



MD 4949 B1 2026.01.31

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4949** (13) **B1**  
(51) Int.Cl: **A61K 31/4402** (2006.01)  
**A61K 31/175** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**C07D 213/53** (2006.01)  
**C07C 337/08** (2006.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE

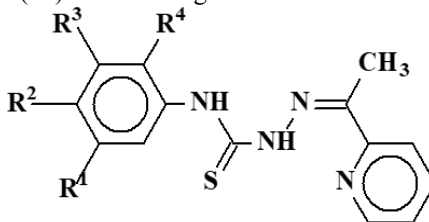
|                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 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 2024 0037<br>(22) Data depozit: 2024.11.01                                                                                                                                                                                                                 | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:<br>2026.01.31, BOPI nr. 1/2026 |
| (71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD<br>(72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; ȚAPCOV Victor, MD; GARBUZ Olga, MD; POIRIER Donald, CA; PAHONȚU Elena-Mihaela, RO<br>(73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD |                                                                                         |

(54) N-(dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamide în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat

## (57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la compuși organici biologic activi din clasa carbotioamidelor care pot fi utilizați în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat și pot găsi aplicare în medicină în calitate de precursori ai preparatelor citostatice pentru profilaxia și tratarea cancerului la ficat.

Conform invenției, se propun în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat compuși N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (I), N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (II) și N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (III) cu formula generală:



I - III

I:  $R^1 = R^4 = H, R^2 = R^3 = CH_3$ ;II:  $R^1 = R^2 = H, R^3 = R^4 = CH_3$ ;III:  $R^1 = R^3 = CH_3, R^2 = R^4 = H$ .

Compușii menționați extind arsenalul de inhibitori ai celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, cu activitate biologică înaltă.

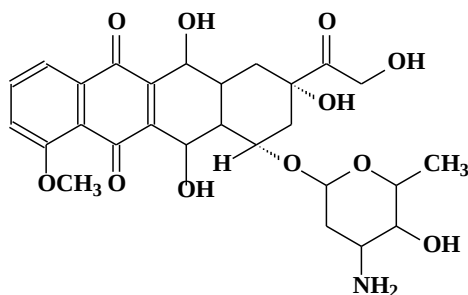
Revendicări: 1

MD 4949 B1 2026.01.31

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie și medicină, în particular la compuși organici biologic activi din clasa carbotioamidelor care pot fi utilizați în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat și pot găsi aplicare în medicină în calitate de precursori ai preparatelor citostatice pentru profilaxia și tratarea cancerului la ficat.

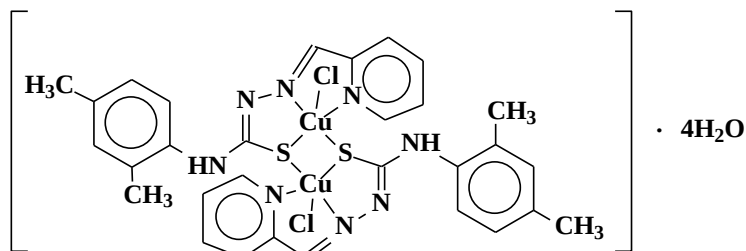
În medicină pentru tratarea diferitor forme de cancer pe larg se utilizează medicamentul doxorubicina (DOXO) – unul din antibioticele din grupa antraciclinelor (prototipul) [1], cu următoarea formulă:



Mecanismul acțiunii DOXO este bazat pe intercalarea celulelor ADN. Ea se aplică în cazul tratării cancerului glandei mamare, sarcomului țesuturilor moi, sarcomului osteogen, tumorii Young, cancerului pulmonar, limfosarcomului, cancerului ovarian, cancerului pavimentos, cancerului vezicii urinare, tumorii Williams, cancerului glandei tiroide, cancerului la ficat și diverselor leucoze. În diapazonul concentrațiilor  $10^{-5}$ - $10^{-7}$  mol/L doxorubicina inhibă creșterea și multiplicarea de la 76,7 până la 28,6% din celulele HepG2 ale cancerului la ficat și se caracterizează cu concentrația de inhibare semimaximală ( $IC_{50}$ ) egală cu 2,8  $\mu$ mol/L.

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 medicament se pot dezvolta cardiomiopatia, dureri în regiunea cardiacă, dereglarea ritmului inimii, insuficiența cardiacă și hipotensiune.

