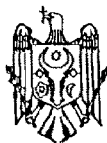




MD 4215 C1 2013.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4215** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int.Cl: *C07C 251/82* (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
C07D 231/06 (2006.01)
A61K 31/33 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2012 0059 (22) Data depozit: 2012.07.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.04.30, BOPI nr. 4/2013
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: BARBĂ Nicanor, MD; GULEA Aurelian, MD; POPUȘOI Ana, MD; JALBĂ Angela, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

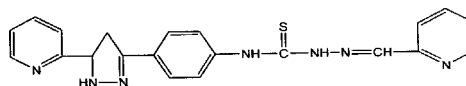
(54) **Inhibitor al leucemiei mieloide umane în bază de N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamidă**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimia organică, și
anume la sinteza compușilor biologic activi din
grupa hidrazincarbotoamidelor cu nuclee
heterociclice care pot fi utilizați pentru
profilaxia și tratamentul leucemiei mieloide
umane.

Esența invenției constă în aceea că în
calitate de inhibitor al leucemiei mieloide
umane (celule HL-60) se propune un compus
nou N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pira-

2
zol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazin-
carbotoamidă cu formula:



Compusul revendicat posedă proprietăți de
inhibitor al leucemiei mieloide umane.

Revendicări: 2

MD 4215 C1 2013.11.30

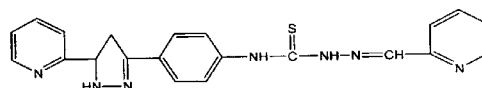
(54) Inhibitor of human myeloid leukemia based on N-(4-(5-(pyridin-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenyl)-2-(pyridin-2-ylmethylene)-hydrazine-carbothioamide

(57) Abstract:

The invention relates to organic chemistry, namely to the synthesis of biologically active compounds from the group of hydrazine-carbothioamides with heterocyclic nuclei which can be used for prevention and treatment of human myeloid leukemia.

Summary of the invention consists in that as an inhibitor of human myeloid leukemia (HL-60 cells) is proposed a new compound N-(4-(5-

(pyridin-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenyl)-2-(pyridin-2-ylmethylene)-hydrazinecarbothioamide with the formula:



The claimed compound possesses inhibitory properties of human myeloid leukemia.

Claims: 2

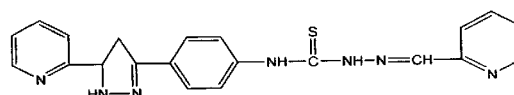
(54) Ингибитор миелоидной лейкемии человека на основе N-(4-(5-(пиридин-2-ил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил)фенил)-2-(пиридин-2-илметил)-гидразинкарботиоамида

(57) Реферат:

Изобретение относится к органической химии, а именно к синтезу биологически активных соединений из группы гидразинкарботиоамидов с гетероциклическими ядрами, которые могут быть использованы для профилактики и лечения миелоидного лейкоза человека.

Сущность изобретения заключается в том, что в качестве ингибитора миелоидного лейкоза человека (HL-60 клеток)

предлагается новое соединение N-(4-(5-(пиридин-2-ил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил)фенил)-2-(пиридин-2-илметил)-гидразинкарботиоамида с формулой:



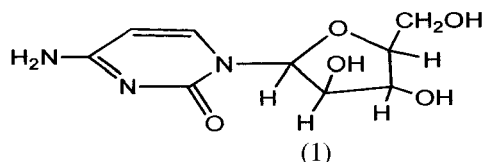
Заявленное соединение обладает ингибирующими свойствами миелоидного лейкоза человека.

П. формулы: 2

Descriere:

Invenția se referă la chimia organică, și anume la sinteza compușilor biologic activi din grupa hidrazincarbotoamidelor cu nucleee heterociclice, care pot fi utilizați pentru profilaxia și tratamentul leucemiei mieloide umane.

