



MD 3771 F1 2008.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3771** (13) **F1**  
(51) Int. Cl.: *A61K 31/175* (2006.01)  
*A61K 31/05* (2006.01)  
*A61K 31/11* (2006.01)  
*A61P 13/08* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi<br>revocată în termen de 6 luni de la data publicării                                                                                               |                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2008 0118<br>(22) Data depozit: 2008.04.30                                                                                                                                              | (45) Data publicării hotărârii de<br>acordare a brevetului:<br>2008.12.31, BOP nr. 12/2008 |
| (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD<br>(72) Inventatori: GULEA Aurelian, MD; POIRIER Donald, CA; ROY Jenny, CA; ȚAPCOV Victor, MD<br>(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD |                                                                                            |

(54) **Inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulatora multiplicării celulelor  
cancerului prostatei**

(57) **Rezumat:**

1  
Invenția se referă la chimie, și anume la compușii organici din clasa tiosemicarbazonelor, care pot fi utilizați pentru tratamentul cancerului prostatei.

Esența invenției constă în utilizarea a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice) în calitate de inhibitori ai enzi-

2  
mei 17 $\beta$ -HSD (hidroxisteroid dehidrogenază), stimulatora a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

Revendicări: 1

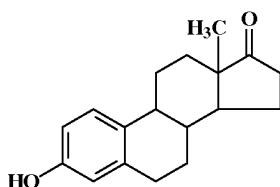
10

MD 3771 F1 2008.12.31

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie, și anume la compușii organici din clasa tiosemicarbazonelor, care pot fi utilizați pentru tratamentul cancerului prostatei.

- 5 Ultimul pas în formarea tuturor androgenilor și estrogenilor, precursor al cancerului prostatei, este favorizat de către 17 $\beta$ -hidroxisteroidul dehidrogenazei (17 $\beta$ -HSD) din categoria enzimelor steroideo-genice. Dintre substanțele chimice, folosite în medicină în calitate de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD, care stimulează procesul de multiplicare a celulelor cancerului prostatei, cel mai înalt efect a fost obținut în cazul estronului (oestronum - hormon sexual feminin din grupa estrogenilor) – 3-oxi-estra-1,3,5(10)-trien-17-on, care are următoarea formulă :



10

Această substanță chimică servește drept cea mai apropiată soluție [1].

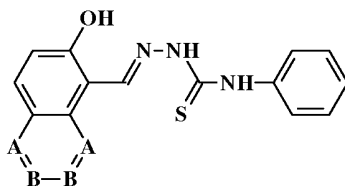
Estronul inhibă la concentrația de 10<sup>-5</sup> mol/l - 95%, la 10<sup>-6</sup> mol/l – 62%, iar la 10<sup>-7</sup> mol/l – 16% din celulele cancerului prostatei.

- 15 Dezavantajul folosirii acestui compus constă în faptul că întrebuințarea lui este limitată de activitatea anticancer slabă și de efectele secundare, pe care le cauzează: acționează hipocolesterinic, provoacă fenomene de feminizare la bărbați și schimbări proliferative în endometrie la femei.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD și ai cancerului prostatei.

- 20 Esența invenției constă în utilizarea 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulatoare a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

Formula generală:



25

I, II

I : A = H, B – lipsește; II : A = B = CH.

- 30 Procedul de sinteză și proprietățile fizico-chimice ale acestor compuși sunt descrise în literatura de specialitate (Kang-Kai Du, Shi-Xiong Liu. Influence of pH values self-assembly in three trinuclear nickel complexes with bridging ligand N-salicylyl 4-phenyl-thiosemicarbazide. Journal of Molecular Structure, 2007, Vol. 873, p. 191-194; Bernhardt P. V., Caldwell L. M., Lovejoy D. B., Richardson G. R. Four cytotoxic N4-substituted thiosemicarbazones derived from 2-hydroxynaphthalen-1-carboxaldehyde. Acta Cryst., 2003, C. 59, p. 629-633).

- 35 Rezultatul invenției constă în stabilirea la compușii declarați a activității anticancerigene, care în cazul tiosemicarbazonei I depășește de 1,3...1,8 ori caracteristicile analogice ale estronului, iar în cazul II – rămâne la nivelul lui. Proprietatea stabilită a complexilor sus-numiți este nouă, fiindcă până acum nu este descrisă utilizarea lor în calitate de inhibitori ai multiplicării celulelor cancerului prostatei.

- 40 Rezultatul invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de inhibitor al activității enzimei 17 $\beta$ -HSD - stimulatoare a multiplicării celulelor cancerului prostatei, se propun 4-feniltiosemicarbazonele aldehyde salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice, care conțin o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

45

## MD 3771 F1 2008.12.31

4

Esența invenției poate fi confirmată de următoarele date experimentale.

Exemplu de utilizare a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidei salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD - stimulatoare a multiplicării celulelor cancerului prostatei [Inhibiția de tipul 1 17 $\beta$ -HSD (transformarea estronului (E1) în estradiol (E2))].

