese sunt atribuite infecțiilor rezistente la antibiotice, iar prejudiciul se estimează la 1,5 miliarde € anual [10]. Printre cele mai periculoase pentru om microorganisme rezistente se numără MRSA – *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină și tulpinile multirezistente de *Escherichia coli*. În 2013, în 17 din 22 de țări europene 85% dintre tulpinile izolate de *E. coli* au fost de tip ESBL pozitive (producători de beta-lactamaze cu spectru extins) [9]. În infecțiile urinare, tulpinile de *Enterobacteriaceae* izolate manifestă în 26-50% din cazuri rezistență față de cefalosporinele de generația a treia și a patra [18]. Tulpinile rezistente de *Klebsiella pneumoniae* ating până la 47% din numărul total de tulpini izolate clinic. Numai în anul 2013, din cauza pneumoniei la nivel mondial, au fost înregistrate 935 mii de decese în rândurile copiilor de până la 5 ani [13, 14]. În pofida numeroaselor strategii și activități aplicate la nivel național și internațional, situația privind răspândirea accelerată a microorganismelor patogene cu rezistență multiplă nu se ameliorează. Rolul primordial în rezolvarea acestor probleme majore aparține sectorului cercetare-dezvoltare. Identificarea ori elaborarea de substanțe antimicrobiene noi este una dintre direcțiile prioritare în acest sens.

Situația în domeniul de cercetare. Începând cu anul 2000 și până la finele anului 2012, Agenția Europeană pentru Medicamente și Administrația Americană pentru Alimente și Medicamente au aprobat mai multe antibiotice noi, dintre care numai patru, și anume linezolidul, daptomicina, retapamulina și fidaxomicina, sunt antibiotice principial noi, care sunt totuși eficiente doar împotriva bacteriilor Gram-pozitive. Celelalte substanțe sunt modificări ale compușilor utilizați anterior. Cu excepția carbapenemelor, care au fost lansate în 1985, toate celelalte antibiotice aprobate pentru aplicații clinice, între anii 1960 și 2000, au fost derivați sintetici ai compușilor existenți, elaborați anterior [6]. Patru clase de substanțe – cefalosporinele, penicilinele, chinolonele și macrolidele, au fost folosite ca bază structurală pentru 73% dintre antibioticele aprobate între anii 1981 și 2005. Între anii 1987 și 2011 nu au fost raportate descoperiri de succes ale unor clase noi de antibiotice. În 2010 numai două substanțe principial noi au fost promovate până la testele clinice, dar nici

una nu le-a trecut cu succes [12, 24]. Astfel, este necesară o resetare urgentă a arsenalului de agenți antimicrobieni activi [5, 25]. În prezent, atât sinteza chimică, cât și obținerea de substanțe naturale sunt principalele căi de a obține noi compuși cu proprietăți antimicrobiene [7].

Compușii chimici cu efect antimicrobian sintetizați în centrele științifice posedă unele avantaje în vederea studiului efectelor lor biologice, cum ar fi posibilitatea dozării exacte, facilitatea în aprecierea proceselor de metabolizare, posibilitatea de obținere a cantităților necesare prin respectarea strictă a unor operațiuni tehnologice stabilite, posibilitatea dirijării structurii acestora, și deci a proprietăților pe care aceste substanțe le manifestă și a efectelor biologice scontate [21]. Compușii chimici cu efecte antimicrobiene se caracterizează prin structură și proprietăți diverse, iar prezența metalelor cu valență variabilă în componența lor este una dintre condițiile realizării efectului antimicrobian *in vitro* și *in vivo*. Datorită capacității înalte de chelare și potențialului redox pozitiv, ionul de cupru (Cu^{2+}) este biologic activ și participă în multe procese din organism. Complecșii de cupru sunt printre cele mai puternice substanțe antimicrobiene [15 -17, 20, 22].

Problema de cercetare care reiese din analiza situației în domeniu constă în necesitatea evidențierii proprietăților antimicrobiene ale unor compuși chimici noi, precum și a mecanismelor prin care acestia acționează.

Scopul tezei de doctorat a constat în evaluarea proprietăților antimicrobiene ale compușilor chimici noi și în elucidarea mecanismelor de acțiune a acestora.

Obiectivele lucrării au fost următoarele:

1. Evidențierea acțiunii antimicrobiene a compușilor coordinativi ai cuprului (II) cu diferiți liganzi asupra tulpinilor de referință ale microorganismelor patogene.
2. Determinarea acțiunii antimicrobiene ale propenonelor aromatice cu grupe tioamidice sau cu izotiocian asupra tulpinilor de referință a microorganismelor patogene.
3. Compararea acțiunii compușilor chimici noi cu cea a antisepticului de referință.
4. Evaluarea particularităților de acțiune antimicrobiană a compușilor chimici noi asupra tulpinilor izolate din coproculturi.
5. Stabilirea mecanismelor de influență a compușilor chimici noi evidențiați asupra microorganismelor patogene.

Metodologia cercetării științifice. Pentru realizarea lucrării au fost utilizate două categorii de metode de cercetare: metode clasice ale microbiologiei medicale și metode de determinare a statutului redox al culturii microbiene. La prima categorie se referă determinarea concentrației minime de inhibiție și concentrației minime bactericide ale compușilor coordinativi. La cea de-a doua categorie se referă metodele de determinare a capacității antioxidante totale, a activității enzimelor antioxidante, a peroxidului de hidrogen și a nivelului de peroxidare a lipidelor. Calculul statistic a fost realizat prin aplicarea instrumentelor statisticii descriptive și inferențiale [19], iar în cazul determinării activității antimicrobiene a antibioticelor prin metoda difuziunii în agar am aplicat instrumentul de calcul recomandat pentru acest tip de experiențe [27]. Obiectele de studiu și metodologia utilizată au permis de a evidenția corect și la nivel metodologic adecvat activitatea antimicrobiană a compușilor chimici noi.

Noutatea și originalitatea științifică. A fost testată activitatea antimicrobiană a unor noi compuși coordinativi ai cuprului cu diferiți liganzi și comparată cu activitatea antisepticului de referință, ceea ce face posibilă aprecierea activității compușilor testați față de cea a remediilor utilizate. Au fost estimați parametrii statutului antioxidant al culturilor de microorganisme patogene la acțiunea compușilor noi testați, ceea ce permite aprecierea nivelului stresului oxidativ.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare constă în elucidarea efectelor unor noi compuși chimici din produse autohtone asupra tulpinilor de microorganisme patogene, ceea ce a contribuit la evidențierea proprietăților antimicrobiene ale substanțelor noi, fapt ce a permis stabilirea mecanismelor de acțiune a lor.

Semnificația teoretică. Au fost acumulate date noi despre acțiunea unor compuși noi față de tulpinile de referință și tulpinile clinice și despre modificările statutului antioxidant al microorganismelor patogene sub acțiunea compușilor chimici noi. Au fost evidențiate corelațiile negative stabile dintre capacitatea antioxidantă totală și conținutul dialdehidei malonice, ceea ce permite aplicarea acestor parametri în calitate de indicatori de monitorizare a activității antibacteriene.

Valoarea aplicativă a lucrării. Au fost evidențiați compuși noi cu activitate antibacteriană înaltă față de *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus* de perspectivă pentru testări *in vivo*. A fost propusă o metodă originală de determinare a biomasei culturilor de microorganisme.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere.

1. Compușii coordinativi ai Cu(II) cu diferiți liganzi manifestă activitate antibacteriană mai înaltă față de microorganismele Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ГИСК 8035) decât față de cele Gram-negative.
2. Compușii coordinativi ai Cu(II) cu 4-(dimetilfenil)tiosemicarbazona 2-formilpiridinei au activitate antibacteriană înaltă față de microorganismele Gram-pozitive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ГИСК 8035, dar și față de tulpina de referință Gram-negativă *Shigella sonnei* ATCC 25931.
3. Compușii di(μ -S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il) etanon-4-metiltiosemicarbazonato (1-)]cupru} și di(μ -S)-bis{cloro-[1-piridin-2-il-4-etiltiosemicarbazono-(1-)] cupru} posedă activitate antibacteriană înaltă față de tulpinile de *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli* izolate clinic.
4. Compușii cu activitate antibacteriană înaltă cauzează în celulele microorganismelor patogene un stres oxidativ pronunțat.
5. Activitatea antibacteriană a compușilor noi testați este asociată cu o scădere semnificativă a activității superoxidismutazei și catalazei.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului au fost implementate la Catedra de microbiologie, virusologie și imunologie USMF „Nicolae Testemițanu” ca material didactic pentru instruirea universitară. Metoda de determinare a biomasei bacteriene propusă în teză a fost implementată în cadrul Colecției Naționale de Microorganisme nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie (Act nr.74 din 28 mai 2015).

Aprobarea rezultatelor științifice. Materialele expuse în teza de doctorat au fost comunicate la: Cea de-a XXXI-a – Conferință română de chimie, 2010, Râmnicu

Vâlcea, România; Primul colocviu franco-român de chimie medicinală, 2010, Iasi, România; Conferința științifico-practică „Substanțe bioactive: probleme fundamentale și aplicative de obținere și aplicare”, 2011, Novii Svet, Ucraina; Conferința internațională Ciugaev „Metode fizico-chimice în chimia compușilor coordinativi”, 2011, Suzdali, Rusia; Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică - domeniu scientointensiv al științei contemporane”, 2011, Chișinău, Moldova; Cea de-a XVII-a Conferință Internațională „Metode fizice în chimia coordinativă și supramoleculară”, 2012, Chișinău, Moldova; Conferința Internațională dedicată celei de-a 55-a aniversări de la fondarea Institutului de Chimie al Academiei de Științe a Moldovei, 2014, Chișinău, Moldova; Cea de-a doua Conferință internațională în domeniul Biotehnologiei microbiene 2014, Chișinău, Moldova.

Rezultatele tezei au fost discutate și aprobate în cadrul ședinței Catedrei de microbiologie, virusologie și imunologie USMF „Nicolae Testemițanu” din 15 iunie, 2016 și Seminarului Științific de profil 313.02 **Microbiologie medicală** din cadrul Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” din 06 iulie 2016.

Publicațiile la tema tezei. Rezultatele științifice expuse în această lucrare au fost reflectate în 26 de publicații științifice: 8 articole în reviste recenzate (3 – în reviste cu factor de impact; 3 – în monoautorat), 14 rezumate ale comunicărilor științifice, 4 brevete de invenție.

Volumul și structura tezei. Teza constă din 4 capitole; are un volum de bază de 127 de pagini, conține 26 de tabele și 21 de figuri. Lista surselor bibliografice citate include 240 de titluri.

Cuvinte-cheie: activitate antimicrobiană, compuși coordinativi, cupru, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica*.

CONȚINUTUL TEZEI

1. COMPUȘI ANTIMICROBIENI

Capitolul conține o analiză amplă a situației în domeniu în baza unui studiu bibliografic profund al publicațiilor relevante pentru tema dată în întreaga lume. Capitolul este structurat în 3 subcapitole. Primul subcapitol este consacrat elucidării mecanismelor de acțiune a antibioticelor clasice din aspectul nivelului actual al cunoașterii în acest domeniu. Sunt scoase în evidență atât mecanisme particulare ale diferitor tipuri de substanțe cu efect antimicrobian, cât și mecanisme generalizate, care sunt înregistrate în toate tipurile de celule bacteriene indiferent de tipul de compus antimicrobian aplicat. Sunt aduse explicații cu referire la diferite tipuri de clasificare a substanțelor cu efect antimicrobian. Astfel, sunt delimitate noțiunea de compuși bacteriostatici și bactericizi și importanța aplicării acestui tip de clasificare în terapiile combinate cu scopul evitării antagonismelor puternice care pot surveni între agenții terapeutici utilizați. În același timp, se atrage atenția asupra caracterului relativ al acestui mod de clasificare în funcție de natura microorganismului patogen și dozele administrate. Este adus drept exemplu și sistemul de clasificare a antibioticelor în antibiotice cu spectru larg de acțiune și cu spectru îngust de acțiune și explicată necesitatea dezvoltării cercetărilor pentru ambele tipuri. Cea mai mare atenție a fost atrasă asupra sistemului de clasificare a antibioticelor în funcție de mecanismul lor de acțiune. În această parte a capitolului sunt sistematizate modificările produse de fiecare tip de antibiotic în celulele bacteriene, de asemenea, fiind generalizate datele de ultimă oră de biologie moleculară și genetică microbiană cu referire la complexe de gene, sistemele de operare specifice, care sunt implicate în realizarea fiecărui tip de acțiune, precum și în corelarea acestora cu genele și sistemele de operare responsabile de rezistența microorganismelor la acest tip de influență.

