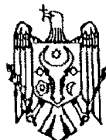




MD 4527 C1 2018.06.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) 4527 (13) C1
(51) Int.Cl: A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/295 (2006.01)

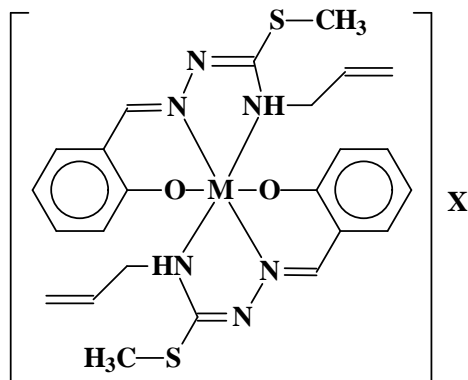
(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2017 0060 (22) Data depozit: 2017.06.02	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.11.30, BOPI nr. 11/2017
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; USATAIA Irina, MD; GARBUZ Olga, MD; GRAUR Vasiliu, MD; ȚAPCOV Victor, MD; GUDUMAC Valentin, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Utilizarea saliciliden-4-alil-S-metilzotiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) în calitate de antioxidanți

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea în calitate de antioxidanți a saliciliden-4-alil-S-metilzotiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) cu formula generală:



I-III

2
I : M = Fe³⁺, X = Cl⁻; II : M = Fe³⁺, X = NO₃⁻; III : M = Co³⁺, X = NO₃⁻.

Ei își pot găsi aplicare în medicină în calitate de substanțe, care inhibă procesele de oxidare a moleculelor organice în corpul uman, cu o concentrație de inhibare semimaximală IC₅₀ de 0,5...0,7 μmol/L.

Revendicări: 1

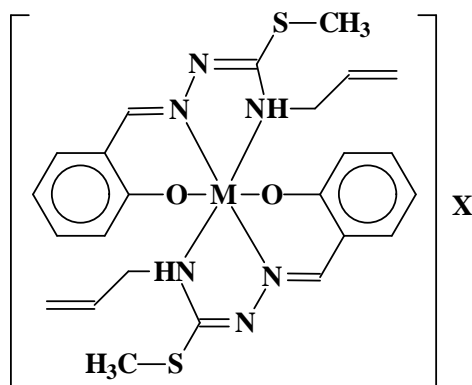
Figuri: 1

MD 4527 C1 2018.06.30

(54) Use of salicylidene-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazidates of iron(III) and cobalt(III) as antioxidants

(57) Abstract:

1
The invention relates to chemistry and medicine, namely to the use as antioxidants of salicylidene-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazidates of iron(III) and cobalt(III) of general formula:



I-III

2
I : $M = Fe^{3+}$, $X = Cl^-$; II : $M = Fe^{3+}$, $X = NO_3^-$; III : $M = Co^{3+}$, $X = NO_3^-$.

They can be used in medicine as substances that inhibit the oxidative processes of organic molecules in the human body, with a concentration of half-maximal inhibition IC_{50} of 0.5...0.7 $\mu mol/L$.

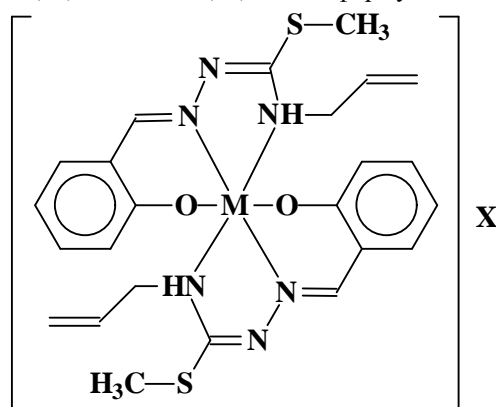
Claims: 1

Fig.: 1

(54) Использование салицилиден-4-аллил-S-метилизотиосемикарбазидатов железа (III) и кобальта (III) в качестве антиоксидантов

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к химии и медицине, а именно к применению в качестве антиоксидантов салицилиден-4-аллил-S-метилизотиосемикарбазидатов железа(III) и кобальта(III) общей формулы:



I-III

2
I : $M = Fe^{3+}$, $X = Cl^-$; II : $M = Fe^{3+}$, $X = NO_3^-$; III : $M = Co^{3+}$, $X = NO_3^-$.

Они могут найти применение в медицине в качестве веществ, которые ингибируют окислительные процессы органических молекул в человеческом теле, с концентрацией полумаксимального ингибирования IC_{50} , 0,5...0,7 $\mu mol/L$.