- 5 In practica medicală pentru tratarea și profilaxia leucozelor se aplică pe larg citarabinul (*cytarabinum*) - 4-amino-1-β-D-arabinofuranozil-2-(1N)-pirimidinon (1) cu următoarea structură:



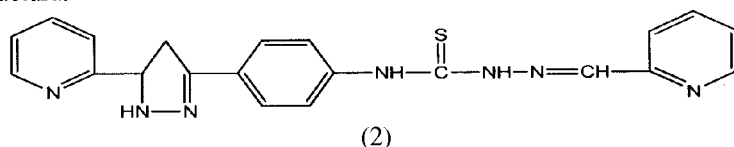
10

La concentrația de 10^{-5} mol/l acest compus inhibă creșterea și multiplicarea a 100% de celule HL-60 ale leucemiei mieloide umane, iar la concentrația de 10^{-6} numai 25% [1].

- 15 Dezavantajul utilizării acestui preparat citostatic constă în provocarea unor efecte secundare, cum sunt: grețuri, vomă, inapetență, stomatită etc.

Problema pe care o soluționează invenția propusă constă în majorarea numărului de inhibitori ai leucemiei mieloide umane cu activitate biologică înaltă la concentrații mai mici ale preparatului.

- 20 Esența invenției constă în aceea că în calitate de inhibitor al leucemiei mieloide umane (celule HL-60) se propune un compus nou N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamida (2) cu următoarea structură:



25

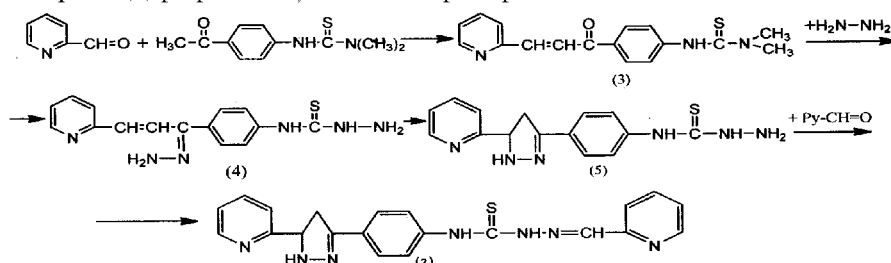
Proprietățile și procedeul de obținere a acestui compus nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în stabilirea la compusul (2) menționat a activității anticancerigene care depășește de 2.5 ori la concentrația de 10^{-6} mol/l și de aproximativ 58 ori la concentrația de 10^{-7} mol/l caracteristicile anologice ale 4-amino-1-β-D-arabinofuranozil-2-(1N)-pirimidinonului (1).

- 30 Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane se propune N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamida (2), care conține o combinație nouă de legături chimice și nucleee heterociclice deja cunoscute.

35

Compusul (2) propus se obține în trei etape după următoarea schemă:



- 40 La început prin condensarea 2-formilpiridinei cu 3-(4-acetilfenil)-1,1-dimetiltiuree în mediu bazic la temperatura camerei se obține 1,1-dimetil-3-(4-(3-(piridin-2-il)acrilil)fenil)tiuree (3) cu un randament de 89%. În continuare compusul (3) se tratează cu hidrazină la un raport molar de 1:2 în soluție de piridină timp de 24 ore, apoi temperatura se ridică la 90...95°C și se încălzește 2 ore. În acest timp intermediarul (4) se transformă în N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-hidrazincarboto-

tioamidă (5) cu un randament de 77%. Produsul final N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamida (2) se obține prin condensarea 2-formilpiridinei cu compusul (5) în etanol la temperatura de 70...80°C timp de 2 ore, randamentul constituie 62%. Individualitatea compușilor (2, 3, 5) a fost determinată utilizând cromatografia în strat subțire pe plăci de silufol, iar structura lor a fost confirmată prin analiză elementală și spectrală (¹H- și ¹³C-RMN).

Exemplu de obținere a N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamidei (2) în trei etape (a, b, c)

a) Sinteza 1,1-dimetil-3-(4-(3-(piridin-2-il)acrilil)fenil)tioureei (3). La soluția formată din 2.22 g (0.01 mol) 3-(4-acetilfenil)-1,1-dimetiltiouree și 6 ml dimetilformamidă se adaugă sub agitare 1 g (0.018 mol) hidroxid de potasiu dizolvat în 4 ml etanol de 95%, apoi se picură 1.28 g (0.012 mol) 2-formilpiridină, dizolvată în 4 ml etanol de 95%, la temperatura de 5...10°C. Amestecul reactant se lasă la temperatura camerei timp de 12 ore, apoi soluția se filtrează de impurități și se neutralizează la pH~8. Se obțin 2.78 g (89%) tiouree (3) cu p.t. 182...183°C.

