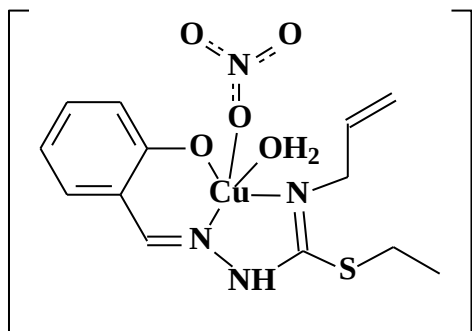


Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compușilor coordinativi de cupru biologic activi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acești complecși, servind ca captatori ai radicalilor superoxizi $O_2^{\cdot-}$ (RSO), pot găsi aplicare în medicină în calitate de inhibitori ai exacerbării proceselor de afectare a moleculelor organice cu RSO, prevenind astfel multiple acțiuni nocive asupra organismului uman.

Din compușii chimici care conțin în componența sa fragmentul 4-alitiosemicarbazidic și care inhibă radicalii superoxizi, cel mai înalt efect antiradicalic a fost obținut în cazul nitrato-[2-({2-[(etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)-carbonoimidoil]hidraziniliden}metil)fenolato]aquacupru (prototipul și analogul structural) [1] cu formula:

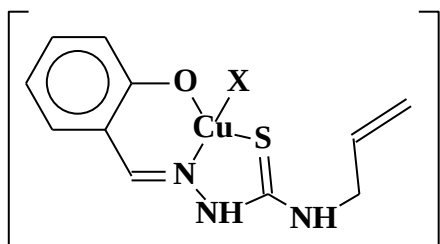


După activitatea antiradicalică acest compus este de 71 ori mai efectiv decât quercetina, utilizată în calitate de etalon pentru determinarea activității de inhibare a radicalilor superoxizi și este de 1,15 ori mai efectiv decât cel mai activ inhibitor sintetic antiradicalic descris în literatură [Hui-Lu Wu, Xingcai Huang, Bin Liu, Fan Kou, Fei Jia, Jingkun Yuan, Ying Bai. Copper(II) complex based on a V-shaped ligand, 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridine: synthesis, crystal structure, DNA-binding properties, and antioxidant activities. Journal of Coordination Chemistry, 2011, vol. 64 (24), pag. 4383-4396].

Dezavantajul nitrato-[2-({2-[(etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)-carbonoimidoil]hidraziniliden}metil)fenolato]aquacupru constă în faptul, că el nu posedă o activitate antiradicalică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în propunerea unui șir de compuși coordinativi, care extind arsenalul de compuși cu activitate înaltă de inhibare a radicalilor superoxizi.

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitori sintetici ai radicalilor superoxizi a cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul I), bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul II) și nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul III) cu formula generală:



I - III

X = Cl (I), Br (II), NO_3^- (III)

Procedeul de sinteză a compușilor I-III, structura, proprietățile fizico-chimice, antimicrobiene și anticancer sunt descrise în literatură [Gulea A., Zariciuc E., Graur V., Tsapkov V., Rudic V. The study of antimicrobial and antitumor activity of biometal coordination compounds of substituted salicylaldehyde 4-allylthiosemicarbazones. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology, 3rd edition, Chișinău, Moldova, october 12-13, 2016. Abstracts, p. 67-68].

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compușii I-III revendicați a activității antiradicalice cu concentrația semimaximală de inhibare (IC_{50}) în diapazonul 0,55...0,12 $\mu\text{mol/L}$, care este de 1,6...7,2 ori mai înaltă decât activitatea prototipului și analogului structural [1]. Proprietatea stabilită a compușilor I-III sus-numiți este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lor în calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi.

Analiza comparativă a compușilor I-III cu prototipul și analogul structural demonstrează că ei se deosebesc prin aceea, că în comparație cu prototipul modul de coordonare al fragmentului izotiosemicarbazidic este schimbat de la azotul N^4 tiocarbamidic la sulful tionic și în compușii revendicați se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Esența invenției poate fi confirmată prin următoarele date experimentale.

Exemplu al utilizării cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru, bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru și nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compuşilor I-III) în calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi.

Activitatea de captare a radicalului superoxid a fost determinată prin metoda spectrofotometrică, descrisă în literatură [Fontana M., Mosca L., Rosei, M.A. Interaction of enkephalins with oxyradicals. Biochemical Pharmacology, 2001, vol. 61, pp. 1253-1257; Robak J., Gryglewski R. J. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. Biochemical Pharmacology, 1988, vol. 37 (5), pp. 837-841] cu unele modificări.

Metoda se bazează pe generarea radicalilor superoxizi de către sistemul fenazin metosulfat/nicotinamidă adenină dinucleotid redusă (FMS/NADH) prin oxidarea NADH, iar radicalii superoxizi reduc sarea de tetrazoliu - Nitro Blue Tetrazolium (NBT) în formazan de culoare albastră-purpurie.

Metoda se efectuează în felul următor. Se pregătesc diluțiile de lucru ale substanțelor testate în soluție de DMSO în concentrațiile 0,1; 1,0; 10,0; 100 µM. Apoi, se pipetează câte 20 µL de fiecare diluție de lucru ale substanțelor testate în godeurile microplăcii cu 96 godeuri. Fiecare diluție se toarnă în duplicat. După aceasta se adaugă câte 180 µL de mediu (amestec) de reacție ce conține soluție de 20 mM tampon fosfat (pH 7,4), NADH (0,1 mM) și NBT (0,09 mM). Proba de control se montează la fel ca și proba de cercetat, dar în loc de diluții ale substanțelor de testat se toarnă o cantitate echivalentă de soluție de 20 mM tampon fosfat (pH 7,4). Se pregătește în duplicat. Se amestecă și se măsoară absorbanta la 560 nm [A₀]. Apoi, în toate godeurile se adaugă câte 20 µL de soluție de 8,0 µM fenazin metosulfat (FMS), se agită 10-15 s și se incubează la temperatura camerei 5 min. Se măsoară din nou absorbanta Abs la 560 nm [A₁]. În calitate de substanță de referință se folosește quercetina în concentrațiile 0,1; 1,0; 10,0; 100 µM.

Activitatea de captare a radicalilor superoxizi (ACRS) se calculează (%) după formula:

$$\text{ACRS (\%)} = [100 - (A_1/A_0)] \times 100.$$

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților inhibitoare ale compuşilor I-III sunt prezentate în tabel, din care se observă, că ei manifestă activitate antiradicalică în diapazonul IC₅₀ egală cu 0,55...0,12 µmol/L, care este de 1,6...7,2 ori mai înaltă decât activitatea prototipului și analogului structural [1]. După cum se vede din tabel, IC₅₀ a compuşilor studiați depinde de natura acido-ligandului din sfera internă a complexului și crește în următorul șir: Cl⁻ < Br⁻ < NO₃⁻.

Proprietățile depistate ale cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru, bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru și nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori sintetici ai radicalilor superoxizi.

Tabel

Activitatea antiradicalică a compuşilor revendicați în comparație cu prototipul și analogul structural

Compusul	IC ₅₀ , µmol/L
Nitrato-2-{{2-((etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)carbonoimidoil)-hidraziniliden}metil}fenolato]aquacupru (prototipul și analog structural) [1]	0,86
Cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul I)	0,55
Bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul II)	0,13
Nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul III)	0,12