



MD 4407 C1 2016.10.31

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4407** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *C07D 213/48* (2006.01)  
*C07F 15/04* (2006.01)  
*C07C 337/08* (2006.01)  
*A61K 31/4402* (2006.01)  
*A61P 35/02* (2006.01)

### (12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2015 0041 (22) Data depozit: 2015.04.29	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2016.03.31, BOPI nr. 3/2016
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; GRAUR Vasilii, MD; ȚAPCOV Victor, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

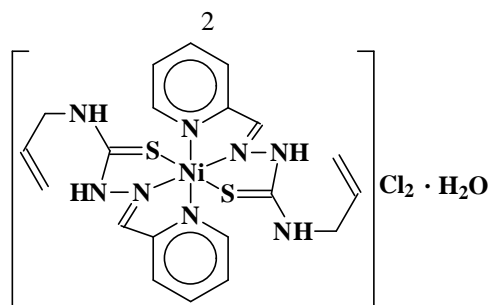
(54) Inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloide in baza hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotioamid]-nichel(II)

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la chimie, și anume la un compus coordinativ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea leucemiei umane mieloide.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloide se propune compusul nou hidratul clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamid]nichel(II) cu formula:



Compusul revendicat extinde gama de inhibitori cu activitate înaltă ai celulelor leucemiei umane mieloide.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4407 C1 2016.10.31

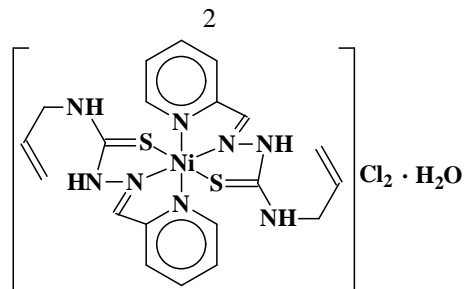
**(54) Inhibitor of human myeloid leukemia HL-60 cells based on bis[N-(prop-2-en-1-yl)-2-(pyridine-2-ylmethylidene)hydrazinecarbothioamide]nickel(II) chloride hydrate**

**(57) Abstract:**

1

The invention relates to chemistry, namely to a coordinative compound from the class of thiosemicarbazones of transition metals and may find application in medicine for the prevention and treatment of human myeloid leukemia.

Summary of the invention consists in that as an inhibitor of human myeloid leukemia HL-60 cells is proposed the new bis[N-(prop-2-en-1-yl)-2-(pyridine-2-ylmethylidene)hydrazinecarbothioamide]nickel (II) chloride hydrate compound of formula:



The claimed compound expands the range of highly active inhibitors of human myeloid leukemia cells.

Claims: 2

Fig.: 1

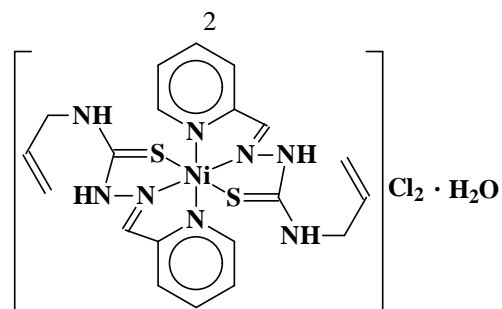
**(54) Ингибитор клеток HL-60 миелоидной лейкемии человека на основе гидрата хлорида бис[N-(проп-2-ен-1-ил)-2-(пиридин-2-илметилиден)-гидразинкарботиоамид]-никеля(II)**

**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к химии, а именно к координационному соединению класса тиосемикарбазонатов переходных металлов и может найти применение в медицине для профилактики и лечения миелоидной лейкемии человека.

Сущность изобретения заключается в том, что в качестве ингибитора клеток HL-60 миелоидной лейкемии человека предлагается новое соединение гидрат хлорида бис[N-(проп-2-ен-1-ил)-2-(пиридин-2-илметилиден)гидразинкарботиоамид]никеля(II) формулы:



Заявляемое соединение расширяет спектр высокоактивных ингибиторов клеток миелоидной лейкемии человека.

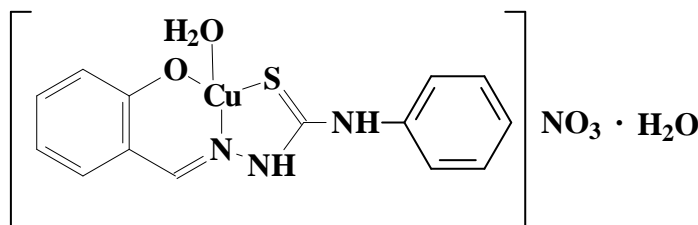
П. формулы: 2

Фиг.: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie, și anume la un compus coordinativ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicina la profilaxia și tratarea leucemiei umane mieloidă.

