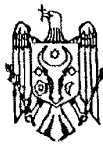




MD 4899 B1 2024.08.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4899** (13) **B1**
(51) Int.Cl: A61K 31/4402 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 213/48 (2006.01)
C07F 1/08 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

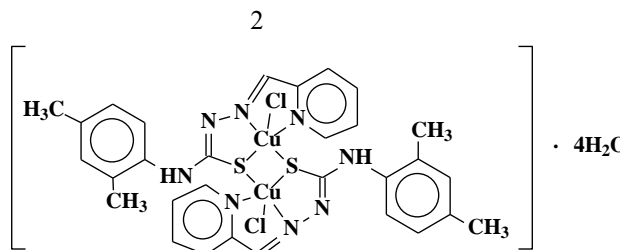
În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2023 0021 (22) Data depozit: 2023.07.03	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.08.31, BOPI nr. 8/2024
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; ȚAPCOV Victor, MD; ISTRATI Dorin, MD; POIRIER Donald, CA (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat

(57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la utilizarea unui compus coordinativ de cupru biologic activ, din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție, în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat. Compusul coordinativ poate găsi aplicare în medicină în calitate de preparat citostatic la profilaxia și tratarea cancerului la ficat.

Conform invenției, se revendică utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat a di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat cu formula:



Compusul menționat extinde arsenalul de inhibitori ai celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, cu activitate biologică înaltă.

Revendicări: 1

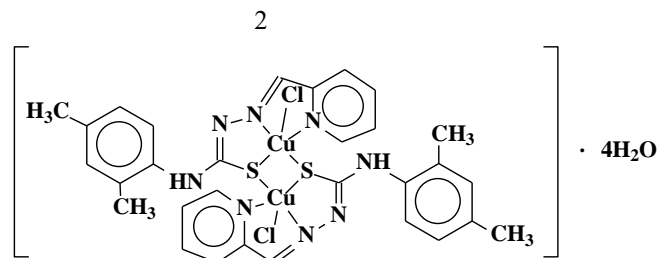
MD 4899 B1 2024.08.31

(54) Use of di(μ -S)-bis{chloro-[N-(2,4-dimethylphenyl)-N'-(pyridin-2-ylmethylidene)carbamohydrazone]thioate}copper} tetrahydrate as a liver cancer HepG2 cell proliferation inhibitor

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, in particular to the use of a biologically active coordination compound of copper of the class of transition metal thiosemicarbazones, as a liver cancer HepG2 cell proliferation inhibitor. The coordination compound can find application in medicine as a cytostatic drug in the prevention and treatment of liver cancer.

According to the invention, claimed is the use as a liver cancer HepG2 cell proliferation inhibitor of di(μ -S)-bis{chloro-[N-(2,4-dimethylphenyl)-N'-(pyridin-2-ylmethylidene)carbamohydrazone]thioate}copper} tetrahydrate of the formula:



The said compound expands the arsenal of inhibitors of liver cancer HepG2 cells with high biological activity.

Claims: 1

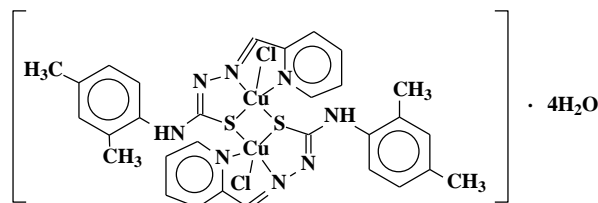
(54) Применение ди(μ -S)-бис{хлоро-[N-(2,4-диметилфенил)-N'-(пиридин-2-илметилиден)карбамогидразонотиоат]медь} тетрагидрата в качестве ингибитора пролиферации клеток HepG2 рака печени

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине, в частности к применению биологически активного координационного соединения меди, класса тиосемикарбазонатов переходных металлов, в качестве ингибитора пролиферации клеток HepG2 рака печени. Координационное соединение может найти применение в медицине в качестве цитостатического препарата при профилактике и лечении рака печени.

Согласно изобретению, заявлено применение в качестве ингибитора пролиферации клеток HepG2 рака печени ди(μ -S)-бис {хлоро-[N-(2,4-диметилфенил)-N'-(пиридин-2-

илметилиден)карбамогидразонотиоат]медь} тетрагидрата формулы:



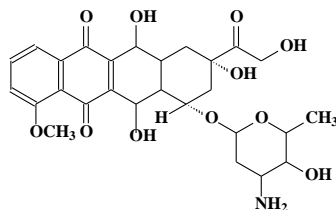
Упомянутое соединение расширяет арсенал ингибиторов клеток HepG2 рака печени, с высокой биологической активностью.

П. формулы: 1

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

5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea unui compus coordinativ de cupru biologic activ din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat și poate găsi aplicare în medicină ca preparat citostatic la profilaxia și tratarea cancerului la ficat.

10 În practica medicală pentru profilaxia și tratarea cancerului pe larg se utilizează doxorubicina (*doxorubicinum*, DOXO) – unul din antibioticele din grupa antraciclinelor [1], care are următoarea formulă:

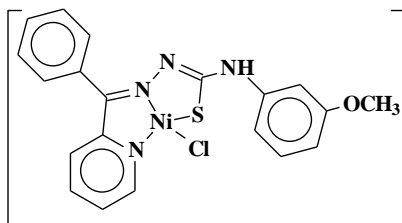


15 Mecanismul acțiunii doxorubicinei este bazat pe intercalarea celulelor ADN. Ea se aplică în cazul cancerului glandei mamare, sarcomului țesuturilor moi, sarcomului osteogen, tumorii lui Young, cancerului pulmonar, limfosarcomului, cancerului ovarian, cancerului pavimentos, cancerului vezicii urinare, tumorii lui Wilms, cancerului glandei tiroide, cancerului la ficat și diverselor leucoze.

