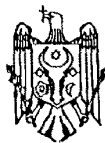




MD 4819 B1 2022.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4819** (13) **B1**
(51) Int.Cl.: *A61K 31/722* (2006.01)
A61K 31/345 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/55 (2017.01)
A61K 47/61 (2017.01)
C07D 307/75 (2006.01)
C08F 287/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2020 0079 (22) Data depozit: 2020.10.28 (41) Data publicării cererii: 2022.04.30, BOPI nr. 4/2022	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2022.08.31, BOPI nr. 8/2022
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (72) Inventatori: PRISACARI Viorel, MD; ROBU Ștefan, MD; SAVA Veronica, MD; RUSNAC Roman, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	

(54) Material polimeric cu proprietăți antibacteriene

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la domeniul medicinei și farmaceuticii, și anume la materiale polimerice cu proprietăți antibacteriene pe bază de chitosan.

Materialul polimeric, conform invenției, constă dintr-un copolimer de chitosan, grefat cu izofural sau furacilină, în cantitate de 10-30 mol %.

2
Rezultatul invenției constă în asigurarea unei acțiuni antibacteriene a materialului polimeric la nivelul preparatelor izofural și furacilină, activității prelungate, solubilității sporite în apă, alcool și solvenți organici, și sinecostului mai mic.

Revendicări: 1

Figuri: 3

MD 4819 B1 2022.08.31

(54) Polymeric material with antibacterial properties**(57) Abstract:**

1

The invention relates to the field of medicine and pharmaceuticals, namely to polymeric materials with antibacterial properties based on chitosan.

The polymeric material, according to the invention, consists of a chitosan copolymer, grafted with isofural or furaciline, in an amount of 10-30 mol.%.

2

The technical result of the invention consists in providing an antibacterial action of the polymeric material at the level of isofural and furaciline drugs, prolonged activity, increased solubility in water, alcohol and organic solvents, and reduced cost.

Claims: 1

Fig.: 3

(54) Полимерный материал с антибактериальными свойствами**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к области медицины и фармацевтики, а именно к полимерным материалам с антибактериальными свойствами на основе хитозана.

Полимерный материал, согласно изобретению, состоит из сополимера хитозана, привитого изофуралом или фурацилином, в количестве 10-30 мол. %.

2

Результат изобретения состоит в обеспечении антибактериального действия полимерного материала на уровне препаратов изофурал и фурацилин, длительного эффекта, повышенной растворимости в воде, спирте и органических растворителях и пониженной себестоимости.

П. формулы: 1

Фиг.: 3

Descriere:

Invenția se referă la domeniul medicinei și farmaceuticii, și anume la materiale polimerice cu proprietăți antibacteriene pe bază de chitosan.

5 La grupa de preparate antibacteriene pe bază de nitrofuran se referă izofuralul, furacilina și altele, posedând un spectru larg de acțiune, fiind active față de multe bacterii Gram negative (*Escherihia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter baumannii*) și Gram pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*).

10 Preparatele antibacteriene cunoscute ca izofuralul și furacilina, utilizate în practica farmaceutică sub formă de pastile, soluție sau unguente [1], se mențin pe piața farmaceutică mai mult de 50 de ani, dar posedă și unele dezavantaje:

- solubilitate neînsemnată în apă și dimetilformamidă ;
- timp redus (până la 60 de minute) de acțiune în organismul uman.

15 Cel mai aproape de invenția propusă este poliglucida naturală chitosanul [2], ce se obține prin extracție sub formă de chitină din scheletul de creveți și raci, ciuperci și alte specii ale regnului animal și vegetal. Chitina este ușor transformată în chitosan. Este cunoscut faptul că chitosanul posedă activitate antibacteriană de 100 - 300 μg/mL, dar posedă și unele neajunsuri:

- activitate biologică mai mică decât a izofuralului sau furacilinei;
- puțin solubil în apă;
- 20 - nepeliculogen.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unor materiale polimerice din chitosan cu proprietăți antibacteriene la nivelul preparatelor izofural și furacilină cu activitate prolongată, solubilitate mai bună în apă, alcool și alți solvenți organici.

25 Conform invenției, se propune un material polimeric cu proprietăți antibacteriene, care constă dintr-un copolimer de chitosan cu anhidrida maleică, grefat cu izofural sau furacilină, cu un conținut de izofural sau furacilină de 10-30 mol %.