5 Celulele de *Human Embryonic Kidney* (HEK)-293 transferate cu ADNc codare pentru tipul 1 17 $\beta$ -HSD au fost dezmembrate pentru a degaja enzima brută ce a fost utilizată ca sursă de enzime fără a fi mai apoi purificată. Această probă a fost efectuată în felul următor: întâi s-a preparat soluția inițială (soluția mamă) ce conținea substratul radiomarcant [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> (0,1  $\mu$ M), NADH (1 mM) în soluție-tampon de fosfat (pH 7,4, 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, EDTA 1 mM, 20% glicerină). Pentru aceasta 890  $\mu$ L de soluție inițială și 10  $\mu$ L de soluție de inhibitor, dizolvate în alcool etilic, s-au turnat într-un tub. Reacția a început prin adăugarea a 100  $\mu$ L de soluție de enzimă brută obținută după cum s-a descris mai sus. Durata de incubare a amestecului a fost de 1 h la 37°C, iar la sfârșitul reacției s-a adăugat un exces de E<sub>1</sub> și E<sub>2</sub> neradiomarcant. Steroizii au fost extrași cu eter dietilic, iar solventul a fost îndălăturat la presiune scăzută. Rămășițele au fost dizolvate în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, identificate pe o placă de silicagel (TLC, 20 X 20 cm X 0,2 cm, Kieselgel 60 F254) și spălate cu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (9:1). E<sub>1</sub> mai puțin polar și E<sub>2</sub> mai mult polar s-au identificat pe TLC ca două rânduri de picături vizibile la lumina UV. Pentru detectarea și determinarea cantității semnalelor radioactivității atribuite pentru [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> și [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> s-a folosit detectorul atomilor marcați (Sunny Vale, CA). Procentajul transformării [<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> în [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> s-a calculat astfel: % trans. = 100 · [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> (cpm) / ([<sup>14</sup>C]-E<sub>1</sub> (cpm) + [<sup>14</sup>C]-E<sub>2</sub> (cpm)). Prin urmare, procentajul inhibiției = 100 · [(% trans. a controlului - % trans. a compusului) / (% trans. controlului)].

15 Datele experimentale obținute în urma studiului proprietăților anticanceroase ale 4-feniltiosemicarbazonelor declarate demonstrează că primul compus la concentrația de 10<sup>-5</sup> M inhibă 98%, la 10<sup>-6</sup> M – 78%, iar la 10<sup>-7</sup> M – 33% de celule ale cancerului prostatei. Datele obținute atestă că acest compus, după activitatea anticancerigenă, depășește de 1,3...1,8 ori caracteristicile analogice ale estronului (soluția cea mai apropiată). Compusul al II-lea la primele două concentrații inhibă creșterea a 65 și 8 % de celule, iar la concentrația de 10<sup>-7</sup> M el nu manifestă activitate cancerostatică.

20 Proprietățile depistate ale 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidei salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice prezintă interes pentru medicină din punct de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai activității enzimei 17 $\beta$ -HSD și ai celulelor cancerului prostatei.

### 35 (57) Revendicări:

Utilizare a 4-feniltiosemicarbazonelor aldehidelor salicilice și 2-hidroxi-1-naftoice în calitate de inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulatoare a multiplicării celulelor cancerului prostatei.

40

### (56) Referințe bibliografice:

1. Горбунова В. А. Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей. Москва, Медицина, 1998, с. 128

Sef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

EGOROVA Tamara

Redactor:

LOZOVANU Maria

## RAPORT DE DOCUMENTARE

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2008 0118                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| (22) Data depozit: 2008.04.30                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| (51) : <b>Int.Cl:</b> <i>A61K 31/175</i> (2006.01)<br><i>A61K 31/05</i> (2006.01)<br><i>A61K 31/11</i> (2006.01)<br><i>A61P 13/08</i> (2006.01)<br><i>A61P 35/00</i> (2006.01)<br>Alți indici de clasificare:<br><b>Titlul :</b> Inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulatora multiplicării celulelor cancerului prostatei<br>(71) Solicitantul : UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD<br>Termeni caracteristici : Inhibitori ai enzimei 17 $\beta$ -HSD, stimulatora multiplicării celulelor cancerului prostatei<br>Ингибиторы энзима 17 $\beta$ -HSD, стимулирующего размножение клеток рака простаты |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| MD 1994-2008<br>EA 1995-2008<br>SU 1970-1991, inclusiv și colecția „nepublică”)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| II. Documente considerate ca relevante                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| 1. Горбунова В. А. Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей. Москва, Медицина, 1998, c. 128                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| 2. Kang-Kai Du, Shi-Xiong Liu. Influence of pH values self-assembly in three trinuclear nickel complexes with bridging ligand N-salicylyl 4-phenyl-thiosemicarbazide. Journal of Molecular Structure, 2007,v.873, p.191-194                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| 3. Bernhardt P. V., Caldwell L. M., Lovejoy D. B., Richardson G. R. Four cytotoxic N4-substituted thiosemicarbazones derived from 2-hydroxynaphthalen-1-carboxaldehyde. Acta Cryst, 2003, C. 59, p.629-633                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| Categoria*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente                                                                                                                                                                                               | Numărul revendicării vizate |
| <input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II <input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                             |
| * categoriile speciale ale documentelor consultate:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate                                                                                                                                                                                          |                             |
| A - document care definește stadiul anterior general                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care conține baza invenției                                                     |                             |
| E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă                                                                                                                                                    |                             |
| L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres ( se va indica motivul)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate |                             |
| O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | & - document care face parte din aceeași familie de documente                                                                                                                                                                                                                |                             |
| Data finalizării documentării                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2008.10.17                                                                                                                                                                                                                                                                   |                             |
| Examinatorul                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | EGOROVA Tamara                                                                                                                                                                                                                                                               |                             |