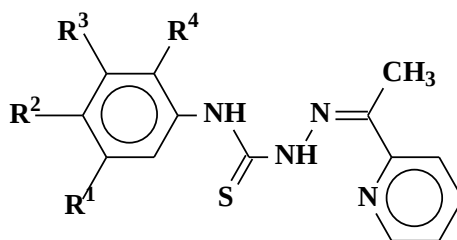
Din compușii chimici, care conțin în componența sa fragmentul carbotioamidic (tiosemicarbazidic) și care inhibă proliferarea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, descriși în literatură, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul di( $\mu$ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat (analogul structural [2]) cu formula:



Acest compus, după  $IC_{50}$  față de celulele HepG2 ale cancerului la ficat depășește de 4 ori activitatea citostatică a medicamentului doxorubicina, utilizată în medicină și în biochimie în calitate de etalon al activității antiproliferative.

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.

Conform invenției, se propun în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat compușii N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (tioamida I), N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (tioamida II) și N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (tioamida III) cu formula generală:



## I - III

I:  $R^1 = R^4 = H$ ,  $R^2 = R^3 = CH_3$ ;II:  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = R^4 = CH_3$ ;III:  $R^1 = R^3 = CH_3$ ,  $R^2 = R^4 = H$ .

Tioamidele I-III, procedeul lor de sinteză, proprietățile fizico-chimice și unele proprietăți biologice sunt descrise în literatură (Erhan Tatiana. Sinteza și studiul unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide cu proprietăți farmacofore. Teză de doctor în științe chimice, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, iunie 2024, p.105-114).

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compușii I-III a activității citostatice față de celulele HepG2 ale cancerului la ficat, care după  $IC_{50}$  depășește de 14-7 ori caracteristica dată a doxorubicinei, utilizată ca citostatic în medicină și de 3,5-1,75 ori activitatea a di( $\mu$ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidratului.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat se propun compușii organici I-III biologic activi din clasa carbotioamidelor, care conțin o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

**Exemplu al utilizării tioamidelor I-III în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.**

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

**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  $\mu$ 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  $\mu$ L de dimetilsulfoxid. Absorbanța a fost măsurată la 490 nm utilizând cititorul de absorbanță 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.

Datele experimentale obținute în urma studiului N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)-etiliden]hidrazin-1-carbotioamidei (I), N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazin-1-carbotioamidei (II) și N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazin-1-carbotioamidei (III) declarate în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, demonstrează (tabelul), că acești compuși în diapazonul concentrațiilor  $10^{-5} - 10^{-7}$  mol/L inhibă creșterea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, manifestând  $IC_{50}$  în diapazonul valorilor 0,2-0,4  $\mu$ mol/L. Datele experimentale obținute indică, că tioamidele I-III, după  $IC_{50}$  față de celulele HepG2 ale cancerului la ficat depășesc de 14-7 ori caracteristica dată a doxorubicinei, utilizată ca citostatic în medicină și de 3,5-1,75 ori depășesc activitatea di( $\mu$ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidratului.

Proprietățile depistate ale N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)-etiliden]hidrazin-1-carbotioamidei, N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidei și N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidei prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.

Concentrația de inhibare semimaximală ( $IC_{50}$ ,  $\mu$ mol/L) a compușilor declarați în comparație cu prototipul și analogul structural

| Compusul          | $IC_{50}$ , $\mu$ mol/L |
|-------------------|-------------------------|
| DOXO (prototipul) | 2,8                     |

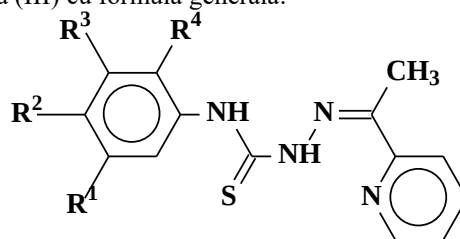
|                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Di( $\mu$ -S)-bis{cloro-[N-(2,4-dimetilfenil)-N'-(piridin-2-ilmetiliden)-carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat (analogul structural) | 0,7 |
| N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida I)                                                  | 0,4 |
| N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida II)                                                 | 0,2 |
| N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida III)                                                | 0,4 |

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, 2008, М.: Новая волна, р.1000.
2. MD 4899 B1 2024.08.31

**(57) Revendicări:**

N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (I), N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (II) și N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (III) cu formula generală:

**I - III**

**I:**  $R^1 = R^4 = H$ ,  $R^2 = R^3 = CH_3$ ;

**II:**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = R^4 = CH_3$ ;

**III:**  $R^1 = R^3 = CH_3$ ,  $R^2 = R^4 = H$ ;

pentru utilizare în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat.