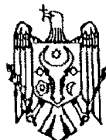




MD 4742 C1 2021.09.30

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4742** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *A61K 31/60* (2006.01)  
*A61K 31/295* (2006.01)  
*A61P 31/10* (2006.01)  
*C07F 15/02* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2019 0082 (22) Data depozit: 2019.11.15	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2021.02.28, BOPI nr. 2/2021
<p>(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE, Ministerul Educației, Culturii și Cercetării, MD; UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, Ministerul Educației, Culturii și Cercetării, MD</p> <p>(72) Inventatori: GORINCIOI Viorina, MD; LOZAN Vasile, MD; BURDUNIUC Olga, MD; BALAN Greta, MD; ȚAPCOV Victor, MD; GULEA Aurelian, MD</p> <p>(73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE, Ministerul Educației, Culturii și Cercetării, MD; UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, Ministerul Educației, Culturii și Cercetării, MD</p> <p>(74) Mandatar autorizat: JOVMIR Tudor</p>	

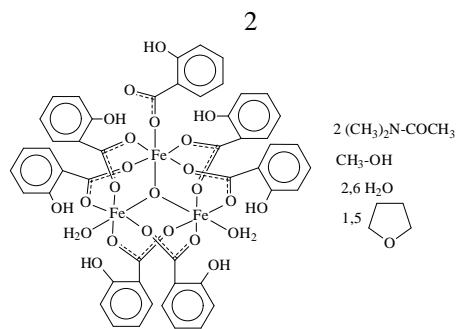
(54) Utilizarea clusterului de oxohepta(salicilat)trifier(III)-polisolvat in calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Cryptococcus neoformans*

## (57) Rezumat:

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

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Cryptococcus neoformans* al oxohepta(salicilat)trifier(III)-polisolvat cu compoziția

$[\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{O}(\text{SalH})_7(\text{H}_2\text{O})_2]-(\text{DMAA})_2(\text{H}_2\text{O})_{2,6}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{THF})_{1,5}$ , unde SalH reprezintă acidul salicilic monodeprotonat, DMAA - dimetilacetamida, THF - tetrahidrofuranul, totodată clusterul are următoarea formulă structurală:



Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la clusterul de oxohepta(salicilat)trifier(III)-polisolvat a activității fungistatice și fungicide față de fungii din specia *Cryptococcus neoformans* in limitele concentrațiilor 0,08...0,16 μg/mL.

Revendicări: 1

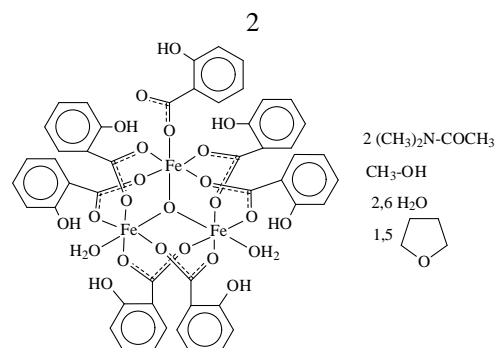
MD 4742 C1 2021.09.30

## (54) Use of oxohepta(salicylate)tri-iron(III)–polysolvate cluster as an inhibitor of the reproduction of fungi of the *Cryptococcus neoformans* species

### (57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, namely to the use of a biologically active coordination compound from the class of transition metal carboxylates, which selectively inhibits the reproduction of fungi of the *Cryptococcus neoformans* species and due to these properties can find application in medicine and veterinary medicine for the prevention and treatment of mycoses.

Summary of the invention consists in the use as an inhibitor of the reproduction of fungi of the *Cryptococcus neoformans* species of oxohepta(salicylate)tri-iron(III)–polysolvate of the composition  $[\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{O}(\text{SalH})_7(\text{H}_2\text{O})_2]-(\text{DMAA})_2(\text{H}_2\text{O})_{2,6}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{THF})_{1,5}$ , where SalH stands for monodeprotonated salicylic acid, DMAA - dimethylacetamide, THF - tetrahydrofuran, at the same time the cluster has the following structural formula:



The technical result of the invention consists in revealing in the oxohepta(salicylate)tri-iron(III)–polysolvate cluster of fungistatic and fungicidal activity against fungi of the *Cryptococcus neoformans* species within the limits of concentrations of 0.08...0.16 µg/ml.

