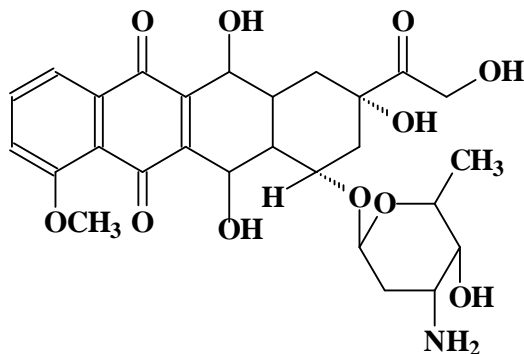


Invenția se referă la chimie și anume la sinteza compusului coordinativ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină ca preparat citostatic în profilaxia și tratarea cancerului la ficat.

În practica medicală, pentru tratarea și profilaxia cancerului la ficat, se folosește doxorubicina (doxorubicinum) – unul dintre antibioticii grupei antracinelor (prototipul) [1], care are următoarea formulă :

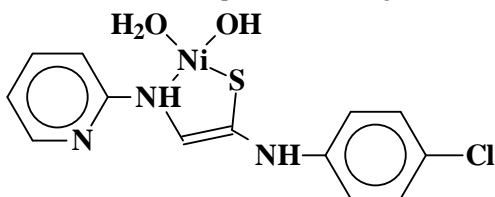


Mecanismul acțiunii doxorubicinei este apropiat de cel al ribomicinei și este bazat pe intercalarea celulelor ADN. Ea se aplică în cazul cancerului glandei mamare, sarcomei țesăturilor moi, sarcomei osteogene, tumorii lui Young, cancerului pulmonar, limfosarcomei, cancerului ovarului, cancerului pavimentos de diversă localizare, cancerului viziunii urinare, tumorii lui Williams, cancerului glandei tiroide, diverselor leucoze și limfogranulematizei.

La concentrația 10-5 mol/L doxorubicina inhibă creșterea și multiplicarea a 76,7%, iar la concentrația 10-6 mol/L – 28,6% din celulele HepG2 ale cancerului la ficat.

Dezavantajul acestui compus constă în faptul, că întrebuințarea lui este limitată, deoarece el nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, precum și în faptul efectelor secundare, pe care le cauzează : în procesul tratării cu acest preparat se pot dezvolta cardiomiopatia, dureri în regiunea cardiacă, dereglarea ritmului inimii, insuficiența cardiacă și hipotensiune.

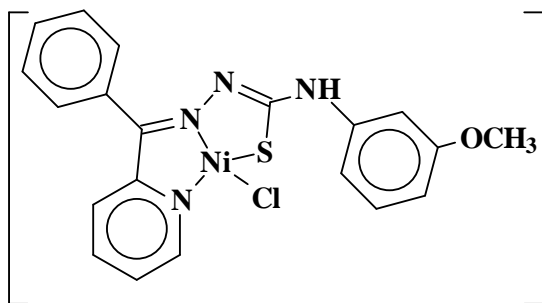
Dintre toți compușii coordinativi ai nichelului, care inhibă creșterea și multiplicarea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul hidroxo-[[4-(p-clorofenil)-1-(piridin-2-il)tiosemicarbazido]aquanichel (analogul structural [2]) cu formula :



Dezavantajul compusului dat constă în faptul, că nici acesta nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, inhibând la concentrația 10-6 mol/L doar 5% de celule și pînă acum nu a găsit aplicare în medicină.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat cu activitate citostatică înaltă.

Esența invenției constă în utilizarea, în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel cu formula :

