

Invenția se referă la sinteza compușilor complecși polioxometalați cu activitate antitumorală.

Sunt cunoscuți complecși polioxometalați (POM) care inhibă proteina specifică, chinaza CK2, fermentul care se manifestă într-un șir de boli canceroase, prin controlul proliferării și supraviețuirii celulelor, fiind un ferment de fosforilare. Inhibitorii chinazei CK2 cunoscuți în prezent, de obicei reprezintă niște compuși organici, care se combină cu centrul activ al fermentului. [1]

Cercetătorii de la Institutul de Chimie Moleculară (Franța) în comun cu cercetătorii de la Institutul de Tehnologie și Știință din Grenoble (Franța) au scos în evidență un nou tip de inhibitori CK2. Acești compuși anorganici fac parte din grupul compușilor polioxometalați cu conținut de molibden și wolfram și se manifestă în concentrații nanomolare în calitate de inhibitori eficienți ai chinazei CK2 în comparație cu inhibitorii cunoscuți în prezent. Cercetătorii au depistat un mecanism, deși neînțeles până la capăt, de acțiune a polioxometalaților. Spre deosebire de inhibitorii organici cunoscuți, polioxometalații nu se combină cu centrul activ al fermentului.

Dezavantajul complecșilor polioxometalați menționați constă în faptul că aceștia au fost utilizați doar în calitate de inhibitori ai proteinei specifice, chinaza CK2, nu și în cazul neuroblastomului uman SH-SY5Y.

Problema invenției constă în extinderea spectrului de compuși complecși cu o înaltă activitate antitumorală.

Esența invenției constă în sinteza compușilor complecși polioxometalați cu formula:

$[N(CH_3)_4]_{5+n}[Se_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}] \cdot mH_2O$, unde $n = 0$ sau 2 , $m = 12$ sau 17 , unde atomii de seleniu (IV) sunt centrali.

Rezultatul invenției constă în sinteza unor compuși complecși polioxometalați cu un efect de inhibare a celulelor tumorale de 85...92% la o concentrație de 10...100 μM .

Cercetarea efectului inhibitor al polioxometalaților cu formula generală $[N(CH_3)_4]_{5+n} [Se^{IV}_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}] \cdot mH_2O$ a fost efectuată pe neuroblastomul uman SH-SY5Y cu ajutorul testului MTT (bromura de 3,3,4-dimetilthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliu). Testul a confirmat că complecșii revendicați manifestă activitate biologică și pot fi folosiți în tratamentul unui șir de boli canceroase.

Exemplele 1...3 descriu sinteza substanțelor revendicate, când valorile $n = 0$ și $n = 12$ sau cu 17 .

Exemple de realizare

Exemplul 1

Sinteza $[N(CH_3)_4]_{5+n} [Se^{IV}_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}] \cdot mH_2O$.

La 50 ml soluție apoasă fierbinte, care conține 16,50 g (50 mmol) wolfram de sodiu ($Na_2WO_4 \cdot H_2O$), 4,8 g (25 mmol) metavanadat de sodiu ($NaVO_3$), 0,86 g (5,5 mmol) selenit de sodiu (Na_2SeO_3), elementele de bază fiind într-un raport molar Se : W : V = 1 : 9 : 4,5, s-a adăugat acid clorhidric (6 M) până la un pH = 5. Amestecul obținut a fost încălzit timp de 15 min la temperatura de 80°C, acidulat până la un pH = 2,5, după care la el s-au adăugat 10 ml de soluție de clorură de tetrametilamoniu (de 5%) și a fost lăsat să se cristalizeze. Cristalele aciculare de culoare roșie, care s-au sedimentat au fost filtrate și recristalizate din apă. Randamentul de obținere a compusului revendicat a constituit 65%.

Analiza elementală (%): Găsit: W, 58,23; V, 4,47; Se, 3,20; C, 5,08; N, 1,67; H₂O, 4,1. Calculat: W, 57,67; V, 4,72; Se, 2,93; C, 6,23; N, 1,75; H₂O, 4,0.

Exemplul 2

Sinteza $[N(CH_3)_4]_{5+n} [Se^{IV}_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}] \cdot mH_2O$.