În subcapitolul al doilea sunt analizate principalele grupuri de antibiotice de origine naturală. Este analizată gama bogată de componente cu efect antimicrobian care au fost depistate în celulele microbiene. Se atrage atenția asupra diversității structurale și funcționale a antibioticelor produse de microorganisme și se prezintă listele de specii de microorganisme patogene asupra cărora substanțele efectuate au influență pronunțată. Este subliniată diversitatea enormă a compușilor microbieni de origine vegetală și sunt reflectate rezultatele cercetărilor, care elucidează mecanismele de acțiune antimicrobiană a fenolilor, alcaloizilor, compușilor organici sulfurați, terpenoidelor. Se pune accent și pe efectele pe care le au combinațiile de preparate vegetale și antibiotice clasice asupra diferitor culturi de microorganisme patogene. Dintre antibioticele de origine animală sunt descrise și analizate mai detaliat peptidele antimicrobiene.

Cel de-al treilea subcapitol este dedicat compușilor antimicrobieni sintetici. Sunt arătate avantajele și dezavantajele lor comparativ cu antibioticele naturale. În vizorul acestei analize au fost două grupuri principale – polimerii antimicrobieni și compușii coordinativi. Este prezentată o sinteză a multiplelor rezultate obținute la testarea diferitor tipuri de compuși coordinativi noi și o încercare de a prezenta principalele cerințe față de un compus coordinativ nou ca acesta să poată fi considerat de perspectivă pentru utilizare în calitate de produs antimicrobian. Sunt aduse argumente în favoarea selectării cuprului în calitate de metal component al compușilor noi cu efect antibacterian. Capitolul se finalizează cu formularea problemei de cercetare, direcțiilor de rezolvare a ei, scopului și sarcinilor prezentei lucrări.

2. CARACTERISTICA OBIECTELOR DE STUDIU ȘI METODELOR APLICATE ÎN CERCETARE

În calitate de obiecte de studiu „*in vitro*” în capitolul 2 au fost incluse 5 tulpini de referință, care provin din două colecții de culturi recunoscute în calitate de furnizori de material biologic de calitate pentru cercetări de performanță: American Type Culture Collection (ATCC, USA) și Colecția de Stat a Microorganismelor Patogene a Institutului de Stat de cercetări științifice în domeniul standardizării și controlului preparatelor medicale biologice „L. A. Tarasevici” (ГИСК, Federația Rusă).

În calitate de substanțe cu efecte antimicrobiene au fost testați compuși coordinativi ai Cu (II); Co(II), Zn(II) și propenonele aromatice sintetizate la Catedra de chimie anorganică (Universitatea de Stat din Moldova). Pentru a facilita analiza rezultatelor obținute, compușii chimici noi au fost grupați în 4 clase, pentru fiecare fiind prezentată informația despre compoziția și geometria compușilor respectivi. Deoarece la etapa de planificare a cercetării doctorale miza a fost pusă pe particularitățile cuprului ca metal cu proprietăți antibacteriene, pentru compușii ce conțin cupru este prezentată și masa relativă a acestui metal în componența compusului final.

Capitolul include, de asemenea, descrierea a două categorii de metode de cercetare: metode clasice ale microbiologiei medicale și metode de determinare a statutului redox al culturii microbiene. La prima categorie se referă determinarea concentrației minime de inhibiție și concentrației minime bactericide ale compușilor chimici noi. La cea de-a doua categorie se referă metodele de determinare a capacității antioxidante totale, a activității enzimelor antioxidante, a peroxidului de hidrogen și a nivelului de peroxidare a lipidelor.

În acest capitol merită a fi evidențiate două abordări metodologice originale. Astfel, pentru a compara activitatea compușilor noi cu cea a antisepticului de referință am utilizat metodologia de determinare a activității antimicrobiene a antibioticelor prin metoda difuziunii în agar, în care în calitate de antiseptic standard a fost aplicată furacilina, iar în calitate de antibiotic – compușii chimici noi. De asemenea, a fost implementată o metodă de determinare a biomasei microbiene în baza parametrilor dimensionali ai celulelor. Parametrii biochimici au fost cuantificați prin aplicarea metodelor cunoscute. Calculul statistic a fost realizat prin aplicarea instrumentelor statisticii descriptive și inferențiale, iar în cazul determinării activității antimicrobiene a antibioticelor prin metoda difuziunii în agar am aplicat instrumentul de calcul recomandat pentru acest tip de experiențe. Obiectele de studiu și metodologia utilizată au permis de a evidenția corect și la nivel metodologic adecvat activitatea antimicrobiană a compușilor chimici noi.

Designul studiului realizat este prezentat în Figura 1.

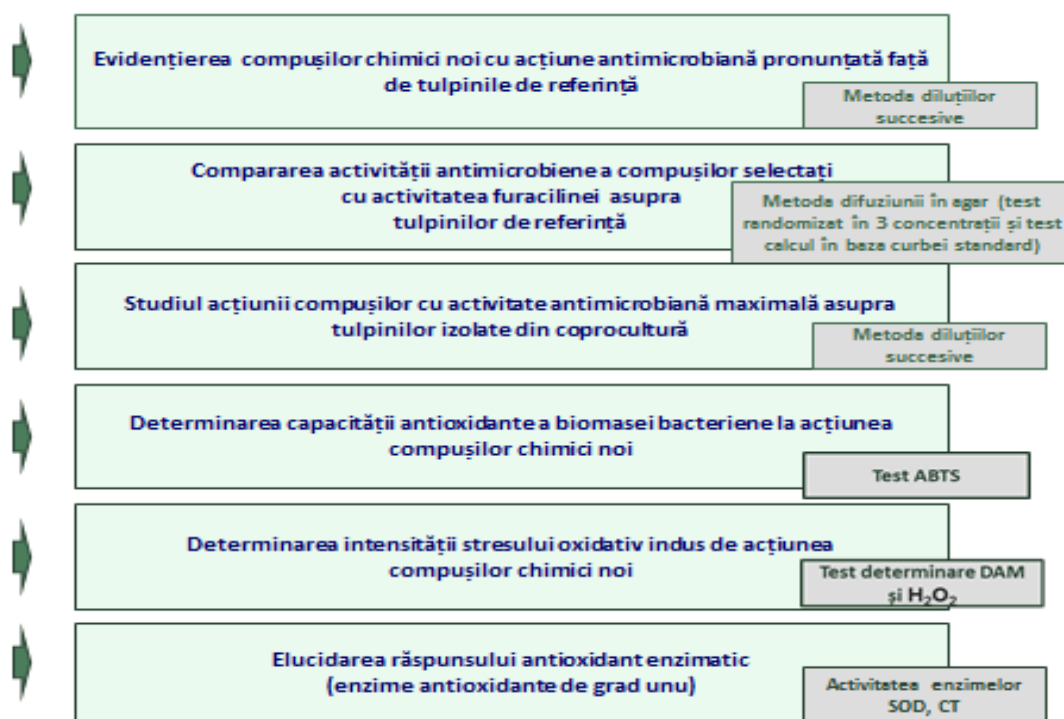


Fig. 1. Designul studiului.

3. ACTIVITATEA ANTIBACTERIANĂ A UNOR COMPUȘI CHIMICI NOI

La prima etapă au fost determinate concentrațiile minimă inhibitoare (CMI) și minimă bactericidă (CMB) ale fiecărui dintre cei 220 de compuși chimici noi. În lucrare sunt incluse rezultatele pentru 37 dintre aceștia, care au manifestat activitate antibacteriană mai pronunțată sau la nivelul activității furacilinei. Rezultate promițătoare au fost obținute pentru compușii din primele 3 grupuri. Activitate antibacteriană înaltă au manifestat compușii coordinați ai Cu(II) cu 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamidele și compușii coordinați ai Cu(II) cu 4-(dimetilfenil) tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei. Propenonele aromatice au demonstrat activitate antibacteriană redusă comparativ cu furacilina. Ca rezultat al primei etape de lucru a fost efectuată selectarea compușilor care s-au afirmat ca substanțe cu efect antimicrobian pronunțat.

Activitatea antibacteriană a compușilor selectați a fost determinată prin aplicarea metodei de difuziune în agar în cadrul experienței randomizate în trei concentrații și a celei în cinci concentrații cu calculul ulterior în conformitate cu metodologia recomandată. Tulpinile de referință Gram pozitive au fost mai vulnerabile față de acțiunea noilor compuși. Astfel, față de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 au manifestat activitate antimicrobiană înaltă 12 compuși, care au fost de 3-3500 ori mai activi ca furacilina. Rezultatele pot fi urmărite în Tabelul 1.

Pentru *Bacillus cereus* ГИСК 8035 au fost identificați 13 compuși chimici noi cu activitate care o depășește pe cea a furacilinei de 5,3-495 ori (Tabelul 2). Dintre culturile de referință Gram-negativă cele mai bune rezultate au fost obținute pentru *Shigella sonnei* ATCC 25931. 11 compuși au manifestat activitate antibacteriană de 2,5-216 ori mai înaltă ca cea a furacilinei. Față de *Escherichia coli* ATCC 25922 au manifestat activitate antibacteriană 6 compuși, iar față de *Salmonella enterica* (*Salmonella Abony* ГИСК 03/03y) –

doar 2 compuși. Față de ambele culturi compușii selectați au avut o activitate antibacteriană de 2,1-6,1 ori mai mare ca cea a furacilinei în condiții identice (Tabelul 3).

Tabelul 1. Activitatea biologică a compușilor chimici noi selectați față de tulpina de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 calculată în baza rezultatelor metodei de difuziune în agar*

Compusul	Activitatea biologică observată, CMI, $\mu\text{g/ml}$	Echivalent de furacilină egal cu activitatea 1 μg compus/ml	
		Experiență randomizată	Conform curbei standard
$\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{Cu}_2\text{N}_{14}\text{O}_{10}\text{S}_4$	0,29	6,24-9,13	7,55-8,9
$\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_{14}\text{O}_{12}\text{S}_4$	0,07	28,15-42,46	30,57-36,29
$\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{Cu}_2\text{N}_{18}\text{O}_{10}\text{S}_6$	0,14	10,02-19,21	15,50-17,93
$\text{C}_{46}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_{18}\text{O}_{10}\text{S}_4$	0,018	92,58-152,80	133,33-146,67
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClCuN}_4\text{O}_2\text{S}$	0,009	220,45-283,30	250,12-270,34
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,58	3,03-5,12	3,86-4,21
$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClCuN}_4\text{OS}$	0,018	118,40-141,12	122,22-137,78
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,018	124,20-152,34	120,55-139,44
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,009	235,35-290,67	241,11-278,89
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,009	226,56-302,34	239,48-286,64
$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{Cu}_2\text{N}_8\text{S}_2$	0,00056	3502,20-4836,52	3803,45-4553,57
$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClCuN}_4\text{S}$	0,03	62,47-94,85	75,00-81,00

*Notă: În cazul calculului efectuat pentru experiența randomizată în tabel au fost trecute rezultatele, pentru care deviația a fost apreciată ca semnificativă (respectarea condițiilor: valoarea F_{calculat} pentru regresie $>7,13$ (F_{crit} la $P=99\%$); valorile F_{calculat} pentru paralelism, caracter pătratic și diferența pătraticității $<4,02$ (F_{crit} la $P=95\%$).

