MD 4949 C1 2026.08.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4949** (13) **C1**

(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 INVENŢIE

(21) Nr. depozit: a 2024 0037 **(22) Data depozit:** 2024.11.01	**(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:** 2026.01.31, BOPI nr. 1/2026

(71) Solicitant: INSTITUŢIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; ŢAPCOV Victor, MD; GARBUZ Olga, MD; POIRIER Donald, CA; PAHONŢU Elena-Mihaela, RO

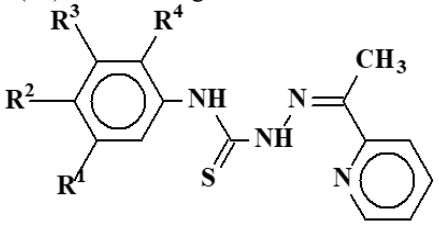
(73) Titular: INSTITUŢIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD

(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 utilizaţi în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat şi pot găsi aplicare în medicină în calitate de precursori ai preparatelor citostatice pentru profilaxia şi tratarea cancerului la ficat.

Conform invenţiei, se propun în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat compuşii 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) şi 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: $R^1 = R^3 = CH_3$, $R^2 = R^4 = H$.

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

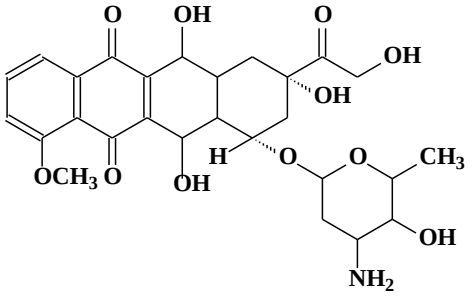
Revendicări: 1

MD 4949 C1 2026.08.31

Descriere:

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

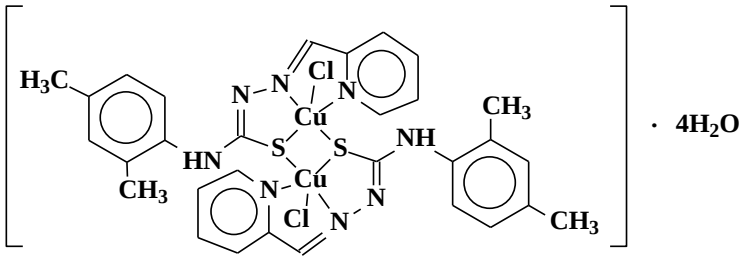
În medicină pentru tratarea diferitor forme de cancer pe larg se utilizează medicamentul doxorubicina (DOXO) – unul din antibioticele din grupa antraciclinelor (prototipul) [1], cu următoarea formulă:



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

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

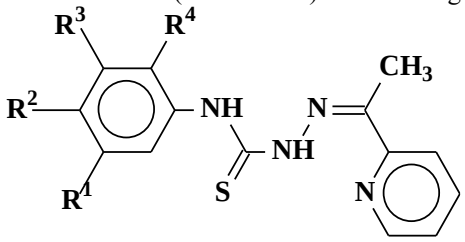
Din compuşii chimici, care conţin în componenţa sa fragmentul carbotioamidic (tiosemicarbazidic) şi care inhibă proliferarea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, descrişi în literatură, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obţinut în cazul di(μ-S)-bis{cloro-[*N*-(2,4-dimetilfenil)-*N'*-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat (analogul structural [2]) cu formula:



Acest compus, după IC_{50} faţă de celulele HepG2 ale cancerului la ficat depăşeşte de 4 ori activitatea citostatică a medicamentului doxorubicina, utilizată în medicină şi în biochimie în calitate de etalon al activităţii antiproliferative.

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

Conform invenţiei, se propun în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat compuşii 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) şi 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, proprietăţile fizico-chimice şi unele proprietăţi biologice sunt descrise în literatură (Erhan Tatiana. Sinteza şi studiul unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide cu proprietăţi farmacofore. Teză de doctor în ştiinţe chimice, Universitatea de Stat din Moldova, Chişinău, iunie 2024, p.105-114).