Analiza elementală și spectrală RMN. Calculat pentru C₁₇H₁₇N₃OS (3), %: C-65.57, H-5.50, N-13.49, S-10.30. Găsit, %: C-65.62, H-5.52, N-13.48, S-10.31. ¹H-RMN (DMSO-d₆), ppm: 3.30 (s, 6H, N(CH₃)₂), 7.43-8.19 (m, 10H=CH, Ar-H, Py-H), 9.36 (s, 1H, NH). ¹³C RMN (DMSO-d₆), ppm: 179.70 (C=S), 187.82 (C=O), 181.39 (C=S), 144.47 (C-N), 144.73 (-CH=CH), 126.97 (-CH=CH), 154.79, 136.82, 131.37, 131.11, 128.84, 40.44, 40.23.

b) Sinteza N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-hidrazincarbotoamidei (5). Amestecul format din 0.62 g (0.002 mol) 1,1-dimetil-3-(4-(3-(piridin-2-il)acrilil)fenil)tiouree (3), 0.22 g (0.0044 mol) hidrat de hidrazină și 5 ml de piridină se lasă la temperatura camerei timp de 24 ore, apoi se încălzește la temperatura de 90...95°C timp de 2 ore. Cristalele obținute se filtrează și se recrystalizează din metanol de 98%. Se obțin 0.48 g (77%) de tioamidă (5) cu p.t. 199...201°C.

Analiza elementală și spectrală RMN. Calculat pentru C₁₅H₁₆N₆S (5), %: C-57.67, H-5.16, N-26.90, S-10.26. Găsit, %: C-57.62, H-5.20, N-26.91, S-10.25. ¹H-RMN (DMSO-d₆), ppm: 4.95 (m, 2H, NH₂), 7.27-8.58 (m, 8H, =CH, Ar-H, Py-H), 3.42 (m, 2H, CH₂), 9.19 (s, NH-CS), 8.53 (s, NH-NH₂). ¹³C RMN (DMSO-d₆), ppm: 179.70 (C=S), 162.16 (Py-CH-NH=N), 150.05 (Py-CH(CH₂)NH-N=), 139.74 (-C₆H₄-NH), 64.89 (-CH₂-C(-C₆H₄-)=N), 149.44, 129.28, 125.85, 122.49, 64.89.

c) Sinteza N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamidei (2). La soluția formată din 0.62 g (0.002 mol) N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-hidrazincarbotoamidă (5) și 8 ml dimetilformamidă se adaugă sub agitare 0.22 g (0.002 mol) de 2-formilpiridină, dizolvată în 1 ml de etanol de 95%. Amestecul reactant se încălzește la temperatura de 70...80°C timp de 2 ore, apoi se diluează cu puțină apă și se răcește. Produsul cristalin se filtrează și se recrystalizează din etanol de 95%. Se obțin 0.48 g (63%) produs final (2) cu p.t. 140...142°C.

Analiza elementală și spectrală RMN. Calculat pentru C₂₁H₁₉N₇S (2), %: C-62.82, H-4.77, N-24.42, S-7.99. Găsit, %: C-62.85, H-4.75, N-24.41, S-7.98. ¹H-RMN (DMSO-d₆), ppm: 6.10-8.67 (m, 13H, =CH, Ar-H, Py-H), 3.33 (m, 2H, CH₂), 10.42 (s, NH-CS), 12.22 (s, NH-N=CH). ¹³C RMN (DMSO-d₆), ppm: 176.66 (C=S), 158.18 (Py-CH-NH=N), 152.16 (-NH-N=CH-Py), 152.07 (Py-CH(CH₂)NH-N=), 139.30 (-C₆H₄-NH), 64.95 (-CH₂-C(-C₆H₄-)=N), 129.28, 143.98, 138.89, 127.79.