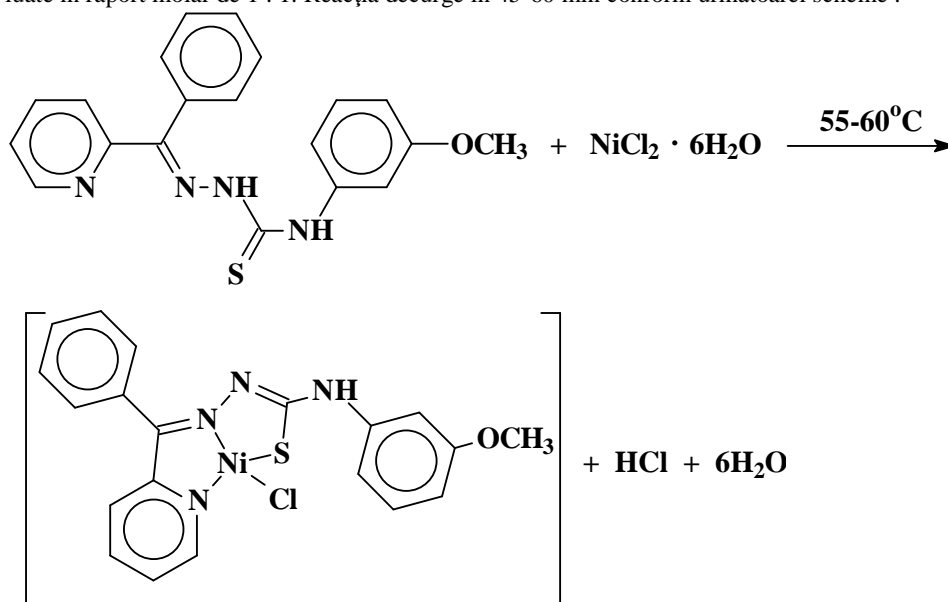


Procedeul de sinteză, proprietățile fizico-chimice și anticancer ale acestui compus nu sunt descrise în literatura de specialitate.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancerigene, care la concentrații 10-5 -10-6mol/L depășește de 1,3-1,4 ori caracteristicile anoloage ale doxorubicinei (prototipului) și de 8,2 ori ale analogului structural. Proprietatea stabilită a complexului susnumit este nouă, fiindcă pînă acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de inhibitor al creșterii și multiplicării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată, în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, se propune cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]-nichel, care conține o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]-nichel revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (55-60°C) a $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ cu 4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei, luate în raport molar de 1 : 1. Reacția decurge în 45-60 min conform următoarei scheme :



Mecanismul reacției date constă în deprotonarea grupei tiolice a tiosemicarbazonei sus numite în prezența azotului piridinic al ligandului și coordonarea anionului format la ionul de nichel ca ligand N,N,S-tridentat monodeprotonizat. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central îl ocupă atomul de clor.

Procedeele de obținere al cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 71%. Complexul sintetizat are culoarea roșu întunecată, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcoolii alifatici, este solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere a cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]-nichel. La soluția etanolică, care conține 10 mmol de hexahidrat al clorurii de nichel în 20 ml etanol, încălzită (55...60°C) și amestecată în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă soluție ce conține 10 mmol de 3-metoxifenitiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei în 50 ml de alcool etilic. După aceasta, amestecul reactant se încălzește în continuare cu refrigerent ascendent pe parcurs de 45...60 min. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare roșu întunecată, care se filtrează prin filtru din sticlă, se spală cu $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, eter și se usucă în aer.

S-a determinat, % : C – 52,90, H – 3,57, Cl – 7,51, N – 12,07, Ni -12,99, S – 6,88.

Pentru $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{NiOS}$ s-a calculat, % : C – 52,73; H – 3,76, Cl – 7,78; N – 12,30; Ni – 12,88, S – 7,04.

La recristalizarea compusului sintetizat din soluție dimetilformamid-etanolică (1:4) au fost obținute monocristale, structura cărora a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X. Experimentul s-a efectuat la difractometrul Xcalibur-Gemini "Oxford Diffraction". Structura a fost determinată prin metoda directă și stabilită folosind metoda patraților minime în apropieri anizotrope pentru atomii de hidrogen după programele SHELX-97. Atomii de hidrogen sunt incluși în pozițiile geometrice prevăzute, iar factorul lor de temperatură UH este luat de 1,2 ori mai mare, decât în cazul atomilor de carbon și oxigen legați cu ei. Parametrii principali ai experimentului sunt prezentați în tabelele 1 și 2.

S-a stabilit, că compusul coordinativ revendicat posedă o configurație plan-pătratică în care 4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei coordonează la ionul de nichel prin intermediul atomilor de azot piridinic și azometinic și a sulfurii, formând două metalociclice din cinci atomi. Al patrulea loc coordinativ este ocupat de ionul de clor (Fig. 1). Structura cristalină rezultă prin împachetarea lanțurilor supramoleculare de tip 1D (Fig. 2) construite prin formarea legăturii de hidrogen intermoleculară N-H...O.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și analizei cu raze X a fost stabilită compoziția și structura compusului revendicat.

Esența invenției poate fi confirmată prin următoarele date experimentale.

Exemplu al utilizării cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.

Cultivarea celulelor. Celulele de hepatom uman HepG2 au fost crescute în mediul DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) conținând 100 $\mu\text{mol/L}$ aminoacizi neesențiali, 100 U/mL penicilină, 100 $\mu\text{g/mL}$ streptomicină și

10% ser fetal bovin în atmosferă umedificată (5% CO₂, 37°C). Tipic, 106 celule per un godeu au fost însemnate pe plăci cu 6 godeuri și cultivate până la o confluență de 70-80%.