Tabelul 2. Activitatea biologică a compușilor chimici noi selectați față de tulpina de referință *Bacillus cereus* ГИСК 8035 calculată în baza rezultatelor testului de difuziune în agar*

Compusul	Activitatea biologică, CMI, $\mu\text{g/ml}$	Echivalent de furacilină egal cu activitatea 1 μg compus/ml	
		Experiență randomizată	Conform curbei standard
$\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{Cu}_2\text{N}_{14}\text{O}_{10}\text{S}_4$	0,009	395,5-602,15	467,78-572,22
$\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_{14}\text{O}_{12}\text{S}_4$	0,29	11,76-19,24	14,38-17,90
$\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{Cu}_2\text{N}_{18}\text{O}_{10}\text{S}_6$	0,58	5,58-10,05	7,43-8,31
$\text{C}_{46}\text{H}_{42}\text{Cu}_2\text{N}_{18}\text{O}_{10}\text{S}_4$	0,009	480,33-539,47	478,89-561,11
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClCuN}_4\text{O}_2\text{S}$	0,009	495,48-526,39	440,00-600,00
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,58	5,33-9,48	6,82-9,31
$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClCuN}_4\text{OS}$	0,009	420,59-649,30	479,77-590,22
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,03	112,47-185,32	138,00-174,00
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,009	398,15-686,12	430,00-610,00
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{CuN}_5\text{O}_5\text{S}$	0,018	220,40-305,82	235,00-285,00
$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{Cu}_2\text{N}_8\text{S}_2$	0,14	21,45-44,24	29,28-37,57
$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClCuN}_4\text{S}$	0,14	22,30-41,52	28,43-38,43
$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{CuN}_5\text{O}_4\text{S}_2$	0,03	120,58-201,43	138,33-173,67

*Notă: Vezi nota la Tabelul 1.

Tabelul 3. Activitatea biologică a compușilor chimici noi selectați față de tulpinile de referință *Gram-negative* calculată în baza rezultatelor obținute la aplicarea metodei de difuziune în agar

Compusul	Activitatea biologică, CMI, $\mu\text{g/ml}$	Echivalent de furacilină egal cu activitatea 1 μg compus/ml	
		Experiență randomizată	Conform curbei standard
Shigella sonnei ATCC 25931			
C ₃₈ H ₃₈ Cu ₂ N ₁₄ O ₁₀ S ₄	0,58	2,45-5,11	3,86-4,21
C ₄₂ H ₄₂ Cu ₂ N ₁₄ O ₁₂ S ₄	0,29	5,87-11,35	7,59-8,55
C ₄₄ H ₄₀ Cl ₂ Cu ₂ N ₁₄ O ₄ S ₆	0,29	6,22-9,76	7,66-8,38
C ₁₅ H ₁₉ ClCuN ₄ O ₂ S	0,07	24,43-41,38	30,57-36,29
C ₁₅ H ₁₉ CuN ₅ O ₅ S	0,58	2,44-6,02	3,81-4,26
C ₁₅ H ₁₇ ClCuN ₄ OS	0,018	101,20-155,32	117,78-142,22
C ₁₅ H ₁₉ CuN ₅ O ₅ S	0,07	24,16-38,19	29,40-35,12
C ₁₅ H ₁₉ CuN ₅ O ₅ S	0,009	216,76-304, 87	235,56-284,44
C ₁₅ H ₁₉ CuN ₅ O ₅ S	0,009	205,65-290,56	241,11-278,89
C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ Cu ₂ N ₈ S ₂	0,58	1,94-5,78	3,76-4,04
C ₉ H ₁₁ ClCuN ₄ S	1,17	1,22-4,18	1,97-2,07
Escherichia coli ATCC 25922			
C ₃₈ H ₃₈ Cu ₂ N ₁₄ O ₁₀ S ₄	1,17	1,91- 2,10	2,05- 2,38
C ₄₄ H ₄₀ Cl ₂ Cu ₂ N ₁₄ O ₄ S ₆	0,29	6,05-12,10	7,10-9,03
C ₄₆ H ₄₆ Cu ₂ N ₁₈ O ₁₀ S ₆	0,58	2,99-6,44	3,72-4,21
C ₄₆ H ₄₂ Cu ₂ N ₁₈ O ₁₀ S ₄	0,58	2,64-6,34	3,61-4,19
C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ Cu ₂ N ₈ S ₂	0,58	3,01-6,58	3,64-4,43
C ₉ H ₁₁ ClCuN ₄ S	1,17	1,84-2,26	2,10-2,42
Salmonella enterica (S. Abony ГИСК 03/03y)			
C ₃₈ H ₃₈ Cu ₂ N ₁₄ O ₁₀ S ₄	1, 17	2,22-6,05	3,72-4,27
C ₄₄ H ₄₀ Cl ₂ Cu ₂ N ₁₄ O ₄ S ₆	0,58	4,24-12,34	6,95-9,19

Trei dintre compușii selectați la primele etape, activi față de tulpinile de referință au fost testați pe tulpinile de *Staphylococcus aureus* izolate din coprocultură. În lucru au fost luate 30 de tulpini izolate de la pacienți, iar pentru fiecare din ele a fost determinată CMI și CMB pentru compusul cercetat și pentru furacilină. În Figura 2 este reprezentată repartizarea tulpinilor pe grupuri în funcție de valoarea CMI a fiecărui compus în parte. Primul grup include tulpinile izolate, pentru care CMI este până la 1,17 $\mu\text{g/ml}$, cel de-al doilea grup – între 2,34-4,69 $\mu\text{g/ml}$, iar cel de-al treilea – mai mare sau egal cu 9,37 $\mu\text{g/ml}$. Față de 80-93% dintre tulpinile de stafilococ izolate clinic, toți trei compuși testați au demonstrat un nivel al CMI de până la 1,17 $\mu\text{g/ml}$ și față de 7-17% dintre tulpinile izolate – CMI între 2,34-4,69 $\mu\text{g/ml}$. Compusul di(μ -S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il) etanon-4-metiltiosemicarbazonato(1-)]cupru} nu a înregistrat valori ale CMI mai mari sau egale cu 9,37 $\mu\text{g/ml}$, iar ceilalți doi compuși au manifestat o astfel de activitate antibacteriană față de 3% dintre tulpinile de stafilococ izolate clinic.

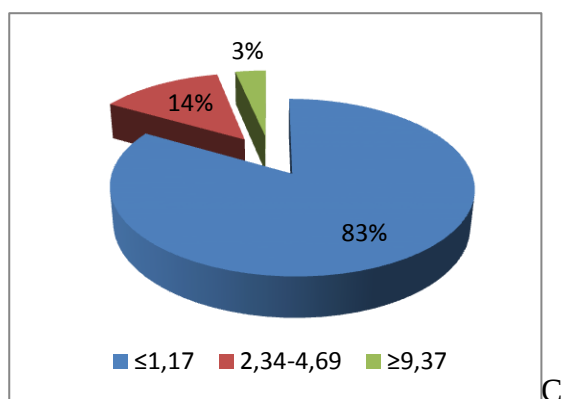
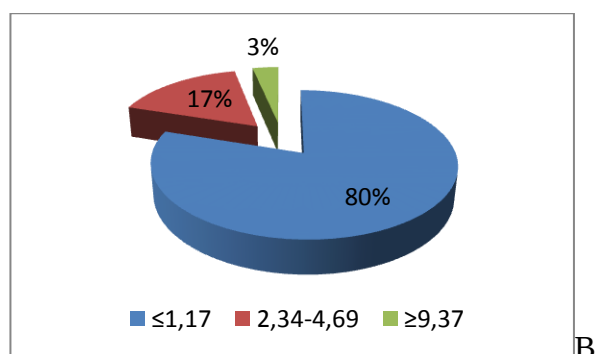
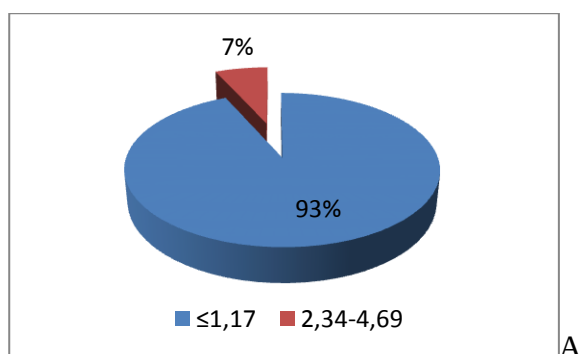


Fig. 2. Repartizarea tulpinilor de *Staphylococcus aureus* izolate în grupuri în funcție de valorile CMI (μg/ml) ale compușilor testați:
 A - di(μ-S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il) etanon-4- metiltiosemicarbazonato (1-)]cupru};
 B-cloro-[N-etil-2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazin-carbotioamido]cupru; C - di (μ-S)-bis{[2-(4-aminobenzen-sulfamido)-pirimidin]-nitrato-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazido-(1-)] cupru}.

Rezultatele analizei dispersionale monofactoriale cu aplicarea testului *t* au arătat că diferențele înregistrate pentru activitatea antibacteriană a celor trei compuși față de tulpinile de stafilococ izolate se deosebesc veridic de activitatea antibacteriană a furacilinei în aceleași condiții ($P < 0,001$ pentru CMI și CMB în toate perechile de șiruri de date).

În Figura 3 este reprezentată repartizarea tulpinilor de *Escherichia coli* izolate pe grupuri în funcție de valoarea CMI a fiecărui compus în parte. Primul grup include tulpinile izolate, pentru care CMI este până la 4,69 μg/ml, cel de-al doilea grup - între 9,37 – 37,5 μg/ml, iar în cel de-al treilea – mai mare sau egal cu 75 μg/ml.

Compusul di(μ-S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazonato (1-)]cupru} a manifestat o activitate antibacteriană exprimată în valori CMI între 9,37-37,5 μg/ml. Față de compusul cloro-[N-etil-2-(piridin-2-ilmetilen) hidrazin-carbotioamido]cupru la 90% dintre tulpinile izolate clinic au fost înregistrate valori similare cu cele ale compusului precedent și doar pentru 3 tulpini izolate CMI a compusului a fost ≤4,69 μg/ml. În cazul compusului di (μ-S)- bis {[2 - (4-aminobenzen-sulfamido)-pirimidin]-nitrato - [2-picoliden-4-fenil-tiosemicarbazido-(1-)] cupru} la 56% dintre tulpinile izolate CMI a compusului a fost mai mare de 75 μg/ml.

Rezultatele analizei dispersionale monofactoriale cu aplicarea testului *t* au arătat că diferențele înregistrate pentru activitatea antibacteriană a primilor doi compuși față de tulpinile de stafilococ izolate se deosebesc veridic de activitatea antibacteriană a furacilinei în aceleași condiții ($P < 0,001$ pentru CMI și CMB în toate perechile de șiruri de date).

