

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3771** ⁽¹³⁾ **G2**
(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

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| (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 17 β -HSD, stimulative a 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 4-fenil-tiosemicarbazonelor alchidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzi-

2

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

Revendicări: 1

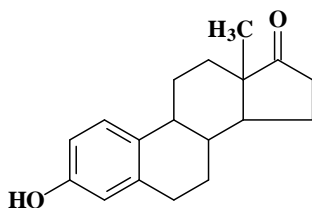
MD 3771 G2 2008.12.31

3

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 17 β -hidroxisteroidul dehidrogenazei (17 β -HSD) din categoria enzimelor steroidogenice. Dintre substanțele chimice, folosite în medicină în calitate de inhibitori ai activității enzimei 17 β -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].

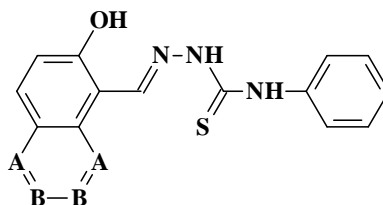
Estronul inhibă la concentrația de 10⁻⁵ mol/l - 95%, la 10⁻⁶ mol/l – 62%, iar la 10⁻⁷ mol/l – 16% din celulele cancerului prostatei.

- 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.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 β -HSD, stimulare a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

- 20 Esența invenției constă în utilizarea 4-feniltiosemicarbazonelor aldehydelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17 β -HSD, stimulare 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 revendicați 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 17 β -HSD - stimulare a multiplicării celulelor cancerului prostatei, se propun 4-feniltiosemicarbazonele aldehydelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice.

Esena invenției poate fi confirmată de următoarele date experimentale.

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

MD 3771 G2 2008.12.31

4

Celulele de *Human Embryonic Kidney* (HEK)-293 transferate cu ADNc codare pentru tipul 1 17 β -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 [¹⁴C]-E₁ (0,1 μ M), NADH (1 mM) în soluție-tampon de fosfat (pH 7,4, 50 mM KH₂PO₄, EDTA 1 mM, 20% glicerină). Pentru aceasta 890 μ L de soluție inițială și 10 μ L de soluție de inhibitor, dizolvate în alcool etilic, s-au turnat într-un tub. Reacția a început prin adăugarea a 100 μ 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 E₁ și E₂ neradiomarcant. Steroizii au fost extrași cu eter dietilic, iar solventul a fost înlăturat la presiune scăzută. Rămășițele au fost dizolvate în CH₂Cl₂, identificate pe o placă de silicagel (TLC, 20 X 20 cm X 0,2 cm, Kieselgel 60 F254) și spălate cu CH₂Cl₂/EtOAc (9:1). E₁ mai puțin polar și E₂ 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 [¹⁴C]-E₁ și [¹⁴C]-E₂ s-a folosit detectorul atomilor marcați (Sunny Vale, CA). Procentajul transformării [¹⁴C]-E₁ în [¹⁴C]-E₂ s-a calculat astfel: % trans. = 100 · [¹⁴C]-E₂ (cpm) / ([¹⁴C]-E₁ (cpm) + [¹⁴C]-E₂ (cpm)). Prin urmare, procentajul inhibiției = 100 · [(% trans. a controlului - % trans. a compusului) / (% trans. controlului)].

Datele experimentale obținute în urma studiului proprietăților anticanceroase ale 4-feniltiosemicarbazonelor revendicate demonstrează că primul compus la concentrația de 10⁻⁵ M inhibă 98%, la 10⁻⁶ M – 78%, iar la 10⁻⁷ 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 10⁻⁷ M el nu manifestă activitate cancerostatică. Proprietățile depistate ale 4-feniltiosemicarbazonelor aldehydelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 β -HSD, stimulative a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

(57) Revendicări:

Utilizare a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehydelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17 β -HSD, stimulative a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

(56) Referințe bibliografice:

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