П. формулы: 1

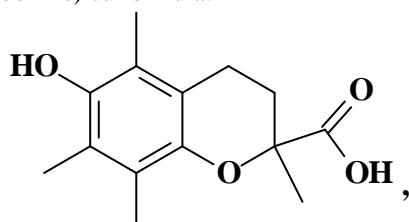
Фиг.: 1

Descriere:
(Descrierea se publică în redacția solicitantului)

5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compușilor coordinativi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor 3d în calitate de antioxidanți. Ei pot găsi aplicare în medicină în calitate de substanțe, care inhibă procesele de oxidare ale moleculelor organice în organismul uman.

10 Activarea excesivă a reacțiilor de oxidare cu participarea radicalilor liberi reprezintă un proces patologic tipic întâlnit în cazul diferitor boli și a acțiunilor distructive asupra organismului. Radicalii liberi reprezintă molecule cu electroni decuplați plasați pe învelișul electronic exterior al atomului sau moleculei, respectiv, posedă o reactivitate înaltă și, ca rezultat, o acțiune pronunțată de distrugere a macromoleculelor celulare. Este cunoscută participarea radicalilor liberi în patogeneza unui număr mare de îmbolnăviri: șoc de diversă geneză, ateroscleroză, dereglări ale circulației sanguine cerebrovasculare, coronariene și periferice, diabet zaharat și angiopatie diabetică, boli reumatice, inflamatorii și degenerative ale sistemului locomotor, leziuni oculare, boli pulmonare, patologii canceroase, leziuni termice, diverse intoxicații, leziuni de reperfuzie și îmbătrânire prematură. Apariția radicalilor liberi în organism este condiționată și de administrarea medicamentelor pro-oxidative, a unui șir de proceduri medicale (terapie cu oxigen, terapie cu oxigen hiperbaric, iradiere cu raze ultraviolete, corectarea vederii cu laser, radioterapie), precum și de acțiunea factorilor ecologic nefavorabili ale mediului ambiant. Mecanismul de oxidare radicalică și sistemul antioxidant asociat acestui mecanism sunt examinate ca o verigă importantă a multiplelor procese patologice. De acest mecanism într-o măsură considerabilă depinde integritatea structurală și funcțională a celulelor și țesuturilor organismului, care este direct asociată cu procesele inflamatorii, precum și cu îmbătrânirea și transformările neoplazice.

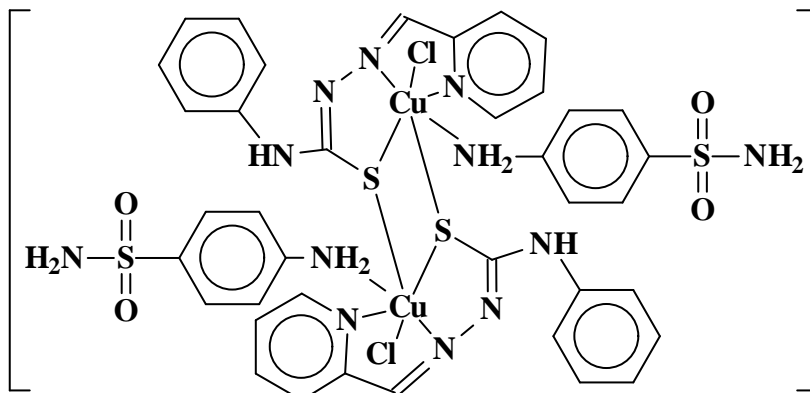
25 Respectiv, una din direcțiile prioritare ale chimiei aplicative moderne reprezintă sinteza noilor compuși, care inhibă sau încetinesc esențial procesele oxidative în organismul uman. Substanțele capabile să transforme radicalii liberi într-o formă inactivă sunt numite antioxidanți. Cel mai des în calitate de antioxidanți în practica medicală se utilizează extracte din produse naturale. Dar cantitățile de substanțe biologic active în aceste produse sunt limitate, în legătura cu ce eficacitatea lor este mică. În calitate de etalon pentru determinarea activității antioxidante a produselor naturale și sintetice în analiza biochimică se utilizează Trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxilic) cu formula:



care reprezintă analogul vitaminelor E și C, solubil în apă [1].