30 Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că materialul polimeric elaborat posedă acțiune antibacteriană la nivelul preparatelor izofural sau furacilina, însă cu activitate prolongată datorită activității antibacteriene prolongate a chitosanului, cât și solubilitate de 2-3 ori mai bună în apă, alcool și solvenți organici.

Invenția este argumentată prin studiul și analiza rezultatelor ilustrate suplimentar cu 5 tabele și 3 figuri, care reprezintă:

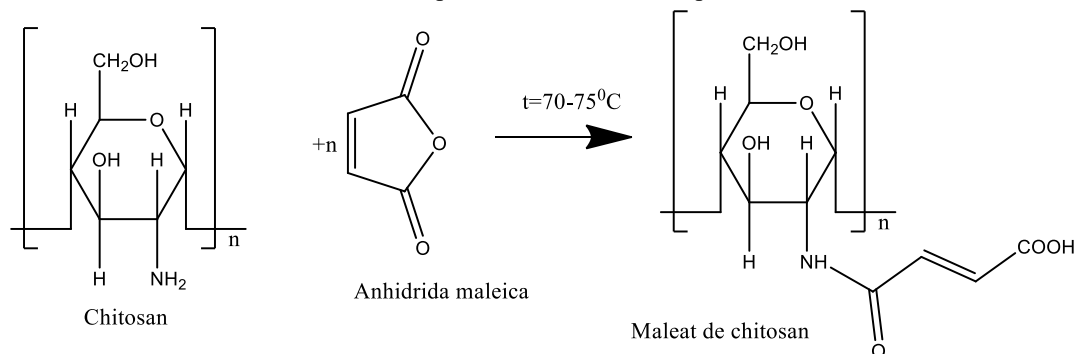
- fig. 1, spectrul IR al polimerului suport chitosan;
- fig. 2, spectrul IR pentru chitosan funcționalizat cu anhidrida maleică;
- 35 - fig. 3, spectrul IR pentru chitosan funcționalizat cu furacilină.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Sinteza polimerului suport

40 Pentru sinteza polimerului suport chitosan-anhidrida maleică, la 1,0 g de chitosan dizolvat în 80 mL de dimetilformamidă (DMF) (soluția 1), se picură soluția 2, ce constă din 0,6 g de anhidridă maleică în 20 ml DMF. Reacția se realizează la temperatura de 70-75°C timp de 3 ore conform schemei:



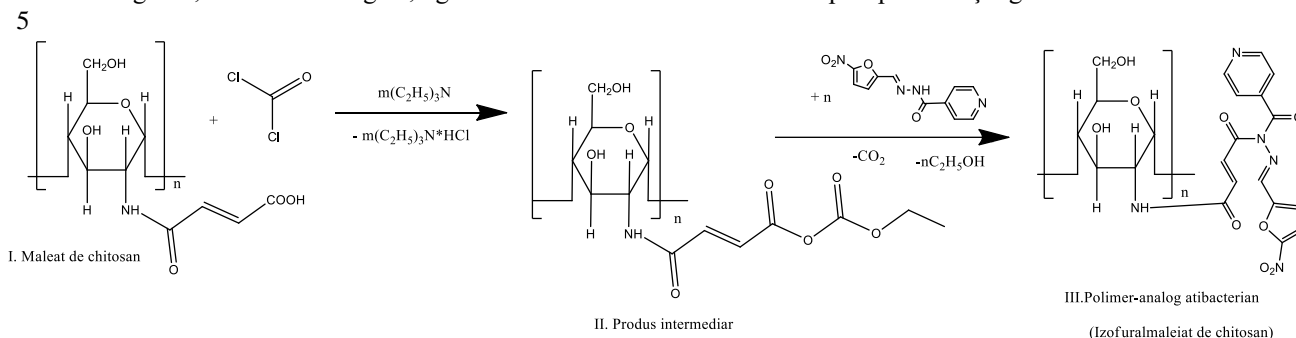
Schema reacției de funcționizare a anhidridei maleice la chitosan

45 Produsul de reacție maleat de chitosan (MLC) se separă de DMF la distilare în vid și se usucă în excicator, iar apoi se utilizează pentru sinteza din exemplul 2. Din IR-spectrul acestui polimer (Fig. 2) observăm apariția vibrațiilor noi în comparație cu chitosanul (Fig. 1) la frecvența de 1540-1590 cm⁻¹, caracteristică grupelor -NH-CO- și $\nu = 850-890$ cm⁻¹, caracteristică legăturii duble și la 2400-2650 cm⁻¹ pentru grupele carboxilice.

