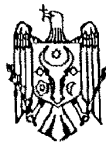




MD 4764 C1 2022.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4764** (13) **C1**
(51) Int.Cl: C07C 337/08 (2006.01)
C07F 1/08 (2006.01)
C07D 213/53 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

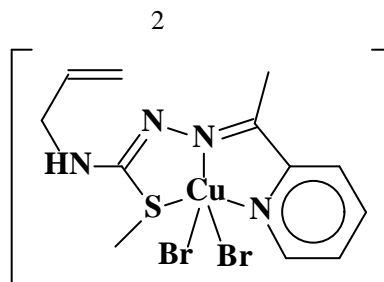
(21) Nr. depozit: a 2020 0083 (22) Data depozit: 2020.12.02	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2021.08.31, BOPI nr. 8/2021
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; GRAUR Vasilii, MD; USATAIA Irina, MD; GARBUZ Olga, MD; ȚAPCOV Victor, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) **Compusul dibromo{metil-N-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)-etiliden]hidrazincarbimidioat-N,N,S}cupru, care inhibă proliferarea celulelor rabdomyosarcomului uman**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un compus coordinativ biologic activ din clasa S-alkilizotiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea rabdomyosarcomelor.

Conform invenției, se propune compusul dibromo{metil-N-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidioat-N,N,S}cupru cu formula:



care inhibă proliferarea celulelor rabdomyosarcomului uman de linia RD.

Rezultatul invenției constă în sinteza compusului coordinativ de cupru, care inhibă proliferarea celulelor rabdomyosarcomului uman de linia RD de 13,6 ori mai activ decât analogul structural.

Revendicări: 2

Figuri: 1

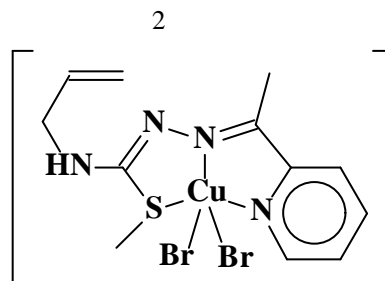
MD 4764 C1 2022.03.31

(54) Dibromo{methyl-*N*-(prop-2-en-1-yl)-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbimidothioate-*N,N,S*}copper compound, inhibiting the proliferation of human rhabdomyosarcoma cells

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, namely to a biologically active coordination compound from the class of transition metal *S*-alkylisothiosemicarbazones and can be used in medicine for the prevention and treatment of rhabdomyosarcomas.

According to the invention, proposed is dibromo{methyl-*N*-(prop-2-en-1-yl)-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbimidothioate-*N,N,S*}copper compound of the formula:



inhibiting the proliferation of RD human rhabdomyosarcoma cell line.

The result of the invention consists in the synthesis of the coordination copper compound, inhibiting the proliferation of RD human rhabdomyosarcoma cell line 13.6 times more actively than the structural analogue.

Claims: 2

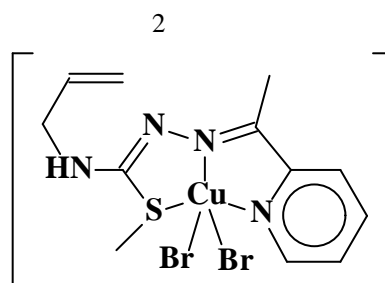
Fig.: 1

(54) Соединение дибромометил-*N*-(проп-2-ен-1-ил)-2-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]гидразин-карбимидотиоат-*N,N,S*}медь, ингибирующее пролиферацию клеток рабдомиосаркомы человека

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к биологически активному координационному соединению класса *S*-алкилизотиосемикарбазонатов переходных металлов и может найти применение в медицине при профилактике и лечении рабдомиосарком.

Согласно изобретению, предлагается соединение дибромометил-*N*-(проп-2-ен-1-ил)-2-[1-(пиридин-2-ил)этилиден]гидразин-карбимидотиоат-*N,N,S*}медь формулы:



ингибирующее пролиферацию клеток рабдомиосаркомы человека линии RD.

Результат изобретения заключается в синтезе координационного соединения меди, которое ингибирует пролиферацию клеток рабдомиосаркомы человека линии RD в 13,6 раза более активно, чем структурный аналог.

П. формулы: 2

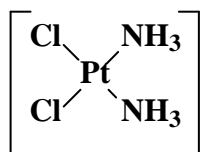
Фиг.: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un compus coordinativ biologic activ din clasa *S*-alchilizotiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea rabdomyosarcomelor.