35 Dezavantajul Troloxului constă în faptul, că întrebuințarea lui în practica medicală este limitată, deoarece el nu posedă o activitate antioxidantă înaltă (concentrația de inhibare semimaximală (IC_{50}) constituie doar 33,33 $\mu\text{mol/L}$), precum și în faptul efectelor secundare.

40 Din compușii chimici sintetici, descriși în literatură, care conțin în componența lor fragmentul tioamidic și care posedă o activitate antioxidantă, cel mai înalt efect a fost obținut în cazul di(μ -S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazidato-(1-)]-cupru(II)} (prototipul) [2] cu formula:

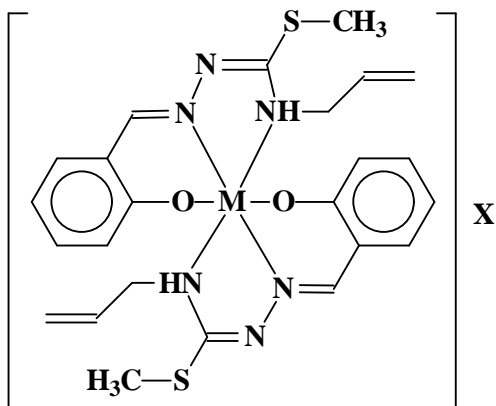


Compusul dat manifestă activitate antioxidantă în diapazonul concentrațiilor $10^{-5} \dots 10^{-7}$ mol/L, care depășește de 33,3 ori activitatea Troloxului și are concentrația de inhibare semimaximală $IC_{50} = 1,0 \mu\text{mol/L}$.

- 5 Dezavantajul di(μ -S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazidato-(1-)]-cupru(II)} (prototipului) [2] constă în faptul, că compusul dat nu posedă o activitate antioxidantă suficient de înaltă și până acum nu a găsit aplicare în medicină.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea arsenalului de antioxidanți cu activitate antioxidantă înaltă.

- 10 Esența invenției constă în utilizarea în calitate de antioxidanți a saliciliden-4-aliil-S-metiliztiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) cu formula generală:



I-III

I : $M = \text{Fe}^{3+}$, $X = \text{Cl}^-$; II : $M = \text{Fe}^{3+}$, $X = \text{NO}_3^-$; III : $M = \text{Co}^{3+}$, $X = \text{NO}_3^-$.

- 15 Compoziția compușilor coordinativi I-III este descrisă în literatură (Gulea A. et al. Synthesis, structure, antimicrobial and antitumor activity of 3d-metal complexes with salicylaldehyde 4-allyl-S-methylthiosemicarbazone. The International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova, Chișinău, AȘM, 2014, p. 128; și Gulea A. et al. Bacteriostatic and bactericidal activities of 3d-metal complexes with salicylaldehyde 4-allyl-s-methylthiosemicarbazone. Scientific International Conference On Microbial Biotechnology, 2nd edition, Chișinău, 2014, abstracts of communication, p. 137), dar
- 20 procedeul lor de sinteză, structura și proprietățile fizico-chimice nu sunt descrise. Astfel a fost stabilit că, ei posedă activitate antimicrobiană și antitumorală selectivă, dar din cauza activității joase până acum nu au găsit aplicare în medicină.

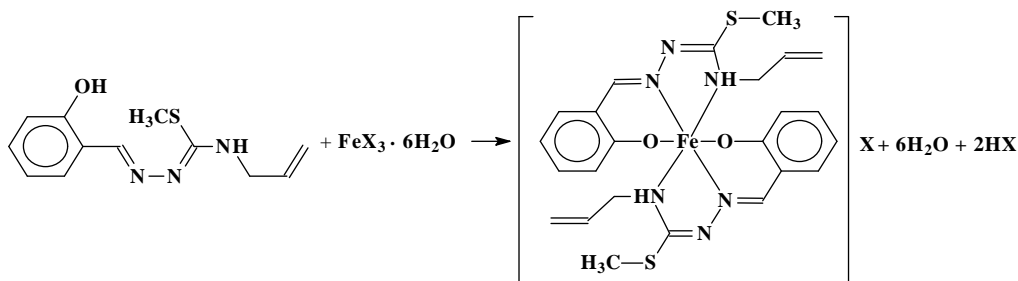
- 25 Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compușii I-III a activității antioxidative, care depășește de 66,7...47,6 ori activitatea Troloxului și de 2,0...1,4 ori caracteristicile analoge ale celui mai activ antioxidant sintetic (prototipului).