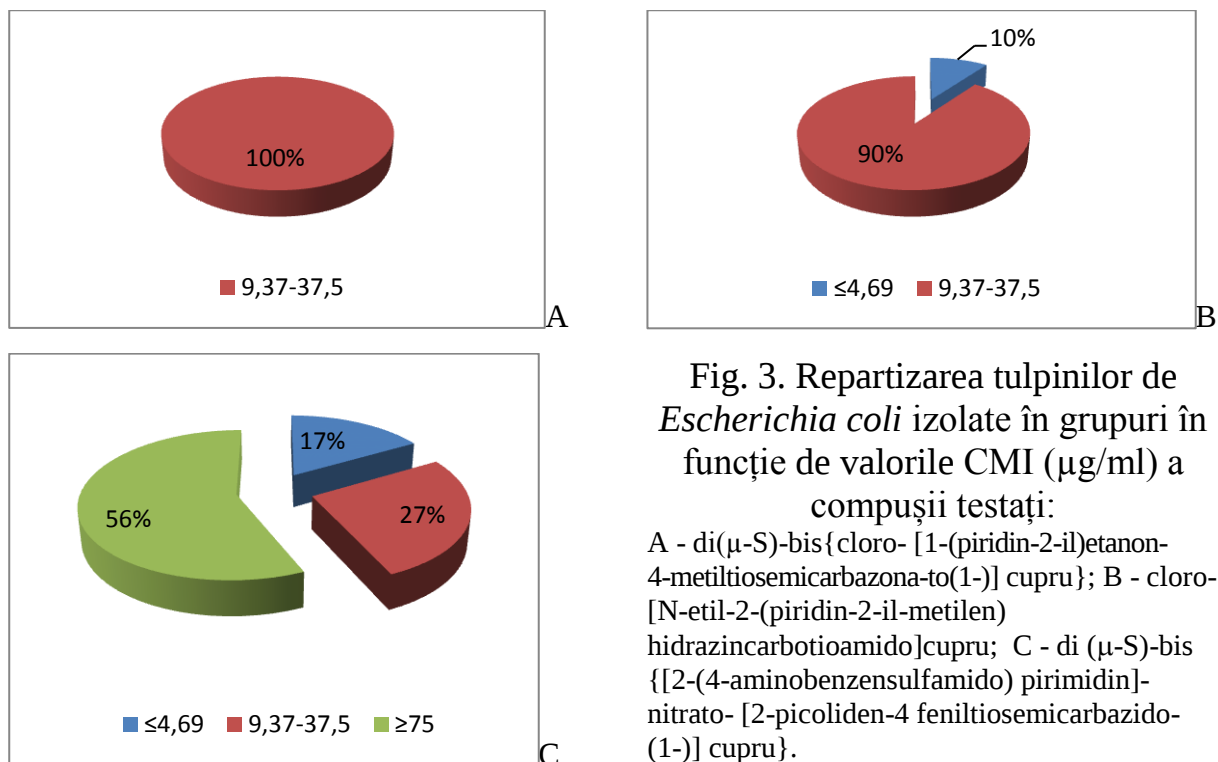


Fig. 3. Repartizarea tulpinilor de *Escherichia coli* izolate în grupuri în funcție de valorile CMI (μg/ml) a compușii testați:

A - di(μ-S)-bis{cloro- [1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazona-to(1-)] cupru}; B - cloro-[N-etil-2-(piridin-2-il-metilen)hidrazincarbotoamido]cupru; C - di (μ-S)-bis {[2-(4-aminobenzensulfamido) pirimidin]-nitrato- [2-picoliden-4 feniltiosemicarbazido-(1-)] cupru}.

Astfel, compușii di(μ-S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il) etanon- 4- metiltiosemicarbazona to (1-)] cupru} și cloro-[N-etil-2-(piridin-2-ilmetilen) hidrazincarbotoamido] cupru au fost recomandați în calitate de preparate cu efecte antibacteriene pronunțate față de tulpinile clinice de *Staphylococcus aureus* și preparate cu activitate antibacteriană înaltă față de tulpinile clinice de *Escherichia coli*.

4. MODIFICAREA INDICILOR BIOCHIMICI AI CULTURILOR DE MICROORGANISME PATOGENE SUB INFLUENȚA COMPUȘILOR CHIMICI NOI CU PROPRIETĂȚI ANTIMICROBIENE

Capitolul dat relevă rezultatele obținute la cuantificarea parametrilor statutului antioxidant al celulelor în culturile de microorganisme patogene expuse acțiunii noilor compuși chimici și în culturile menținute în condiții standard. Pentru determinarea activității antioxidante s-a aplicat testul ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolina-6 a acidului sulfonic). Testul de determinare a capacității antioxidante totale cu utilizarea radicalului cation ABTS^{•+} este indicat în cazul dat, deoarece permite evaluarea extractelor multicomponente, așa cum este lizatul celular analizat. A fost stabilit, că tratarea tuturor celor cinci culturi bacteriene de referință cu compușii chimici noi selectați conduce la reducerea pronunțată a capacității antioxidante totale cu 25-94% față de capacitatea antioxidantă normală a biomasei netratate.

Rezultatele care arată capacitatea antioxidantă totală în cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 la acțiunea compușilor selectați sunt prezentate în Figura 4.

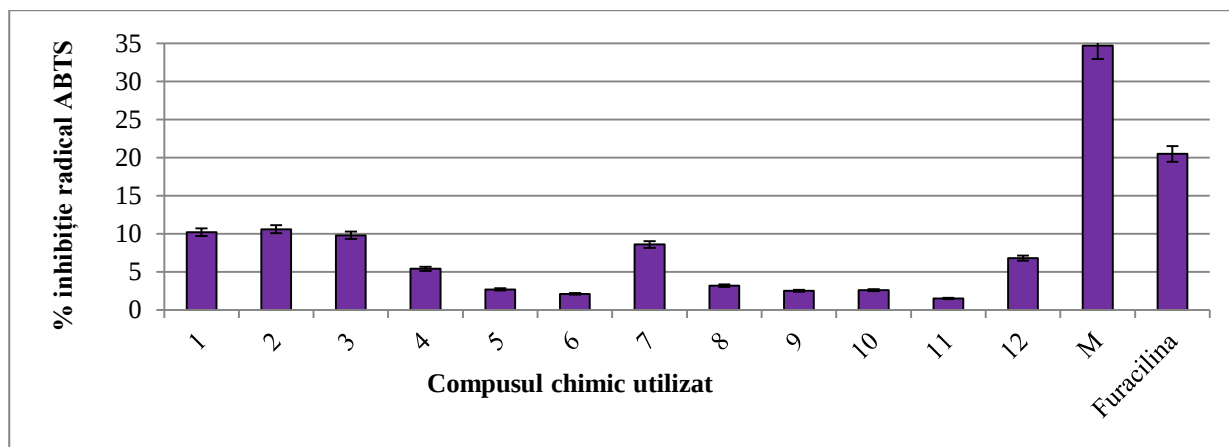


Fig. 4. Modificarea capacității antioxidante totale în tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sub influența compușilor chimici noi selectați:

1 - $C_{38}H_{38}Cu_2N_{14}O_{10}S_4$; 2 - $C_{42}H_{42}Cu_2N_{14}O_{12}S_4$; 3 - $C_{46}H_{46}Cu_2N_{18}O_{10}S_6$; 4 - $C_{46}H_{42}Cu_2N_{18}O_{10}S_4$; 5 - $C_{15}H_{19}ClCuN_4O_2S$; 6 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$; 7 - $C_{15}H_{17}ClCuN_4OS$; 8 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (2,5); 9 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (3,4); 10 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (2,4); 11 - $C_{18}H_{22}Cl_2Cu_2N_8S_2$; 12 - $C_9H_{11}ClCuN_4S$; M - cultura netratată.

În cazul furacilinei procentul de inhibiție a radicalului cation ABTS constituie 59,1% din capacitatea extractului celular de stafilococ neprelucrat cu substanțe antibacteriene. Activitatea antioxidantă totală a extractelor celulare obținute din biomasa de stafilococ tratată cu cei 12 compuși chimici noi selectați a constituit de la 6,1 la 30,5% din capacitatea antioxidantă a matorului.

Pentru cultura de referință *Bacillus cereus* ГИСК 8035 au fost selectați 13 compuși chimici noi cu efect antibacterian înalt. Rezultatele obținute pentru capacitatea antioxidantă totală a lizatelor celulare sunt prezentate în Figura 5.

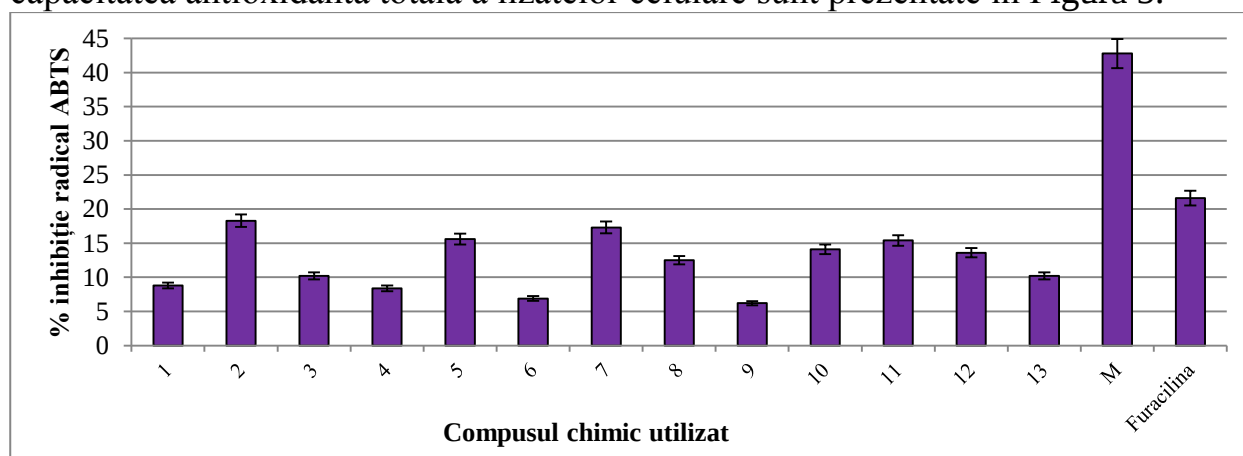


Fig. 5. Modificarea capacității antioxidante totale în cultura standard *Bacillus cereus* ГИСК 8035 sub influența compușilor chimici noi selectați:

1 - $C_{38}H_{38}Cu_2N_{14}O_{10}S_4$; 2 - $C_{42}H_{42}Cu_2N_{14}O_{12}S_4$; 3 - $C_{46}H_{46}Cu_2N_{18}O_{10}S_6$; 4 - $C_{46}H_{42}Cu_2N_{18}O_{10}S_4$; 5 - $C_{15}H_{19}ClCuN_4O_2S$; 6 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$; 7 - $C_{15}H_{17}ClCuN_4OS$; 8 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (2,5); 9 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (3,4); 10 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$ (2,4); 11 - $C_{18}H_{22}Cl_2Cu_2N_8S_2$; 12 - $C_9H_{11}ClCuN_4S$; 13 - $C_{10}H_{13}CuN_5O_4S_2$; M - cultura netratată.

Capacitatea antioxidantă totală în lizatul celular din cultura de *Bacillus cereus* netratată constituie 43,8% din inhibiția radicalului cationului ABTS. Acest indicator este destul de înalt chiar și pentru extractele din plante, care sunt considerate cele mai

active. Tratarea culturii de *Bacillus cereus* cu furacilină provoacă o diminuare de două ori a capacității antioxidante totale a extractului celular. Și mai puternic scade capacitatea antioxidantă sub influența compușilor chimici noi. Astfel, în funcție de compusul aplicat, capacitatea antioxidantă a lizatelor constituie 14,5-40,4% din capacitatea totală a matorului.

Și în culturile bacteriene Gram- compușii testați au provocat aceleași efecte de scădere a capacității antioxidante totale. Astfel, tulpina de referință *Shigella sonnei* ATCC 25931 în condiții normale posedă o capacitate de reducere a radicalului cation ABTS de aproape 40%, ceea ce este un indicator foarte bun. Nivelul de activitate antioxidantă în biomasa tratată cu furacilină este de peste două ori mai mic și constituie 47,8% din nivelul matorului. Pentru biomasa tratată cu dozele CMI ale compușilor chimici noi valorile obținute variază între 3,9 și 14,3% inhibiție, ceea ce constituie 9,9-36,4% din valorile caracteristice probei mator.

În cazul tuturor celor cinci culturi de referință incluse în studiu a fost constatată creșterea semnificativă a produselor peroxidării lipidice, ceea ce semnalează condiții de stres oxidativ intens. Astfel, în cazul culturii de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cantitatea de dialdehidă malonică (DAM) la tratarea cu CMI ale celor 12 compuși chimici noi selectați a crescut cu 50,4-106,1%, comparativ cu cultura netratată. În cazul culturii de referință *Bacillus cereus* ГИСК 8035 în funcție de compusul aplicat creșterea cantității de DAM a fost de 45,0-95,5%. Conținutul dialdehidei malonice în lizatul culturii *Shigella sonnei* ATCC 25931 a fost de 1,5-2,1 ori mai mare în cazul tratării cu CMI a compușilor chimici noi selectați, comparativ cu cultura mator. La tulpina de referință *Escherichia coli* ATCC 25922 sub influența compușilor selectați cantitatea de DAM a crescut până la 81%, iar la tulpina *Salmonella enterica* (S. Abony ГИСК 03/03y) – până la 76,4% față de mator.

