



MD 3098 F1 2006.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3098** (13) **F1**
(51) Int. Cl.: *C07F 1/08* (2006.01)
C07C 281/06 (2006.01)
C07C 307/40 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

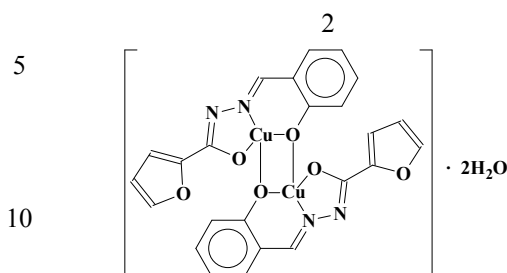
Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2006 0022 (22) Data depozit: 2006.01.03	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2006.07.31, BOPI nr. 7/2006
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; POIRIER Donald, CA; JENNY Roy, CA; ȚAPCOV Victor, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Dihidrat de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] cu proprietăți de inhibitor al leucemiei mieloide umane

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimie, și anume la sinteza unui compus coordinativ din clasa aroilhidrazonaților metalelor de tranziție și poate fi aplicată în medicină pentru profilaxia și tratamentul leucemiei mieloide umane.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al leucemiei mieloide umane se propune dihidrat de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] cu formula :



Rezultatul invenției constă în sinteza compusului care extinde arsenalul de inhibitori ai leucemiei mieloide umane cu activitate înaltă.

Revendicări: 2

MD 3098 F1 2006.07.31

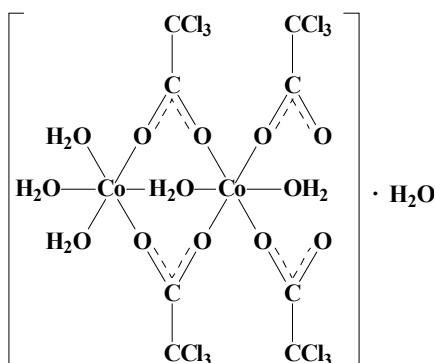
MD 3098 F1 2006.07.31

3

Descriere:

Invenția se referă la chimie, și anume la sinteza unui compus coordinativ din clasa aroilhidrazonaților metalelor de tranziție și poate fi aplicată în medicină pentru profilaxia și tratamentul leucemiei mieloidă umane.

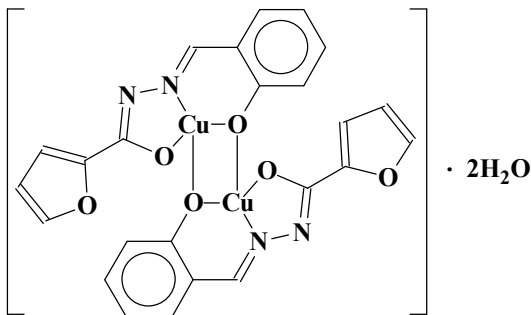
5 Din compușii coordinativi, care inhibă leucemia mieloidă umană, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul (μ -aqua)di(μ -trichloracetato)-tri(aqua)cobalt-aqua-bis(trichloracetato)cobaltului [1] cu formula :



10 Complexul dat inhibă creșterea și multiplicarea celulelor HL-60 ale leucemiei mieloidă umane în limitele concentrațiilor $0,55...0,60 \cdot 10^{-6}$ M. Dezavantajul (μ -aqua)di(μ -trichloracetato)-tri(aqua)cobalt-aqua-bis(trichloracetato)cobaltului constă în faptul că el nu posedă o activitate anticancer înaltă și până acum nu a găsit aplicare în medicină.

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

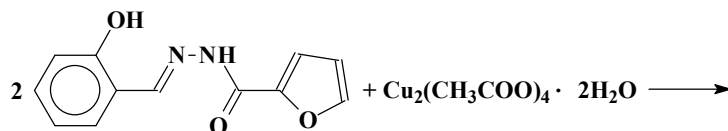
15 Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al leucemiei mieloidă umane se propune dihidrat de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] cu formula :

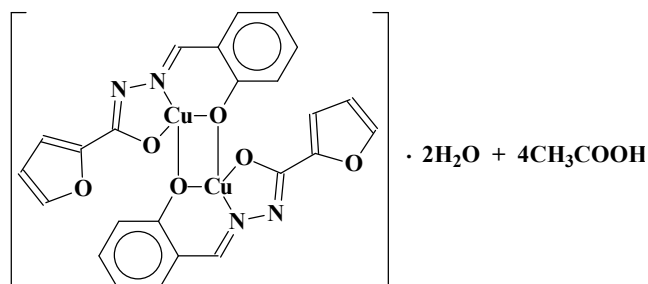


20 Rezultatul invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității anticancerigene, care depășește de 1,49 ori caracteristicile analoage ale (μ -aqua)di(μ -trichloracetato)-tri(aqua)cobalt-aqua-bis(trichloracetato)cobaltului.

