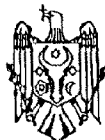




MD 4749 B1 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4749** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A61K 31/30* (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/60 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)
C07F 1/08 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
C07C 47/56 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In 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 2019 0097 (22) Data depozit: 2019.12.19	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2021.03.31, BOPI nr. 3/2021
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; GUDUMAC Valentin, MD; ISTRATI Dorin, MD; GRAUR Vasilii, MD; ȚAPCOV Victor, MD; PANTEA Valeriana, MD; ANDRONACHE Lilia, MD; ȘVEȚ Inna, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

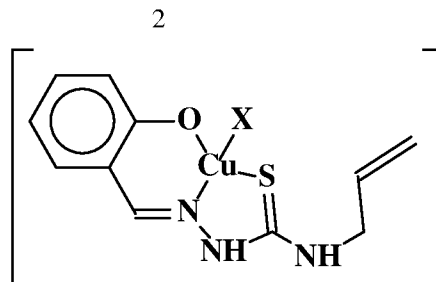
(54) Utilizarea compușilor coordinativi ai sărurilor de cupru(II) cu 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(prop-2-en-1-il)-hidrazincarbotoamida în calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la medicină, și anume la utilizarea compușilor coordinativi de cupru biologic activi din clasa tiosemicarbazonatilor metalelor de tranziție. Acești complecși pot găsi aplicare în medicină în calitate de preparate care inhibă radicalii superoxizi, prevenind astfel multiple acțiuni nocive asupra organismului.

Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitori sintetici ai radicalilor superoxizi a cloro-2-{[2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden]metil}fenolatocupru, bromo-2-{[2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden]metil}fenolatocupru și nitrato-2-{[2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden]metil}fenolatocupru, cu formula generală:



I - III

X = Cl⁻ (I), Br⁻ (II), NO₃⁻ (III)

Compușii sus-menționați extind arsenalul de inhibitori ai radicalilor superoxizi cu activitate biologică înaltă.

Revendicări: 1

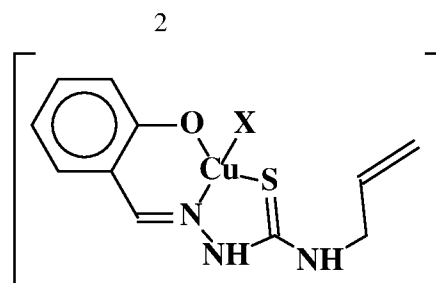
MD 4749 B1 2021.03.31

(54) Use of coordination compounds of copper(II) salts with 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)-hydrazinecarbothioamide as inhibitors of superoxide radicals

(57) Abstract:

The invention relates to medicine, namely to the use of biologically active copper coordination compounds from the class of transition metal thiosemicarbazones. These complexes can find application in medicine as drugs that inhibit superoxide radicals, thus preventing multiple harmful effects on the body.

Summary of the invention consists in the use as synthetic inhibitors of superoxide radicals of chloro-2-{[2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioyl)hydrazinylidene]methyl}phenolatocopper, bromo-2-{[2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioyl)hydrazinylidene]methyl}phenolatocopper and nitrate-2-{[2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioyl)hydrazinylidene]methyl}phenolatocopper, of the general formula:



I - III

$X = Cl^- (I), Br^- (II), NO_3^- (III)$

The said compounds expand the arsenal of inhibitors of superoxide radicals with high biological activity.

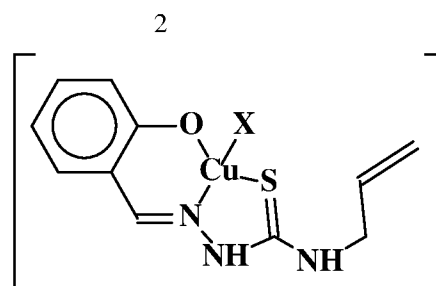
Claims: 1

(54) Применение координационных соединений солей меди(II) с 2-(2-гидроксбензилиден)-N-(проп-2-ен-1-ил)-гидразинкарботиоамидом в качестве ингибиторов супероксидных радикалов

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к применению биологически активных координационных соединений меди класса тиосемикарбазонатов переходных металлов. Эти комплексы могут найти применение в медицине в качестве препаратов которые ингибируют супероксидные радикалы, предотвращая таким образом множественные вредные воздействия на организм.