Claims: 1

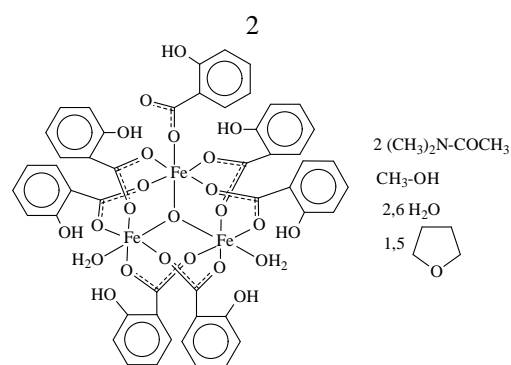
## (54) Применение кластера оксогепта(салицилат)трижелезо(III)–полисольвата в качестве ингибитора размножения грибов вида *Cryptococcus neoformans*

### (57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к применению биологически активного координационного соединения класса карбоксилатов переходных металлов, которое селективно ингибирует размножение грибов вида *Cryptococcus neoformans* и благодаря этим свойствам может найти применение в медицине и ветеринарии для профилактики и лечения микозов.

Сущность изобретения заключается в применении в качестве ингибитора размножения грибов вида *Cryptococcus neoformans*

оксогепта(салицилат)трижелезо(III)–полисольвата состава  $[\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{O}(\text{SalH})_7(\text{H}_2\text{O})_2]-(\text{DMAA})_2(\text{H}_2\text{O})_{2,6}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{THF})_{1,5}$ , где SalH означает монодепротонированную салициловую кислоту, DMAA - диметилацетамид, THF - тетрагидрофуран, при этом кластер имеет следующую структурную формулу:



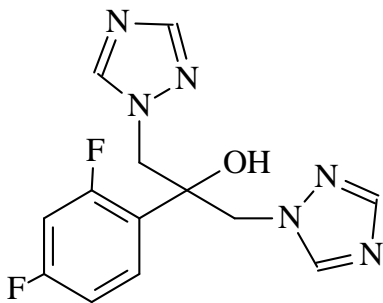
Технический результат изобретения заключается в выявлении у кластера оксогепта(салицилат)трижелезо(III)–полисольвата фунгистатической и фунгицидной активности в отношении грибов вида *Cryptococcus neoformans* в пределах концентраций 0,08...0,16 мкг/мл.

П. формулы: 1

**Descriere:****(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

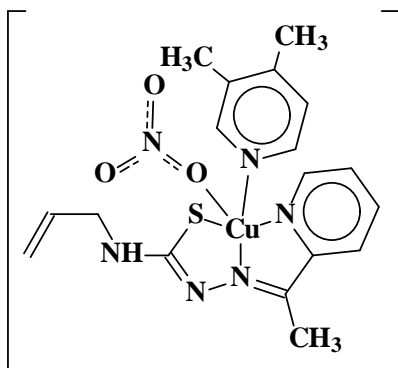
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compusului coordinativ biologic activ din clasa carboxilaților metalelor de tranziție. Acest complex selectiv inhibă proliferarea fungilor din specia *Cryptococcus neoformans* și datorită acestor proprietăți poate găsi aplicare în medicină și veterinarie la profilaxia și tratarea micozelor.

Dintre toate fungile patogene pentru om, speciile levuriforme (*Cryptococcus neoformans* și *Candida albicans*) provoacă cele mai multe infecții, adesea severe, care necesită tratament îndelungat și profilaxie secundară. Pentru terapia acestor infecții cel mai des se utilizează fluconazolul cu formula:



Acest compus din clasa azolilor inhibă creșterea și multiplicarea majorității micetelor levuriforme în diapazonul concentrațiilor 16...20 μg/mL, însă nu poate fi utilizat în cazurile, când este necesară o activitate antimicotică mai înaltă a preparatului față de funghiile sus-numite [1].

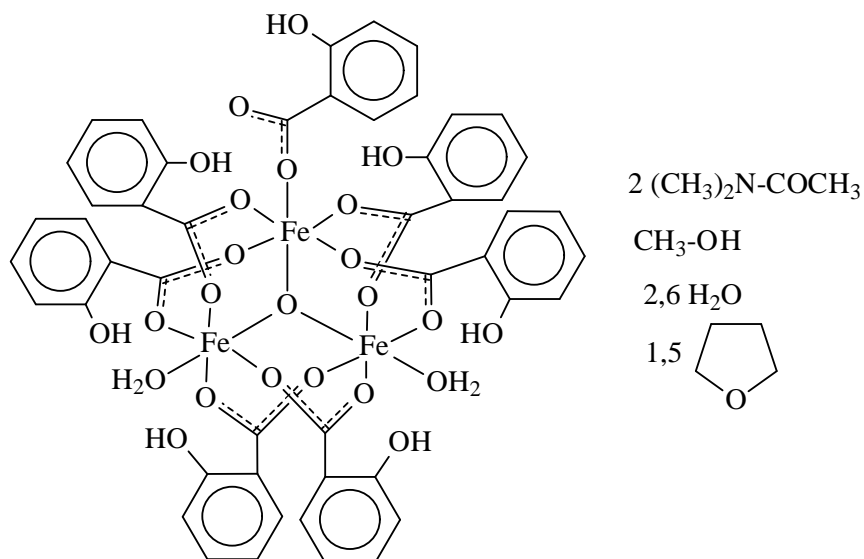
Din toți compușii chimici, care inhibă creșterea și multiplicarea fungilor din specia *Cryptococcus neoformans*, cel mai înalt efect antifungic a fost obținut în cazul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru [2] cu formula:



