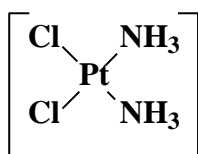


Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un compus coordinativ biologic activ din clasa S-alchilizotiosemicarbazonaților metalelor de tranziție și poate găsi aplicare în medicină la tratarea și profilaxia rabdomyosarcomului uman.

Rabdomyosarcoamele umane sunt tumori maligne ale țesuturilor moi, în special țesutul muscular scheletic și care pot afecta rinichii, vezica urinară și aparatul genito-urinar la sugari, copii și maturi (Protocol clinic național „Cancerul renal”, aprobat prin ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr.1057 din 30.09.2013, Chișinău, 2013; ALAA SAMKARI, HANEEN AL-MAGHRABI. Rhabdomyosarcoma of the kidney. Journal of Pediatric Surgery Case Reports, v. 32, 2018, p. 62-67; RINI B.I., RATHMELL W.K., GODLEY P. Renal cell carcinoma. Curr. Opin. Oncol., 2008, v. 20(3), p. 300-306; LESLIE S.W., SAJJAD H., MURPHY P.B. Wilms Tumor. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan., URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442004/>; PRIYADARSHI V., GOGOI D., BERA M.K., PAL D.K. Rhabdomyosarcoma of urinary bladder. APSP J Case Rep., 2014, v.5(2), p. 24).

În tratamentul acestor tumori un rol important se acordă chimioterapiei sistemice, care include cel mai des vincristină, doxorubicină, ciclofosamidă, carboplatină și al. (OOSTVEEN R.M., PRITCHARD-JONES K. Pharmacotherapeutic Management of Wilms Tumor: An Update. Paediatr. Drugs., 2019, v. 21(1), p.1-13; MULDER P.F., BROUWERS A.H., HULSBERGEN-VAN DER KAA CA, et al. Guideline Renal cell carcinoma, 2008, v. 152(7), p. 376-380; CASTAGNETTI M., HERBST K.W., ESPOSITO C. Current treatment of pediatric bladder and prostate rhabdomyosarcoma (bladder preserving vs. radical cystectomy). Curr. Opin. Urol., 2019, v. 29(5), p. 487-492).

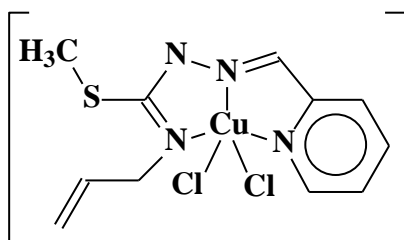
Printre medicamentele, utilizate pentru tratarea rabdomyosarcoamelor umane se află și preparatul cisplatin - compus coordinativ *cis*-diclorodiamminplatina [1] cu formula:



Mecanismul de acțiune al acestui citostatic este legat de formarea legăturilor coordinative între atomul de platină și 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.

Dezavantajul medicamentului cisplatin constă în faptul, că el pătrunde greu în celule și prin transformări nefermentative rapid se metabolizează în metaboliți neactivi. Legarea acestui compus de proteine constituie, de obicei, nu mai mult de 90% și induce reacții adverse: greață, vomă, stomatită, crampe musculare, neuropatie, tahicardie și hipotensiune arterială.

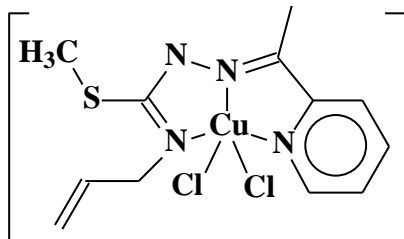
Din compușii coordinativi din clasa S-alchilizotiosemicarbazonaților metalelor de tranziție, care inhibă proliferarea celulelor rabdomyosarcomului uman, descriși în literatură, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul complexului clorurii de cupru(II) cu metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbimidotioat (4-alilizotiosemicarbazona 2-formilpiridinei) (analogul structural) [2] cu formula:



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

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

Esența invenției constă în aceea, că în calitate de inhibitor al celulelor rabdomyosarcomului uman se propune dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,N*}cupru cu formula:



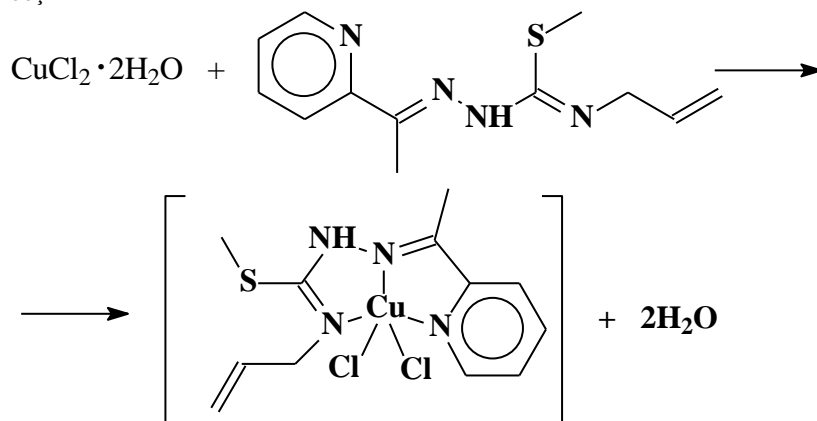
Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancerigene, care posedă concentrația de inhibare semimaximală $IC_{50} = 0,16 \mu\text{mol/L}$ și este de 8,8 ori mai eficient decât cisplatin și de 7,3 ori