Rabdomyosarcomul, sau RMS, este un cancer malign și extrem de agresiv, care se dezvoltă din celulele musculare scheletice. El poate apărea oriunde pe corp, dar în primul rând la nivelul capului, gâtului, tractului urinar și organelor genitale. Locurile comune ale metastazelor includ plămâni, măduva osoasă și oasele. Diagnosticul precis și rapid este adesea dificil din cauza eterogenității tumorilor RMS și a lipsei unor markeri genetici puternici ai bolii. Tratamentul lui include, de obicei, o combinație de intervenții chirurgicale, chimioterapie și radioterapie.

Printre medicamentele, utilizate pentru tratarea rabdomyosarcomelor se află și preparatul «cisplatin» - compus coordinativ *cis*-diclorodiamminplatina [1] cu formula:



15

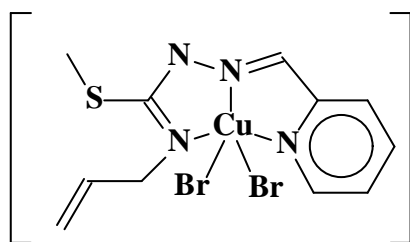
Mecanismul de acțiune al acestui citostatic este legat de formarea legăturilor coordinative între atomul de platină cu două baze guaninice ale ADN-ului și blocarea funcțiilor lui. Ca rezultat, în ADN se formează legături intra- și intercatenare, care duc la dereglarea replicării și transcripției, întârzierea diviziunii celulare și inducerea apoptozei.

20

Dezavantajul acestui medicament constă în faptul, că utilizarea lui, totuși, este limitată, deoarece el nu posedă o activitate anticancer înaltă față de celulele rabdomyosarcomului uman, precum și datorită efectelor secundare pe care le cauzează: greață, vomă, stomatită, crampe musculare, neuropatie, tahicardie și hipotensiune arterială.

25

Din compușii coordinativi din clasa *S*-alchilizotiosemicarbazonaților metalelor de tranziție, descriși în literatură, care inhibă proliferarea celulelor rabdomyosarcomului uman de linia RD, cel mai apropiat după compoziție și structură cu complexul declarat (analogul structural) și cu cel mai înalt efect cancerostatic este complexul bromurii de cupru(II) cu metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbimidotioat (4-alilizotiosemicarbazona 2-formilpiridinei) [2] cu formula:



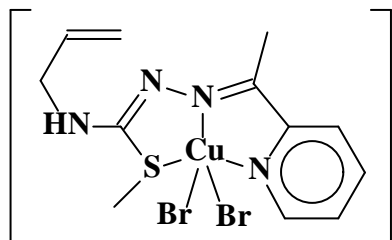
30

După activitatea citostatică acest compus este de 2,1 ori mai eficient decât cisplatinul, utilizat în medicină în calitate de inhibitor de proliferare a celulelor rabdomyosarcomului uman de linia RD, dar nu a găsit o aplicare în medicină.

35

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai celulelor rabdomyosarcomului uman de linia RD cu activitate citostatică înaltă.

Conform invenției, se propune compusul dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru cu formula:



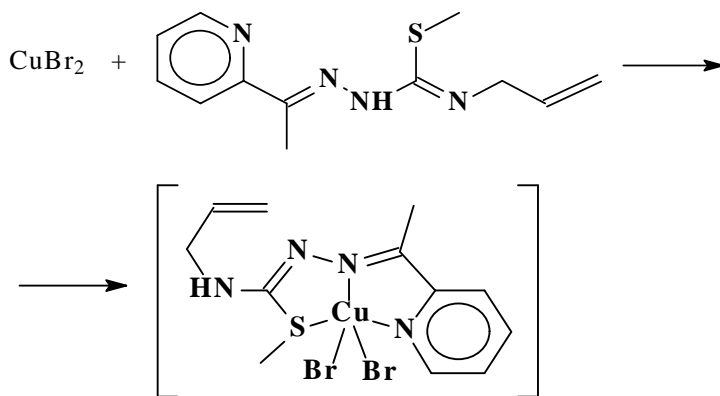
care inhibă proliferarea celulelor rdbomiosarcomului uman de linia RD.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancerigene, care posedă concentrația de inhibare semimaximală $IC_{50} = 0,05 \mu\text{mol/L}$ și este de 28 ori mai efectiv decât cisplatin și de 13,6 ori mai activ decât analogul structural. Proprietatea stabilită a dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de inhibitor al creșterii și multiplicării celulelor rdbomiosarcomului uman de linia RD.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor al proliferării celulelor rdbomiosarcomului uman de linia RD se propune dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru, care conține o combinație nouă de legături chimice cunoscute.