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de antioxidant se propun compușii coordinativi I-III.

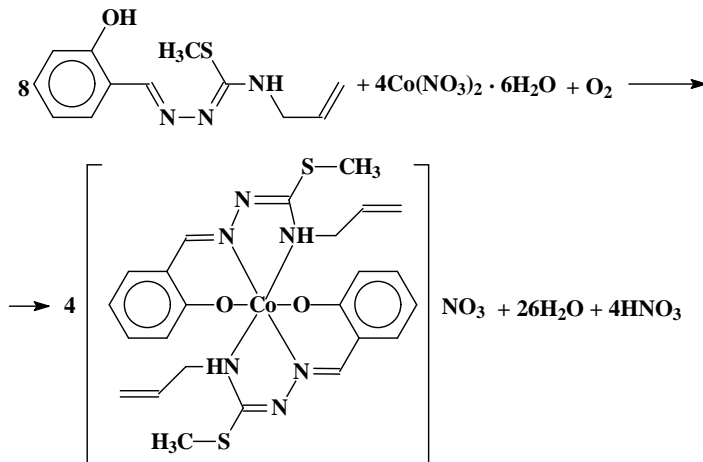
- 30 Analiza comparativă a compușilor revendicați cu prototipul demonstrează că ei se deosebesc prin aceea, că în analogul structural atomul central de cupru(II) este înlocuit cu fier(III) sau cobalt(III), păstrând numărul de coordinare al atomului central egal cu 6 prin introducerea în sfera internă a complexului a doi metil-N'-[(2-hidroxiifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato-ioni. În sfera exterioară a complecșilor I-III se află anionul nitrat sau clor. În afară de acesta, fragmentul

picolidenic al azometinei în compușii revendicați I-III este înlocuit cu cel salicilidenic, iar în poziția 4 a fragmentului tiosemicarbazidic radicalul fenil este înlocuit cu radicalul alilic și atomul de sulf este alchilat cu radicalul metil. Datorită acestor particularități în structura complexelor I-III se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

- 5 Complecșii revendicați I-III se obțin la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (50...55° C) ale hexahidraților clorurii sau nitraturii de fier(III) și hexahidratului nitraturii de cobalt(II) cu 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice, luate în raport molar 1:2. Reacția decurge timp de 50...60 min conform următoarelor scheme:



- 10 X=Cl⁻, NO₃⁻



- 15 Mecanismul prezentelor reacții este legat de faptul, că în timpul sintezei, în amestecul reactant, are loc adiția la ionul de Fe³⁺ a două molecule de 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice, care joacă rolul de liganzi-O,N,N tridentati monodeprotonați. În cazul cobaltului are loc oxidarea cu oxigenul din aer a sării inițiale și formarea compusului III izostructural cu compusul II. În rezultatul acestor procese are loc formarea complexelor revendicați cu structură octaedrică distorsionată.

- 20 Exemplu de obținere al clorurii de bis{metil-N'-[(2-hidroxifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato-(1-)}fier(III) (Compusului I). Se amestecă 40 ml de soluție etanolică, care conține 20 mmol de 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice cu 10 mmol de FeCl₃·6H₂O, dizolvat în 10 mL de etanol. Amestecul reactant este încălzit (50...55°C) și amestecat în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 50...60 min. La răcire din soluție se depun cristale mărunte de culoare brună, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu cantitate mică de etanol, eter și uscate la aer.

- 25 După o metodă analoagă, folosind în calitate de substanțe inițiale hexahidrații nitraților de Fe³⁺ (în cazul compusului II) sau de Co²⁺ (în cazul compusului III) și 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice, luate în raport molar 1:2 se sintetizează compușii II-III. Denumirile lor chimice și unele caracteristici fizico-chimice sunt prezentate în Tabele 1 și 2.

- 30 La recrystalizarea compușilor I-III din soluție etanolică 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". Structurile au fost determinate prin metoda directă și stabilite folosind metoda patraților minime în apropiere anizotrope pentru atomii de hidrogen după programele SHELX-97. Parametrii principali ai experimentului sunt prezentați în Tabelul 3.