Testarea proliferării celulelor. Viabilitatea celulelor a fost stabilită cu ajutorul testului MTT. Aproximativ 2000 de celule de HepG2 au fost introduse în fiecare godeu al unei plăci cu 96 godeuri. După incubare peste noapte, celulele au fost tratate cu ds ARN timp de 48-72 h. La momente diferite de timp după tratament, mediul a fost îndepărtat și MTT (20 μl de 5 mg/ml) a fost adăugat în fiecare godeu și incubat la 37°C timp de 4 h. Plăcile au fost centrifugate, iar precipitatele de formazan, colorate în violet, au fost dizolvate în 150 μl de dimetilsulfoxid. Absorbanța a fost măsurată la 490 nm utilizând cititorul de absorbanță MRX II (Dynex Technologies, Chantilly, Virginia, SUA). Reducerea viabilității celulelor de HepG2 tratate cu ds Control au fost exprimate ca procent față de celule simulate. Celulele simulate au fost considerate a fi de 100% viabile.

Datele experimentale obținute în urma studiului cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel, declarat în calitate de inhibitor al multiplicării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, demonstrează, că acest compus la concentrația 10⁻⁵ mol/L inhibă creșterea și multiplicarea a 100%, iar la 10⁻⁶ mol/L – 40,1% de celule HepG2 ale cancerului la ficat. Datele obținute indică, că acest compus, după activitatea anticancerogenă, depășește de 1,3-1,4 ori caracteristicile analoage ale doxorubicinei (prototipului) și de 8,2 ori ale analogului structural.

Proprietățile depistate ale cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai celulelor ale cancerului la ficat.

Tabelul 1.

Date cristalografice și detalii privind experimentul cu razeX pentru cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel

Formula moleculara	C20H17ClN4NiOS
Masa molară, g/mol	455.60
Temperatura, K	200.0
Singonia, grupa spatiala, Z	Orthorhombic, P212121
a, Å	7.15501(15)
b, Å	15.9430(4)
c, Å	16.8131(4)
α, grad	90.00
β, grad	90.00
γ, grad	90.00
V, Å ³	1917.91(7)
Z	4
ρ _{calc} /mm ³	1.578
μ/mm ⁻¹	1.279
Dimensiunea monocristalului, mm	0.15 × 0.15 × 0.1
Numarul parametrilor	5306
S	1.041
Final R index [I ≥ 2Σ(I)]	R1 = 0.0284, wR2 = 0.0626
Final R index	R1 = 0.0312, wR2 = 0.0640
Programe	SHELX-97

Tabelul 2

Valorile unor distanțe interatomice (d, Å) și unghiurilor de valență (Ω, grad °) pentru cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel

Legătura	d, Å	Legătura	d, Å
Ni1 - S1	2.1462(8)	C7 - C12	1.396(3)
Ni1 - Cl1	2.1575(8)	C7 - C8	1.401(3)
Ni1 - N1	1.923(2)	C7 - C6	1.471(3)
Ni1 - N2	1.849(2)	N1 - C5	1.366(3)
S1 - C13	1.743(3)	N1 - C1	1.335(3)
O1 - C20	1.424(3)	C5 - C4	1.374(3)
O1 - C18	1.372(3)	C5 - C6	1.483(3)
N4 - C13	1.358(3)	C4 - C3	1.391(3)
N4 - C14	1.409(3)	C2 - C3	1.368(4)
C15 - C14	1.404(3)	C2 - C1	1.389(4)
C15 - C16	1.379(4)	C12 - C11	1.380(4)
C13 - N3	1.321(3)	C19 - C18	1.382(4)
C17 - C18	1.395(4)	C8 - C9	1.379(4)
C17 - C16	1.383(4)	C9 - C10	1.381(4)