mai activ decât analogul structural. Proprietatea stabilită a dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,N*}cupru este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de inhibitor al creșterii și multiplicării celulelor rbdmiosarcomului uman.

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

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

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



Mecanismul reacției date este legat de faptul, că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc adăuția 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*-metilizotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei), care joacă rolul de ligand *N,N,N* tridentat și doi ioni de clor. În rezultatul acestui proces are loc formarea complexului, în care atomul central are numărul de coordinare 5.

Procedeul de obținere a compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 85% 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=N¹) 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); 13,64 (CH alil); 116,41 (CH₂=); 45,71 (CH₂-N); 13,23 (CH₃); 12,89 (CH₃-S)]. Complexul sintetizat are culoare verde, 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 dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,N*}cupru.

Se amestecă 25 mL de soluție etanolică, care conține 0,248 g (1 mmol) de 4-alil-*S*-metilizotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei cu 0,170 g (1 mmol) de dihidrat al clorurii de cupru(II) (CuCl₂·2H₂O). 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 verde, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol rece și uscate în vid.

S-a determinat, %: C - 37,58; H - 4,25; Cl - 18,46; Cu - 16,67; N - 14,70; S - 8,48. Pentru C₁₂H₁₆Cl₂CuN₄S s-a calculat, %: C - 37,65; H - 4,21; Cl - 18,52; Cu - 16,60; N - 14,64; S - 8,38.

Benzile de absorbție în spectrul IR, cm⁻¹: ν(NH) 3073, ν(C=C alil) 1639, ν(C=N¹) 1570, ν(C=N_{pir}) 1554, ν(CH₃-S) 1093, ν(C-S) 634, μ_{ef} (292K) = 1,81 MB; χ (CH₃OH) = 184 Ω⁻¹·cm²·mol⁻¹.

La recristalizarea complexului din soluția etanolică au fost obținute monocristale de dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,N*}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 patratelor 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 C₁₂H₁₆Cl₂CuN₄S, grupa spațială P 2₁/c, parametrii celulei elementare, [Å]: a = 10,4488(3); b = 11,1148(3), c = 13,9677(5); α = 90,0°, β = 104,551(3)°, γ = 90,0°.

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 de 4-alil-*S*-metilizotiosemicarbazona 2-acetilpiridinei tridentată, care coordinează la atomul de cupru prin atomii de azot piridinici [$d(\text{Cu-N}) = 2,037\text{Å}$], azometinici [$d(\text{Cu-N}) = 1,981\text{Å}$] și tiocarbamidic N^4 [$d(\text{Cu-N}^4) = 2,020\text{Å}$], formând două metalocicluri din cinci atomi. Legătura dublă în molecula de izotiosemicarbazona coordinată este localizată între atomii de carbon și azot N^4 [$d(\text{C-N}^2) = 1,374\text{Å}$, iar $d(\text{C-N}^4) = 1,277\text{Å}$]. Al patrulea și al cincilea locuri în sfera internă a atomului de cupru îl ocupă ionii de clorură [$d(\text{Cu-Cl}^1) = 2,501\text{Å}$ și $d(\text{Cu-Cl}^2) = 2,247\text{Å}$]. 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 dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimidotioat-*N,N,N*}cupru în calitate de inhibitor de proliferare al celulelor rabadomiosarcomului uman.

Celulele au fost cultivate în 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 la temperatura de 37°C în termostat ce conținea 2% CO_2 și 78% aer. Mediul nutritiv se schimbă la fiecare 4-3 zile.

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale dicloro{metil-*N*-(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbimido-tioat-*N,N,N*}cupru sunt prezentate în tabel, din care se observă, că el posedă concentrația de inhibare semimaximală $\text{IC}_{50} = 0,16\text{ μmol/L}$ și este de 8,8 ori mai efectiv decât cisplatin, utilizat în medicină și de 7,3 ori mai activ decât analogul structural.

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

Tabel

Concentrația de inhibare semimaximală (IC_{50} , μmol/L) a celulelor rabadomiosarcomului uman de către compusul revendicat în comparație cu prototipul și analogul structural

Compusul	IC_{50} , μmol/L
Cisplatin	1,4
Analogul structural	1,16
Dicloro{metil- <i>N</i> -(prop-2-en-1-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-carbimidotioat- <i>N,N,N</i> }cupru	0,16