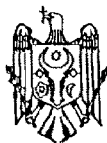




MD 4126 C1 2012.04.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4126** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int.Cl: *C07C 337/08* (2006.01)
C07C 25/13 (2006.01)
C07C 25/24 (2006.01)
C07D 213/48 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/03 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2010 0129 (22) Data depozit: 2010.11.15	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2011.09.30, BOPI nr. 9/2011
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; JALBĂ Angela, MD; BARBĂ Nicanor, MD; ȚAPCOV Victor, MD; SOFRONI Larisa, MD; POIRIER Donald, CA (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonotioamidă] și utilizarea ei în calitate de inhibitor al proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimia organică, și anume la sinteza compușilor biologic activi din clasa tiosemicarbazonelor și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea cancerului prostatei.

Esența invenției constă în aceea că a fost sintetizat un compus nou pornind de la 4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)dianilină, care a fost supusă următorului șir de transformări: trecerea în bis-tiouree la interacțiunea cu dimetiltiouream; dezaminarea cu acid sulfuric în bis-izotiocianat; transformarea la hidrazinoliză în bis-tiosemicarbazida respectivă, care a fost în continuare condensată cu 2-formilpiridină.

2
În final se obține N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonotioamidă] cu formula:



10 Bis-tiosemicarbazona obținută posedă activitate anticancerigenă, care depășește de 1,5 ori activitatea doxorubicinei.

Rezultatul tehnic al invenției constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.

Revendicări: 2

MD 4126 C1 2012.04.30

(54) N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-phenylenedioxy)-bis(4,1-phenylene)]-bis[2-(pyridine-2-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide] and use thereof as prostate cancer LNCaP cell proliferation inhibitor

(57) Abstract:

The invention relates to organic chemistry, namely to the synthesis of biologically active compounds from the class of thiosemicarbazones and can be used in medicine for the prevention and treatment of prostate cancer.

Summary of the invention consists in that it was synthesized a new compound proceeding from 4,4'-(perfluoro-1,4-phenylenedioxy)di-aniline, which was subjected to the following series of transformations: conversion into bis-thiourea upon interaction with dimethylthiourea; deamination with sulfuric acid in bis-isothiocyanate; conversion upon hydrazinolysis into appropriate bis-thiosemicarbazide, which was further condensed with 2-formylpyridine. Finally, it is obtained N,N'-

2
[4,4'-(perfluoro-1,4-phenylenedioxy)-bis(4,1-phenylene)]-bis[2-(pyridine-2-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide] with the formula:



The resulting bis-thiosemicarbazone possesses anticancer activity, which 1.5 times exceeds the activity of doxorubicine.

The technical result of the invention is to expand the range of prostate cancer LNCaP cell proliferation inhibitors.

Claims: 2

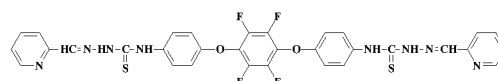
(54) N,N'-[4,4'-(перфторо-1,4-фенилендиокси)-бис(4,1-фенилен)]-бис[2-(пиридин-2-илметил)гидразинкарботиоамид] и его использование в качестве ингибитора пролиферации клеток LNCaP рака простаты

(57) Реферат:

Изобретение относится к органической химии, а именно к синтезу биологически активных соединений из класса тиосемикарбазонов и может найти применение в медицине для профилактики и лечения рака простаты.

Сущность изобретения заключается в том, что было синтезировано новое соединение исходя из 4,4'-(перфторо-1,4-фенилендиокси)дианилина, который был подвергнут следующему ряду превращений: перевод в бис-тиомочевину при взаимодействии с диметилтиоуром; деаминирование в серной кислоте в бис-изотиоцианат; перевод при гидразинолизе в соответствующий бис-тиосемикарбазид, который далее был конденсирован с 2-формилпиридином. В заключении полу-

2
чают N,N'-[4,4'-(перфторо-1,4-фенилендиокси)-бис(4,1-фенилен)]-бис[2-(пиридин-2-илметил)гидразинкарботиоамид] с формулой:



Полученный бис-тиосемикарбазон обладает противораковой активностью, которая в 1,5 раза превосходит активность доксорубина.