Acest exemplu descrie sinteza compusului ce corespunde formulei din titlu, pentru $n = 0$. La 50 ml soluție apoasă fierbinte, care conține 16,50 g (50 mmol) wolfram de sodiu ($Na_2WO_4 \cdot H_2O$), 2,06 g (16,5 mmol) metavanadat de sodiu ($NaVO_3$), 0,86 g (5,5 mmol) selenit de sodiu (Na_2SeO_3), elementele de bază fiind într-un raport molar Se : W : V = 1 : 9 : 3, s-a adăugat acid clorhidric (6M) până la un pH = 5. Amestecul obținut a fost încălzit timp de 15 min la temperatura de 80°C, apoi acidulat până la pH = 2,5, după care la el s-au adăugat 10 ml de soluție de clorură de tetrametilamoniu (de 5%) și a fost lăsat să se cristalizeze. Cristalele aciculare de culoare roșie care s-au sedimentat au fost filtrate și recristalizate din apă. Randamentul de obținere a compusului revendicat a constituit 55%.

Analiza elementală (%): Găsit: W, 61,23; V, 3,17; Se, 3,20; C, 5,08; N, 1,56; H₂O, 5,41. Calculat: W, 62,08; V, 2,73; Se, 2,82; C, 4,28; N, 1,25; H₂O, 5,46.

Exemplul 3

Sinteza $[N(CH_3)_4]_5[Se_2W_{19}V_3O_{71}] \cdot 17H_2O$.

La 50 ml soluție apoasă fierbinte, care conține 16,5 g (50 mmol) wolfram de sodiu ($Na_2WO_4 \cdot H_2O$), 2,06 g (16,5 mmol) metavanadat de sodiu ($NaVO_3$), s-a adăugat cu picătura acid clorhidric (6 M) până la un pH = 6, apoi s-a adăugat 1,2 g (5,5 mmol) de acid selenios (H_2SeO_3), elementele de bază fiind într-un raport molar Se : W : V = 1 : 9 : 3. Amestecul obținut a fost acidulat până la un pH = 3 și încălzit timp de 1 oră. În continuare complexul a fost sedimentat cu soluție de clorură de tetrametilamoniu (de 5%). Cristale în formă de druze de culoare roșie-închisă au fost filtrate și recristalizate din apă.

Analiza elementală (%): Găsit: W, 61,23; V, 3,17; Se, 3,20; C, 5,08; N, 1,56; H₂O, 5,41. Calculat: W, 62,08; V, 2,73; Se, 2,82; C, 4,28; N, 1,25; H₂O, 5,46.

Compușii obținuți cu formula generală $[N(CH_3)_4]_{5+n} [Se^{IV}_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}] \cdot mH_2O$ reprezintă substanțe cristaline, având culoarea de la roșu-aprins, până la roșu-închis, sunt stabile la aer, bine solubile în dimetilsulfoxid (DMSO), dimetilformamidă (DMFA), alcool etilic și în apă la încălzire.

Structura compușilor revendicați este confirmată de rezultatele analizei cu raze X, spectroscopiei în infraroșu și termogravimetriei.

Analiza cu raze X a demonstrat că pentru toți trei compuși este caracteristic același polioxoanion $[Se^{IV}_2W_{19-n}V_{3+n}O_{71}]^{(5+n)-}$, care constă din două fragmente $\{\alpha-SeW_{9-n}V_nO_{33}\}$, legate între ele printr-un cation $\{WO_2^{4+}\}$ și prin

trei grupe VO^{3+} . Fragmentele structurale $\{\alpha\text{-SeW}_9\text{-nV}_n\text{O}_{33}\}$ sunt derivați lacunari de tipul B de la anionul keeghin $[\text{SeW}_{12\text{-n}}\text{V}_n\text{O}_{40}]^{(6+n)-}$, adică o pereche de electroni neparticipanți ai atomului de Se(IV) este direcționată, nu spre interior $\{\alpha\text{-SeW}_9\text{-nV}_n\text{O}_{33}\}$ (ca în derivatul de tipul A), ci spre exterior, pentru completarea poliedrului coordinativ Se(IV) până la un tetraedru.