Capacitatea antioxidantă totală a lizatelor din *Shigella sonnei* ATCC 25931 supuse tratării cu dozele egale cu CMI de compuși chimici noi este prezentată în Figura 6.

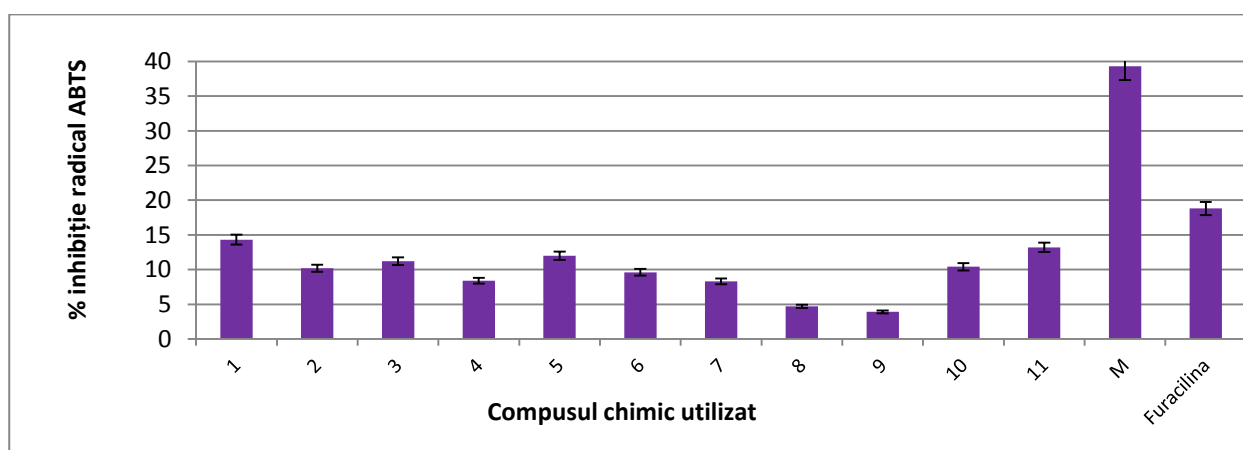


Fig. 6. Capacitatea antioxidantă totală în cultura standard *Shigella sonnei* ATCC 25931 sub influența compușilor chimici noi selectați:

1- $C_{38}H_{38}Cu_2N_{14}O_{10}S_4$; 2 - $C_{42}H_{42}Cu_2N_{14}O_{12}S_4$; 3 - $C_{44}H_{40}Cl_2Cu_2N_{14}O_4S_6$; 4 - $C_{15}H_{19}ClCuN_4O_2S$; 5 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$; 6 - $C_{15}H_{17}ClCuN_4OS$; 7- $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(2,5)$; 8 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(3,4)$; 9 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(2,4)$; 10 - $C_{18}H_{22}Cl_2Cu_2N_8S_2$; 11 - $C_9H_{11}ClCuN_4S$; M - cultura netratată.

Pentru a confirma existența unei stări de stres oxidativ în culturile tratate cu concentrațiile minime inhibitorii ale compușilor chimici noi a fost realizată analiza corelațională dintre rezultatele testului ABTS și cele ale dozării DAM. Corelarea negativă înaltă dintre acești doi parametri ar confirma cu certitudine prezența stresului oxidativ generat de prezența compușilor chimici noi testați în culturile de referință studiate.

Rezultatele analizei corelaționale dintre valorile testului de reducere a radicalului cation ABTS și valorile testului DAM pentru culturile de referință sunt prezentate în Figura 7.

Datele din Figura 7A atestă că între acești doi parametri există o corelare negativă strânsă. Ecuația de regresie obținută și valoarea coeficientului de determinare $R^2 = 0,8198$ ce provine din coeficientul de corelare $r = 0,9054$ denotă modificarea în tandem a celor doi indicatori. Astfel, putem afirma cu siguranță, că în prezența compușilor chimici noi testați în cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se atestă o stare de stres oxidativ pronunțat. Stresul oxidativ generat de prezența compușilor cu efecte antibacteriene cauzează deteriorări majore ale integrității celulare, atât la nivel de defecte mecanice, cât și la nivel metabolic. Ca urmare, cultura de stafilococ pierde capacitatea de a contracara procesul de acumulare exacerbată a radicalilor liberi, iar deteriorarea ireversibilă a structurilor membranare ia amploare și generează distrugerea culturii de microorganism patogen.

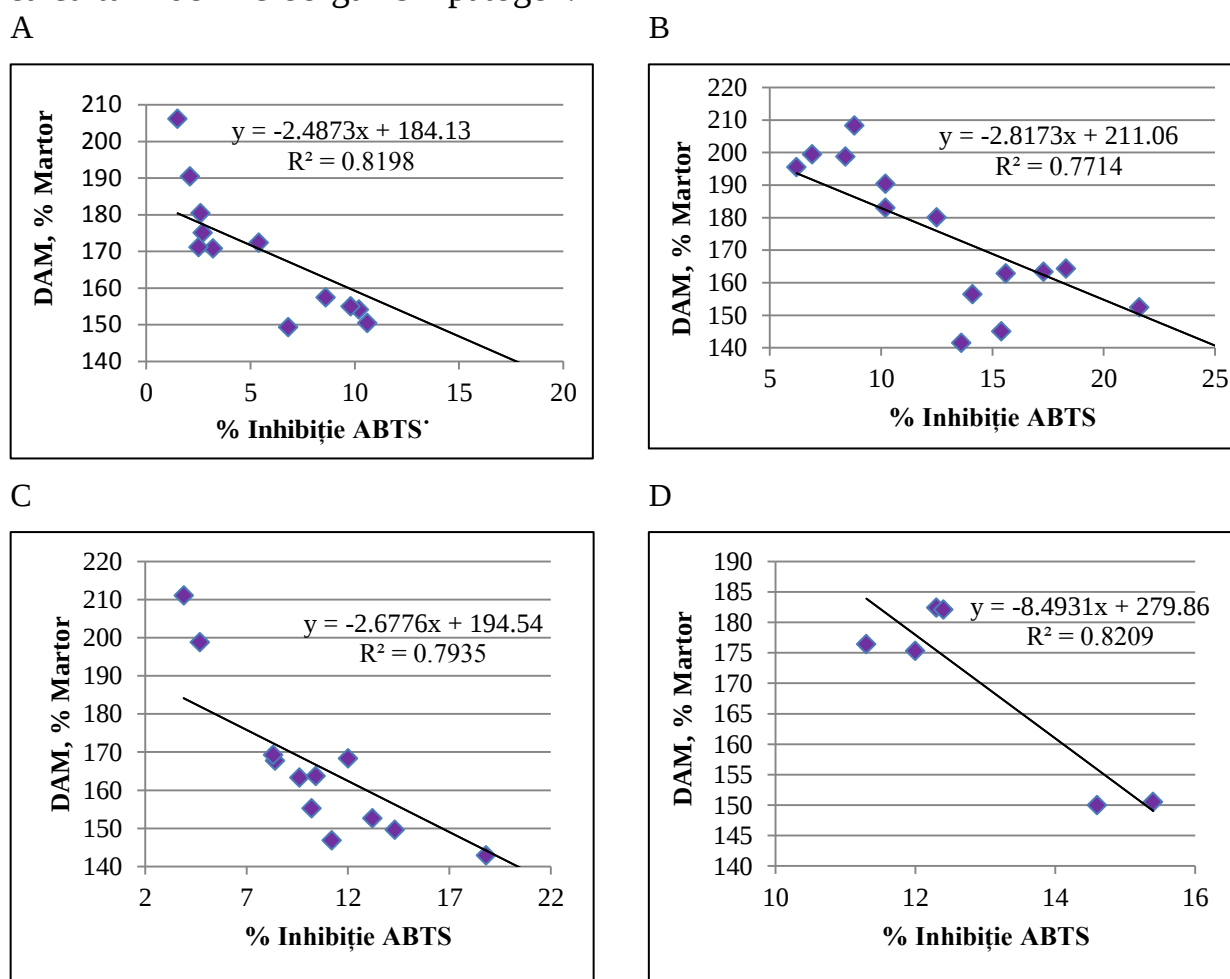


Fig. 7. Corelarea dintre valoarea capacității antioxidante totale și nivelul dialdehidei malonice în cultură la:

A - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; B - *Bacillus cereus* ГИСК 8035;

C - *Shigella sonnei* ATCC 25931; D - *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ecuția de regresie obținută în cazul culturii *Bacillus cereus* ГИСК 8035 și valoarea coeficientului de determinare $R^2 = 0,7714$ ($r = 0,8782$) denotă o stare de stres oxidativ pronunțat. Ca și în cazul stafilococului, compușii chimici noi testați provoacă modificări oxidative serioase în cultura de bacili.

Din Figura 7C se vede că în cazul culturii de referință *Shigella sonnei* ATCC 25931 între capacitatea antioxidantă totală și cantitatea dialdehidei malonice există o corelare negativă strânsă. Ecuția de regresie obținută și valoarea coeficientului de determinare $R^2 = 0,7935$ ($r = 0,8908$) denotă o stare de stres oxidativ pronunțat.

Rezultatele analizei corelaționale dintre valorile testului de reducere a radicalului cation ABTS și valorile testului DAM pentru cultura de *Escherichia coli* ATCC 25922 sunt prezentate în Figura 7D. Între acești doi parametri există o corelare negativă strânsă. Coeficientul de determinare $R^2 = 0,8209$ ($r = 0,9060$) este destul de înalt. Astfel, putem afirma cu siguranță, că în prezența compușilor chimici noi testați în cultura de *Escherichia coli* ATCC 25922 se atestă o stare de stres oxidativ pronunțat.

Sub acțiunea compușilor chimici noi testați în toate culturile de referință se atestă o diminuare pronunțată a capacității antioxidante totale și o creștere semnificativă a nivelului de acumulare a produselor peroxidării lipidice. Corelarea inversă strânsă cu valori înalte ale coeficientului de determinare dintre acești doi parametri confirmă starea de stres oxidativ de intensitate înaltă, cauzat de acțiunea antibacteriană a compușilor noi testați.

Pentru a aprecia modificările statutului antioxidant al culturilor de microorganisme patogene sub influența compușilor noi testați a fost determinată activitatea enzimelor superoxiddismutaza (SOD) și catalaza (CT).

În cazul tulpinii de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 nivelul de activitate a SOD în cultură la acțiunea compușilor chimici noi constituie 51,5-63,5% din activitatea normală caracteristică stafilococului, iar cel al CT – 21,7-44,6% din nivelul tipic de activitate în cultura intactă. Modificările valorice ale activității superoxiddismutazei și catalazei sunt o confirmare a unui stres oxidativ de intensitate înaltă pentru cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 în condițiile influenței compușilor chimici noi cu activitate antibacteriană.

Și în cazul culturii de referință *Bacillus cereus* ГИСК 8035 nivelul de activitate al SOD la acțiunea compușilor chimici noi constituie 52,6-72,4% din activitatea normală caracteristică culturii de *Bacillus*, iar nivelul de activitate al catalazei în biomasa microorganismului patogen tratat cu concentrațiile MI ale celor 13 compuși selectați constituie 16,3-37,2% din nivelul tipic de activitate în cultura intactă.

