



MD 4573 C1 2019.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4573** (13) **C1**
(51) Int.Cl: **C07C 13/48** (2006.01)
A61K 31/015 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2017 0089 (22) Data depozit: 2017.10.16	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2018.06.30, BOPI nr. 6/2018
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: ARICU Aculina, MD; KUCHKOVA Kaleria, MD; SECARA Elena, MD; BARBA Alic, MD; DRAGALIN Ion, MD; UNGUR Nikon, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Compusul 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă pentru utilizare în calitate de remediu antimicotic

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la farmacologie, în special la un compus dinorlabdanic ce posedă activitate antimicotică pronunțată și poate fi utilizat pentru tratamentul bolilor micotice.

2
Esența invenției constă în aceea că se propune compusul 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă pentru utilizare în calitate de remediu antimicotic.

Revendicări: 1

MD 4573 C1 2019.01.31

(54) 13-Amino-14,15-dinorlabd-8(9)-ene compound for use as an antimycotic agent

(57) Abstract:

1

The invention relates to pharmacology, in particular to a dinorlabdanic compound having a pronounced antimycotic activity and can be used for the treatment of fungal diseases.

2

Summary of the invention consists in that the 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-ene compound is proposed for use as an antimycotic agent.

Claims: 1

(54) Соединение 13-амино-14,15-динорлабд-8(9)-ена для использования в качестве антимикотического средства

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к фармакологии, в частности к динорлабдановому соединению, обладающему выраженной антимикотической активностью, и может быть использовано для лечения грибковых заболеваний.

2

Сущность изобретения состоит в том, что предлагается соединение 13-амино-14,15-динорлабд-8(9)-ена для использования в качестве антимикотического средства.

П. формулы: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

5 Invenția se referă la farmacologie, în special la un compus dinorlabdanic ce posedă activitate antimicotică pronunțată și poate fi utilizat pentru tratamentul bolilor micotice.

Infecțiile provocate de fungi sunt foarte răspândite și aduc prejudicii grave sănătății. Majoritatea preparatelor antifungale existente nu asigură un efect curativ radical și stabil. Tratamentele existente, de regulă, nu conduc la dispariția definitivă a oricărui semn de infecție, ci doar ameliorează temporar starea generală a pacienților, aceasta recidivând
10 frecvent cu manifestări clinice mai pronunțate. Deseori, ca rezultat al mutațiilor la fungi apare rezistență la preparatele folosite pentru tratament, fapt ce stimulează cercetările în vederea obținerii de preparate noi.

Din seria de preparate frecvent utilizate în practica medicală este bine cunoscută Caspofungin, reprezentant al unei clase noi de antifungice numite echinocandine. Acest
15 preparat inhibă sinteza (1→3)-β-D-glucanului și crește permeabilitatea celulelor fungice, fapt ce favorizează scurgerea conținutului citoplasmatic (citoliza) și, ca urmare, moartea acestora [1].

Preparatul menționat însă are și un șir de dezavantaje, ce constau în:

- potențial curativ moderat;
- 20 - reacții alergice și iritații în locul aplicării;
- efecte adverse manifestate prin tulburări gastrointestinale, urinare ș.a.

În calitate de cea mai apropiată soluție pot servi compușii cu conținut de azot care au fost testați *in vitro* pe tulpinile de fungi (*Candida albicans*). Autorii menționează că acești
25 compuși manifestă activitate antifungică bună, fiind activi la concentrația inhibitorie minimă (MIC) de 32 μg/ml [2].

Dezavantajul compușilor descriși constă în aceea că ei manifestă activitate antifungică mică, precum și faptul că au fost testați doar pe o singură specie de tulpini de fungi din set.

De asemenea, un dezavantaj este și faptul că sinteza descrisă cuprinde mai multe etape.

Extinderea cercetărilor științifice în domeniul elaborării remediilor antifungice cu
30 activitate biologică ridicată, la prețuri competitive cu preparatele de import, adică accesibile pentru populație, din materie primă locală, constituie o problemă de importanță primordială pentru Republica Moldova.