Rezultatul este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al leucemiei mieloidă umane se propune dihidrat de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru], care conține o combinare nouă de legături chimice deja cunoscute.

25 Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (50...55°C) ale Cu₂(CH₃COO)₄ · 2H₂O cu furoilhidrazona aldehydei salicilice, luate în raport molar 1 : 1. Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme:





Mecanismul reacției date constă în aceea că în amestecul reactant grupa $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{C}_6\text{H}_5$ a hidrazinei trece din forma cetonică tautomerică în forma enolică ($-\text{N}=\text{C}(\text{OH})-\text{C}_6\text{H}_5$). În prezența acetat-ionului, care joacă rol de reagent protono-acceptor, decurge deprotonizarea grupelor hidroxilice ale fragmentelor fenolice și hidrazinice. Obținut în acest mod, anionul azometinei respective cu încărcătură dublă coordonează la ionul de cupru(2+), având rolul de ligand O,N,O-tridentat. Al patrulea loc coordonativ al ionului central îl ocupă atomul de oxigen fenolic, având rolul de atom de punte.

Exemplu de obținere a dihidratului de di($\mu\text{-O}_{\text{fenoxi}}$)-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru]. Se amestecă 50 ml de soluție etanolică, care conține 10 mmol de furoilhidrazona aldehidei salicilice cu 5 mmol de $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trecută în suspensie în 25 ml de alcool. 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-cafenie, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

S-a determinat, % : C – 46,38, H – 3,05, Cu – 20,31, N – 8,75.

Pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{Cu}_2\text{N}_4\text{O}_8$ calculat, % : C – 46,53, H – 3,25, Cu – 20,51, N – 9,04.

Procedeele de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 65% față de cel calculat teoretic. Acest complex este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în eter.

Cercetarea vizuală microscopică a compusului revendicat a demonstrat că el se caracterizează prin omogenitate de fază. În absența monocristalelor acestui compus, pentru stabilirea individualității compoziției și structurii au fost utilizate metode de analiză a elementelor: magnetochimia, spectroscopia IR și termogravimetria.

Determinarea conductibilității electrice molare a dihidratului de di($\mu\text{-O}_{\text{fenoxi}}$)-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru] în dimetilformamidă a demonstrat că el este neelectrolit ($\kappa = 4 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, 20°C, $C_m = 0,001\text{M}$).

În baza cercetărilor magnetochimice la temperatura camerei (292 K) s-a stabilit că complexul dat posedă moment magnetic mai mic ($\mu_{\text{ef}} = 1,62 \text{ m}\cdot\text{B}$) comparativ cu cel spinic ($S = 1/2$), fapt care vorbește despre structura lui polinucleară.

În scopul determinării modului de coordonare a ligandului cu ionul central a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului revendicat și furoilhidrazonei aldehidei salicilice. S-a stabilit, că în spectrele IR ale compusului revendicat lipsesc benzile oscilațiilor de valență $\nu(\text{NH})$ și $\nu(\text{C}=\text{O})$, care în spectrele hidrazonei sunt prezente la 3280...3270, 3212...3208 și 1650...1640 cm^{-1} . Banda la 1755...1750 cm^{-1} în spectrul azometinei este condiționată de oscilațiile de valență C-NH și oscilațiile de deformare NH. În spectrul IR al dihidratului de di($\mu\text{-O}_{\text{fenoxi}}$)-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru] această bandă lipsește, dar apar noi benzi la 1670...1660 și 1590...1585 cm^{-1} , condiționate de oscilațiile de valență $\nu(\text{O}-\text{C}=\text{O})$ și $\nu(\text{C}=\text{N})$, iar banda la 1570...1560 cm^{-1} este condiționată de oscilațiile de valență $>\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}<$. Acest caracter al spectrelor IR demonstrează enolizarea ligandului în procesul de formare a complexului. În afară de aceasta, în spectrul IR al compusului revendicat lipsește banda oscilației de valență a grupeii OH fenolice, iar banda $\nu(\text{C}-\text{O})$, menționată în spectrul azometinei inițiale la 1520...1518 cm^{-1} , este deplasată cu 15...10 cm^{-1} în domeniul undelor scurte. Așa o deplasare de frecvență înaltă a $\nu(\text{C}-\text{O})$ fenolic, de obicei, se utilizează în scopul identificării caracterului de punte al atomului de oxigen fenolic. Prin urmare, furoilhidrazona aldehidei salicilice în complexul revendicat se manifestă ca ligand de punte O,N,O-tridentat deprotonizat de două ori, coordonând la atomul de cupru prin oxigenul hidroxilului fenolic, azotul azometinic și oxigenul grupeii amidice, cu formarea metalociclurilor din cinci și șase atomi. Confirmă aceasta și apariția în spectrul IR al dihidratului de di($\mu\text{-O}_{\text{fenoxi}}$)-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru] a patru benzi de oscilație noi în domeniul 530...405 cm^{-1} , condiționate de oscilațiile de valență a legăturilor metal-azot (525 și 415 cm^{-1}) și metal-oxigen (450 și 440 cm^{-1}). Prezența în compusul revendicat a moleculelor de apă se confirmă prin prezența în spectrul lui IR a benzilor de absorbție caracteristice [$\nu(\text{H}_2\text{O})$ 3610...3600, $\delta(\text{H}_2\text{O})$ 1590...1580, $\gamma(\text{H}_2\text{O})$ 925...920 cm^{-1}].

