



MD 4903 B1 2024.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4903** (13) **B1**
(51) Int.Cl: A61K 31/63 (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61K 31/175 (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 0022 (22) Data depozit: 2023.07.07	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.10.31, BOPI nr. 10/2024
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; ȚAPCOV Victor, MD; POIRIER Donald, CA; LOZAN Vasile, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

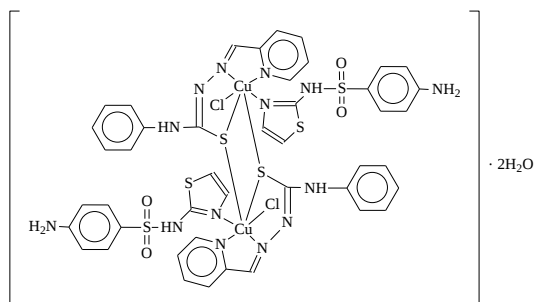
(54) Utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1

(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 activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1 și poate găsi aplicare în medicină ca preparat citostatic la profilaxia și tratarea cancerului prostatei.

Conform invenției, se revendică utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat cu formula:

MD 4903 B1 2024.10.31



în calitate de inhibitor al activității enzimei 17β-HSD Tipul 1, care stimulează proliferarea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.

După concentrația semimaximală de inhibare IC₅₀ compusul menționat depășește de 94 ori caracteristica dată a celei mai apropiate soluții.

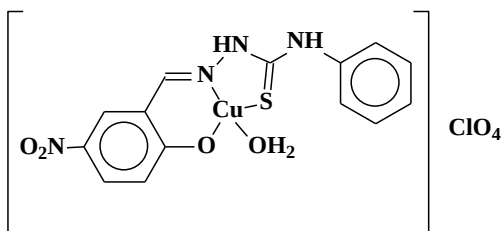
Revendicări: 1

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

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 activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1 și poate găsi aplicare în medicină ca preparat citostatic la profilaxia și tratarea cancerului prostatei.

Ultimul pas în formarea tuturor androgenilor și estrogenilor, premergător începutului cancerului prostatei, este favorizat de către 17 β -hidroxisteroidul dehidrogenazei (17 β -HSD), care face parte din categoria enzimelor.

Din substanțele chimice descrise în literatură, care inhibă activitatea enzimei 17 β -HSD Tipul 1 - stimulator al procesului de proliferare a celulelor cancerului prostatei, cel mai înalt efect a fost obținut în cazul percloratului de 5-nitrosaliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aqua cupru(2+) (prototipul și analogul structural) [1], cu următoarea formulă:

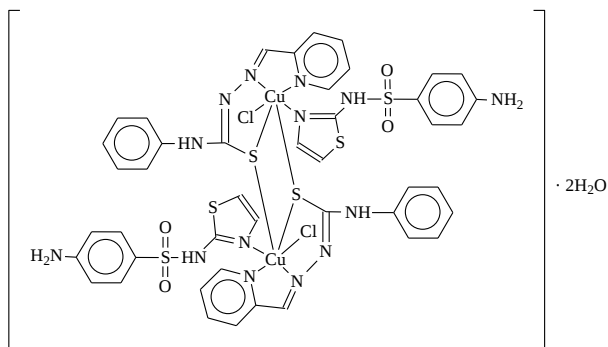


La concentrații 10⁻⁵-10⁻⁷ mol/L compusul dat, după partea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei inhibate, depășește de 1,3-1,8 ori caracteristicile citostatice ale estronului, care se aplică în medicină la profilaxia și tratarea cancerului prostatei.

Dezavantajul [1] constă în faptul, că el nu posedă o activitate anticancer suficient de înaltă, având concentrația de inhibare semimaximală (IC₅₀) egală cu 9,4 μ M și până acum nu a găsit aplicare în medicină.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1, care stimulează proliferarea celulelor cancerului prostatei cu activitate biologică înaltă.

Esența invenției constă în utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat cu formula:



în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1, care stimulează proliferarea celulelor cancerului prostatei.

