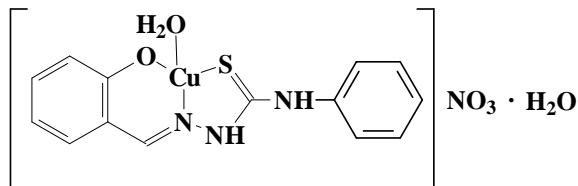


Invenția se referă la chimie, și anume la sinteza compușilor coordinativi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea leucemiei umane mieloidă.

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 nitratului de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquadupru(II) [1] cu formula :

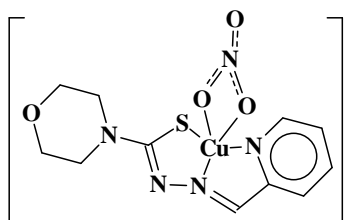


Complexul dat inhibă creșterea și multiplicarea a 100% de celule HL-60 ale leucemiei umane mieloidă la concentrații  $10^{-5}$  și  $10^{-6}$  M.

Dezavantajul hidratului nitratului de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquadupru(2+) constă în faptul, că el nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă și inhibă proliferarea celulelor canceroase numai la concentrația mai mare de  $10^{-6}$  mol/L 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 leucemiei umane mieloidă (celule HL-60) se propune nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru cu formula:

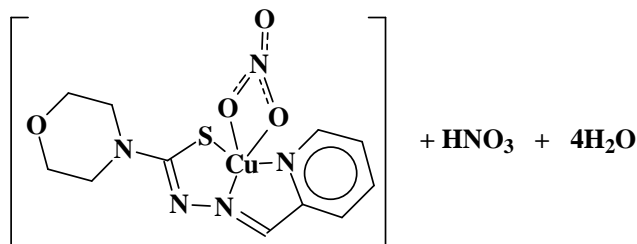
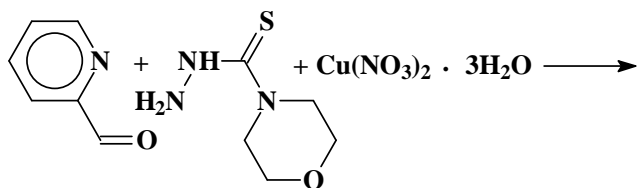


Compușul coordinativ dat, proprietățile lui și procedeul de obținere nu au fost descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancerigene, care inhibă creșterea și multiplicarea a 72% de celule HL-60 a leucemiei umane mieloidă la o concentrație de  $10^{-7}$  mol/L.

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

Nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți ( $50...55^{\circ}\text{C}$ ) de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 4-morfolintiosemicarbazona și 2-formilpiridină, luate în raport echimolar. Reacția decurge în  $45...60$  min conform următoarei scheme:



Mecanismul prezentei reacții este legat de faptul, că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc condensarea 2-formilpiridinei cu 4-morfolin-tiosemicarbazida și formarea 4-morfolintiosemicarbazonei 2-formilpiridinei ([N'-(1-

piridin-2-ilmetiliden)morfolin-4-carbotiohidrazida]), care coordonează la ionul de cupru(2+) în forma tiolică monodeprotonată ca ligand tridentat-N,N,S. În afară de acest ligand în sfera internă întră și ionul nitrat.

Exemplu de obținere al nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru.

4-Morfolintiosemicarbazida a fost sintetizată conform metodei descrise în literatură (Amandha Kaiser da Silva. Complexos Heterolepticos de Ouro(III) como Potenciais Antitumorais e Anti-Trypanosoma cruzi// Dissertacao apresentada ao Instituto de Quimica de Sao Carlos. P. 31 // Sao Carlos, 2015, url: <http://www.teses.usp.br/.../AmandhaKaiserdaSilvarevi/>).

Se amestecă 20 mL de soluție etanolică, care conține 10 mmol de 4-morfolintiosemicarbazidă și 10 mmol 2-formilpiridină cu 10 mmol de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , dizolvat în 10 mL de alcool. Amestecul reactant este încălzit la 50...55°C și amestecat în continuu cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 45...60 min. La răcire din soluție se depun cristale mici de culoare verde întunecată, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

S-a determinat, %: C – 35,05; H – 3,31; Cu – 16,77; N – 18,50; S – 8,37. Pentru  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{CuN}_5\text{O}_4\text{S}$  s-a calculat, % : C – 35,25; H – 3,50; Cu – 16,95; N – 18,68; S – 8,55. Momentul magnetic efectiv  $\mu_{\text{eff}} = 1,84$  M. B. (294K).

Procedeu de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 80% față de cel teoretic calculat. Complexul este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcoolii, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, 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  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{CuN}_5\text{O}_4\text{S}$ , grupa spațială P-1, parametrii celulei elementare [Å]: a = 8,1655(7); b = 8,7809(7), c = 21,388(2);  $\alpha = 89,140(7)^\circ$ ,  $\beta = 80,813(7)^\circ$ ,  $\gamma = 77,828(7)^\circ$ ; volumul celulei elementare 1479,58 Å<sup>3</sup>). A fost stabilit (Fig.), că complexul dat are structură piramidală. Molecula de N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazidă din sfera internă se comportă ca ligand tridentat coordonând la atomul central de cupru prin atomii de azot piridinic, azometinic și atomul de sulf al fragmentului tiosemicarbazidic, formând două metalocicluri din cinci atomi. Al patrulea și cincilea locuri în sfera internă este ocupat de doi atomi de oxigen ai nitrato-ionului, care se comportă ca un ligand bidentat.

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

*Exemplu al utilizării nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru în calitate de inhibitor al leucemiei umane mieloidă.*

Celulele leucemiei umane mieloidă 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 IU penicilină/ml și 100 μg de streptomycină/ml și incubate în atmosferă umedă de 95% aer / 5% CO<sub>2</sub> la 37°C. 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.

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru sunt prezentate în tabel, din care se observă, că la concentrația 10<sup>-5</sup> mol/L el inhibă creșterea și multiplicarea a 97,25%, la 10<sup>-6</sup> mol/L – 96,35%, iar la concentrația 10<sup>-7</sup> mol/L - 71,7% de celule HL-60 ale leucemiei umane mieloidă. Datele obținute indică, că acest complex de cupru, după activitatea anticancerigenă, depășește de 1,72 ori caracteristicile respective ale analogului proxim.

Proprietățile depistate ale nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai leucemiei umane mieloidă.

Tabel

Partea celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloidă inhibitate, %

Compusul	Concentrație, mol/L		
	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>
Hidratul nitratului de saliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)-aquacupru(2+) (analogul proxim)	100	100	0
Nitrato-[N'-(1-piridin-2-ilmetiliden)-morfolin-4-carbotiohidrazido(1-)]cupru	97,25	96,35	71,7