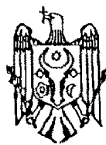




MD 4636 B1 2019.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4636** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07F 15/04* (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2017 0088 (22) Data depozit: 2017.10.12 (41) Data publicării cererii: 2019.04.30, BOPI nr. 4/2019	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.06.30, BOPI nr. 6/2019
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; ȚAPCOV Victor, MD; CEBOTARI Diana, MD; GUȚU Tatiana, MD; ISTRATI Dorin, MD; GUDUMAC Valentin, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

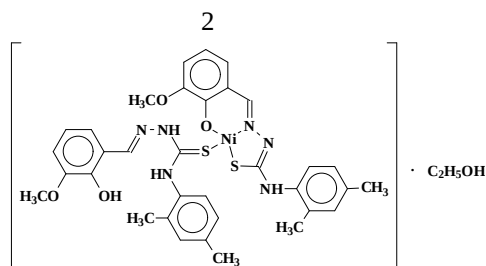
(54) [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamido(2-)-O,N,S]-nichel(II) monoetanolsolvat in calitate de antioxidant

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un compus coordinativ de nichel, biologic activ, din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Compusul manifestă activitate antioxidantă înaltă și poate găsi aplicare în medicină în calitate de substanță care inhibă procesele de oxidare ale moleculelor organice în organismul uman.

Esența invenției constă în obținerea antioxidantului sintetic în baza [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamido(2-)-O,N,S]-nichel(II) monoetanolsolvatului cu formula:



Compusul revendicat extinde arsenalul de antioxidanți sintetici cu activitate biologică înaltă.

Revendicări: 2

Figuri: 1

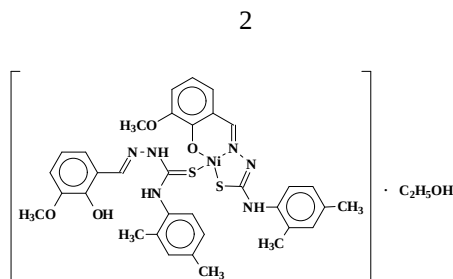
MD 4636 B1 2019.06.30

(54) [4-(2,4-Dimethylphenyl)-2-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)hydrazinecarbothioamide-S][4-(2,4-dimethylphenyl)-2-(oxo-3-methoxybenzylidene)hydrazinecarbothioamido(2-)-O,N,S]-nickel(II) monoethanol solvate as an antioxidant

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, namely to a biologically active coordinative nickel compound from the class of transition metal thiosemicarbazones. The compound exhibits high antioxidant activity and can find application in medicine as a substance that inhibits the oxidation processes of organic molecules in the human body.

Summary of the invention consists in producing a synthetic antioxidant based on [4-(2,4-dimethylphenyl)-2-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)hydrazinecarbothioamide-S][4-(2,4-dimethylphenyl)-2-(oxo-3-methoxybenzylidene)hydrazinecarbothioamido(2-)-O,N,S]-nickel(II) monoethanol solvate of the formula:



The claimed compound expands the arsenal of synthetic antioxidants with high biological activity.

Claims: 2

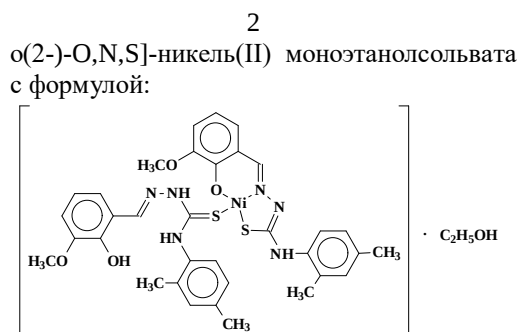
Fig.: 1

(54) [4-(2,4-диметилфенил)-2-(2-гидрокси-3-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид-S][4-(2,4-диметилфенил)-2-(оксо-3-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамидо(2-)-O,N,S]-никель(II) моноэтанолсольват в качестве антиоксиданта

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к биологически активному координационному соединению никеля класса тиосемикарбазонатов переходных металлов. Соединение проявляет высокую антиоксидантную активность и может найти применение в медицине в качестве вещества, которое ингибирует процессы окисления органических молекул в организме человека.