După activitatea antimicotică față de fungile din specia *Cryptococcus neoformans* acest compus depășește de 133 ori caracteristicile respective ale fluconazolului, utilizat actualmente în medicină pentru tratarea și profilaxia micozelor. Utilizarea acestui compus poate fi considerată cea mai aproape soluție (analogul proxim). Dezavantajul nitrato-{N-(prop-2-en-1-il)-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioato}-(3,4-dimetilpiridin)cupru [2] constă în faptul, că el nu posedă o activitate antimicotică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină sau veterinarie.

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

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Cryptococcus neoformans* unui cluster cu compoziția  $[\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{O}(\text{SalH})_7(\text{H}_2\text{O})_2]-(\text{DMAA})_2(\text{H}_2\text{O})_{2,6}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{THF})_{1,5}$ , unde SalH denotă acidul salicilic monodeprotonat, DMAA – dimetilacetamida, THF – tetrahidrofurantul, totodată clusterul are următoarea formulă structurală:



Structura, proprietățile fizico-chimice și procedeul de obținere a clusterului sunt descrise în literatura științifică (Gorinchoy V., Shova S., Melnic E., Kravtsov V., Turta C. Homotrimeric  $Fe_3^{III}$ - $\mu$ -oxo salicylate cluster. Synthesis, structure and properties. Chemistry Journal of Moldova, 2013, 8(2), p. 83-89).

Structura este similară în fond cu structura carboxilaților „bazici” cu nucleul  $M_3(\mu_3-O)(RCOO)_6$  ca element structural de bază. O particularitate a structurii clusterului utilizat în invenție constă în aceea că un al șaptelea ion de salicilat face parte din sfera interioară cu funcția de ligand monodentat apical în locul unei molecule de apă. Ca urmare sarcina clusterului este zero spre deosebire de majoritatea oxocarboxilaților de trifier(III) sau de alte metale trivalente, căroro clusterii respectivi se prezintă sub formă de monocationi, sarcina căroro este neutralizată de un anion aflat în sfera exterioară. Altă particularitate a structurii clusterului constă în faptul că ea conține în calitate de solvat patru tipuri de molecule diferite – dimetilacetamidă, apă, metanol și tetrahidrofuran.

Reieșind din structura de mai sus, în baza nomenclurii IUPAC, compusul poate fi numit [diaqua-1,2 $\kappa$ O- $\mu_3$ -oxo-hexakis( $\mu$ -salicilato- $\kappa$ O?)salicilato-3 $\kappa$ O-trifier(III)]-dimetilacetamid(1/2)-hidrat(1/2.6)-metanol-tetrahidrofuran-(1/1.5). Din considerente raționale clusterul în continuare va fi numit prescurtat ca oxohepta(salicilat)trifler(III)-polisolvat.

Informația despre structura cristalină a clusterului în cauză a fost înregistrată în baza de date cristalografică Cambridge sub numărul 975526.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la clusterul de oxohepta(salicilat)trifler(III)-polisolvat a activității fungicidice și fungistatice față de fungii din specia *Cryptococcus neoformans*, ce depășește de 200 ori activitatea fluconazolului utilizat în medicină și de 1,5 ori depășește activitatea analogului proxim [2].

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

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

#### Exemple de realizare a invenției

Sinteza compusului utilizat în revendicare s-a realizat conform procedurii dezvăluit anterior (Gorinchoy V., Shova S., Melnic E., Kravtsov V., Turta C. Homotrimeric  $Fe_3^{III}$ - $\mu$ -oxo salicylate cluster. Synthesis, structure and properties. Chemistry Journal of Moldova, 2013, 8(2), p. 83-89).