Din compușii coordinativi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție, care inhibă leucemia umană mieloidă, descriși în literatură, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul hidratului nitratalui de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquacupru(2+) [1] cu formula :

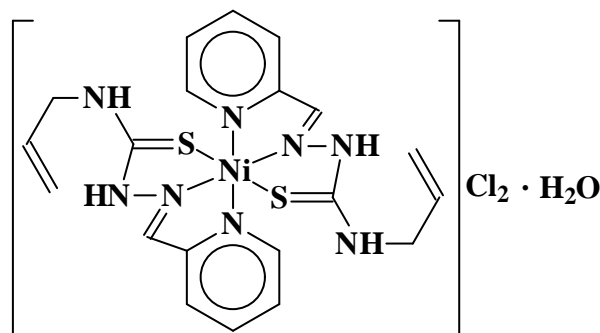


Complexul dat inhibă creșterea și multiplicarea a 100% de celule HL-60 ale leucemiei umane mieloidă la concentrații  $10^{-5}$  și  $10^{-6}$  M.

Dezavantajul hidratului nitratalui de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquacupru(2+) constă în faptul că el nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, nu inhibă proliferarea celulelor canceroase la o concentrație mai mică de  $10^{-6}$  M și până acum nu a găsit aplicare în medicină.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai leucemiei mieloidă umane cu activitate biologică înaltă.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloidă se propune compusul nou hidratul clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamid]nichel(II) cu formula:

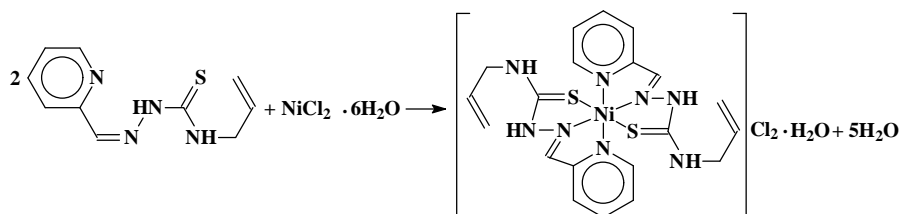


Compusul coordinativ dat, proprietățile lui și procedeul de obținere nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancer, care depășește de 1,5 ori caracteristicile analoage ale hidratului nitratalui de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquacupru(2+) [1] (analogul proxim).

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al celulelor HL-60 de leucemie umană mieloidă se propune compusul coordinativ al clorurii de nichel cu 4-aliltiosemicarbazona 2-formilpiridinei, care conține o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Hidratul clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamid]nichel(II) revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți ( $50 \dots 55^\circ\text{C}$ ) ale  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  cu 4-aliltiosemicarbazona 2-formilpiridinei [(N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida], luate în raport molar de 1:2. Reacția decurge în  $50 \dots 60$  min conform următoarei scheme:



Mecanismul prezentei reacții este legat de faptul că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc adăția la ionul de nichel(2+) a două molecule de 4-alitiosemicarbazona 2-formilpiridinei, care joacă rolul de liganzi N,N,S-tridentați. Ca rezultat al acestor procese are loc formarea cationului complex bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoioamid]nichel(II), sarcina pozitivă a căruia este compensată cu două sarcini negative ale ionilor de clorură.

**Exemplu de obținere a hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoioamid]nichel(II)**

4-Alitiosemicarbazona 2-formilpiridinei a fost sintetizată conform procedurii descris în literatură (B.M. Zeglis, V. Davilov and J.S. Lewis. Role of Metalation in the Topoisomerase II $\alpha$  Inhibition and Antiproliferation Activity...// J. Med. Chem. 2011, vol. 54, p. 2391-2398).

Se amestecă 30 mL de soluție etanolică, care conține 20 mmol de 4-alitiosemicarbazona 2-formilpiridinei cu 10 mmol de NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, dizolvat în 20 mL de alcool. Amestecul reactant este încălzit la 50...55°C și amestecat în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 50...60 min. La răcire din soluție se depun cristale mici de culoare brună întunecată, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

S-a determinat, %: C – 40,65; H – 4,31; Cl – 11,87; N – 18,90; Ni – 9,71; S – 10,77. Pentru C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>NiOS<sub>2</sub> s-a calculat, % : C – 40,84; H – 4,46; Cl – 12,05; N – 19,05; Ni – 9,98; S – 10,90.