Сущность изобретения заключается в получении синтетического антиоксиданта на основе [4-(2,4-диметилфенил)-2-(2-гидрокси-3-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамид-S][4-(2,4-диметилфенил)-2-(оксо-3-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамидо(2-)-O,N,S]-никель(II) моноэтанолсольвата с формулой:



Заявленное соединение расширяет арсенал синтетических антиоксидантов с высокой биологической активностью.

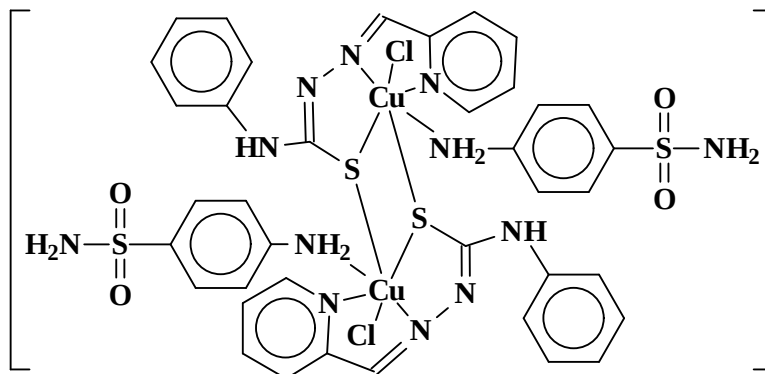
П. формулы: 2

Фиг.: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

- 5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un compus coordinativ de nichel, biologic activ, din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Compusul manifestă activitate antioxidantă înaltă și poate găsi aplicare în medicină în calitate de substanță care inhibă procesele de oxidare ale moleculelor organice în organismul uman.

- 10 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-feniltiosemicarbazato-(1-)]-cupru(II)} (prototipul) [1] cu formula:

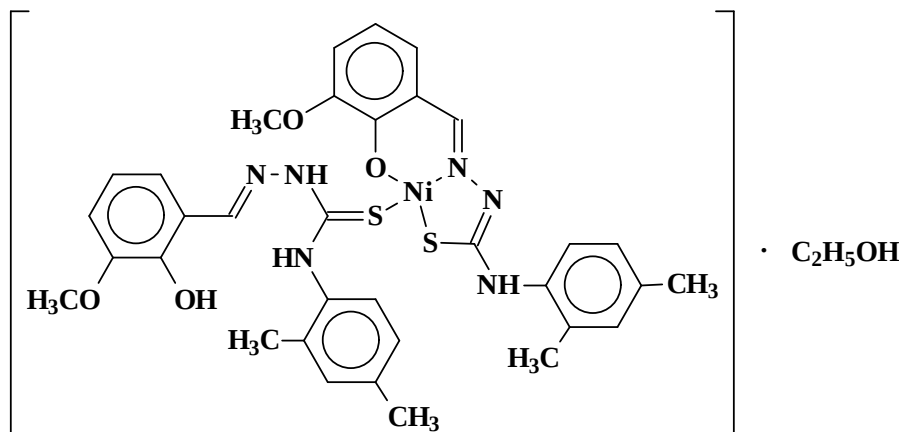


Compusul dat are concentrația de inhibare antioxidantă semimaximală $IC_{50} = 1,0 \mu\text{mol/L}$.

- 15 Dezavantajul prototipului 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 constă în obținerea unui compus coordinativ nou, care extinde arsenalul de antioxidanți sintetici cu activitate biologică înaltă.

- 20 Esența invenției constă în obținerea antioxidantului sintetic în baza [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]-nichel(II) monoetanolsolvat cu formula :



- 25 Complexul dat de nichel reprezintă un nou tip de izomeri de legătură, în care doi liganzi polidentati identici manifestă diferită capacitate de dentare: primul ligand este tridentat dublu deprotonat, iar al doilea – monodentat neutru.

