

NOI INHIBITORI DE PROLIFERARE A CELULELOR DE CANCER*

*Academician Aurelian GULEA
Universitatea de Stat din Moldova*

NEW INHIBITORS OF CANCER CELLS PROLIFERATION

The present paper describes the synthesis and characterisation of novel copper, nickel and zinc complexes with the salicylidenthiosemicarbazones of general formula (X)N-NH-C(S)-NH(Y) obtained from the condensation reaction of thiosemicarbazide (Y = H) or 4-phenylthiosemicarbazide (Y = C₆H₅) with 2-hydroxybenzaldehyde and its derivatives (X). The composition and structure of complexes were confirmed by elemental analysis, single crystal X-Ray Diffraction, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR spectroscopies, and magnetochemical, thermoanalytical and molar conductance measurements. All ligands and metal complexes were tested as inhibitors cancer cells proliferation.

Introducere

În practica mondială designul moleculelor cu proprietăți anticancer s-a dezvoltat preponderent în direcția sintezei combinațiilor cis-platinice [1] și a compușilor steroidieni [2,3]. Aplicarea compușilor platinici la tratarea cancerului se confruntă astăzi cu multiple efecte adverse. Problema de asamblare a unor noi agenți de inhibare a proliferării celulelor de cancer, eficienți și puțin toxici, rămâne a fi în continuare una actuală.

La Catedra Chimie anorganică și fizică de la Universitatea de Stat din Moldova se efectuează cu suc-

ces cercetări ample atât în domeniul sintezei dirijate a compușilor coordinativi ai metalelor nonplatinice cu liganzi chelanți și macrociclici în baza halcogensemicarbazidelor, cât și în vederea valorificării proprietăților lor anticancer. Ca rezultat al lucrărilor sistematice realizate pe parcursul ultimilor ani, s-au obținut compuși ai metalelor nonplatinice cu liganzi polidentanți chelanți și macrociclici, asamblați în urma condensării tiosemicarbazidei cu aldehide și cetone [4-15].

Complecșii respectivi manifestă proprietăți anticancer netriviale. Avantajele reies din faptul că unii din acești compuși întrec de zeci și sute de ori activitatea antitumorală, spre exemplu, a doxorubicinei – preparat utilizat actualmente pe larg în oncologie, având concomitent o toxicitate mică [16-20]. În legătură cu aceasta, proiectul propus este orientat spre următoarele obiective majore:

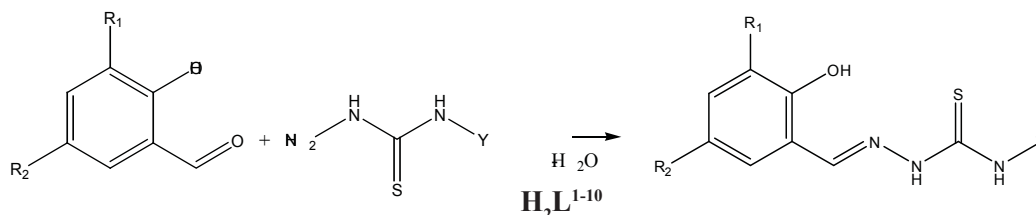
1. Designul și sinteza dirijată a agenților moleculari noi de inhibiție a cancerului de o eficiență sporită și o toxicitate redusă.

2. Punerea în evidență a activității lor anticancer cu metode moderne expres de o selectivitate și sensibilitate înaltă.

3. Studiul biochimic preclinic al agenților anticancer eficienți.

Rezultate și discuții

Laboratorul de Chimie coordinativă este specializat în sinteza și designul inhibitorilor de proliferare a celulelor de cancer mamar, cancer la prostată, cancer la ficat și leucemie. Lucrările recente au permis studiul a peste 500 de substanțe noi cu proprietăți antiproliferative în colaborare cu profesorul Donald Poirier de la Centrul de cercetări oncologice, Universitatea Laval, Canada. Aceste molecule reprezintă o nouă generație de inhibitori ce constituie patru nivele de diversitate după cum urmează:



H ₂ L ¹⁻⁵	R ₁	R ₂	Y	H ₂ L ⁶⁻¹⁰	R ₁	R ₂	Y
L ¹	H	H	H	L ⁶	Cl	Cl	H
L ²	H	Cl	H	L ⁷	Br	Br	H
L ³	H	Br	H	L ⁸	H	H	C ₆ H ₅
L ⁴	H	NO ₂	H	L ⁹	H	Br	C ₆ H ₅
L ⁵	H	CH ₃	H	L ¹⁰	H	NO ₂	C ₆ H ₅

Fig.1. Structura generală a liganzilor

* Articol scris în contextul cercetărilor pentru care autorul a fost ales în calitate de membru titular al AȘM, prin decizia Adunării Generale a membrilor AȘM din 6 decembrie 2012.