Momentul magnetic efectiv  $\mu_{ef} = 2,84$  M. B. (294K). Benzile de absorbție în spectrul IR, cm<sup>-1</sup> :  $\nu(C=N) = 1599, 1571$ ;  $\nu(C=S) + \nu(C=N) = 769, 1275$ ;  $\nu(Ni-N) + \nu(Ni-S) = 514, 472$ .

Procedul de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 71% față de cel teoretic calculat. Complexul este stabil în contact cu aerul, solubil în apă și alcooli, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

La recristalizarea compusului revendicat din soluție etanolică au fost obținute monocristale, structura cărora a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X (Formula empirică C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>NiOS<sub>2</sub>, grupa spațială P 2<sub>1</sub>/C, parametrii celulei elementare [A]: a = 19,3092(9); b = 16,5371(7), c = 8,4168(4);  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 97,227(5)^\circ$ ,  $\gamma = 90^\circ$ ; volumul celulei elementare 2666,29 Å<sup>3</sup>). A fost stabilit (vezi figura), că complexul dat are structură octaedrică meridională. Două molecule de N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoioamidă din sfera internă se comportă ca liganzii tridentați coordinând la atomul central de nichel prin atomii de azot piridinic, azometinic și atomul de sulf al fragmentului tiosemicarbazidic, formând două metalocicluri din cinci atomi. Sfera exterioară a complexului conține doi ioni de clorură și o moleculă de apă de cristalizare.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și a cercetărilor fizico-chimice, a fost stabilită compoziția și structura compusului revendicat.

**Exemplu al utilizării hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoioamid]nichel(II) în calitate de inhibitor al leucemiei umane mieloide**

Celulele leucemiei umane mieloide HL-60, obținute din Colecția Culturilor Tip American (*American Type Culture Collection, Rockville, MD*), au fost cultivate în formă de suspensie în mediul RPMI-1640 suplimentat cu 10% (v/v) ser embrionic de Sovine, 2 mM de L-glutamină, 100 UI penicilină/mL și 100  $\mu$ g de streptomycină/mL și incubate în atmosferă umedă de 95% aer / 5% CO<sub>2</sub> la 37°C.

5 Celulele au fost amestecate de 2...3 ori pe parcursul săptămânii, pentru a le păstra în fază omogenă. După aceasta celulele au fost plasate în vase Falcon din plastic pentru culturi cu 24 compartimente (2 cm<sup>2</sup>/celulă) la densitatea inițială de 1·10<sup>5</sup> celule/mL/compartiment și tratate cu soluții de diferită concentrație ale compusului revendicat în apă sterilă. Fiecare procedură de tratare cu aceeași concentrație a fost efectuată în câte trei compartimente.

10 Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticancer ale hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazin-carbotioamid]nichel(II) sunt prezentate în tabel, din care se observă că la concentrația 10<sup>-5</sup> M el inhibă creșterea și multiplicarea a 97,5%, la 10<sup>-6</sup> M – 94,0%, iar la concentrația 10<sup>-7</sup> M - 46,7% de celule HL-60 ale leucemiei umane mieloide. Datele obținute relevă că acest complex de nichel(2+), după activitatea anticancerigenă, depășește de 1,5 ori caracteristicile analoage ale analogului proxim.

15 Proprietățile depistate ale hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazin-carbotioamid]nichel prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai leucemiei umane mieloide.

20

Tabel

**Partea celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloide inhibitate, %**

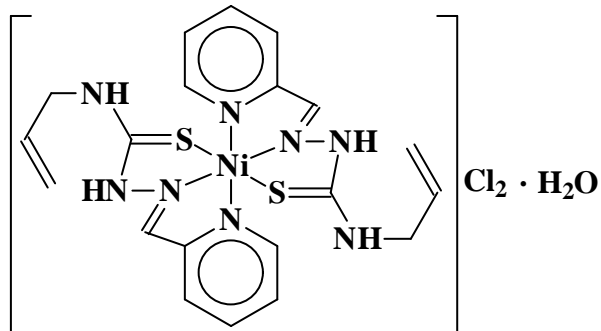
Compusul	Concentrația, mol/L		
	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>
Hidratul nitrului de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-) aquacupru(2+) (analogul proxim)	100	100	0
Hidratul clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazin-carbotioamid]nichel(II)	97,5	94,0	46,7

**(56) Referințe bibliografice citate in descriere:**

1. MD 3890 F1 2009.04.30  
documentul integral

**(57) Revendicări:**

1. Hidratul clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamid]nichel(II) cu formula:



2. Compus coordinativ conform revendicării 1, pentru utilizare in calitate de inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloid.

Șef adjunct Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

JOVMIR Tudor