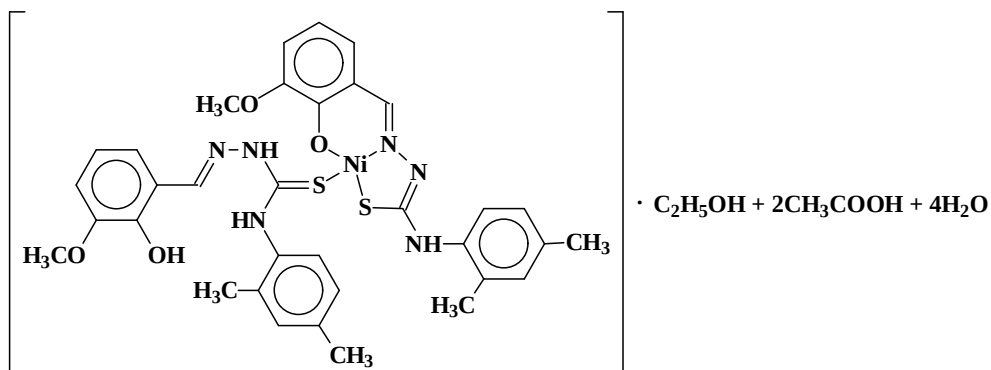
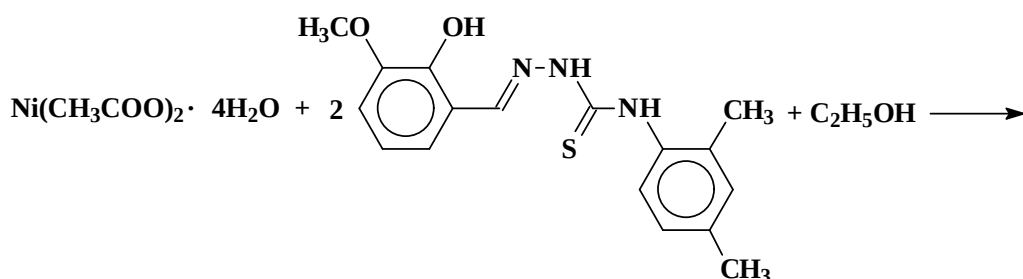
- 30 Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul revendicat a activității antioxidative cu IC_{50} egală cu $0,5 \mu\text{mol/L}$ și care este de două ori mai efektiv decât prototipul. Proprietatea stabilită a [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvatului este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lui în calitate de antioxidant.

Analiza comparativă a compusului revendicat cu prototipul demonstrează că ei se deosebesc prin aceea, că în analogul structural atomul central de cupru(II) este înlocuit cu nichel(II), micșorând numărul de coordinare al atomului central de la 6 până la 4. Prototipul reprezintă un compus binuclear și conține în componența sa streptocidă. În afară de aceasta, fragmentul picolidenic al azometinei în prototip este înlocuit cu cel 3-metoxisalicilidenic, iar în poziția 4 a fragmentului tiosemicarbazidic radicalul fenil este înlocuit cu radicalul 2,4-dimetilfenilic. Datorită acestor particularități în structura compusului revendicat se realizează o combinaire nouă de legături chimice deja cunoscute.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de antioxidant se propune [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvat care conține o combinaire nouă de legături chimice deja cunoscute.

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

[4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel monoetanolsolvatul revendicat se obține la interacțiunea soluției etanolicе fierbinți (50...55°C) ale tetrahidratului diacetatului de nichel cu 4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida [N-2,4-dimetilfeniltiosemicarbazona 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehidei], luate în raport molar 1:2. Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme:



Mecanismul prezentei reacții este legat de faptul, că în timpul sintezei, în amestecul reactant, are loc adăuția la ionul de nichel(2+) a primei molecule de N-2,4-dimetilfeniltiosemicarbazona a 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehidei, care joacă rolul de ligand-O,N,S tridentat dublu deprotonat cu ajutorul acetat-ionilor prezenți în soluție. Ligandul coordonat crează un câmp cristalin puternic, care favorizează formarea particulei complexe intermediare plan-patratice. Al patrulea loc în ea ocupă atomul de sulf de la a doua molecula de tiosemicarbazona, care rămâne nedeprotonată. În rezultatul acestor procese are loc formarea complexului de nichel(II) revendicat, care reprezintă un nou tip de izomeri de legătură cu structură plan-patrată distorsionată.