Problema pe care o rezolvă invenția revendicată constă în utilizarea în calitate de
35 remediu a unui compus cu activitate antifungică ridicată, obținut prin semisinteză din materie primă de origine vegetală, ieftină și accesibilă. O valoare adăugată invenției oferă faptul că materia primă locală este renovabilă, accesibilă și poate fi obținută din deșeurile provenite din industria uleiurilor etero-oleaginoase.

Esența invenției constă în aceea că se propune compusul 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă pentru utilizare în calitate de remediu antimicotic.

40 Avantajele compusului revendicat constau în:

- activitatea biologică mai ridicată a 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enei în raport cu preparatele cunoscute;
- accesibilitatea compusului revendicat sub aspect eficiență/preț;
- accesibilitatea materiei prime și originea ei locală;
- 45 - eficiența și simplitatea metodei de sinteză a acestuia.

Procedul de obținere a 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enei este descris în sursa
(Kuchkova K., Aricu A., Secara E., Barba A., Dragalin I., Vlad P., Ungur N. Synthesis of 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-ene from sclareol. Russ. Chem. Bull., Vol. 63, No. 9, 2014, p. 2074-2076). De menționat că rezultatele testărilor biologice ale acestui compus nu au
50 fost descrise anterior în literatura de specialitate.

Rezultatul tehnic al invenției constă în extinderea gamei de compuși enantiopuri de semisinteză, cu activitate antimicotică înaltă, obținuți din substanțe de origine vegetală, la prețuri competitive cu preparatele de import, adică accesibile pentru populație.

Compusul 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă poate fi utilizat în calitate de compus cu
55 proprietăți antifungice pronunțate, fapt confirmat de testările biologice ale acestuia *in vitro* pe speciile de fungi (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium frequentans* și *Alternaria alternata*).

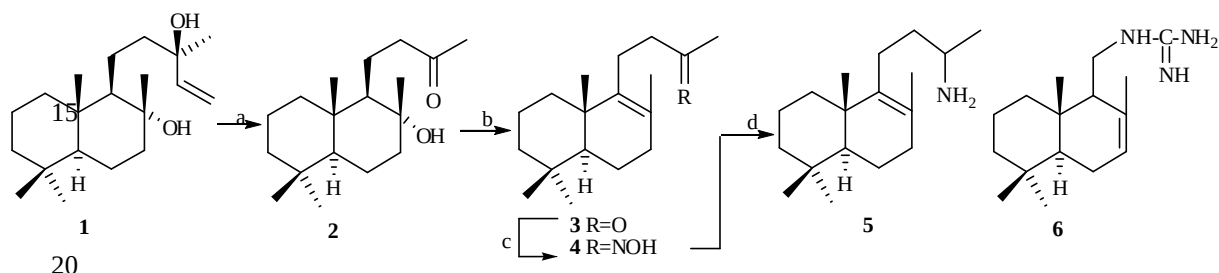
În baza testărilor biologice s-a demonstrat că 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă manifestă proprietăți antifungice foarte bune la valori ale concentrației minime inhibitorii (MIC, $\mu\text{g/ml}$) de 0,125, care sunt superioare celor caracteristice compusului de referință Caspofungin și a compusului din cea mai apropiată soluție **6** (tabel).

- 5 Compusul revendicat este stabil la contact cu aerul, parțial solubil în alcool și apă, solubil în dimetilsulfoxid (DMSO), clorură de metilen, acetat de etil și acetonă.

Exemplu de realizare a invenției

A fost utilizat un compus terpenic cu conținut de azot, și anume 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-ena **5** sintetizat conform schemei cu utilizarea în calitate de compus inițial a sclareolului **1** obținut din materie primă de origine vegetală, ieftină și accesibilă.