Compusul coordinativ dat, procedeul lui de sinteză și proprietățile fizico-chimice sunt descrise în literatură [Гуля А. П., Спыну С. Н., Самбриш Л., Цапков В. И. Смешаннолигандные комплексы меди, никеля и цинка, содержащие сульфаниламиды и тиосемикарбазон или 4-фенилтиосемикарбазон пиридин-2-карбоксильдегида. XXIII Международная Чугаевская Конференция по Координационной Химии, Одесса, 4-7 сентября 2007, Тезисы докладов, с. 379].

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul dat a activității antiproliferative față de celulele LNCaP ale cancerului prostatei, datorită inhibării activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1. După concentrația semimaximală de inhibare IC₅₀ compusul revendicat depășește de 94 ori caracteristica dată a percloratului de 5-nitrosaliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aqua cupru(2+) [1].

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1 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-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1.

Celulele de Human Embryonic Kidney (HEK)-293 transferate cu ADNc codare pentru 17 β -HSD Tipul 1 au fost dezmembrate pentru a degaja enzima brută ce a fost utilizată ca sursă de enzime fără a fi mai apoi purificată. Această probă s-a efectuat în felul următor: întâi s-a preparat soluția inițială (soluția mamă) ce conținea substratul radiomarcant [¹⁴C]-E₁ (0,1 μ M), NADH (1mM) în soluție-tampon de fosfat (pH 7,4, 50 mM KH₂PO₄, EDTA 1mM, 20% glicerină). Pentru a testa s-au luat 890 μ L de soluție inițială și 10 μ L de soluție de inhibitor, dizolvate în alcool etilic, s-au adăugat într-un tub. Reacția a început prin adăugarea a 100 μ L de soluție de enzimă brută obținută după cum s-a descris mai sus. Durata de incubare a amestecului a fost de 1 oră la 37°C, iar la sfârșitul reacției s-a adăugat un exces de E₁ și E₂ neradiomarcant. Steroizii au fost extrași cu eter dietilic, iar solventul a fost înlăturat la presiune scăzută. Rămășițele au fost dizolvate în CH₂Cl₂, identificate pe o placă de silicagel (TLC, 20 x 20 cm x 0,2 cm, Kieselgel 60 F254) și spălate cu CH₂Cl₂/EtOAc (9:1). E₁ mai puțin polar și E₂ mai mult polar s-au identificat pe TLC ca două rânduri de picături vizibile la lumina UV. Pentru detectarea și determinarea cantității semnalelor radioactivității atribuite pentru [¹⁴C]-E₁ și [¹⁴C]-E₂ s-a folosit detectorul atomilor marcați (Sunny Vale, CA). Procentajul transformării [¹⁴C]-E₁ în [¹⁴C]-E₂ s-a calculat astfel:

$$\% \text{ trans.} = 100 \times [\text{E}_2] / ([\text{E}_1] + [\text{E}_2])$$

Prin urmare,

Procentajul inhibiției = 100 x [(% trans. a controlului - % trans. a compusului) / (% trans. controlului)].

Datele experimentale obținute în urma studiului proprietăților anticanceroase ale di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat declarate demonstrează, că la concentrația 10⁻⁵ M el inhibă 100%, la 10⁻⁶ M – 100%, iar la 10⁻⁷ M – 10,3% de celule ale cancerului prostatei. Datele obținute indică, că acest compus, după concentrația semimaximală de inhibare IC₅₀ depășește de 94 ori caracteristica dată a percloratului de 5-nitrosaliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquacupru(2+) [1].

Proprietățile depistate ale di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1, care stimulează proliferarea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.

Tabel

Partea de enzimă 17 β -HSD Tipul 1 inhibată, %

Compusul	Concentrație, μ M	Inhibare, % $\pm$ SD*	IC ₅₀ , μ M
Percloratul de 5-nitrosaliciliden-4-feniltiosemicarbazido(1-)aquacupru(2+)	10	100,0 $\pm$ 1	9,4
	1	85,0 $\pm$ 3	
	0,1	48,0 $\pm$ 4	
Di(μ -S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat	10	100 $\pm$ 1	0,1
	1	100 $\pm$ 2	
	0,1	10,3 $\pm$ 4	

*Notă: SD – devierea medie

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 3996 B1 2009.12.31

(57) Revendicări:

Utilizarea di(μ -S)-bis{cloro-[*N*-(fenil)-*N'*-(piridin-2-ilmetiliden)carbamoimidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 β -HSD Tipul 1, care stimulează proliferarea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.