Сущность изобретения заключается в применении в качестве синтетических ингибиторов супероксидных радикалов хлоро-2-{[2-(проп-2-ен-1-илкарбамотиоил)гидразинилиден]метил}фенолятомеди, бромо-2-{[2-(проп-2-ен-1-илкарбамотиоил)гидразинилиден]метил}фенолятомеди и нитрато-2-{[2-(проп-2-ен-1-илкарбамотиоил)гидразинилиден]метил}фенолятомеди, общей формулы:



I - III

$X = Cl^- (I), Br^- (II), NO_3^- (III)$

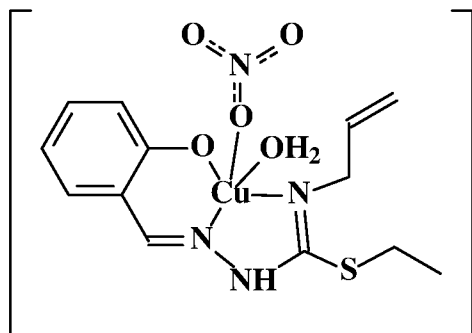
Вышеупомянутые соединения расширяют арсенал ингибиторов супероксидных радикалов с высокой биологической активностью.

П. формулы: 1

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

5 Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la utilizarea compușilor coordinativi de cupru biologic activi din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acești complecși, servind ca captatori ai radicalilor superoxizi O_2^- (RSO), pot găsi aplicare în medicină în calitate de inhibitori ai exacerării proceselor de afectare a moleculelor organice cu RSO, prevenind astfel multiple acțiuni nocive asupra organismului uman.

10 Din compușii chimici care conțin în componența sa fragmentul 4-aliltiosemicarbazidic și care inhibă radicalii superoxizi, cel mai înalt efect antiradicalic a fost obținut în cazul nitrato-[2-({2-[(etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)-carbonoimidoil]hidraziniliden}metil)fenolato]aquacupru (prototipul și analogul structural) [1] cu formula:

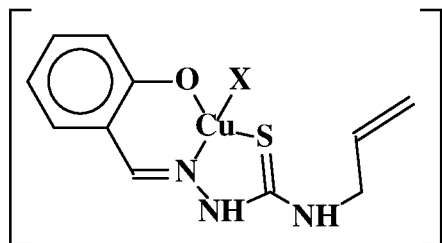


15 După activitatea antiradicalică acest compus este de 71 ori mai efektiv decât quercetina, utilizată în calitate de etalon pentru determinarea activității de inhibare a radicalilor superoxizi și este de 1,15 ori mai efektiv decât cel mai activ inhibitor sintetic antiradicalic descris în literatură [Hui-Lu Wu, Xingcai Huang, Bin Liu, Fan Kou, Fei Jia, Jingkun Yuan, Ying Bai. Copper(II) complex based on a V-shaped ligand, 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridine: synthesis, crystal structure, DNA-binding properties, and antioxidant activities. Journal of Coordination Chemistry, 2011, vol. 64 (24), pag. 4383-4396].

20 Dezavantajul nitrato-[2-({2-[(etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)-carbonoimidoil]hidraziniliden}metil)fenolato]aquacupru constă în faptul, că el nu posedă o activitate antiradicalică suficient de înaltă și din această cauză compusul dat nu a găsit o aplicare în medicină.

25 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în propunerea unui șir de compuși coordinativi, care extind arsenalul de compuși cu activitate înaltă de inhibare a radicalilor superoxizi.

30 Esența invenției constă în utilizarea în calitate de inhibitori sintetici ai radicalilor superoxizi a cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul I), bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul II) și nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul III) cu formula generală:

**I - III****X = Cl⁻ (I), Br⁻ (II), NO₃⁻ (III)**

35 Procedul de sinteză a compușilor I-III, structura, proprietățile fizico-chimice, antimicrobiene și anticancer sunt descrise în literatură [Gulea A., Zariciuc E., Graur V., Tsapkov V., Rudic V. The study of antimicrobial and antitumor activity of biometal coordination compounds of substituted salicylaldehyde 4-allylthiosemicarbazones. International Scientific

Conference on Microbial Biotechnology, 3rd edition, Chişinău, Moldova, october 12-13, 2016. Abstracts, p. 67-68].

Rezultatul tehnic al invenţiei constă în stabilirea la compuşi I-III revendicaţi a activităţii antiradicalice cu concentraţia semimaximală de inhibare (IC_{50}) în diapazonul 0,55...0,12 $\mu\text{mol/L}$, care este de 1,6...7,2 ori mai înaltă decât activitatea prototipului şi analogului structural [1]. Proprietatea stabilită a compușilor I-III sus-numiți este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lor în calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi.

Analiza comparativă a compușilor I-III cu prototipul şi analogul structural demonstrează că ei se deosebesc prin aceea, că în comparație cu prototipul modul de coordonare al fragmentului izotiosemicarbazidic este schimbat de la azotul N^4 tiocarbamidic la sulful tionic şi în compuşi revendicaţi se realizează o combinaire nouă de legături chimice deja cunoscute.

Esența invenției poate fi confirmată prin următoarele date experimentale.

**Exemplu al utilizării cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru,
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru şi nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compușilor I-III) în calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi.**

Activitatea de captare a radicalului superoxid a fost determinată prin metoda spectrofotometrică, descrisă în literatură [Fontana M., Mosca L., Rosei, M.A. Interaction of enkephalins with oxyradicals. Biochemical Pharmacology, 2001, vol. 61, pp. 1253-1257; Robak J., Gryglewski R. J. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. Biochemical Pharmacology, 1988, vol. 37 (5), pp. 837-841] cu unele modificări.

Metoda se bazează pe generarea radicalilor superoxizi de către sistemul fenazin metosulfat/nicotinamidă adenină dinucleotid redusă (FMS/NADH) prin oxidarea NADH, iar radicalii superoxizi reduc sarea de tetrazoliu - Nitro Blue Tetrazolium (NBT) în formazan de culoare albastră-purpurie.

Metoda se efectuează în felul următor. Se pregătesc diluțiile de lucru ale substanțelor testate în soluție de DMSO în concentrațiile 0,1; 1,0; 10,0; 100 μM . Apoi, se pipetează câte 20 μL de fiecare diluție de lucru ale substanțelor testate în godeurile microplăcii cu 96 godeuri. Fiecare diluție se toarnă în duplicat. După aceasta se adaugă câte 180 μL de mediu (amestec) de reacție ce conține soluție de 20 mM tampon fosfat (pH 7,4), NADH (0,1 mM) şi NBT (0,09 mM). Proba de control se montează la fel ca şi proba de cercetat, dar în loc de diluții ale substanțelor de testat se toarnă o cantitate echivalentă de soluție de 20 mM tampon fosfat (pH 7,4). Se pregătește în duplicat. Se amestecă şi se măsoară absorbanta la 560 nm [A_0]. Apoi, în toate godeurile se adaugă câte 20 μL de soluție de 8,0 μM fenazin metosulfat (FMS), se agită 10-15 s şi se incubează la temperatura camerei 5 min. Se măsoară din nou absorbanta Abs la 560 nm [A_1]. În calitate de substanță de referință se folosește quercetina în concentrațiile 0,1; 1,0; 10,0; 100 μM .

Activitatea de captare a radicalilor superoxizi (ACRS) se calculează (%) după formula:

$$ACRS (\%) = [100 - (A_1/A_0)] \times 100.$$

Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților inhibitoare ale compușilor I-III sunt prezentate în tabel, din care se observă, că ei manifestă activitate antiradicalică în diapazonul IC_{50} egală cu 0,55...0,12 $\mu\text{mol/L}$, care este de 1,6...7,2 ori mai înaltă decât activitatea prototipului şi analogului structural [1]. După cum se vede din tabel, IC_{50} a compușilor studiați depinde de natura acido-ligandului din sfera internă a complexului şi crește în următorul şir: $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^-$.