N3 - N2	1.374(3)	C10 - C11	1.376(4)
C14 - C19	1.388(4)	C6 - N2	1.316(3)
Unghiul	Ω ,grad	Unghiul	Ω ,grad
S1 -Ni1 -C11	92.82(3)	N1 -C5 -C4	121.7(2)
N1 - Ni1 - S1	170.80(6)	N1 - C5 - C6	113.1(2)
N1 - Ni1 - C11	96.28(6)	C4 - C5 - C6	125.1(2)
N2 -Ni1 - S1	86.99(7)	C5 -C4 -C3	118.9(2)
N2 -Ni1 -C11	179.52(7)	C3 -C2 -C1	119.3(2)
N2 -Ni1 -N1	83.90(9)	C11 -C12 -C7	120.5(3)
C13 -S1 -Ni1	95.25(8)	C18 -C19 -C14	121.3(2)
C18 -O1 -C20	117.5(2)	C9 -C8 -C7	120.3(2)
C13 -N4 -C14	131.0(2)	O1 -C18 -C17	124.0(2)
C16 -C15 -C14	118.4(3)	O1 -C18 -C19	116.1(2)
N4 -C13 -S1	116.67(18)	C19 -C18 -C17	119.9(2)
N3 -C13 -S1	123.29(19)	C8 -C9 -C10	120.3(3)
N3 -C13 -N4	120.0(2)	C11 -C10 -C9	120.1(3)
C16 -C17 -C18	118.2(2)	C10 -C11 -C12	120.3(3)
C13 -N3 -N2	110.2(2)	C15 -C16 -C17	122.9(2)
C15 -C14 -N4	124.1(2)	C2 -C3 -C4	119.3(2)
C19 -C14 -N4	116.6(2)	C7 -C6 -C5	121.9(2)
C19 -C14 -C15	119.3(2)	N2 -C6 -C7	125.8(2)
C12 -C7 -C8	118.5(2)	N2 -C6 -C5	112.2(2)
C12 -C7 -C6	122.0(2)	N1 -C1 -C2	121.9(3)
C8 -C7 -C6	119.5(2)	N3 -N2 -Ni1	124.24(16)
C5 -N1 -Ni1	112.66(16)	C6 -N2 -Ni1	117.72(18)
C1 -N1 -Ni1	128.54(19)	C6 -N2 -N3	118.0(2)
C1 -N1 -C5	118.7(2)		

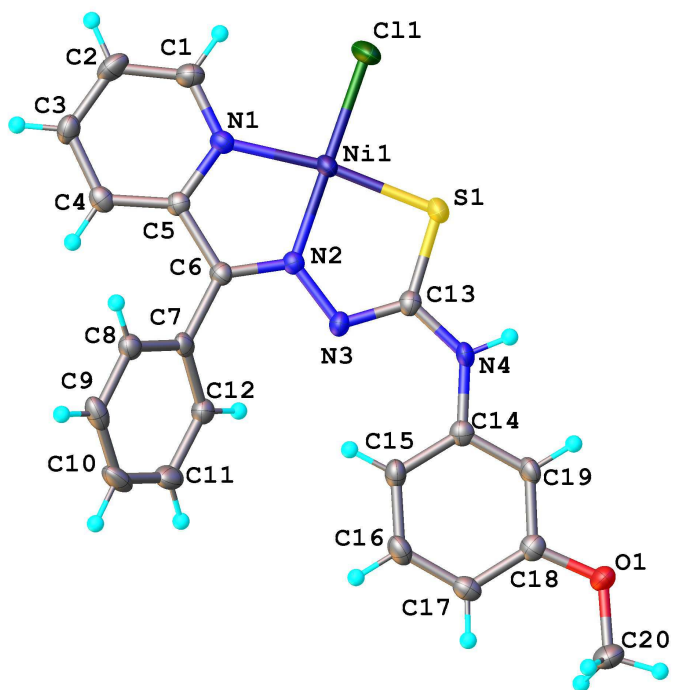


Fig 1. Structura moleculara a cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel

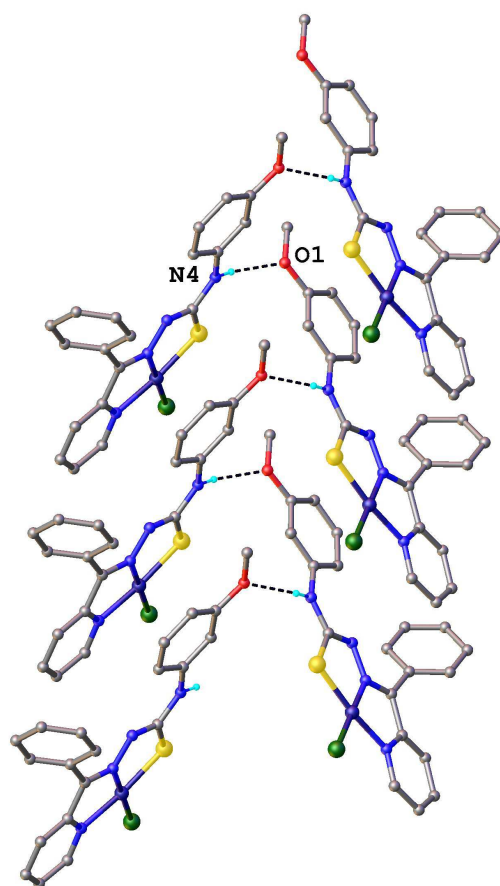


Fig 2 Formarea structurii supramoleculare 1D.

Tabelul 3
Partea celulelor Hep G2 ale cancerului la ficat inhibate, %

Compusul	Concentrație, mol/l		
	10-5	10-6	10-7
Doxorubicina [1] (prototipul)	76,7	28,6	0
Cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel (analogul structural [2])	100	5	0
Cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)-tiosemicarbazono]nichel	100	40,1	0