Procedul de obținere a N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbotoamidei (2) cuprinde trei etape, dar este simplu în executare și se utilizează substanțe inițiale accesibile. Produsul revendicat este stabil, puțin solubil în apă, mai bine solubil în etanol, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxid, practic insolubil în hexan sau eter.

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale compusului (2) denotă că acesta inhibă creșterea celulelor HL-60 ale leucemiei mieloid umane în limitele concentrațiilor 10⁻⁵...10⁻⁷ mol/l. La concentrația de 10⁻⁶ mol/l inhibă 62.6%, iar la concentrația de 10⁻⁷ -58% de celule HL-60 ale leucemiei meiloide umane. Datele incluse în tabel indică, că compusul (2) revendicat după activitatea antican-

cerogenă depășește de 2.5 ori la concentrația de 10^{-6} mol/l și de 58 ori la concentrația de 10^{-7} mol/l caracteristicile analoage pentru cea mai apropiată soluție [1].

Tabel

Partea celulelor inhibitate ale leucemiei meiloide umane HL-60, %

5

Compusul	Concentrația, mol/l		
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Citarabinul (soluția cea mai apropiată)	100	25	0
N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbonat (compusul revendicat)	-	62.6	58

Proprietățile biologice ale compusului revendicat prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai leucemiei meiloide umane la concentrații mai mici ale preparatului și diminuării efectelor negative: grețuri, vomă, inapetență, stomatită, leucopenie, anemie și flebite în locurile infectării, caracteristice pentru cea mai apropiată soluție.

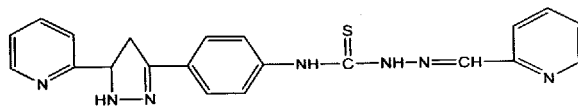
N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbonat (2) aparține clasei compușilor pirazolici, la care au fost depistate activități antibacteriene, antifungice, anestezice locale, inclusiv activități sedative și antituberculoase (Mohamed Ashraf Ali, Mohammad Shaharyar*, Anees Ahamed Siddiqui, Synthesis, structural activity relationship and anti-tubercular activity of novel pyrazoline derivatives Faculty of Pharmacy, Jamia Hamdard University, Department of Pharmaceutical Chemistry, Hamdard Nagar, New Delhi 110062, India, Received 22 February 2006; received in revised form 22 July 2006; accepted 11 August 2006, Available online 26 September 2006, European Journal of Medicinal Chemistry, 42 (2007), 268-276, Elsevier). Unii derivați pirazolinici 1,3,5-trisubstituiți au proprietăți anticonvulsive și antidepresive (Ozan Ruhoglu, Zuhail Ozdemira, Unsal Calis a, Bulent Gumuselb, and Abdullah Altan Bilgina, Synthesis of and Pharmacological Studies on The Antidepressant and Anticonvulsant Activities of Some 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines Arzneim.-Forsch./Drug Res. 55, No. 8, 431-436 (2005), Editio Cantor Verlag, Aulendorf (Germany)).

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Москва, Новая волна, 2008, с. 1206

(57) Revendicări:

1. N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbonat cu formula:



2. Compus conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că posedă proprietăți de inhibitor al leucemiei meiloide umane.

Șef Secție:

IUSTIN Viorel

Examinator:

BODRUG Viorica

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2012 0059 32) Data de prioritate recunoscută: **N/A**
 (22) Data depozit: 2012.07.09 Raport de documentare internațională: **N/A**
 (22) Data depozit: 2012.07.09
 (71) Solicitant: **UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD**
 (54) **Titlul: Inhibitor al leucemiei mieloide umane în bază de N-(4-(5-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-ilmetilen)-hidrazincarbonotioamidă**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *C07C 251/82* (2006.01) *A61K 31/33* (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
C07D 231/06 (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD : **MD - Intern « Documentare Invenții »** (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta):

a) **Int.Cl:** *C07C 251/82* *A61K 31/33*
C07C 337/08 *A61P 35/02*
C07D 231/06

b) termeni caracteristici în limba română : „ leucem ,”mieloide,” „ fenil,” „ pirazol,” „ cancer” „hidrazincarbonotioamid.”