În spectrele de rezonanță magnetică nucleară pe izotopul de seleniu (^{77}Se) se observă două semnale cu aceeași intensitate, ceea ce confirmă structura neechivalentă a două subunități $\{\text{SeW}_9\text{-nV}_n\text{O}_{33}\}$ și poate fi condiționat de conținutul diferit al vanadiului în aceste fragmente sau de amplasarea reciproc diferită a atomilor de vanadiu și de wolfram. În spectrele de rezonanță magnetică nucleară pe nucleele de vanadiu (^{51}V) se observă 5 semnale, care de asemenea denotă prezența, minim a doi atomi de vanadiu în subunitățile $\{\text{SeW}_9\text{-nV}_n\text{O}_{33}\}$. Spectrele în IR ale celor trei complecși polioxometalați au demonstrat prezența benzilor de absorbție la 450 și 1000 cm^{-1} caracteristice fragmentului polioxo, cele ale grupării tetrametilamoniu la 1770 și 1490, și cele ale grupărilor alifactice la 2900 și 3040 cm^{-1} . Banda de absorbție de la 840 cm^{-1} se referă la oscilațiile de valență ale legăturilor $\nu(\text{Se}-\text{O})$. Benzile de absorbție intensive de la 990 cm^{-1} și 890 cm^{-1} se referă la legăturile terminale $\nu(\text{V}=\text{O})$, $\nu(\text{W}=\text{O})$, și respectiv, cele de la 730 și 780 cm^{-1} se referă la oscilațiile aproape liniare $\nu(\text{W}-\text{O}-\text{W})$ și unghiulare $\nu(\text{W}-\text{O}-\text{W})$, $\nu(\text{V}-\text{O}-\text{V})$ ale legăturilor punte. Cercetarea stabilității termice a compușilor revendicați în intervalul de temperaturi 20...1000°C a demonstrat că ei posedă o stabilitate termică în intervalul 260...300°C.

Cercetarea efectului inhibitor al polioxometalaților cu formula generală $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_{5+n} [\text{Se}^{\text{IV}}_2\text{W}_{19n}\text{V}_{3+n}\text{O}_{71}] \cdot m\text{H}_2\text{O}$ a fost efectuată pe neuroblastomul uman SH-SY5Y cu ajutorul testului MTT (3-3,4-dimetilthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide).

Celulele neuroblastomului uman SH-SY5Y au fost colectate prin tripsinizare (tratarea fermentului cu tripsină), untr-un număr de 40.000 celule/ml necesar pentru efectuarea testului, celulele fiind numărate prin metoda Bauer și plasate în mediul de creștere.

Au fost pregătite soluțiile polioxometalaților $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_5[\text{Se}_2\text{W}_{17}\text{V}_5\text{O}_{71}] \cdot 17\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_6[\text{Se}_2\text{W}_{19}\text{V}_3\text{O}_{71}] \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrația de 0,01, 0,1, 1,0, 10,0 și 100 mM, care au fost introduse în mediul de creștere cu celulele pentru cercetarea efectului inhibitor al acestora. Numărul celulelor ce au supraviețuit a fost determinat cu ajutorul testului MTT.

Testul MTT se bazează pe reducerea cristalelor incolore de bromură de 3-3,4-dimetilthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium cu dehidrogenaze mitocondriale și citoplasmice ale celulelor vii metabolic active cu formarea cristalelor albastre de formazon, numărul cărora se calculează prin metodă spectrofotometrică. Densitatea optică s-a măsurat la lungimea de undă de 540 nm cu fotometrul pentru filiere (Bio-Nek).

Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în figurile 1, 2 și în tabel. La acțiunea compușilor asupra neuroblastomului SH-SY5Y peste 4 zile supraviețuiesc numai 8...10% și 10...15% din celule. Așadar, efectul inhibitor constituie pentru complexul $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_7[\text{Se}_2\text{W}_{17}\text{V}_5\text{O}_{71}] \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (1) 90...92% și pentru complexul $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_5[\text{Se}_2\text{W}_{19}\text{V}_3\text{O}_{71}] \cdot 17\text{H}_2\text{O}$ (2) 85...90%.

Tabel.

Rezultatele efectului inhibitor al compușilor polioxometalați $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_7[\text{Se}_2\text{W}_{17}\text{V}_5\text{O}_{71}] \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (1) și $[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_5[\text{Se}_2\text{W}_{19}\text{V}_3\text{O}_{71}] \cdot 17\text{H}_2\text{O}$ (2) asupra neuroblastomului SH-SY5Y.

No	Concentrația, μM	Compusul 1	Compusul 2
1	0.01	93	98
2	0,1	80	88
3	1,0	78	82
4	10,0	10	15
5	100,0	8	10