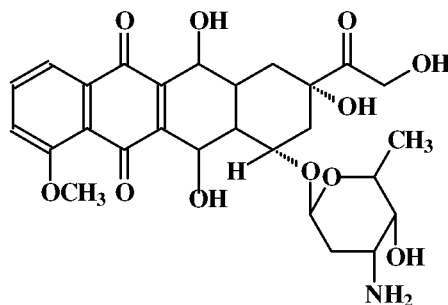
Технический результат изобретения заключается в расширении спектра ингибиторов пролиферации клеток LNCaP рака простаты.

П. формулы: 2

Descriere:

Invenția se referă la chimia organică, și anume la sinteza compușilor biologic activi din clasa tiosemicarbazonelor și poate găsi aplicare în medicină la profilaxia și tratarea cancerului prostatei.

- 5 Din toți compușii chimici, care inhibă creșterea și multiplicarea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei, cel mai înalt efect cancerostatic a fost obținut în cazul doxorubicinei (*doxorubicinum*) – unul din antibioticii din grupa antracinelor (analogul proxim) [1], care are următoarea formulă :



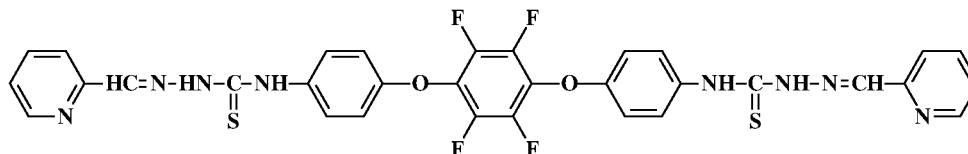
- 10 Mecanismul acțiunii doxorubicinei este apropiat de cel al ribomicinei și este bazat pe intercalarea celulelor ADN. Ea se aplică în cazul cancerului glandei mamare, prostatei, sarcomei țesăturilor moi, sarcomei osteogene, tumorii lui Young, cancerului pulmonar, limfosarcomei, cancerului ovarului, cancerului pavimentos de diversă localizare, cancerului vezicii urinare, tumorii lui Williams, cancerului glandei tiroide, diverselor leucoze și limfogranulematizei.

- 15 La concentrația de 10^{-6} mol/L doxorubicina inhibă creșterea și multiplicarea a 45% din celulele LNCaP ale cancerului prostatei.

- Dezavantajele acestui compus sunt întrebuințarea limitată, deoarece el nu posedă o activitate anticancer înaltă, precum și efectele secundare, pe care le cauzează: în procesul tratării cu acest preparat se pot dezvolta cardiomiopatia, dureri în regiunea cardiacă, dereglarea ritmului inimii, insuficiența cardiacă, hipotensiune.

- 20 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei cu activitate citostatică înaltă.

- 25 Esența invenției constă în aceea că a fost sintetizat un compus nou pornind de la 4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)dianilină, care a fost supusă următorului șir de transformări: trecerea în bis-tiouree la interacțiunea cu dimetiltiouram; dezaminarea cu acid sulfuric în bis-izotiocianat; transformarea la hidrazinoliză în bis-tiosemicarbazida respectivă, care a fost în continuare condensată cu 2-formilpiridină. În final se obține N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbotoamidă] cu formula:

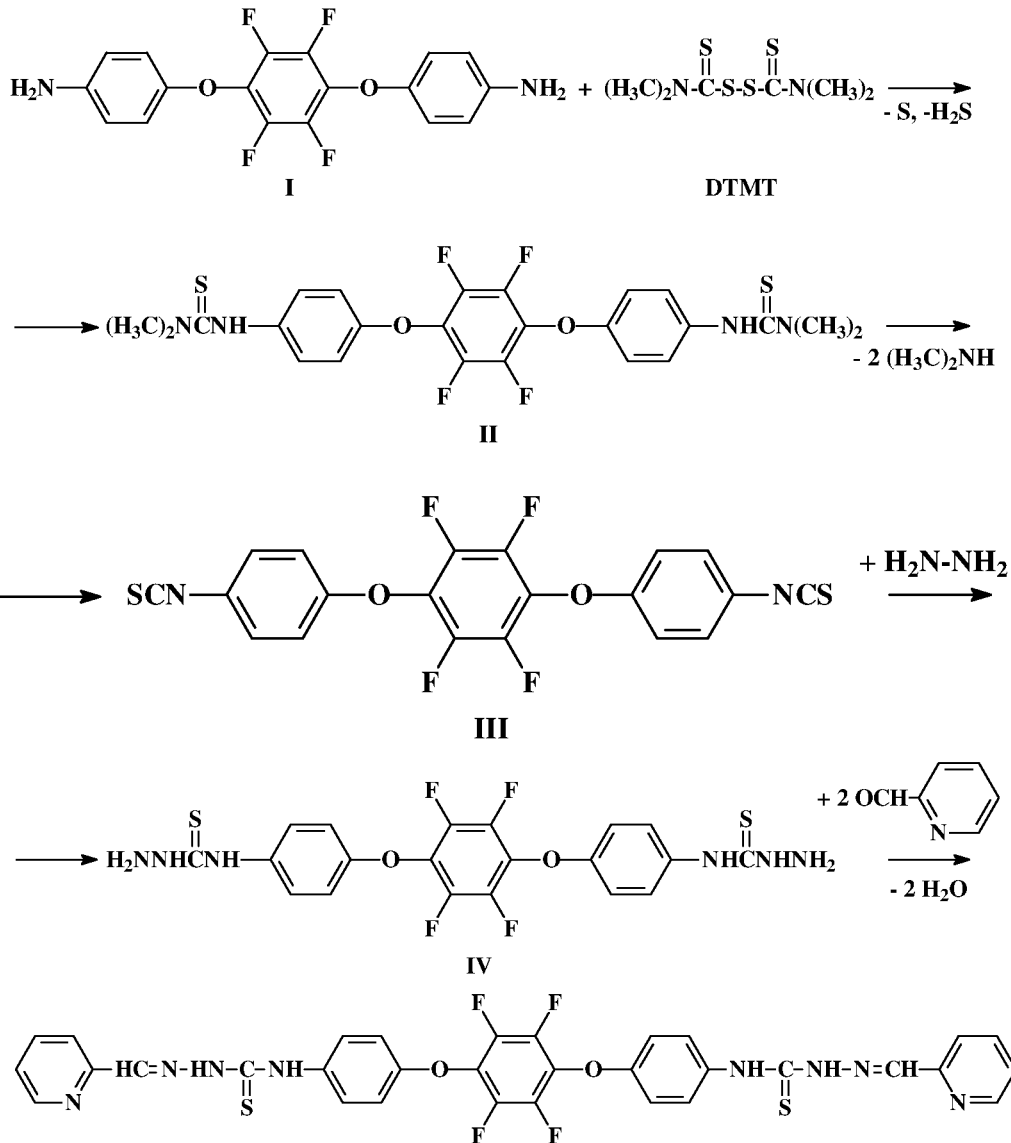


- 30 Compusul dat, proprietățile lui și procedeul de obținere nu sunt descrise în stadiul anterior.

Rezultatul tehnic al invenției constă în extinderea arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei. Bis-tiosemicarbazona obținută posedă o activitate anticancerigenă, care depășește de 1,5 ori activitatea doxorubicinei.

- 35 Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că în calitate de inhibitor al celulelor LNCaP ale cancerului prostatei se propune un compus nou N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbotoamidă], care conține o combinație nouă de fragmente de grupări biologic active.

Compusul revendicat se obține conform următoarei scheme:



Sinteza compusului revendicat include următoarele etape: la prima treaptă de sinteză 4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)dianilina (I) reacționează cu dimetiltiouram (DTMT) în raport molar 1:1 la încălzire în solvenți polari (etanol, dimetilformamidă sau dimetilsulfoxid). La următoarea treaptă, bis-tiourea obținută II se supune procesului dezaminării prin încălzirea compusului II în dioxan cu H_2SO_4 (raportul molar al reagenților 1:1). Bis-tiosemicarbazida IV se obține prin picurarea soluției de bis-izotiocianat III cu exces de hidrat de hidrazină în dioxan. Astfel se exclude aditia la izotiocianatul inițial a bis-tiosemicarbazidei IV formate. Tiosemicarbazona finală se sintetizează prin condensarea bis-tiosemicarbazidei IV cu 2-formilpiridină la încălzire într-un amestec de dimetilformamidă-etanol (1:3). Sinteza compușilor inițiali I-IV a fost efectuată după metodele descrise în literatura de specialitate. Puritya lor a fost confirmată cromatografic, prin analiza elementală și spectrală (IR, ^1H și ^{13}C -RMN).