Nivelul de activitate al SOD în cultura de referință *Shigella sonnei* ATCC 25931 la acțiunea compușilor chimici noi constituie 17,9-48,7% din activitatea normală caracteristică microorganismului patogen; iar cel al CT – 19,5-44,8% (Figura 8). În special se evidențiază doi compuși di(μ -S)-bis{nitrato-[2-picoliden-4-(3,4-dimetilfenil) tiosemicarbazido-(1-)]cupru}tetrahidrat și di(μ -S)-bis{nitrato-[2-picoliden-4-(2,4-dimetilfenil) tiosemicarbazido-(1-)]cupru} tetrahidrat, la acțiunea cărora are loc cea mai semnificativă reducere atât a activității SOD, cât și a activității CT. Valorile obținute la tratarea culturii de microorganisme patogene cu acești doi compuși sunt de 5 ori mai joase decât activitatea enzimelor antioxidante în lizatul culturii martor.

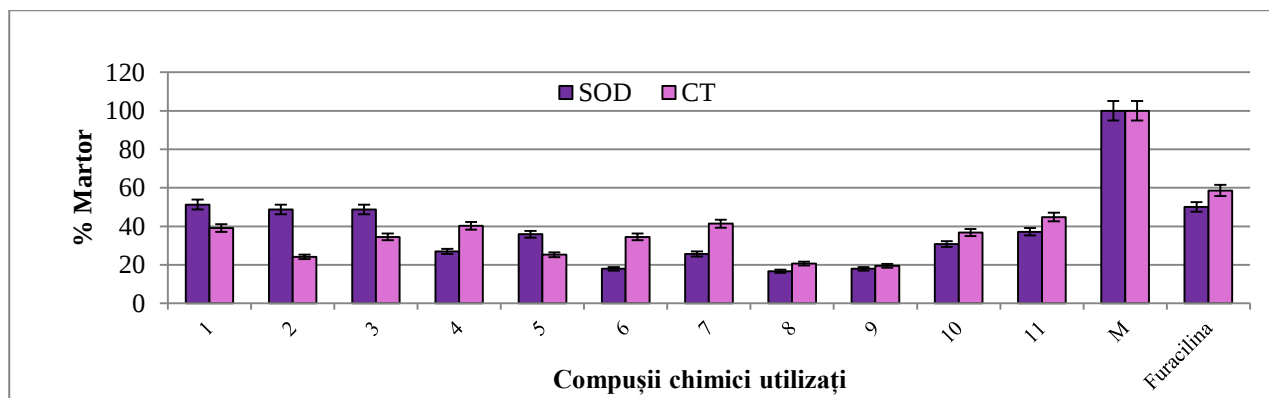


Fig. 8. Modificarea activității enzimelor antioxidante în cultura standard *Shigella sonnei* ATCC 25931 sub influența compușilor chimici noi selectați:

1 - $C_{38}H_{38}Cu_2N_{14}O_{10}S_4$; 2 - $C_{42}H_{42}Cu_2N_{14}O_{12}S_4$; 3 - $C_{44}H_{40}Cl_2Cu_2N_{14}O_4S_6$; 4 - $C_{15}H_{19}ClCuN_4O_2S$; 5 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S$; 6 - $C_{15}H_{17}ClCuN_4OS$; 7 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(2,5)$; 8 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(3,4)$; 9 - $C_{15}H_{19}CuN_5O_5S(2,4)$; 10 - $C_{18}H_{22}Cl_2Cu_2N_8S_2$; 11 - $C_9H_{11}ClCuN_4S$; M - cultura netratată.

În cultura de referință *Escherichia coli* ATCC 25922 activitatea SOD la acțiunea compușilor selectați constituie 41,7-56,3% din activitatea normală, iar cea a CT – 30,4-44,8%. Și la *Salmonella enterica* se înregistrează scăderea activității enzimelor: SOD – 51,3-62,5%M, iar CT – 36,4-43,0%M.

Astfel, rezultatele obținute arată, că sub acțiunea compușilor chimici noi testați în toate culturile de referință se atestă o creștere semnificativă a nivelului de acumulare a produselor peroxidării lipidelor, ceea ce indică asupra modificărilor oxidative ireversibile și confirmă starea de stres oxidativ profund în culturile de referință. Corelarea negativă strânsă cu valori înalte ale coeficientului de determinare dintre capacitatea antioxidantă totală și conținutul dialdehidei malonice în celule confirmă starea de stres oxidativ de intensitate înaltă, cauzat de acțiunea antibacteriană a compușilor noi testați.

Sub influența compușilor chimici noi în toate culturile de referință testate are loc o reducere semnificativă a nivelului de activitate a enzimelor antioxidante superoxidismutaza și catalaza, ceea ce indică diminuarea capacității de protecție antioxidantă la administrarea compușilor studiați. Acțiunea specifică a compușilor chimici noi asupra enzimelor antioxidante primare, care constituie unul dintre factorii de patogenitate a agenților infecțioși, permite să presupunem un efect benefic *in vivo* al noilor substanțe autohtone și să recomandăm compușii selectați pentru teste biomedicale.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Compușii coordinativi ai Cu(II) care conțin 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide manifestă activitate antibacteriană competitivă față de tulpinile de referință testate. Concentrațiile minime inhibitorii față de tulpina de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 s-au încadrat între 0,018 și 18,75 μg/ml (7 compuși fiind mai activi ca furacilina; $p < 0,001$); față de *Bacillus cereus* ГИСК 8035 – între 0,009 și 18,75 μg/ml (8 compuși mai activi ca furacilina); față de tulpina *Escherichia coli* ATCC 25922 – între 0,58 și 38,5 μg/ml (4 compuși mai activi ca furacilina; $p < 0,001$); față de *Shigella sonnei* ATCC 25931 și *Salmonella enterica* (*S. abony* ГИСК 03/03) – între 0,58 și 18,75 μg/ml (8 compuși mai activi față de antisepticul de referință; $p < 0,001$) [4, 23]. Doi dintre cei mai activi compuși cu activitate foarte înaltă față de toate tulpinile de referință luate în studiu – di(μ-S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-nitrato-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazido-(1-)]-cupru} și di(μ-S)-bis{[2-(4-aminobenzensulfa-mido)-pirimidin]-nitrato-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazido-(1-)]cupru}, au fost sintetizați cu utilizarea precursorului $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

2. Compușii coordinativi ai Cu(II) cu 4-(dimetilfenil)tiosemicarbazona 2-formilpiridinei au demonstrat activitate antibacteriană înaltă față de *trei dintre tulpinile de referință*. Astfel, concentrațiile minime inhibitorii față de tulpinile de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ГИСК 8035 și *Shigella sonnei* ATCC 25931 s-au încadrat între 0,009 și 0,58 μg/ml, comparativ cu valorile de 2,34 și 4,68 μg/ml înregistrate pentru antisepticul de referință ($p < 0,001$) [3, 8, 16, 17].

3. Compușii coordinativi ai Cu(II) cu n-piridin-2-iltiosemicarbazona 2 piridin-carboxialdehidă și derivații se caracterizează prin acțiune antibacteriană performantă față de tulpinile de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Bacillus cereus* ГИСК 8035. Față de tulpina de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 s-au manifestat compușii di(μ-S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazonato-(1-)]cupru} și cloro-[N-etil-2-(piridin-2-ilmetilen) hidrazincarbonotioamido] cupru cu CMI de 0,56 ng/ml, iar CMB – de 1,8 ng/ml (comparativ cu valoarea de 2,34 înregistrată pentru furacilină; $p < 0,005$). Aceiași compuși au înregistrat valoarea CMI de 0,14 μg/ml față de *Bacillus cereus* ГИСК 8035 (față de 4,68 în cazul antisepticului de referință; $p < 0,001$) [1, 2, 15].

4. Compușii chimici noi selectați au manifestat activitate antimicrobiană față de tulpinile de referință care depășește de 2-3500 ori activitatea furacilinei [1-4, 8, 15, 16, 23]; iar față de tulpinile de *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli* izolate au avut o activitate ce o depășește pe cea a furacilinei de 1,5-240 de ori.

5. Compușii cu activitatea antibacteriană înaltă cauzează în celulele microorganismelor patogene un stres oxidativ pronunțat, exprimat prin scăderea semnificativă a capacității antioxidante totale și prin mărirea esențială a conținutului produsului peroxidării lipidelor – dialdehidei malonice. Prezența stresului oxidativ este confirmată prin gradul înalt de corelare negativă dintre acești doi parametri (coeficientul de determinare variază în funcție de tulpină între 0,77 și 0,82). Cele mai vulnerabile din punctul de vedere al instalării stresului oxidativ de înaltă intensitate sunt culturile de referință *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 și *Bacillus cereus* ГИСК 8035, iar cea mai rezistentă fiind cultura de referință *Salmonella enterica* (*S. abony* ГИСК 03/03y).

6. Unul dintre mecanismele de acțiune a compușilor noi testați se bazează pe scăderea semnificativă a activității enzimelor antioxidante de primă linie – superoxid-dismutaza și catalaza. Astfel, sub acțiunea compușilor chimici noi activitatea acestor două enzime scade până la nivelul de mai jos de 20% din activitatea lor în biomasa netratată. Acest lucru permite să presupunem păstrarea efectului antibacterian observat *in vivo*, enzimele menționate fiind elementele-cheie în protecția microorganismelor patogene față de activitatea sistemului imun al gazdei.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare constă în elucidarea efectelor unor noi compuși chimici din produse autohtone asupra tulpinilor de microorganisme patogene, ceea ce a contribuit la evidențierea proprietăților antimicrobiene ale substanțelor noi, fapt ce a permis stabilirea mecanismelor de acțiune a lor.

Aportul personal: În materialele care reflectă conținutul brevetelor de invenție autoarei îi revine cota-parte în corespundere cu lista autorilor. Toate celelalte rezultate obținute, analiza lor, generalizările și concluziile aparțin autoarei.

Recomandări practice

1. Se recomandă compușii coordinativi ai Cu(II) cu 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide în calitate de substanțe cu activitate antibacteriană față de microorganismele Gram(+) *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus*.
2. Se recomandă compușii coordinativi ai Cu(II) cu 4-(dimetilfenil)tiosemicarbazona 2-formilpiridinei în calitate de substanțe cu efecte antibacteriene față de microorganismele Gram(+) *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus* și față de microorganismul Gram(-) *Shigella sonnei*.
3. Se recomandă compușii di(μ -S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazonato(1-)]cupru} și di(μ -S)-bis{cloro-[1-piridin-2-il-4-etiltiosemicarbazono - (1-)] cupru} în calitate de substanțe cu efecte antibacteriene pronunțate față de tulpinile de *Staphylococcus aureus* izolate și substanțe cu activitate antibacteriană înaltă față de tulpinile de *Escherichia coli* izolate.

Sugestii privind cercetări de perspectivă

1. Sunt necesare testări biomedicale ale substanțelor chimice noi selectate pentru a verifica eficiența lor *in vivo*.
2. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru confirmarea mecanismului de acțiune a compușilor chimici noi, care posedă activitate antibacteriană pronunțată.