Proprietățile depistate ale cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru,
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru şi nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-
ilcarbamtioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori sintetici ai radicalilor superoxizi.

Tabel

Activitatea antiradicalică a compușilor revendicați în comparație cu prototipul și analogul structural

Compusul	IC ₅₀ , μmol/L
Nitrato-[2-({2-[(etilsulfanil)(prop-2-en-1-il)carbonoimidoil]-hidraziniliden}metil)fenolato]aquacupru (prototipul și analog structural) [1]	0,86
Cloro-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul I)	0,55
Bromo-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul II)	0,13
Nitrato-2-{{2-(prop-2-en-1-ilcarbamotioil)hidraziniliden}metil}fenolatocupru (compusul III)	0,12

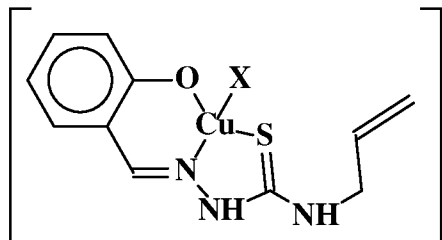
5

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD a 2019 0019 A0 2019.12.31

(57) Revendicări:

Utilizarea compușilor coordinativi ai sărurilor de cupru(II) cu 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(prop-2-en-1-il)-hidrazincarbonotioamida cu formula generală:

**I - III****X = Cl⁻ (I), Br⁻ (II), NO₃⁻ (III)**

in calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi.

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2019 0097 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2019.12.19 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (71) Solicitant: **UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD**
 (54) Titlu: **Utilizarea compuşilor coordinativi ai sărurilor de cupru(II) cu 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(prop-2-en-1-il)-hidrazincarbotoamida in calitate de inhibitori ai radicalilor superoxizi**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *A61K 31/30* (2006.01) *C07F 1/08* (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01) *C07C 337/08* (2006.01)
A61K 31/60 (2006.01) *C07C 47/56* (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

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

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

A61K 31/30 A61K 31/175 A61K 31/60 A61P 39/06 C07F 1/08 C07C 337/08 C07C 47/56

Coordinativ, cupru, alitiosemicarbazona aldehidei salicilice, hidroxibenzaldehidei, superoxid, antioxidant

"Worldwide" (Espacenet):

A61K 31/30 A61K 31/175 A61K 31/60 A61P 39/06 C07F 1/08 C07C 337/08 C07C 47/56

Copper complex, 2-hydroxybenzaldehyde allylthiosemicarbazone, salicylaldehyde, 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide, superoxide, antioxidant

EA, CIS (Eapatis), SU:

A61K 31/30 A61K 31/175 A61K 31/60 A61P 39/06 C07F 1/08 C07C 337/08 C07C 47/56

Комплекс меди, тиосемикарбазон гидроксибензальдегида, салицилового альдегида, 2-(2-гидроксибензилиден)-N-(проп-2-ен-1-ил)гидразинкарботиоамид, супероксидный радикал, антиоксидант

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

Google Scholar

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este	Numărul revendicării
------------	--	----------------------

	cazul, indicarea pasajelor pertinente	vizate
A, D, C	MD a 2019 0019 A0 2019.12.31	1
A	Elena Pahontu, Irina Usataia, Vasiliu Graur, Yurii Chumakov, Peter Petrenko, Valentin Gudumac, Aurelian Gulea. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and <i>in vitro</i> antiproliferative activity. Applied Organometallic Chemistry, 2018, vol. 32 (12), e4544, găsit în Internet la data de 2021.01.25 URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/aoc.4544	1
A	MD 4636 B1 2019.06.30	1
A	MD 4469 B1 2017.03.31	1
A	MD 4527 B1 2017.11.30	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, 2021.01.28

Examinator, LEVIȚCHI Svetlana