- 35 S-a stabilit (Fig. 1), că compușii coordinativi revendicați posedă o configurație tetragonal-bipiramidală în care două molecule de 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice (metil-N'-[(2-hidroxifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamatul) coordonează la ionii de

fier(III) sau cobalt(III) în două planuri reciproc perpendiculare prin intermediul atomilor de oxigen fenolic și atomii de azot azometinic și tiocarbamidic (N^4), formând metalocicluri din șase și cinci atomi (Fig. 1). Distanțele interatomice și unghiurile de valență se află în limitele apropiate de valorile întâlnite în literatură pentru complecșii din această clasă de compuși coordinativi.

5 Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor, cercetării fizico-chimice și analizei cu raze X a fost stabilită compoziția și structura compușilor revendicați.

Exemplu al utilizării compușilor I-III în calitate de antioxidanți. Pentru determinarea activității antioxidante s-a folosit metoda spectrofotometrică, în care la soluțiile ce conțin radicali liberi colorați specific (radicalul cation $ABTS^+$ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolină-6-sulfonat)) se adaugă 10 compușii I-III în concentrații diferite și se determină absorbanta. Astfel se măsoară capacitatea substanței de a interacționa cu radicali $ABTS^+$. Radicalul $ABTS^+$ necesar pentru experiment a fost format prin reacția între soluția de $ABTS$ de 7 mM cu soluție de persulfat de potasiu, 140 mM, incubate la 25°C la întuneric timp de 12...16 ore. Soluția apoasă $ABTS^+$ formată a fost diluată cu 15 soluție tampon de acetat salin (0,02 M, pH 6,5). Au fost preparate diluții de compușii I-III în DMSO. 15 După aceea, 20 μ L din fiecare diluție a substanței experimentale au fost transferate într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri și 180 μ L de soluție de lucru $ABTS^+$ a fost adăugată cu modulul de distribuire a cititorului hibrid (Synergy H1, Biotek). Acest amestec se agită 15 s. Schimbarea absorbantei a fost măsurată la lungime de undă de 734 nm după 30 de minute de incubare la 25°C. 20 Experimentul a fost efectuat în 3 repetări. DMSO a fost utilizat ca martor. Troloxul (soluție metanolică de 2 mM) a fost utilizat ca referință în concentrații de diluție variind de la 0,1 până la 100 μ M.

Partea de radicali $ABTS^+$ inhibitate a fost calculată după formula:

$$[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100,$$

unde A_0 - absorbanta controlului, iar A_1 - absorbanta probei.

25 Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților antioxidative ale clorurii de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazon-tiocarbamato-(1-)}fier(III), nitratului de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato (1-)}fier(III) și nitratului de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}cobalt(III) (corespunzător compușii I-III) sunt prezentate în Tabelul 4, 30 din care se observă, că în diapazonul concentrațiilor $10^{-5} \dots 10^{-7}$ mol/L compușii posedă concentrația de inhibare semimaximală $IC_{50} = 0,5 \dots 0,7$ μ mol/L. Datele obținute indică, că acești compuși coordiativi, după activitatea antioxidantă, depășesc de 66,7...47,6 ori activitatea Troloxului și de 2,0...1,4 ori caracteristicile anologice ale celui mai activ antioxidant sintetic (prototipului).

35 Proprietățile depistate ale saliciliden-4-alil-S-metil-izotiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de antioxidanți sintetici.

Tab. 1

Denumirea și analiza chimică a compușilor coordinativi I-III

Com-pusul	Denumirea chimică	Formula brută	η , %	Analiza elementală, determinat/calculate, %		
				Metal	N	S
I	Clorură de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}fier(III)	$C_{24}H_{28}ClFeN_6O_2S_2$	79	9,19/9,50	14,07/14,29	10,61/10,91
II	Nitrat de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}fier(III)	$C_{24}H_{28}FeN_7O_5S_2$	84	8,78/9,09	15,74/15,96	10,20/10,44
III	Nitrat de bis{metil- N' -[(2-hidroxifenil)-metiliden]- N -prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}cobalt(III)	$C_{24}H_{28}CoN_7O_5S_2$	71	9,28/9,54	15,67/15,88	10,09/10,38