**Utilizarea clusterului oxohepta(salicilat)trifler(III)-polisolvat în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Cryptococcus neoformans* în raport cu alte specii de microorganisme**

Proprietățile antimicotice ale oxohepta(salicilat)trifler(III)-polisolvat au fost cercetate *in vitro* pe tulpina de laborator de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans*. Activitatea antimicotică s-a determinat utilizând mediul RPMI 1640 suplimentat cu glucoză. Inoculul se

pregătea din subcultura de 48 ore cultivată pe Agar Sabouraud, în apă distilată sterilă până la o densitate de 0,5 McFarland (cca.  $2 \cdot 10^6$  UFC/mL), după care se efectua o a doua diluție cu apă distilată sterilă de 1:10, obținându-se inoculul final. Rezultatul final se interpreta prin folosirea unui spectofotometru, înregistrându-se absorbanta fiecărui godeu la 405 nm. CMI-ul se calcula ca fiind cea mai mică concentrație care inhibă creșterea (comparativ cu martorul pozitiv).

5 Rezultatele studiului activității antiproliferative a compusului revendicat sunt prezentate în Tabelul de mai jos, din care se vede că el posedă activitate fungiostatică și fungicidă față de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans* în limitele concentrațiilor 0,08...0,16  $\mu\text{g/mL}$ . Paralel cu proprietățile antifungice au fost cercetate și proprietățile bacteriostatice și bactericide ale compusului cercetat față de tulpinile standard de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, micete levuriforme *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* și *Candida albicans*. În toate aceste cazuri, concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă bactericidă (CMB) aveau valori mai mari de 10,0  $\text{mg/mL}$ . Aceste date experimentale vorbesc despre selectivitatea activității antifungice a clusterului oxohepta(salicilat)trifler(III)-polisolvat față de micete levuriforme *Cryptococcus neoformans*. După cum se vede din tabel, complexul trinuclear studiat manifestă o activitate antimicotică, ce depășește de 200 ori activitatea fluconazolului utilizat în medicină, și de 1,5 ori depășește activitatea analogului proxim [2].

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

Tabel

25 Concentrația minimă de inhibare (CMI) și concentrația minimă fungicidă (CMF) ( $\mu\text{g/mL}$ ) a compusului utilizat în revendicare în comparație cu fluconazolul și analogul proxim

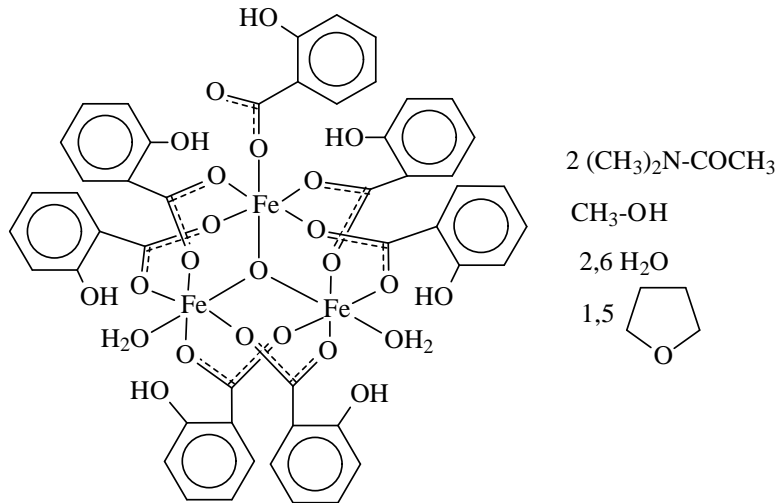
Tulpina	Compusul utilizat în revendicare		Fluconazol		Analogul proxim	
	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Cryptococcus neoformans</i> <i>CECT 1043</i>	0,08	0,16	16,0	-	0,12	0,24

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Bastos T., Maria Soares B., Silva Cisalpino P., Castro Mendes I., Raquel Gouvea dos Santos, Beraldo H. Coordination to gallium(III) strongly enhances the potency of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones against *Cryptococcus* opportunistic fungi. *Microbiological Research*, 2010, vol. 165, No. 7, p. 573-577.
2. MD 4621 B1 2019.02.28

**(57) Revendicări:**

Utilizarea clusterului cu compoziția  $[\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{O}(\text{SalH})_7(\text{H}_2\text{O})_2]-(\text{DMAA})_2(\text{H}_2\text{O})_{2,6}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{THF})_{1,5}$ , unde SalH reprezintă acidul salicilic monodeprotonat, DMAA - dimetilacetamida, THF - tetrahidrofuranol, și cu următoarea formulă structurală:



în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia *Cryptococcus neoformans*.