



MD 3771 F1 2008.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3771** (13) **F1**  
(51) Int. Cl.: *A61K 31/175* (2006.01)  
*A61K 31/05* (2006.01)  
*A61K 31/11* (2006.01)  
*A61P 13/08* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
(21) Nr. depozit: a 2008 0118 (22) Data depozit: 2008.04.30	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.12.31, BOPI nr. 12/2008
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; POIRIER Donald, CA; ROY Jenny, CA; ȚAPCOV Victor, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) **Inhibitori ai enzimei 17β-HSD, stimulatorii multiplicării celulelor  
cancerului prostatei**

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la chimie, și anume la compușii organici din clasa tiosemicarbazonelor, care pot fi utilizați pentru tratamentul cancerului prostatei.

Esența invenției constă în utilizarea a 4-feniltiosemicarbazonelor alchidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice) în calitate de inhibitori ai enzi-

2  
mei 17β-HSD (hidroxisteroid dehidrogenază), stimulatorii a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

Revendicări: 1

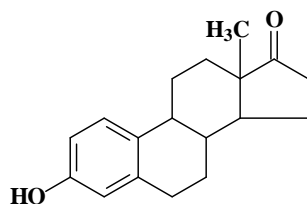
10

MD 3771 F1 2008.12.31

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie, și anume la compușii organici din clasa tiosemicarbazonelor, care pot fi utilizați pentru tratamentul cancerului prostatei.

5 Ultimul pas în formarea tuturor androgenilor și estrogenilor, precursor al cancerului prostatei, este favorizat de către 17β-hidroxisteroidul dehidrogenazei (17β-HSD) din categoria enzimelor steroidogene. Dintre substanțele chimice, folosite în medicină în calitate de inhibitori ai activității enzimei 17β-HSD, care stimulează procesul de multiplicare a celulelor cancerului prostatei, cel mai înalt efect a fost obținut în cazul estronului (oestronum - hormon sexual feminin din grupa estrogenilor) – 3-oxi-estra-1,3,5(10)-trien-17-on, care are următoarea formulă :



10

Această substanță chimică servește drept cea mai apropiată soluție [1].

Estronul inhibă la concentrația de 10<sup>-5</sup> mol/l - 95%, la 10<sup>-6</sup> mol/l – 62%, iar la 10<sup>-7</sup> mol/l – 16% din celulele cancerului prostatei.

15

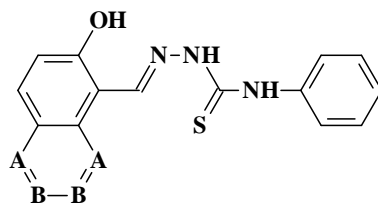
Dezavantajul folosirii acestui compus constă în faptul că întrebuințarea lui este limitată de activitatea anticancer slabă și de efectele secundare, pe care le cauzează: acționează hipocolesterinic, provoacă fenomene de feminizare la bărbați și schimbări proliferative în endometrie la femei.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17β-HSD și ai cancerului prostatei.

20

Esența invenției constă în utilizarea 4-feniltiosemicarbazonelor alchidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17β-HSD, stimuloare a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

Formula generală:



25

I, II

I : A = H, B – lipsește; II : A = B = CH.

30

Procedul de sinteză și proprietățile fizico-chimice ale acestor compuși sunt descrise în literatura de specialitate (Kang-Kai Du, Shi-Xiong Liu. Influence of pH values self-assembly in three trinuclear nickel complexes with bridging ligand N-salicylyl 4-phenyl-thiosemicarbazide. Journal of Molecular Structure, 2007, Vol. 873, p. 191-194; Bernhardt P. V., Caldwell L. M., Lovejoy D. B., Richardson G. R. Four cytotoxic N4-substituted thiosemicarbazones derived from 2-hydroxynaphthalen-1-carboxaldehyde. Acta Cryst., 2003, C. 59, p. 629-633).