Exemplul 2

Funcționalizarea izofuralului (furacilinei) la maleatul de chitosan cu compoziția 70:30 mol %

1,0 g de MLC se dizolvă în 20 ml DMF, se adaugă 0,8 mL de etilcloroformiat timp de 10 minute sub agitare, la care se adaugă 0,6 g de izofural dizolvat în 30 ml DMF prin picurare și agitare.



Schema reacției pentru Exemplul 2

10 Soluția se mai agită 3-4 ore la temperatura de 40°C. După distilarea DMF se purifică prin sedimentare în eter dietilic. Randamentul constituie ~73%. Din spectrele IR observăm creșterea benzii $\nu=1540-1590\text{ cm}^{-1}$, caracteristice grupelor noi, cât și la $\nu=3200-3300\text{ cm}^{-1}$, caracteristice grupelor amine secundare și terțiare, cât și modificarea altor grupe.

Testarea activității antibacteriene (bacteriostatice și bactericide).

15 Substanțele Chitosan-IZF (70:30) și Chitosan-furacilină (70:30) au fost dizolvate în dimetilformamidă (cu concentrația de 10 mg/mL). Cercetările au fost efectuate prin metoda diluărilor în serie în mediul nutritiv lichid (bulion peptonat din carne 2%, pH=7,0).

20 În calitate de culturi de referință au fost folosite: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209), *Staphylococcus aureus* (MRS), *Staphylococcus epidermidis* (MRS), *Enterococcus faecalis* (t. ATCC 19433), *Escherihia coli* (t. ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (t. ATCC 3177), *Klebsiella pneumoniae* (t. 3534/51), *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter baumannii*.

Culturile de microorganisme, crescute timp de 24 de ore pe agar peptonat înclinat, au fost spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu și diluate până la nivelul standardului optic de turbiditate cu obținerea inoculelor ce conțin 1 mln de corpi microbieni în 1 mL de mediu. Inoculele obținute au fost diluate cu substanțele studiate în raport de 1:1.

25 Culturile obținute au fost supuse incubării la temperatura de 37°C (timp de 24, 48-144 ore). În calitate de control au servit mediile nutritive însămânțate cu aceleași tulpini fără conținutul compusului studiat. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual.

30 Activitatea bacteriostatică (concentrația minimă de inhibiție (CMI)) s-a stabilit în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid. Activitatea bactericidă (concentrația minimă bactericidă (CMB)) s-a determinat în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe geloză peptonată cu incubarea ulterioară timp de 24, 48, 72 ore.

Rezultatele obținute sunt expuse în tabelele 1-5.

35 Rezultatele investigațiilor demonstrează că substanțele cercetate au manifestat activitate antibacteriană înaltă față de culturile Gram pozitive *Staphylococcus aureus* (tulpina 209), *Staphylococcus aureus* (MRS), *Staphylococcus epidermidis* (MRS), *Enterococcus faecalis* (t. ATCC 19433) și Gram negative *Escherihia coli* (t. ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (t. 3534/51), *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter baumannii*.

Activitatea bacteriostatică a substanței Chitosan-IZF (70:30) variază în limitele concentrațiilor 18,75- $\geq 300\text{ }\mu\text{g/mL}$, activitatea bactericidă în limitele 75- $\geq 300\text{ }\mu\text{g/mL}$.

40 Activitatea bacteriostatică a substanței Chitosan-furacilină (70:30) variază în limitele concentrațiilor 18,75- $\geq 300\text{ }\mu\text{g/mL}$, activitatea bactericidă a substanței Chitosan-furacilină (70:30) variază în limitele concentrațiilor 75- $\geq 300\text{ }\mu\text{g/mL}$.

45 Ca rezultat, s-a demonstrat că materialul polimeric are avantaje, manifestând o activitate antibacteriană la nivelul izofuralului sau furacilinei, dar având o acțiune mai prolongată comparativ cu aceste preparate.