10



Reagenți și condiții: a) KMnO_4 , CH_3OCH_3 , b) $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, 97%,
c) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, d) LiAlH_4 , THF

Testarea activității biologice a 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enei

- 25 Activitatea biologică a compusului revendicat a fost testată *in vitro* pe 5 specii de fungi (*Aspergillus flavus* ATCC 20046, *Aspergillus niger* ATCC 53346, *Penicillium chrysogenum* ATCC 20044, *P. frequentans* ATCC 10110 și *Alternaria alternata* ATCC 8741) provenite din culturi pure, totodată a fost testat și compusul din cea mai apropiată soluție 11-guanidinodrimena. Rezultatele testărilor, exprimate în valori MIC (concentrația minimă inhibitorie) sunt raportate în tabel.

30

Rezultatele testării activității biologice a 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enei

Tabel

Compusul	Concentrație minimă inhibitorie (MIC, $\mu\text{g/mL}$)						
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium frequentans</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Candida Albicans</i>	
Compusul revendicat 5	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	-	
Compusul din cea mai apropiată soluție 6	-	-	-	-	-	32	
Caspofungin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-	

- 35 Microorganismele au fost furnizate de American Type Culture Collection (ATCC), USA.

Se pregătește soluția compusului revendicat în DMSO cu o concentrație de 0,5%. Pentru aceste determinări se utilizează plăci Petri cu mediul de cultură de tip agar-Sabouraud cu 4% dextroză (SDA) pentru fungi și mediu agar nutritiv-standard I pentru bacterii de la firma Merck (Germania).

- 40 Conform procedurilor standard de cultivare (SR-EN 1275:2006 și NCCLS guidelines) [National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Antimicrobial Susceptibility Standards (ATS) 2003, for M7 (CMI) and M100] se aplică metoda diluțiilor succesive pentru pregătirea suspensiei de microorganisme (Carrillo, R., Martin, V. S., Lopez, M., Martin, T. Tetrahedron Vol. 61, No. 34, 2005, p. 8177-8191).

- 45 Caspofungin (strip test) se utilizează ca un compus standard pentru activitatea antifungică. Compusul standard este furnizat de firma Liofilchem (Italia).

Încărcătura finală a inoculului-stoc astfel pregătit este de $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$. Plăcile inoculate se incubează la temperatura de 30°C , timp de 7 zile.

- Primele observații se fac după 48 de ore, iar analiza finală după 7 zile, stabilindu-se concentrația minimă inhibitorie (MIC) și densitatea viabilă a microorganismelor prezente.
- 5 Valori MIC se citesc direct pe banda standard în punctul în care marginea elipsei de inhibiție intersectează banda pentru fiecare tip de microorganisme.

Rezultatul invenției este condiționat de utilizarea, pentru prima dată, a 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enei în calitate de compus ce posedă proprietăți antifungice pronunțate.

- Conform datelor testărilor biologice preparatul manifestă activitate înaltă contra speciilor de fungi *Aspergillus flavus* ATCC 20046, *Aspergillus niger* ATCC 53346, *Penicillium chrysogenum* ATCC 20044, *P. frequentans* ATCC 10110 și *Alternaria alternata* ATCC 8741 și poate fi utilizat pe larg în farmaceutică. Proprietățile depistate prezintă interes din punct de vedere al lărgirii și/sau completării arsenalului de preparate antimicotice cu spectru larg de acțiune.
- 10

- 15 Preparatul revendicat posedă proprietăți antimicotice pronunțate, este relativ ieftin, deoarece se obține ușor din materie primă locală accesibilă și poate fi utilizat pe larg în farmaceutică.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Desnos-Ollivier M., Dromer F., Dannaoui E. Detection of Caspofungin Resistance in *Candida* spp. by Etest. J.Clin.Microbiol., vol. 46, No 7, 2008, p. 2389-2392
2. Zarraga M., Zarraga A.M., Rodrigues B., Perez C., Paz C., Paz P., Sanhueza C. Synthesis of a new nitrogenated drimane derivative with antifungal activity Tetrah. Lett. Vol. 49, 2008, p. 4775-4776

(57) Revendicări:

Compusul 13-amino-14,15-dinorlabd-8(9)-enă pentru utilizare în calitate de remediu antimicotic.