Tab. 2

Proprietățile fizico-chimice ale compușilor coordinativi

Compusul	**?, Ω^{-1} , $\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$	μ_{ef} , m.B. (293K)	Unele benzi (cm^{-1}) de absorbție în spectrele IR ale compușilor I-III							
			$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{N}^{\text{H}})$	$\nu(\text{C}=\text{C}_{\text{alii}})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{S})$	$\nu(\text{CH}_3-\text{S})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu(\text{M}-\text{N})$, $\nu(\text{M}-\text{O})$, $\nu(\text{M}-\text{S})$
*H ₂ L	-	-	3196	2993	1641	1495, 1582	682	1087	1239	-
I	109	5,74	-	3068	1644	1483, 1565	676	1085	1203	512, 492, 471, 458
II	114	5,93	-	3161	1642	1468, 1561	677	1087	1203	536, 490, 474, 454
III	107	Diamag- netic	-	3137	1640	1462, 1555	675	1085	1199	509, 485, 465, 445

5

Notă: *H₂L – 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona aldehidei salicilice;
**? – conductibilitatea electrică molară în CH₃OH (293K).

Tab. 3

10

Caracteristicile cristalografice ale I-III

	I	II	III
Grupa spațială	P 2 ₁ /c	P 2 ₁ /c	P 2 ₁ /n
<i>a</i> , Å	8.0707(6)	8.0797(3)	8.4111(9)
<i>b</i> , Å	16.1057(8)	16.3746(8)	17.0575(12)
<i>c</i> , Å	21.0139(11)	21.0875(7)	19.6692(18)
α , grad	90	90	90
β , grad	94.156(5)	96.459(3)	90
γ , grad	90	90	90

Tab. 4

Activitatea de captare a radicalilor ABTS după 30 min

Compusul	IC ₅₀ , $\mu\text{M/L}$
Trolox [1]	33,33
Di(μ -s)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazidato-(1-)]-cupru(II)} (prototipul) [2]	1,0
Clorură de bis{metil-N'-[(2-hidroxifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}fier(III)	0,7
Nitrat de bis{metil-N'-[(2-hidroxifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}fier(III)	0,6
Nitrat de bis{metil-N'-[(2-hidroxifenil)-metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazontiocarbamato(1-)}cobalt(III)	0,5

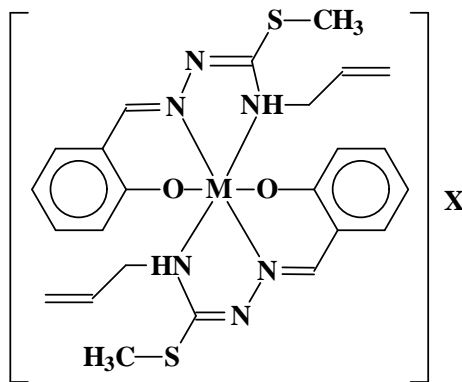
15

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

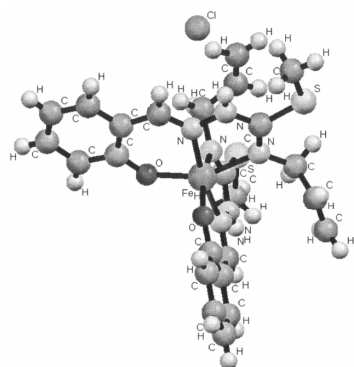
1. I.-Chuan Sheih et al. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technology*, 2009, vol. 100, p. 3419-3425 (regăsit în internet la 16.08.2017 URL: <<<https://pdfs.semanticscholar.org/9909/14d38d837db0a6d1b3fec15bde4e4490d050.pdf>>>)
2. MD 4469 B1 2017.03.31

(57) Revendicări:

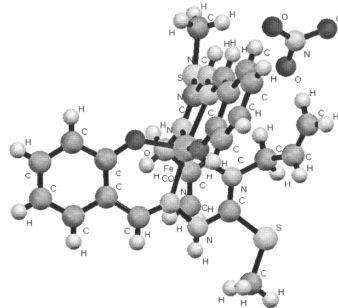
Utilizarea saliciliden-4-alil-S-metilzotiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) cu formula generală:



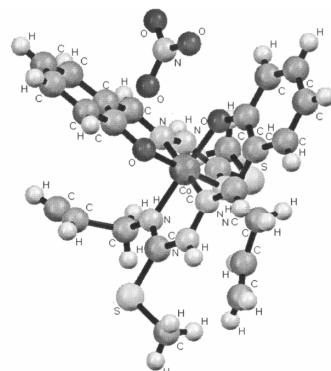
unde $M = \text{Fe}^{3+}$, $X = \text{Cl}^-$, NO_3^- ; $M = \text{Co}^{3+}$, $X = \text{NO}_3^-$
 în calitate de antioxidanți.



I



II



III