Exemplu de obținere al [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvat.

Se amestecă 20 ml de soluție etanolică, care conține 20 mmol de N-2,4-dimetilfeniltiosemicarbazonă a 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehydei cu 10 mmol de $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dizolvat în 10 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 cărămizie, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu o cantitate mică de etanol, eter și uscate la aer. Randamentul produsului final alcătuiește 89% de la cel calculat teoretic.

S-a determinat, % : C -56,54; H -5,30; N- 10,87; Ni -7,57; S - 8,27. Pentru $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{NiO}_5\text{S}_2$ s-a calculat, % : C -56,78; H - 5,56; N- 11,04; Ni- 7,71; S - 8,42.

Benzile de absorbție în spectrul IR, cm^{-1} : $\nu(\text{NH}) = 1529$; $\nu(\text{C}=\text{N}) = 1605, 1600, 1585$; $\nu(\text{C}-\text{OH}) = 1270$; $\nu(>\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}<) = 1565$; $\delta(\text{C}-\text{N}) = 1201, 1180$; $\nu(\text{C}=\text{S}) = 1047$; $\nu(\text{C}-\text{N}) = 981, 957, 930, 893$; $\nu(\text{C}-\text{O}) = 1220, 1201$; $\nu(\text{C}-\text{S}) = 745$; $\nu(\text{Ni}-\text{N}) = 552, 433$; $\nu(\text{Ni}-\text{S}) = 468, 460$; $\nu(\text{Ni}-\text{O}) = 444$.

Compusul complex revendicat este diamagnetic.

Procecul de obținere al compusului declarat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile. 4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida a fost sintetizată după metoda descrisă în brevetul MD4452 B1 2016.12.31. Complexul revendicat este stabil în contact cu aerul, puțin solubil în apă și alcooli alifatici, este solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.

La recristalizarea [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotoamido-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvatului din soluție etanolică au fost obținute monocristale, 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 celei 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 anisotropică pentru toți atomii cu masă molară mai mare decât a atomului de hidrogen. Atomii de hidrogen au fost introduși în poziții idealizate ($d_{\text{CH}} = 0.96 \text{ \AA}$) utilizând modelul pivot cu fixarea parametrilor isotropici de deplasare la valoarea de 120% față de valorile respective ale atomilor de carbon cu care sunt legați. Formula empirică a compusului investigat $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{NiO}_5\text{S}_2$, grupa spațială C 2/c, parametrii celei elementare [A] : $a = 38,146(4)$; $b = 9,6601(8)$, $c = 19,7446(12)$; $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 91,613(7)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$; volumul - $7272,87 \text{ \AA}^3$. A fost stabilit (figură, care reprezintă structura compusului revendicat), că nodul coordinativ al compusului complex investigat are structură plan-pătrată distorsionată. În sfera internă a atomului central se află două molecule de tiosemicarbazonă, care îndeplinesc diferite funcții. Prima moleculă de azometină este tridentată, coordinându-se la atomul de nichel prin atomii de oxigen fenolic deprotonat [$d(\text{C}-\text{O}) = 1,304 \text{ \AA}$], atomul de azot azometinic și atomul de sulf, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. Această tiosemicarbazonă se află în sfera internă în forma tiolică deprotonată. În favoarea acestui fapt vorbește distanța $d(\text{C}-\text{S}) = 1,738 \text{ \AA}$, care corespunde legăturii ordinare și distanța $d(\text{C}-\text{N})_{\text{carbamidic}} = 1,291 \text{ \AA}$, care corespunde legăturii duble delocalizate. În componența tiosemicarbazonei monodentate distanța $d(\text{C}-\text{S}) = 1,710 \text{ \AA}$ corespunde legăturii duble, iar distanța $d(\text{C}-\text{N})_{\text{carbamidic}}$ corespunde legăturii ordinare. În afară de aceasta, în ligandul monodentat distanța $d(\text{C}-\text{O})_{\text{fenolic}} = 1,358 \text{ \AA}$ corespunde fragmentului fenolic cu atomul de oxigen protonat. Alte distanțe interatomice și unghiurile de valență sunt standarde pentru compușii din această clasă. Structura stabilită pentru compusul revendicat de nichel conform clasificării corespunde unui nou tip de izomeri de legătură.