Tabelul 1

Activitatea bacteriostatică a substanței Chitosan-IZF (70:30) pe perioadă prolongată
Concentrația minimă de inhibiție (µg/mL)

Test - culturi bacteriene												
Doza	<i>S. aureus</i> (t. 209)			<i>S. aureus</i> (MRS)*			<i>S. epidermidis</i> (MRS)*			<i>E. faecalis</i> (t. ATCC 19433)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
75	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
37,5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
18,75	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4,68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* MRS – meticilinrezistent

5

Continuare Tabelul 1

Test - culturi bacteriene															
Doza	<i>E. coli</i> (t. ATCC 5922)			<i>Kl. pneumoniae</i> (t. 3534/51)			<i>S. typhimurium</i>			<i>P. mirabilis</i> (t. ATCC 3177)			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18,75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelul 2

Activitatea bactericidă a substanței Chitosan-IZF (70:30) pe perioadă prolongată
Concentrația minimă bactericidă (µg/mL)

Test - culturi bacteriene												
Doza	<i>S. aureus</i> (t. 209)			<i>S. aureus</i> (t. de la bolnav MRS)*			<i>S. epidermidis</i> (t. de la bolnav MRS)*			<i>E. faecalis</i> (t. ATCC 19433)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
150	-	-	-	±	-	-	-	-	-	±	+	+
75	±	-	-	±	-	-	-	+	+	+	+	+
37,5	±	-	-	±	-	-	+	+	+	+	+	+
18,75	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4,68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* MRS – meticilinrezistent

10

Continuare Tabelul 2

Test - culturi bacteriene															
Doza	<i>E. coli</i> (t. ATCC 25922)			<i>Kl. pneumoniae</i> (t. 3534/51)			<i>S. typhimurium</i>			<i>P. mirabilis</i> (t. ATCC 3177)			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	±	-	-	+	±	±	+	±	-	+	-	-	+	-	-
150	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

15

Tabelul 3

Activitatea bacteriostatică a substanței Chitosan-furacilină (70:30) pe perioadă prolongată Concentrația minimă de inhibiție (μg/mL)

Test - culturi bacteriene												
Doza	<i>S. aureus</i> (t. 209)			<i>S. aureus</i> (MRS)*			<i>S. epidermidis</i> (MRS)			<i>E. faecalis</i> (t. ATCC 19433)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
37,5	-	-	-	-	-	-	±	+	+	±	+	+
18,75	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4,68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* MRS – metilicilinrezistent

5

Continuare Tabelul 3

Test - culturi bacteriene															
Doza	<i>E. coli</i> (t. ATCC 5922)			<i>Kl. pneumoniae</i> (t. 3534/51)			<i>S. typhimurium</i>			<i>P. mirabilis</i> (t. ATCC 3177)			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	±	-	-	-
75	-	-	-	±	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+
37,5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18,75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelul 4

Activitatea bactericidă a substanței Chitosan-furacilină (70:30) pe perioadă prolongată Concentrația minimă bactericidă (μg/mL)

Test - culturi bacteriene												
Doza	<i>S. aureus</i> (t. 209)			<i>S. aureus</i> (t. de la bolnav MRS)*			<i>S. epidermidis</i> (t. de la bolnav MRS)*			<i>E. faecalis</i> (t. ATCC 19433)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	±	±	-	±	-	-	-	-	-	-	+	+
150	±	-	-	±	-	-	-	-	+	±	+	+
75	±	-	-	±	-	+	-	+	+	±	+	+
37,5	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+
18,75	±	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+
9,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* MRS – metilicilinrezistent

10

Continuare Tabelul 4

Test - culturi bacteriene															
Doza	<i>E. coli</i> (t. ATCC 25922)			<i>Kl. pneumoniae</i> (t. 3534/51)			<i>S. typhimurium</i>			<i>P. mirabilis</i> (t. ATCC 3177)			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
300	-	-	-	±	-	-	±	-	-	+	+	+	-	-	-
150	-	-	-	±	-	-	±	-	-	+	+	+	+	-	-
75	+	±	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

15

Tabelul 5

Activitatea bacteriostatică și bactericidă a substanțelor Izofural, Furacilină și Chitosan