Exemplu de obținere a N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonioamide]

La soluția obținută din 0,22 g (0,002 mol) 2-formilpiridină și 0,5 mL etanol se adaugă 0,51 g (0,001 mol) 2,2'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis(hidrazincarbonioamidă) (bis-tiosemicarbazida IV), dizolvată în 2 mL dimetilformamidă, apoi amestecul se încălzește la baia de apă 1 oră. Sfârșitul reacției se verifică după consumul aldehidei. După răcire produsul final se filtrează, se spală pe filtru cu etanol și se usucă. Se obțin 0,58 g (84%) de produs final. Compoziția substanței a fost stabilită în baza rezultatelor analizei elementelor.

Determinat, %: C - 55,49; H - 3,29; N - 16,01; S - 9,14.

Calculat pentru $C_{32}H_{22}F_4N_8O_2S_2$, %: C - 55,65; H - 3,21; N - 16,22; S - 9,28. P. t. = 251...253°C.

Spectrul 1H -RMN (DMSO, D_6), δ , ppm: 7,25 (d, 4H, J = 8,15; $-C_6H_4$), 7,53 (d, 4H, J = 8,15; $-C_6H_4$), 7,39 (m, 2H, J = 4,7; $-C_5H_4N$), 7,65 (m, 2H, C_5H_4N), 8,44 (d, 2H, J = 8,02; $-C_5H_4N$), 8,58 (d, 2H, J = 4,7; $-C_5H_4N$), 8,19 (s, 2H, CH=), 10,26 (s, 2H, NH), 12,06 (s, 2H, NH-N).

Spectrul ^{13}C -RMN (DMSO, D_6), δ , ppm: 171,14 (C=S), 153,50 (HC=N), 149,8; 143,27; 135,27; 124,8 și 121,19 ($-C_5H_4N$), 143, 27; 137,03; 128,52; 115,29 ($-C_6H_4$); 154,87; 143,60; 141,21 ($-C_6F_4$).

Rezultatul tehnic al invenției a fost confirmat prin studierea după metoda descrisă în [2] a proprietăților anticancer ale N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonioamide].

Datele experimentale obținute sunt prezentate în tabel, din care se observă că compusul revendicat inhibă proliferarea celulelor LNCaP ale cancerului prostatei în limitele concentrațiilor 10^{-5} ... 10^{-6} mol/L. La concentrația 10^{-5} M se inhibă 100%, la 10^{-6} M - 65,3% de celule LNCaP ale cancerului prostatei, iar la concentrația 10^{-7} M - compusul nu manifestă proprietăți cancerostatice. Datele obținute indică (v. tabelul) că compusul revendicat, după activitatea anticancerigenă, depășește aproximativ de 1,5 ori caracteristicile cancerostatice ale doxorubicinei (analogului proxim).

Tabel

30

Partea de celule LNCaP inhibitate ale cancerului prostatei, %

Concentrație, mol/L			
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Compusul			
Doxorubicina (analogul proxim)	100	45	0
N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonioamidă]	100	65,3	0

Proprietățile depistate ale N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonioamide] prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.

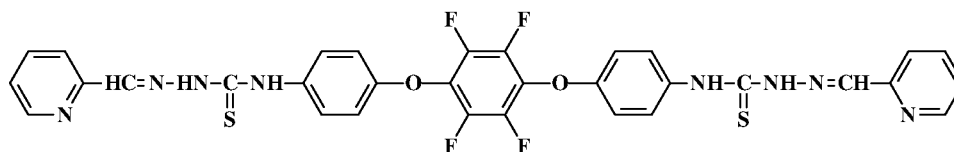
35

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Новая волна, Москва, 2008, с. 1206
2. Laplante Y., Poirer D. Proliferative effect of androst-4-ene-3,17-dione and its metabolites in the androgen-sensitive LNCaP cell line. Steroids, 2008, vol. 73, Nr. 3, p. 266-271

(57) Revendicări:

1. N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbotioamidă] cu formula:



2. Utilizare a compusului conform revendicării 1 în calitate de inhibitor al proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei.