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

Esența invenției poate fi confirmată prin următoarele date experimentale.

Exemplu al utilizării [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotoamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvatului în calitate de antioxidant.

- 5 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 compus complex revendicat în concentrații diferite și se determină absorbanta. Astfel se măsoară capacitatea substanței de a interacționa cu radicalii 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 soluție tampon de acetat salin (0,02 M, pH 6,5). Au fost preparate diluții de complex în DMSO. După aceea, 20 μL din fiecare diluție a substanței experimentale au fost transferate într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri și 180 μL de soluție de lucru ABTS^{•+} a fost adăugată cu modulul de distribuie a cititorului hibrid (Synergy H1, Biotek). Acest amestec se agită 15 s. Schimbarea absorbantei a fost măsurată la lungimea de undă de 734 nm după 30 min de incubare la 25°C. 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 μM. 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 [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamid-S]-[4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvatului sunt prezentate în Tabel, din care se observă, că în diapazonul concentrațiilor 10^{-5} ... 10^{-7} mol/L compusul cercetat posedă concentrația de inhibare semimaximală $IC_{50} = 0,5 \mu\text{mol/L}$. Datele obținute indică, că acest compus coordiativ, după activitatea antioxidantă, depășește de 2 ori caracteristicile analoage ale celui mai activ antioxidant sintetic (prototipului).

- 30 Proprietățile depistate ale [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvatului prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de antioxidanți sintetici.

Tabel

Activitatea de captare a radicalilor ABTS după 30 min

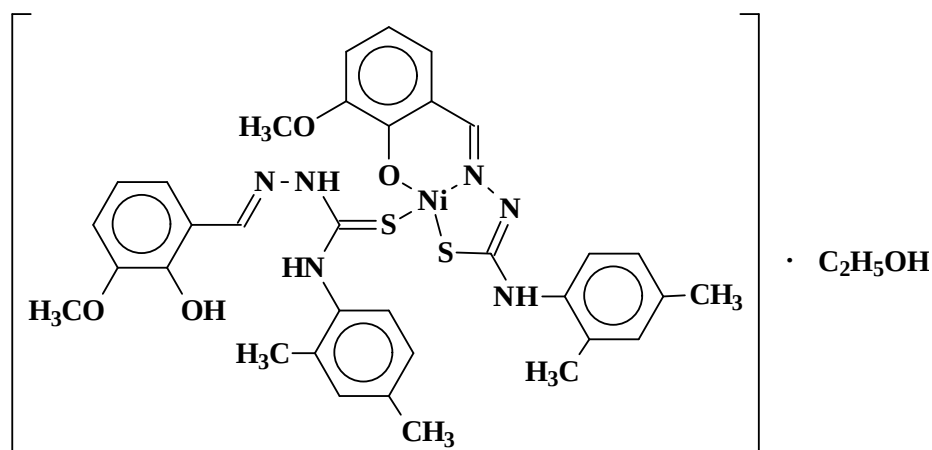
Compusul	IC_{50} , $\mu\text{M/L}$
Di(μ-s)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-[2-picoliden-4-fenil-tiosemicarbazidato-(1-)]-cupru(II)} (prototipul) [1]	1,0
[4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotoamido(2-)-O,N,S]nichel(II) monoetanolsolvat	0,5

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 4469 B1 2017.03.31

(57) Revendicări:

1. Compusul [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamid-S][4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamido(2-)-O,N,S]-nichel(II) monoetanolsolvat cu formula:



2. Compus, conform revendicării 1, pentru utilizare în calitate de antioxidant.