Analiza termică a demonstrat că termoliza dihidratului de di($\mu\text{-O}_{\text{fenoxi}}$)-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru] decurge în două trepte: pe derivatogramă, în intervalul de temperatură 105...115°C are loc efectul endotermic cu micșorarea masei, ce corespunde deshidratării lui. Confirmă aceasta și valorile

MD 3098 F1 2006.07.31

5

energiei de activare ($E_a = 48,2$ kJ/mol) și a factorului preexponențial ($\lg Z = 4,6$) calculate după metoda Horowitz-Metzger-Topor, care sunt apropiate de valorile parametrilor cinetici pentru procese asemănătoare descrise în literatură. În intervalul de temperatură 400...420°C are loc ultimul efect pe termogramă, care corespunde destrucției termooxidative complete a hidrazinei în complex.

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

Exemplu al utilizării di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-) cupru] dihidrat în calitate de inhibitor al leucemiei mieloide umane. Celulele leucemiei mieloide umane HL-60 obținute din Colecția Culturilor Tip American (*American Type Culture Collection, Rockville, MD*) au fost cultivate în formă de
10 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 μ g de streptomycină/ml și incubate în atmosferă umedă de 95% aer / 5% CO₂ 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 de compartimente (2 cm²/celulă) la densitatea inițială de $1 \cdot 10^5$ celule/ml/compartiment și tratate cu soluții de diferită concentrație a compusului
15 revendicat în apă sterilă. Fiecare procedură de tratare, cu aceeași concentrație, a fost efectuată în câte trei compartimente. O cantitate echivalentă de citarabină a fost adăugată la cultură ca probă de control (CTL). Celulele au fost incubate timp de 4 zile, apoi procesul de tratare a fost stopat prin centrifugare și folosind metoda de scanare electronică s-a determinat numărul de celule.

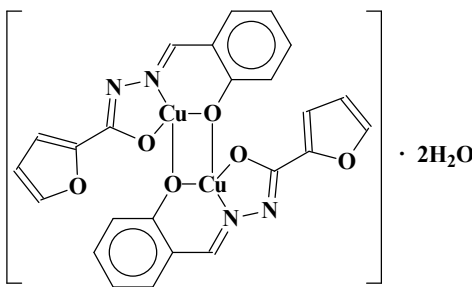
20 Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale dihidratului de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] demonstrează că el manifestă o acțiune de inhibare a celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane în limitele concentrațiilor 0,37...0,40 $\cdot 10^{-6}$ M.

Datele obținute arată că acest dimer de salicilidenfuroilhidrazidat de cupru(II), după activitatea anticancerigenă, depășește de 1,5 ori caracteristicile analoge ale celei mai apropiate soluții.

25 Proprietățile depistate ale dihidratului de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al lărgirii arsenalului de inhibitori ai leucemiei mieloide umane.

(57) Revendicări:

30 1. Dihidrat de di(μ -O_{fenoxi})-di[N-(2-oxi-1-benzal)-N¹- α -oxifuralhidrazino(2-)cupru] cu formula :



2. Compus coordinativ conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** posedă proprietăți de inhibitor al leucemiei mieloide umane.

35

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 2851 F1 2005.09.30

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

EGOROVA Tamara

Redactor:

CANȚER Svetlana