Bibliografie selectivă

1. Brevet de invenție MD 4127 C1. Utilizare a di(μ -S)-bis {cloro -[1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazonato(1-)]cupru} în calitate de substanță cu activitate antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus*/ Gulea Aurelian, Lozan-Tîrșu Carolina, Țapcov Victor. Data publicării 2011.09.30, BOPI nr. 9/2011.
2. Brevet de invenție MD 4133 C1. [(2-Carbamotioilhidrazon)propionato(2-)]-(4-aminobenzensulfamid) cupru, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din genul *Bacillus cereus* / Gulea A., Țapcov V., Lozan-Tîrșu C., Rudic V. Data publicării 2011.10.31, BOPI nr. 10/2011.
3. Brevet de invenție MD 4112 Compuși coordinativi ai cuprului cu 4-(dimetilfenil)-tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei/Lozan-Tîrșu Carolina; Gulea Aurelian, Țapcov Victor, Rudic Valeriu, Data publicării 31.05.2011, BOPI nr.5/2011.
4. Brevet de invenție MD 4179 C1. Compuși coordinativi ai cuprului(II), care conțin 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Bacillus cereus* / Gulea Aurelian, Lozan-Tîrșu Carolina, Țapcov Victor, Cotovaia Aliona, Ghicavîi Victor. Data publicării 2012.07.31, BOPI nr. 7/2012.
5. Bonifácio B. et al. Antimicrobial activity of natural products against *Helicobacter pylori*: a review. In: Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2014, v.13(1), p.1-10. doi: 10.1186/s12941-014-0054-0.
6. Center for Disease Dynamics, Economics & Policy(CDDEP). 2015. Resistance Map.2015. www.cddep.org/projects/resistance-map. Accesat la 25 noiembrie 2015.
7. Cogo L.L. et al Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders. In: Braz J Microbiol, 2010, v.41, p.304-309.
8. Gulya A. P., Lozan-Tyrshu K.S., Korzha I. D., Rudik V. F. Coordination compounds of Copper with 2-Formiylpyridine 4- (Dymethylphenyl) thiosemicarbazones. In: Russian Journal of General Chemistry. 2012, vol. 82, no.11, p.1869-1872.
9. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). 2014. EARS-Net Report, Quarters 1-4. Dublin.
10. European Medicines Agency (EMA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The Bacterial Challenge: Time to React a Call to Narrow the Gap Between Multidrug-Resistant Bacteria in the EU and Development of New Antibacterial Agents. Stockholm. 2009.
11. Fischbach M.A., Walsh C.T: Antibiotics for emerging pathogens. In: Science. 2009, v.325, p.1089-1093.
12. Hamad B. The antibiotics market. In: Nature Rev Drug Discov. 2010. v. 9, p.675-676.
13. Leopold S. J. et al. Antimicrobial Drug Resistance Among Clinically Relevant Bacterial Isolates in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. In: The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. v.69 (9), p.2337-53.

14. Liu L. et al. Global, Regional, and National Causes of Child Mortality in 2000-13, with Projections to Inform Post- 2015 Priorities: An Updated Systematic Analysis. In: The Lancet. 2015, v.385(9966), p.430-440.
15. Lozan-Tîrșu C. Efectul antimicrobian al compușilor coordinativi ai cuprului, zincului, cobaltului și nichelului cu n-piridin-2-iltiosemicarbazonă 2 piridincarboxi-aldehidă și derivații ei. În: Curierul Medical. 2012, v.3(327), p. 408-410.
16. Lozan-Tîrșu C. Efectul antimicrobian al compușilor coordinativi ai cuprului cu 4- (dimetilfenil)-tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei. În: Curierul Medical. 2014, v.57(4), p. 14-17.
17. Lozan-Tîrșu C. Utilizarea a di(μ -s)-bis{cloro-[1-piridin-2-iletanon-4-metiltiosemicarbazonato (1-)] cupru}, în calitate de substanță cu activitate antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus*. În: Curierul Medical. 2014, v. 57(3), p. 9-11.
18. Lu P. L. et.al. Epidemiology and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Gram-Negative Bacteria Causing Urinary Tract Infections in the Asia-Pacific region: 2009-2010 Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). In: International Journal of Antimicrobial Agents, 2012, v.40 (Suppl), p.37-43.
19. Marușteri Ș. M. Noțiuni fundamentale de biostatistică: note de curs. Târgu Mureș: University Press. 2006, p.220.
20. Pahonțu E. et al. Characterization, Crystal Structure and Antimicrobial Activity of Copper(II) Complexes with the Schiff Base Derived from 2-Hydroxy-4-Methoxybenzaldehyde. In: Molecules. 2015, v.20(4), p.5771-5792.
21. Rizzotto M. Metal Complexes as Antimicrobial Agents. In: A search for antibacterial agents. Ed. Varaprasad Bobbarala, 355 pages, 2012, Publisher. In: Tech, p. 73-88.
22. Rosu T. et al. Some new Cu(II) complexes containing an ON donor Schiff base: Synthesis, characterization and antibacterial activity. In: Polyhedron. 2011, v.30, p.154-162.
23. Rudic V., Lozan-Tîrșu C., Zariciuc E., Gulea A., Țapcov V. Inhibitorii proliferării bacteriei *Bacillus cereus* în baza compușilor coordinativi ai cuprului (II) care conțin 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, seria Științele Vieții. 2014, v.1(322), p.139-146.
24. Silver L.L. Challenges of Antibacterial Discovery. In: Clinical Microbiology Reviews. 2011. v. 24(1), p.71-109.
25. Tim Cushman T.P, Lamb A.J: Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. In: Int J Antimicrob Ag. 2011, v.38, p.99-107.
26. Van Boeckel T. P. et al. Global Antibiotic Consumption 2000 to 2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data. In: The Lancet Infectious Diseases, 2014, v.3099 (14), p.1-9.
27. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание, Том 1. Москва, 2015, с. 992-1049.

Publicațiile la tema tezei:

- **Articole în diferite reviste științifice**

În reviste din străinătate recunoscute

1. Gulya A. P., Chumakov Yu. M., Tsapkov V. I., Graur V.O., **Lozan-Tyrshu K.S.**, Janno E., Antosyak B. Ya., Rudik V. F. Synthesis, Structure, and properties of coordination compounds of copper (II) acetate with substituted 2-{{2-(2-hydroxyethylamino) ethylamino}methyl}phenol. In: Russian Journal of General Chemistry. 2011, vol. 81, no. 9, p.1859-1866, ISSN: 1070-3632 (**IF:0,42**).
2. Gulya A. P., **Lozan-Tyrshu K.S.**, Korzha I. D., Rudik V. F. Coordination compounds of Copper with 2-Formylpyridine 4-(Dimethylphenyl) thiosemicarbazones. In: Russian Journal of General Chemistry. 2012, vol. 82, no.11, p.1869-1872, ISSN: 1070-3632 (**IF:0,432**).
3. Gulya A. P., **Lozan-Tyrshu K.S.**, Tsapkov V. I., Chumakov Yu. M., Zhanno E., Rudik V. F. Synthesis, structure, and microbial activity of copper(II) chelates containing imidazole and condensation products of α -amino acids with salicylaldehyde and its derivatives. In: Russian Journal of General Chemistry. 2013, vol.83, no.3, p.530-537, ISSN: 1070-3632 (**IF:0,418**).

- **În reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei**

Reviste de categoria B:

1. **Lozan-Tîrșu C.** Efectul antimicrobian al compușilor coordinativi ai cuprului, zincului, cobaltului și nichelului cu n-piridin-2-iltiosemicarbazona 2 piridincarbioxialdehidă și derivații ei. În: Curierul Medical. 2012, nr.3(327), p. 408-410. ISSN 1875-0666.
2. **Lozan-Tîrșu C.** Utilizare a di(μ -s)-bis{cloro-[1-piridin-2-iletanon-4-metiltiosemicarbazonato (1-)] cupru}, în calitate de substanță cu activitate antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus*. În: Curierul Medical. 2014, vol. 57, nr.3, p. 9-11. ISSN 1875-0666.
3. **Lozan-Tîrșu C.** Efectul antimicrobian al compușilor coordinativi ai cuprului cu 4-(dimetilfenil)-tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei. În: Curierul Medical. 2014, vol. 57, nr.4, p. 14-17. ISSN 1875-0666.
4. Rudic V., **Lozan-Tîrșu C.**, Zariciuc E., Gulea A., Țapcov V. Inhibitorii proliferării bacteriei *Bacillus cereus* în baza compușilor coordinativi ai cuprului care conțin 4-feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2014, nr. 1(322), p. 139-146. ISSN 1857-064X.
5. Barba N., Gulea A., Popușoi A., **Lozan-Tîrșu C.**, Poirier D. Aromatic isothiocyanato-propenones and thiourea derivatives. Synthesis and biological properties. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2014, nr. 1(322), p. 146-160. ISSN 1857-064X.

- **Materiale/teze la forurile științifice**

Conferințe internaționale (peste hotare)

1. Gulea A., Tsapkov V., Graur V., **Lozan-Tirsu C.**, Rudic V. Copper (II) coordination compounds with substituted 2 {[2-(2- hydroxyethylamino) methyl}phenols. The XXXI-st Romanian Chemistry Conference. Book of Abstracts, 6-8 october 2010, Râmnicu Vâlcea, România, p. 112.
2. Gulea A., **Lozan-Tirsu C.**, Tapcov V., Rudic V. Antimicrobial effects of copper coordination compounds containing sulphanilamides and 4- phenylthiosemicarbazone pyridine-2-carboxyaldehyde. 1-er Colloque Franco-Roumain de Chimie medicinale, 07-08 octobre, 2010, Université Alexandru Ioan Cuza, Iasi, Roumanie, p.48.
3. Barba N., Popusoi A., **Lozan-Tirsu C.**, Roi J. Aromatic isothiocyanatopropenones and thiourea derivates. Synthesis and biological properties. 1-er Colloque Franco-Roumain de Chimie medicinale, 07-08 octobre, 2010, Université Alexandru Ioan Cuza, Iasi, Roumanie, p.52.
4. Гуля А.П., **Лозан-Тыршу К.С.**, Цапков В. И., Рудик В. Ф. Синтез и противомикробная активность внутрикомплексных соединений меди (II) содержащих имидазол и продукты конденсации аминокислот с салициловым альдегидом и его замещенными. Научно-практическая конференция «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения». Тезисы докладов, 23-28 мая 2011, Новый Свет, Крым, Украина, с.43.
5. Gulea A., Capatina T., **Lozan-Tirsu C.**, Paholnitcaia A., Graur V., Tsapkov V., Rudic V. Antimicrobial effect of copper coordination compounds with 4-phenylthiosemicarbazone pyridine-2-carboxyaldehyde derivates. XXV Международная Чугаевская Конференция-школа «Физико-химические методы в химии координационных соединений». Тезисы докладов. 2011. 6-11 июня, Суздаль, Россия, с. 540-541.

Conferințe internaționale în republică

1. Căpățină T., **Lozan-Tîrșu C.**, Gulea A., Țapcov V., Rudic V. Efectul antimicrobian al compușilor coordinativi ai cuprului, zincului, cobaltului și nichelului cu N-piridin-2-iltiosemicarbazona 2-piridincarboxialhidei. Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu scientintensiv al științei contemporane”. Chișinău, 6-8 iulie 2011, p.14-15.
2. Gulea A., **Lozan-Tirsu C.**, Capatina T., Paholnitcaia A., Graur V., Tsapkov V., Rudic V. Antimicrobial effect of copper coordination compounds with 4-phenylthiosemicarbazone pyridine-2-carboxyaldehyde derivates. Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu scientintensiv al științei contemporane”. Chișinău, 6-8 iulie 2011, p. 65.
3. **Lozan-Tîrșu C.**, Țapcov V., Rudic V., Gulea A. Activitatea antimicrobiană a compușilor coordinativi ai cuprului (II) care conțin sulfanilamide și tiosemicarbazona sau 4-feniltiosemicarbazona acidului piruvic și benzoilformic. Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu scientintensiv al științei contemporane”. Chișinău, 6-8 iulie 2011, p. 70-72.