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

Dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidoat-*N,N,S*}cupru revendicat se obține conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date este legat de faptul, că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc adăția la ionul de cupru(II) a unei molecule de metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioatului (4-alil-*S*-metilizotiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei), care joacă rolul de ligand *N,N,S* tridentat și doi ioni de brom. În rezultatul acestui proces are loc formarea complexului, în care atomul central are numărul de coordinare 5.

Conform bazei de date din Cambridge, coordonarea *S*-metilizotiosemicarbazonei aldehidei salicilice la ionul de cupru(II) (metal din blocul 3d) prin atomul de sulf reprezintă un nou tip structural, deoarece așa mod de coordonare a *S*-alchiltiosemicarbazonei este confirmat folosind analiza cu raze X numai în cazul complexelor de paladiu(II) (metal din blocul 4d) (Revenco M., Bulmaga P., Jora E., Palamarciuc O., Kravtsov V., Bourosh P. Specificity of salicylaldehyde *S*-alkylisothiosemicarbazones coordination in palladium(II) complexes. Polyhedron, 2014, v. 80, p. 250-255; Revenco M., Simonov Y., Duca G., Bourosh P., Bulmaga P., Kukushkin V., Jora, E., Gdaniec M. Versatility and reactivity of salicylaldehyde *S*-methylisothiosemicarbazone in palladium(II) complexes. Russian Journal of Inorganic Chemistry, 2009, v. 54, nr. 5, p. 698-707).

Procedeul de obținere a compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 88% față de cel teoretic calculat. Metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat (4-alil-*S*-metilizotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei) se obține în mod similar cu 4-alil-*S*-metilizotiosemicarbazona 2-formilpiridinei [2], înlocuind 2-formilpiridina cu 2-acetilpiridina [Randamentul: 86%; p.t.: 65-66°C; M = 248.35 g/mol; Calculat, %: C – 58,04; H – 6,49; N – 22,56; S – 12,91. Determinat, %: C – 58,16; H - 6,54; N - 22,65; S - 13,03. IR (cm⁻¹): ν(NH) 3257, ν(C=C alil) 1644, ν(C=N^I) 1597, ν(C=N^{pir}) 1582, ν(CH₃-S) 1098, ν(C-S) 637. ¹H RMN (CDCl₃; δ, ppm): 8,63 (d, 1H, CH aromatic); 8,09 (d, 1H, CH aromatic); 7,69 (t, 1H, CH aromatic); 7,26 (t, 1H, CH aromatic); 6,61 (br, 1H, NH); 5,93 (m, 1H, CH alil); 5,26 (dd, 2H, CH₂=C); 3,96 (t, 2H, CH₂-N); 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,55 (s, 3H, CH₃-S). ¹³C RMN (CDCl₃; δ, ppm): 161,34 (C-S); 157,12, 147,13, 135,82, 123,26, 120,80 (C aromatic); 148,42 (C=N); 134,64 (CH alil); 116,41 (CH₂=); 45,71 (CH₂-N); 13,23 (CH₃); 12,89 (CH₃-S)]. Complexul sintetizat are culoare cafenie, este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă, solubil în alcoolii alifatici, dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere a dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru.

Se amestecă 25 mL de soluție etanolică, care conține 0,248 g (1 mmol) de 4-alil-*S*-metilzotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei cu 0,223 g (1 mmol) de bromură de cupru(II) (CuBr₂). 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 cafenie, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol rece și uscate în vid.

S-a determinat, %: C - 30,53; H - 3,31; Br - 33,95; Cu - 13,52; N - 11,92; S - 6,87. Pentru C₁₂H₁₆Br₂CuN₄S s-a calculat, %: C - 30,56; H - 3,42; Br - 33,88; Cu - 13,47; N - 11,88; S - 6,80.

Benzile de absorbție în spectrul IR, cm⁻¹: ν(NH) 3150, ν(C=C alil) 1647, ν(C=N¹) 1572, ν(C=N_{pir}) 1545, ν(CH₃-S) 1077, ν(C-S) 669.

μ_{ef} (292K) = 1,93 MB; χ (CH₃OH) = 192 Ω⁻¹·cm²·mol⁻¹.