Rezultatul tehnic al invenţiei constă în stabilirea la compuşii I-III a activităţii citostatice faţă de celulele HepG2 ale cancerului la ficat, care după IC_{50} depăşeşte de 14-7 ori caracteristica dată a doxorubicinei, utilizată ca citostatic în medicină şi de 3,5-1,75 ori activitatea a di(μ-S)-bis{cloro-[*N*-(2,4-dimetilfenil)-*N'*-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidratului.

Rezultatul tehnic al invenţiei este condiţionat de faptul, că pentru prima dată în calitate de inhibitori ai proliferării celulelor HepG2 ale cancerului la ficat se propun compuşii organici I-III biologic activi din clasa carbotioamidelor, care conţin o combinare 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) conţinând 100 μmol/L aminoacizi neesenţiali, 100 U/mL penicilină, 100 μg/mL streptomicină şi 10% ser fetal bovin în atmosferă umidificată (5% CO_2, 37°C). Tipic, 10^6 celule per un godeu au fost însămânţate pe plăci cu 6 godeuri şi cultivate până la o confluenţă 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 şi MTT (20 μL de 5 mg/mL) a fost adăugat în fiecare godeu şi incubat la 37°C timp de 4 ore. Plăcile au fost centrifugate, iar precipitatele de formazan, colorate în violet, au fost dizolvate în 150 μL de dimetilsulfoxid. Absorbanţa a fost măsurată la 490 nm utilizând cititorul de absorbanţă MRX II (Dynex Technologies, Chantilly, Virginia, SUA). Reducerea viabilităţii celulelor de HepG2 tratate cu ds control au fost exprimate ca procent faţă de celule simulate. Celulele simulate au fost considerate a fi de 100% viabile.

Datele experimentale obţinute 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) şi 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 aceşti compuşi în diapazonul concentraţiilor 10^{-5} – 10^{-7}mol/L inhibă creşterea celulelor HepG2 ale cancerului la ficat, manifestând IC_{50} în diapazonul valorilor 0,2-0,4 μmol/L. Datele experimentale obţinute indică, că tioamidele I -III, după IC_{50} faţă de celulele HepG2 ale cancerului la ficat depăşesc de 14-7 ori caracteristica dată a doxorubicinei, utilizată ca citostatic în medicină şi de 3,5-1,75 ori depăşesc activitatea di(μ-S)-bis{cloro-[*N*-(2,4-dimetilfenil)-*N'*-(piridin-2-ilmetiliden)-carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidratului.

Proprietăţile 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 şi 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.

Tabel

Concentraţia de inhibare semimaximală (IC_{50}, μmol/L) a compuşilor declaraţi în comparaţie cu prototipul şi analogul structural

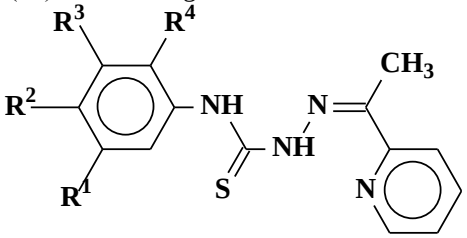
Compusul	IC_{50}, μmol/L
DOXO (prototipul)	2,8
Di(μ-S)-bis{cloro-[*N*-(2,4-dimetilfenil)-*N'*-(piridin-2-ilmetiliden)-carbamohidrazonotioat]cupru} tetrahidrat (analogul structural)	0,7
N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida I)	0,4
N-(2,3-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida II)	0,2
N-(3,5-dimetilfenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (tioamida III)	0,4

(56) Referinţe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, 2008, М.: Новая волна, p.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) şi 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.

Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală
str. Andrei Doga, nr. 24, bloc 1, MD-2024, Chişinău, Republica Moldova