La concentrația 10^{-5} mol/L doxorubicina inhibă creșterea și multiplicarea a 76,7%, la concentrația 10^{-6} mol/L – 28,6% din celulele HepG2 ale cancerului la ficat, iar la concentrația 10^{-7} nu manifestă proprietăți antiproliferative.

20 Dezavantajul doxorubicinei constă în faptul, că întrebuințarea ei este limitată, deoarece DOXO nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, precum și datorită efectelor secundare, pe care le cauzează: în procesul tratării cu acest preparat se pot dezvolta cardiomiopatia, dureri în regiunea cardiacă, dereglarea ritmului inimii, insuficiența cardiacă și hipotensiunea.

25 Din compușii cordinativi ai biometalelor care conțin în componența sa fragmentul tiosemicarbazidic și care inhibă proliferarea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, descriși în literatură, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel (analogul structural) [2] cu formula:

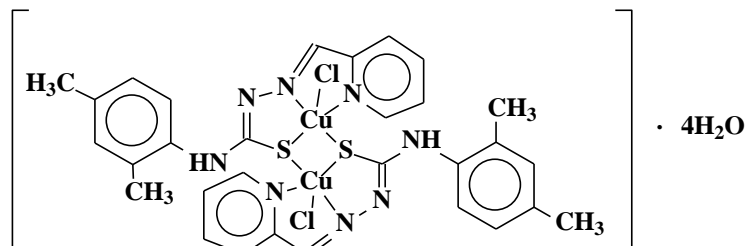


30 La concentrații 10^{-5} - 10^{-6} mol/L compusul dat după partea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat inhibate depășește de 1,3-1,4 ori activitatea antiproliferativă ale doxorubicinei, utilizată în medicină.

Dezavantajul analogului structural constă în faptul, că el nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, având concentrația de inhibare semimaximală (IC_{50}) egală cu $10,4 \mu\text{M/L}$ și până acum nu a găsit o aplicare în medicină.

35 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat cu activitate citostatică înaltă.

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat a di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat cu formula:



Compusul coordinativ dat, procedeul lui de sinteză, proprietățile fizico-chimice sunt descrise în brevetul MD 4112 B1 2011.05.31. A fost stabilit că, el manifestă un spectru larg de activitate antimicrobiană, dar din cauza activității joase până acum nu a găsit aplicare în medicină.

5 Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul dat a activității citostatice față de celulele HepG2 ale cancerului la ficat, care după IC_{50} depășește de 14,9 ori caracteristica dată a cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel (analogul structural).

10 Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat se propune un compus coordinativ de cupru(II), care conține o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Exemplu al utilizării di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.

15 **Cultivarea celulelor.** Celulele de hepatom uman HepG2 au fost crescute în mediul DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) conținând 100 μ mol/L aminoacizi neesențiali, 100 U/mL penicilină, 100 μ g/mL streptomycină și 10% ser fetal bovin în atmosferă umidificată (5% CO_2 , 37°C). Tipic, 10^6 celule per un godeu au fost însămânțate pe plăci cu 6 godeuri și cultivate până la o confluență de 70-80%.

20 **Testarea proliferării celulelor.** Viabilitatea celulelor a fost stabilită cu ajutorul testului MTT. Aproximativ 2000 de celule de HepG2 au fost introduse în fiecare godeu al unei plăci cu 96 godeuri. După incubare peste noapte, celulele au fost tratate cu ds ARN timp de 48-72 ore. La momente diferite de timp după tratament, mediul a fost îndepărtat și MTT (20 μ L de 5 mg/mL) a fost adăugat în fiecare godeu și incubat la 37°C timp de 4 ore. Plăcile au fost centrifugate, iar precipitatele de formazan, colorate în violet, au fost dizolvate în 150 μ L de dimetilsulfoxid. Absorbanta a fost măsurată la 490 nm utilizând cititorul de absorbanta MRX II (Dynex Technologies, Chantilly, Virginia, SUA). Reducerea viabilității celulelor de HepG2 tratate cu ds Control au fost exprimate ca procent față de celule simulate. Celulele simulate au fost considerate a fi de 100% viabile.

25 Datele experimentale obținute în urma studiului di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat declarat în calitate de inhibitor al multiplicării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, demonstrează, că acest compus la concentrația 10^{-5} mol/L inhibă creșterea și multiplicarea a 100%, la 10^{-6} mol/L – 92,7% , iar la concentrația 10^{-7} mol/L - 6,3% de celule HepG2 ale cancerului la ficat. Concentrația semimaximală de inhibare IC_{50} pentru compusul coordinativ declarat alcătuiește 0,7 μ M/L. Datele experimentale obținute indică, că acest compus, după IC_{50} depășește de 4 ori activitatea citostatică a doxorubicinei față de celulele HepG2 ale cancerului la ficat și de 14,9 ori ale analogului structural.

35 Proprietățile depistate ale di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.

Tabel

40 **Partea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat inhibitate, %**

Compusul	Concentrație, mol/L			IC_{50} , μ M/L
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	
DOXO [1]	76,7	28,6	0	2,8
Cloro-[2-fenil(piridin-2-il)metanon-4-(3-metoxifenil)tiosemicarbazono]nichel (analogul structural) [2]	100,0	40,1	0	10,4
Di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat	100,0	92,7	6,3	0,7

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, М: Новая волна, 2008, р. 1000.
2. MD 4300 B1 2014.08.31

(57) Revendicări:

Utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazono-
tioat]cupru} tetrahidrat în calitate de inhibitor al proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.