4. Popa V., Gulea A., Andronache L., Parii A., Batîr L., **Lozan-Tîrșu C.** Studiul acțiunii compusului coordinativ al cuprului CMT-28 și a combinației lui cu remediul medicamentos BioR asupra indicilor enzimatici ai țesutului muscular în stresul oxidativ. Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu scientointensiv al științei contemporane”. Chișinău, 6-8 iulie 2011, p. 89-90.
5. Sargun A., Jalba A., **Lozan-Tîrșu C.**, Gulea A., Sofroni L., Van Staden R., Birca M. Synthesis and biological activity of copper(II) complexes of 2-formylpyridine 4-(dimethylphenyl) thiosemicarbazones. The XVII-th International Conference „Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry”. Book of Abstracts, Chișinău, October 24-26, 2012, p.181-182.
6. Gulea A., Codita T., **Lozan-Tîrșu C.**, Tsapkov V., Pahontu E., Rosu T. Cobalt, Nickel, Copper, And Zinc Coordination Compounds Of Salicylaldehyde And 2-Hydroxynaphthalene-1-Carbaldehyde 4-(Pyrid-2-yl)Thiosemicarbazones. The International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova May 28 - 30, 2014 Chisinau, p.130.
7. Batir L., Zosim L., Elenciuc D., **Lozan-Tîrșu C.**, Rudic V., Gulea A., Tsapkov V. New technologies for antimicrobial preparations obtaining. New tehnologies for antimicrobial preparations obaining. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chișinău, Moldova, October 9-10, 2014, p.100.
8. Gulea A., Rudic V., **Lozan-Tîrșu C.**, Zariciuc E., Tsapkov V. Antimicrobial effect coordinative compounds of copper with 4(dimethylphenyl)-thiosemicarbazones of 2-phomylpyridine. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chișinău, Moldova, October 9-10, 2014, p.135.
9. Rudic V., Gulea A., **Lozan-Tîrșu C.**, Zariciuc E., Tsapkov V. Use di(μ -s)-bis {chloro-[1-pyridine-2-ylethanone-4-methylthiosemicarbazonato(1-)] copper}, as substances with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chișinău, Moldova, October 9-10, 2014, p. 165.

• **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**

Brevete de invenție

1. Brevet de invenție MD 4112 C1, MD, C07F11/08. Compuși coordinativi ai cuprului cu 4-(dimetilfenil)-tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei. / **Lozan-Tîrșu C.**, Gulea A., Țapcov V., Rudic V. (MD). Cererea depusă 17.05.2010, BOPI nr.5/2011.
2. Brevet de invenție MD 4127 C1, MD, C07D 213/50. Utilizare a di(μ -S)-bis{cloro-[1-(piridin-2-il)etanon-4-metiltiosemicarbazonato(1-)]cupru} în calitate de substanță cu activitate antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus*. / Gulea A., **Lozan-Tîrșu C.**, Țapcov V. (MD). Cererea depusă 10.06.2010, BOPI nr.9/2011.
3. Brevet de invenție MD 4133 C1, MD, C07F 1/08. [(Carbamotiolhidrazon) propionato (2-)]-(4-aminobenzensulfamid) cupru, care manifestă activitate anti-

- microbiană față de bacteriile din genul *Bacillus cereus*. / Gulea A., Țapcov V., **Lozan-Tîrșu C.**, Rudic V. (MD). Cererea depusă 19.07.2010, BOPI nr.10/2011.
4. Brevet de invenție MD 4179 C1, MD, C07F 1/08. Compuși coordinativi ai cuprului (II), care conțin 4 feniltiosemicarbazona 2-formilpiridinei și sulfanilamide, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din specia *Bacillus cereus*. / Gulea A., **Lozan-Tîrșu C.**, Țapcov V., Cotovaia A., Ghicavîi V.(MD). Cererea depusă 23.05.2011, BOPI nr.7/2012.
5. Brevet de invenție MD 4194 C1, C07C 47/55. Compus coordinativ trinuclear al cuprului: tris { μ -[3,5-dibromo-2-hidroxibenziliden-4-(piridin-2-il)-tiosemicarbazido(2)] cupru}hidrat, care manifestă activitate antimicotică față de *Candida albicans*. / Gulea A., Căpățină T., Ciumacov T., **Lozan-Tîrșu C.**, Petrenko P., Codiță G., Țapcov V., Rudic V. (MD). Cererea depusă 23.01.2012, BOPI nr.1/2013.

ADNOTARE

Lozan-Tîrșu Carolina „Efecte antimicrobiene ale unor substanțe chimice din produse autohtone”. Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2016.

Teza conține: introducere, patru capitole, concluzii și recomandări, bibliografie cu 240 de titluri, 3 anexe, 127 de pagini text de bază, 21 de figuri, 26 de tabele. Rezultatele sunt publicate în 26 de lucrări.

Cuvinte-cheie: activitate antimicrobiană, compuși coordinativi, cupru, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica*.

Domeniul de studiu: 313.02 – Microbiologie, virusologie medicală.

Scopul lucrării: evaluarea proprietăților antimicrobiene ale compușilor chimici noi și elucidarea mecanismelor de acțiune ale acestora.

Obiectivele lucrării: evidențierea acțiunii antimicrobiene a compușilor coordinativi ai cuprului (II) cu diferiți liganzi asupra tulpinilor de referință ale microorganismelor patogene; determinarea acțiunii antimicrobiene a propenonelor aromatice cu grupe tioamidice sau izotiocian asupra tulpinilor de referință ale microorganismelor patogene; compararea acțiunii compușilor chimici noi cu cea a antisepticului de referință; evaluarea particularităților de acțiune antimicrobiană a compușilor chimici noi asupra tulpinilor izolate din coproculturi; stabilirea mecanismelor de influență a compușilor chimici noi evidențiați asupra microorganismelor patogene.

Noutatea și originalitatea științifică. A fost testată activitatea antimicrobiană a unor noi compuși coordinativi ai cuprului cu diferiți liganzi și comparată cu activitatea antisepticului de referință, ceea ce face posibilă aprecierea activității compușilor testați față de cea a remediilor utilizate. Au fost estimați parametrii statutului antioxidant al culturilor de microorganisme patogene la acțiunea compușilor noi testați, ceea ce permite aprecierea nivelului stresului oxidativ.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare constă în elucidarea efectelor unor noi compuși chimici din produse autohtone asupra tulpinilor de microorganisme patogene, ceea ce a contribuit la evidențierea proprietăților antimicrobiene ale substanțelor noi, fapt ce a permis stabilirea mecanismelor de acțiune a lor.

Semnificația teoretică. Au fost acumulate date noi despre acțiunea unor compuși noi față de tulpinile de referință și tulpinile clinice și despre modificările statutului antioxidant al microorganismelor patogene sub acțiunea compușilor chimici noi. Au fost evidențiate corelări negative stabile dintre capacitatea antioxidantă totală și conținutul dialdehidei malonice, ceea ce permite aplicarea acestor parametri în calitate de indicatori de monitorizare a activității antibacteriene.

Valoarea aplicativă a lucrării. Au fost evidențiați compuși noi cu activitate antimicrobiană înaltă față de *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus* de perspectivă pentru testări *in vivo*. A fost propusă o metodă originală de determinare a biomasei culturilor de microorganisme patogene.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului au fost implementate la Catedra de microbiologie, virusologie și imunologie ca material didactic pentru instruirea universitară. Metoda de determinare a biomasei bacteriene propusă în teză a fost implementată în cadrul Colecției Naționale de Microorganisme nepatogene a IMB (Act nr.74 din 28 mai 2015).

АННОТАЦИЯ

Лозан-Тыршу Каролина „Антимикробные эффекты некоторых аутохтонных химических веществ”. Диссертация кандидата медицинских наук, Кишинев, 2016.

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и рекомендаций, библиографического списка из 240 наименований, 3 приложений, 127 страниц основного текста, 21 рисунка, 26 таблиц. Результаты исследований опубликованы в 26 работах.

Ключевые слова: антимикробная активность, координационные соединения, медь, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica*.

Область исследования: 313.02 – Медицинская микробиология и вирусология.

Цель работы: оценка антимикробных свойств новых химических соединений и выявление механизмов их воздействия на патогенные микроорганизмы.

Задачи работы: выявление противомикробного действия координационных соединений меди (II) с различными лигандами по отношению к эталонным штаммам возбудителей; определение антимикробного действия ароматических пропенонов с тиоамидными группами или изотиоцианатом по отношению к эталонным штаммам и штаммы выделенные из копрокультуры; сравнение активности новых химических соединений, обладающих антимикробным действием, с активностью стандартных антисептиков; выявление механизмов антимикробной активности новых соединений на клинические штаммы; определение путей влияния новых соединений на патогенные микроорганизмы.

Научная новизна и оригинальность. Впервые новые химические вещества различной структуры были протестированы на предмет антимикробной активности; было проведено сравнение их активности с антибактериальной активностью стандартных антисептиков, что дает возможность оценить перспективность испытуемых соединений в сравнении с препаратами, используемыми в мире. Впервые были определены изменения параметров антиоксидантного статуса патогенных микроорганизмов под воздействием новых тестируемых соединений, что позволяет оценить степень окислительного стресса в культуре.

Решенная научная проблема: были протестированы новые химические соединения, в результате чего были выявлены их антимикробные свойства, что позволило определить механизмы их воздействия на патогенные микроорганизмы.

Теоретическое значение. Были накоплены научные данные о действии некоторых новых соединений на эталонные штаммы и клинические штаммы; а также данные об изменении параметров антиоксидантного статуса патогенных микроорганизмов под воздействием новых химических соединений. Были обнаружены стабильные корреляции между показателями антиоксидантной активности и уровнем пероксидации липидов, что позволяет использовать данные показатели для мониторинга антибактериальной активности в процессе тестирования новых соединений.

Практическое значение. Были выделены новые химические соединения, обладающие высокой антибактериальной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*, перспективные для продолжения тестирования *in vivo*. Был предложен оригинальный метод определения биомассы патогенных микроорганизмов.

Внедрение результатов. Результаты исследования внедрены на Кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии в качестве дидактического материала. Метод определения биомассы культур бактерий был внедрен в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов (Акт о внедрении №74 от 28 мая 2015г).

ANNOTATION

Lozan-Tirsu Carolina „Antimicrobial effects of some chemical compounds from local sources”. PhD thesis in medical sciences, Chisinau, 2016

The thesis contains an introduction, 4 chapters, conclusions and recommendations, bibliography list with 240 references, consisting of 127 pages of the main text, 21 figures, 26 tables and 3 annexes. The results of work were published in 26 scientific papers.

Keywords: Antimicrobial activity, coordinative compounds, copper, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica*

Field of study: 313.02 – Medical microbiology and virology.

Aim: Evaluation of antimicrobial properties of new chemical compounds and their mechanisms of action on pathogens.

Objectives: To identify the antimicrobial action of the copper (II) coordination compounds with various ligands on the reference strains of pathogens; to determine the antimicrobial activity of aromatic propenone with thioamide/isothiocyanate on the reference strains of pathogens; to compare the antimicrobial activity of new chemical compounds with standard antiseptic activity; to define the specificity of new compounds antimicrobial activity on coproculture isolates; to establish the mode of action of new compounds on pathogenic microorganisms.

Scientific novelty of research: For the first time new chemical compounds with different structures were tested for antimicrobial activity and was compared their activity with antibacterial activity of standard antiseptics. The influence of new compounds on the antioxidant status of pathogen culture was estimated.

Important scientific problem, solved in this research work, is identification of antimicrobial properties of new local chemical compounds and determination of the peculiarities of their actions.

Theoretical significance: New scientific data regarding the effects of some new compounds on the reference strains and clinical pathogen isolates have been accumulated. New data regarding the changes in the antioxidant status of pathogens under the influence of new chemical compounds have been collected. The stable correlation between the parameters of the antioxidant activity and the level of lipid peroxidation have been found, which proves the feasibility of this parameters as indicators in the process of testing of new compounds.

Practical value: New chemical compounds with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, have been identified and proposed for continuous testing *in vivo*. The original method to determine the biomass of pathogens has been proposed.

Scientific results implementation. The study results are implemented as didactic material at the Department of Microbiology, Virology and Immunology. The method for bacterial biomass determination was implemented in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms of IMB (Act no.74, 28 May 2015).

LOZAN-TÎRȘU CAROLINA

**EFECTE ANTIMICROBIENE ALE UNOR SUBSTANȚE CHIMICE
DIN PRODUSE AUTOHTONE**

313.02 – MICROBIOLOGIE, VIRUSOLOGIE MEDICALĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 12.12. 2016

Formatul hîrtiei 60x84 1/16

Hîrtie ofset. Tipar digital

Tiraj 100 ex.

Coli de tipar: 2,0

Comanda nr. 78

SRL „PRINT-CARO”
Chișinău, str. Astronom N. Donici, 14
tel. 0-22-85-33-86