Șef Secție:

IUSTIN Viorel

Examinator:

JOVMIR Tudor

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: a 2010 0129	(32) Data de prioritate recunoscută: v. data depozit
(22) Data depozit: 2010.11.15	Raport de documentare internațională: ☐ da
(54) Titlul: N,N'-[4,4'-(perfluoro-1,4-fenilendioxi)-bis(4,1-fenilen)]-bis[2-(piridin-2-ilmetilen)hidrazincarbonatamidă] și utilizarea ei în calitate de inhibitor al proliferării celulelor LNCaP ale cancerului prostatei	
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	
(51) (Int.Cl.): Int. Cl.: C07C 337/08 (2006.01) C07C 25/13 (2006.01) C07C 25/24 (2006.01) C07D 213/48 (2006.01) A61K 31/175 (2006.01) A61K 31/03 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01) A61P 13/08 (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției: X satisface ☐ nu satisface Note:	
III. Revendicări: claritatea, susținerea de descriere Note: X satisface ☐ nu satisface	
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stânga/dreapta): Perfluor ; prostat "Worldwide" (Espacenet) : « perfluoro 1,4 » ; perfluorophenylene ; perfluorophenyl* ; perfluor* AND phenyl* ; “carbaxaldehyde pyridine thiosemicarbazone” “carbaldehyde pyridine thiosemicarbazone” phenylthiosemicarbazone* ; ilmethylenehydrazin* ; triapine ; «3-AP » ; cancer* ; anticancer* ; citostat* , carcino* ; antineoplast* ; antitum* ; «anti tumor» ; « prostatic hyperplasia » ; neoplasia ; antiproliferative ; inhib* AND ribonucleotide AND reductase ; prostat* ; LNCaP EA, CIS (Eapatis) : перфторфен* ; фенил* ; триапин* ; «3-AP» ; противоопух* ; антинеопласт* ; гиперплазия AND простаты ; противорака* ; рак ; простат* ; предстательн* ; цитостат* ; карцино* ; LNCaP ; ингибитор* AND рибонуклеотидредуктаз* ; SU (nonpublic) : C07F25/18 Alte BD – FIPS.RU	
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate	
Google Scirus	

VI. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD943 G2 (1998-03-31)	1
A,C	MD 1274 G2 (1999-07-31)	1
A	MD3771 G2 (2008-12-31)	1,2
A	MD3996 C2 (2009-12-31)	1,2
A	GB2392386 (2004-03-03)	1,2
A	Brockman R.W. et al: "Observations on the Antileukemic Activity of Pyridine-2-Carboxaldehyde Thiosemicarbazones and Thiocarbazon", Cancer Res. 1956 vol.16, p.167	2
T	Prostate cancer (The page was last modified on 19 July 2011) (regăsit în Internet la 2011.07.21, url: http://en.wikipedia.org/wiki/Prostate_cancer)	2
T	3-Aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (The page was last modified on 29 November 2010), (regăsit în Internet la 2011.07.21, url: http://en.wikipedia.org/wiki/Triapine)	2
A	US5869676 (1999.02.09)	1,2
A,&	RU2198875 C2 (2003-02-20)	1,2
A	US5767134 (1998-06-16)	1,2
A,&	RU2199531 C2 (2003.02.27)	1,2
A	JP52042883 (1977.04.04)	2
A	WO2007035489 A2 (2007.03.29)	2
A	US6794400 (2004.09.21)	2
T	Giorgio Pelosi. Thiosemicarbazone Metal Complexes: from Structure to Activity. The Open Crystallography Journal, 2010, 3, 16-28 (Referințele de pe pag. 16-17)	2
A,C	US 5281715 (1994-01-25)	2
* 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 2011-07-20		
Examinator JOVMIR Tudor		