Compusul	Test - culturi bacteriene, (μg/mL)															
	<i>S. aureus</i> (t. 209)		MRSA (t. NCTC 12493)		<i>E. faecalis</i> (t. ATCC 19433)		<i>E. coli</i> (t. ATCC 25922)		<i>Kl. pneumoniae</i> (t. ATCC 3534/51)		<i>Ps. aeruginosa</i> (t. ATCC 27853)		<i>A. baumannii</i> (t. ATCC 19606)		<i>P. mirabilis</i> (t. ATCC 3177)	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Izofural	4,68	9,37	4,68	9,37	18,75	37,5	18,75	18,75	75,0	75,0	75,0	300,0	37,5	75,0	37,5	75,0
Furacilină	18,7	37,5	37,5	75,0	37,5	75,0	18,7	37,5	>300	>300	>300	>300	-	-	150,0	>300
Chitosan	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд.: Новая волна, 2012, p. 849-850
2. Guo-Jane Tsai, Wen-Huey Su. Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan against Escherichia coli. Journal of Food Protection, v. 62, nr. 3, 1999, p. 239-243

(57) Revendicări:

Material polimeric cu proprietăți antibacteriene, care constă dintr-un copolimer de chitosan cu anhidrida maleică, grefat cu izofural sau furacilină, cu un conținut de izofural sau furacilină de 10-30 mol %.