35

Rezultatul invenției constă în stabilirea la compușii declarați a activității anticancerigene, care în cazul tiosemicarbazonei I depășește de 1,3...1,8 ori caracteristicile analogice ale estronului, iar în cazul II – rămâne la nivelul lui. Proprietatea stabilită a complexilor sus-numiți este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lor în calitate de inhibitori ai multiplicării celulelor cancerului prostatei.

40

Rezultatul invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al activității enzimei 17β-HSD - stimuloare a multiplicării celulelor cancerului prostatei, se propun 4-feniltiosemicarbazonele adehidei salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice, care conțin o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

45

# MD 3771 F1 2008.12.31

4

Esența invenției poate fi confirmată de următoarele date experimentale.

Exemplu de utilizare a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidei salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD - stimulare a multiplicării celulelor cancerului prostatei [Inhibiția de tipul 1 17 $\beta$ -HSD (transformarea estronului (E1) în estradiol (E2))].

5 Celulele de *Human Embryonic Kidney* (HEK)-293 transferate cu ADNc codare pentru tipul 1 17 $\beta$ -HSD au fost dezmembrate pentru a degaja enzima brută ce a fost utilizată ca sursă de enzime fără a fi mai apoi purificată. Această probă a fost efectuată în felul următor: întâi s-a preparat soluția inițială (soluția mamă) ce conținea substratul radiomarcant [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> (0,1  $\mu$ M), NADH (1 mM) în soluție-tampon de fosfat (pH 7,4, 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, EDTA 1 mM, 20% glicerină). Pentru aceasta 890  $\mu$ L de soluție inițială și 10  $\mu$ L de soluție de inhibitor, dizolvate în alcool etilic, s-au turnat într-un tub. Reacția a început prin adăugarea a 100  $\mu$ L de soluție de enzimă brută obținută după cum s-a descris mai sus. Durata de incubare a amestecului a fost de 1 h la 37°C, iar la sfârșitul reacției s-a adăugat un exces de E<sub>1</sub> și E<sub>2</sub> neradiomarcant. Steroizii au fost extrași cu eter dietilic, iar solventul a fost înlăturat la presiune scăzută. Rămășițele au fost dizolvate în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, identificate pe o placă de silicagel (TLC, 20 X 20 cm X 0,2 cm, Kieselgel 60 F254) și spălate cu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (9:1). E<sub>1</sub> mai puțin polar și E<sub>2</sub> mai mult polar s-au identificat pe TLC ca două rânduri de picături vizibile la lumina UV. Pentru detectarea și determinarea cantității semnalelor radioactivității atribuite pentru [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> și [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> s-a folosit detectorul atomilor marcați (Sunny Vale, CA). Procentajul transformării [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> în [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> s-a calculat astfel: % trans. = 100 · [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> (cpm) / ([<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> (cpm) + [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> (cpm)). Prin urmare, procentajul inhibiției = 100 · [(% trans. a controlului - % trans. a compusului) / (% trans. controlului)].

15 Datele experimentale obținute în urma studiului proprietăților anticanceroase ale 4-feniltiosemicarbazonelor declarate demonstrează că primul compus la concentrația de 10<sup>-5</sup> M inhibă 98%, la 10<sup>-6</sup> M – 78%, iar la 10<sup>-7</sup> M – 33% de celule ale cancerului prostatei. Datele obținute atestă că acest compus, după activitatea anticancerigenă, depășește de 1,3...1,8 ori caracteristicile analogice ale estronului (soluția cea mai apropiată). Compusul al II-lea la primele două concentrații inhibă creșterea a 65 și 8 % de celule, iar la concentrația de 10<sup>-7</sup> M el nu manifestă activitate cancerostatică.

25 Proprietățile depistate ale 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidei salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD și ai celulelor cancerului prostatei.

## 35 (57) Revendicări:

Utilizare a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulare a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

40

## (56) Referințe bibliografice:

1. Горбунова В. А. Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей. Москва, Медицина, 1998, с. 128

**Șef Secție:**

GROSU Petru

**Examinator:**

EGOROVA Tamara

**Redactor:**

LOZOVANU Maria