"Worldwide" (Espacenet):

a) **Int.Cl:** *C07C 251/82* *A61K 31/33*
C07C 337/08 *A61P 35/02*
C07D 231/06

b) termeni caracteristici în limba engleză : hydrazincarbonothioamide* ; „ myeloid **AND** pyrazolyl* ; (leukemia **OR** leukaemia) **AND** pyrazolyl* ; cancer **OR** anticancer) **AND** hydrazincarbonothioamide,* (leukemia **OR** leukaemia) **AND** hydrazincarbonothioamide,* (leukemia **OR** leukaemia) **AND** pyridine ,* (leukemia **OR** leukaemia) **AND** pyrazolyl* ; „ inhibitor hydrazincarbonothioamide* ; (leukemia **OR** leukaemia) **AND** phenyl* ; (cancer **OR** anticancer) **AND** pyrazolyl* ;
 «hydrazincarbonothioamide phenyl » ; « hydrazincarbonothioamide pyridine » ;
 «hydrazincarbonothioamide pyrazolyl » ; « hydrazincarbonothioamide dihydro » ;
 «hydrazincarbonothioamide heterocyclic » ; «hydrazincarbonothioamide derivatives ».

EA, CIS (Eapatis):

a) **Int.Cl:** *C07C 251/82 A61K 31/33*
C07C 337/08 A61P 35/02
C07D 231/06

б) термини на русском языке : « лейкемия », « миелоидный », « ингибитор », « гидразинкарботиоамид », «фенил », « пиразол », « гидразинкарботиоамид гетероциклические»,

PubMed ; Google : hydrazincarbothioamide formylpyridines ; hydrazincarbothioamide acetyl phenyl; hydrazincarbothioamide anticancer.

1. Res. Cancer. Epidemiol. S. R. Heckbert. "Glutathione transferase and epoxide hydrolase activities in patients with cancer and controls", 1989, Lyon, p. 515-516.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Новая волна, Москва, 2008, с. 1206.
3. Ozan Nuhoglu, Zuhul Ozdermir, Unsal Calis, Bulent Gumusel, and Abdullah Altan Bilgin, Synthesis of and Pharmacological studies on The Antidepressant and Anticonvulsant Activities of some 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines // Arzeneim-Forsh./ Drug Res. 55, Nr.8, p.431-436 (2005).

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării
A,C	Машковский М. Д. Лекарственные средства. Москва, Новая волна, 2008, с. 1206	1
A,D	Ozan Nuhoglu, Zuhul Ozdemir, Unsal Calis, Bulent Gumusel and Abdullah Altan Bilgin. Synthesis of and Pharmacological studies on The Antidepressant and Anticonvulsant Activities of some 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines // Arzneim- Forsch. Drug Res, 55, Nr. 8, 2005 p. 431-436	1
A	MD 2851 G2 2005.09.30	1
A	MD 2786 G2 2005.06.30	1
A	MD 4126 2011.09.30	1
A	MD 3655 G2 2008.07.31	1,2
A	MD 3098 G2 2007.03.31	1,2
A	MD 3890 G2 2009.04.30	1,2
A	LI 1633 C2 2001.11.30	1
A	US 2010/0197711 A1 2010.08.05	
A	US 5565491 A 1996.10.25	1
A	Res. Cancer. Epidemiol. S. R. Heckbert. "Glutathione transferase and epoxide hydrolase activities in patients with cancer and controls", 1989, Lyon, p. 515-516.	1
A	Mukherjee S. Împăratul tuturor bolilor: o biografie a cancerului. Editura ALL, 2011, pag 50, 95,136, 424	1
A,D	Mohamed Ashraf Ali, Mohammad Shaharyar*, Anees Ahamed Siddiqui, Synthesis, structural activity relationship and anti-tubercular activity of novel pyrazoline derivatives Faculty of Pharmacy, Jamia Hamdard University, Department of Pharmaceutical Chemistry, Hamdard Nagar, New Delhi 110062, India, Received 22 February 2006; received in revised form 22 July 2006; accepted 11 August 2006, Available online 26 September 2006, European Journal of Medicinal Chemistry, 42 (2007), 268-276	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:

A – document care definește stadiul anterior general

T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a

	pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	
2013.02.01	
Examinator	
BODRUG Viorica	