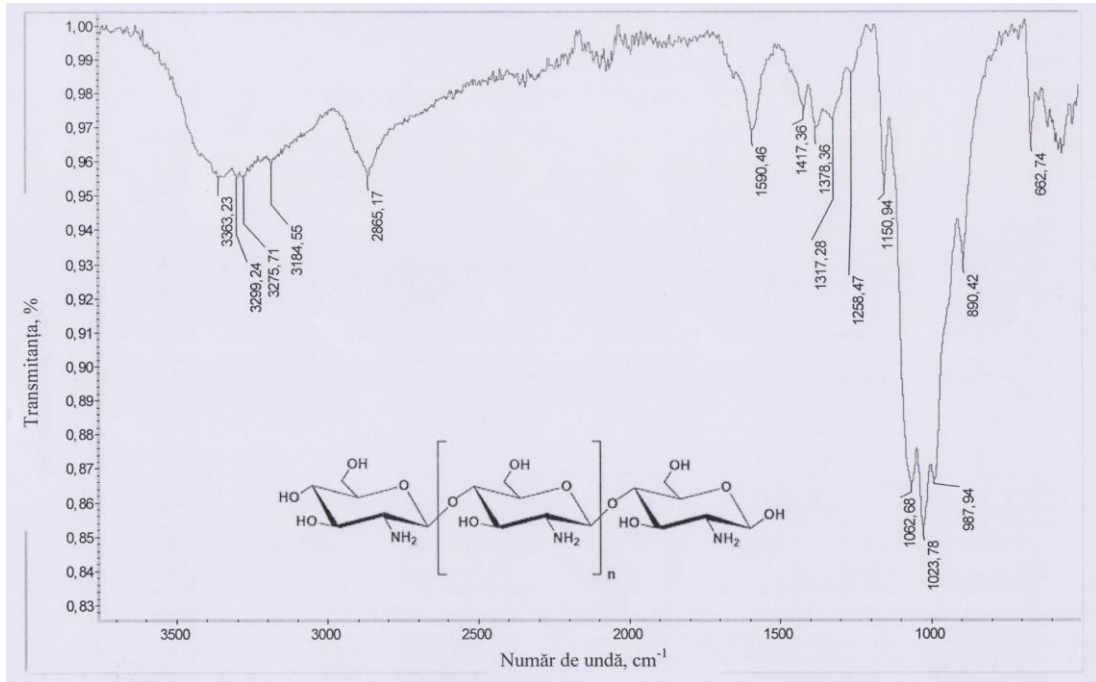


Fig. 1

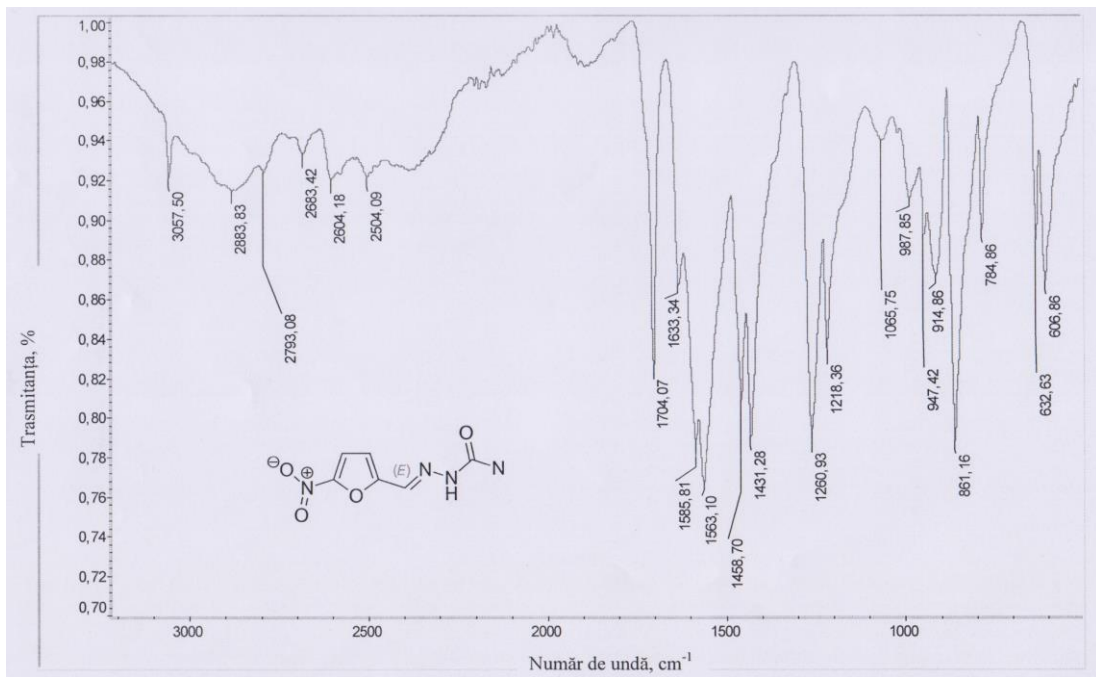


Fig. 2

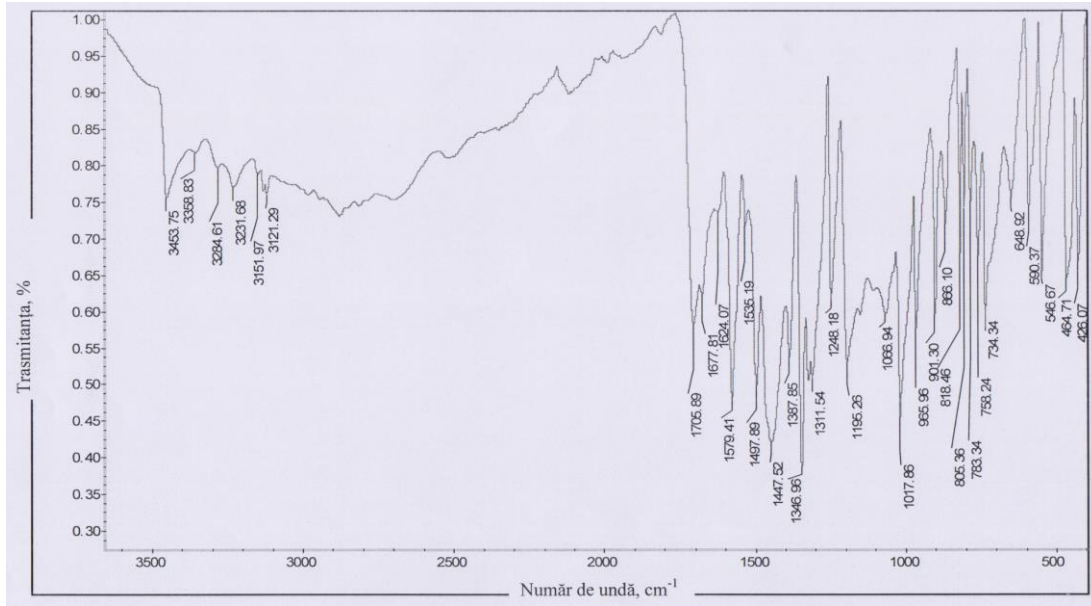


Fig. 3