La recristalizarea complexului declarat din soluția etanolică au fost obținute monocristale de dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru, structura cărora a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X. Măsurătorile cristalografice au fost efectuate utilizând un difractometru de tip Xcalibur E CCD Oxford-Diffraction cu monocromator de grafit înzestrat cu sursă de raze X de tip Mo-K_α. Procedeele de determinare a parametrilor celulei elementare și de integrare a datelor experimentale au fost efectuate cu ajutorul setului de programe "CrysAlis package Oxford Diffraction". Pentru structura cercetată soluția a fost determinată prin metoda directă cu ajutorul programului SHELXS-97 și fitată prin metoda pătratelor minimale în cadrul programului SHELXL-97 în varianta anizotropică pentru toți atomii cu masă molară mai mare decât a atomului de hidrogen. Atomii de hidrogen au fost introduși în poziții idealizate (d_{CH} = 0,96 Å) utilizând modelul pivot cu fixarea parametrilor izotropici de deplasare la valoarea de 120% față de valorile respective ale atomilor de carbon cu care sunt legați. Formula empirică a compusului investigat C₁₂H₁₆Br₂CuN₄S, grupa spațială P-1, parametrii celulei elementare, [A]: a = 9,0118(8); b = 9,4521(5), c = 11,3953(8); α = 109,651(6)°, β = 99,696(7)°, γ = 106,024(6)°.

A fost stabilit (Fig.), că compusul investigat reprezintă un monomer coordinativ, în care poliedrul de coordinare al generatorului de complex reprezintă o piramidă tetragonală distorsionată. În sfera internă a atomului central se află o moleculă tridentată de 4-alil-*S*-metilzotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei, care coordonează la atomul de cupru prin atomii de azot piridinic [d(Cu-N) = 1,996Å], azometinic [d(Cu-N) = 1,978Å] și sulf [d(Cu-S) = 2,332Å], formând două metalocicluri din cinci atomi. Legătura dublă în molecula de izotiosemicarbazonă coordinată este localizată între atomii de carbon și azot N² [d(C - N²) = 1,292Å, iar d(C - N⁴) = 1,327Å]. Al patrulea și al cincilea locuri în sfera internă a atomului de cupru îl ocupă ionii bromură [d(Cu - Br¹) = 2,379Å și d(Cu - Br²) = 2,650Å]. Alte distanțe interatomice și unghiuri de valență sunt standarde pentru compușii din această clasă.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor, cercetărilor fizico-chimice și a analizei cu raze X a fost stabilită compoziția și structura compusului declarat.

Exemplu al utilizării dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru în calitate de inhibitor de proliferare a celulelor rdbomiosarcomului uman de linia RD.

Celulele au fost cultivate ca monostrat în mediu nutritiv DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) și RPMI -1640 cu un conținut înalt de glucoză, L-glutamină, soluție tampon HEPES (acid N-2 hidroxietilpiperazin-N'-2-etan sulfonic), penicilină, streptomycină, FBS (fetal bovine serum). Celulele au fost crescute în două flacoane T-75 și au fost incubate în termostat ce conține 2% CO₂, 78% aer la temperatura de 37°C. Mediul nutritiv se schimbă la fiecare 4-3 zile.

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru sunt prezentate în tabel, din care se observă, că el posedă concentrația de inhibare semimaximală IC₅₀ = 0,05 μmol/L și este de 28 ori mai efektiv decât cisplatin, utilizat în medicină și de 13,6 ori mai activ decât analogul structural.

Proprietățile depistate ale dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai celulelor rdbomiosarcomului uman de linia RD.

Tabel

Concentrația de inhibare semimaximală (IC₅₀) a celulelor rabdomiosarcomului uman de linia RD

Compusul	IC ₅₀ , μmol/L
Cisplatin	1,4
Analogul structural	0,68
Dibromo{ metil- <i>N</i> -(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbimidotioat- <i>N,N,S</i> }cupru	0,05

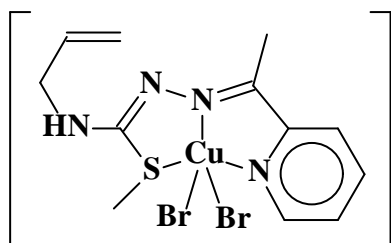
5

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Цисплатин. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Москва: Новая волна, 2008, p. 989 - 990
2. Balan G., Burduniuc O., Usataia I., Graur V., Chumakov Yu., Petrenko P., Gudumac V., Gulea, A., Pahontu E. Novel 2-formylpyridine 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. Applied Organometallic Chemistry, 2019, v. 34, nr. 3, p.e 5423

(57) Revendicări:

1. Compusul dibromo{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden] hidrazincarbimidotioat-*N,N,S*}cupru cu formula:



2. Compusul, conform revendicării 1, care inhibă proliferarea celulelor rabdomiosarcomului uman de linia RD.