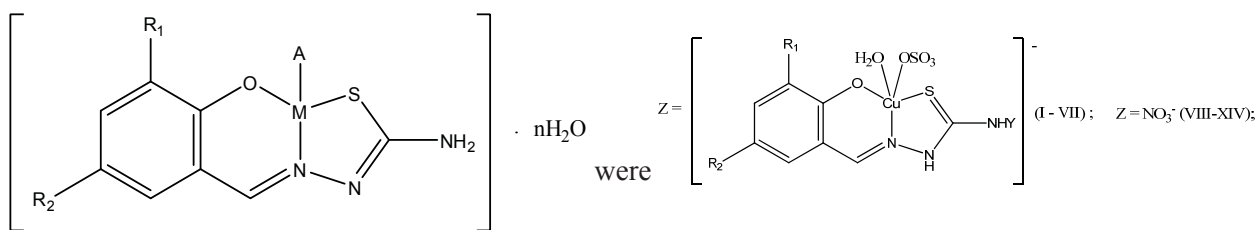


Fig. 2a. Structura generală a complexelor I-XIV

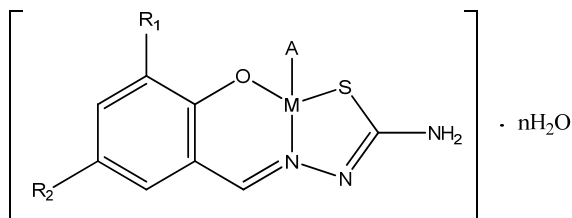


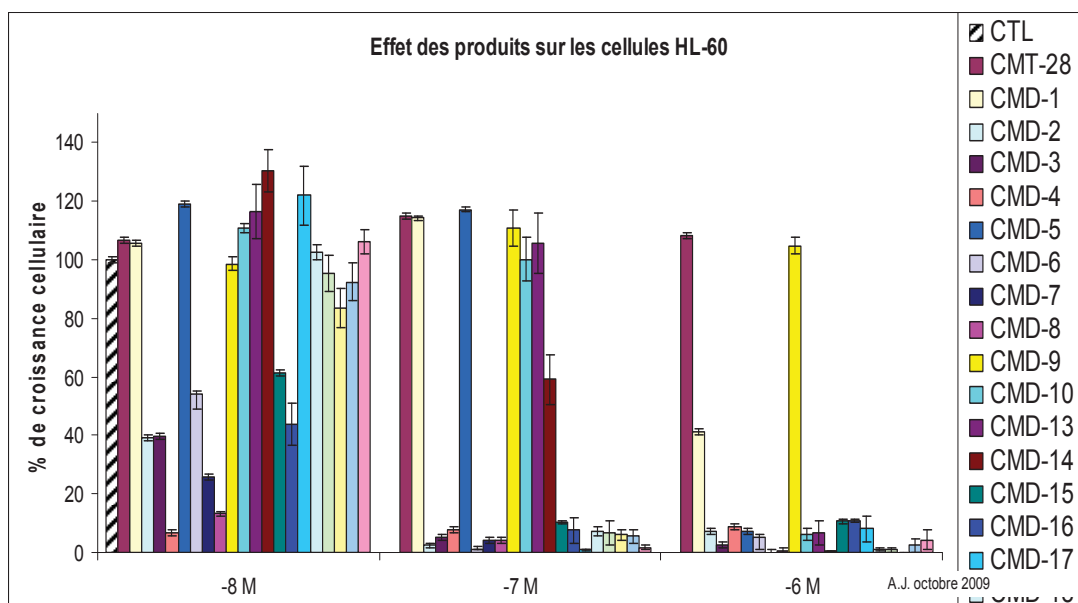
Fig. 2b. Structura generală a complexelor XV- XXXII, M = Cu (XV – XXX, Ni (XXXI), Zn (XXXII);

$R_1 = H$ (I - XIX, XXX - XXXII), Cl (XX), Br (XXI - XXIX); $R_2 = H$ (I, II, VIII, IX, XV, XXX), CH_3 (XIX), Cl (VII, XIV, XVI, XX), Br (V, VI, XII, XIII, XVII, XXI - XXV, XXIX - XXXII), NO_2 (IV, X, XI, XVIII); $Y = H$ (I - III, V, VII, VIII, X, XII, XIV – XXXII), C_6H_5 (IV, VI, IX, XI, XIII)

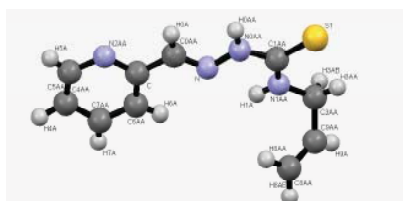
Tabel

Activitatea antiproliferativă asupra celulelor de cancer de leucemie umană (HL-60)

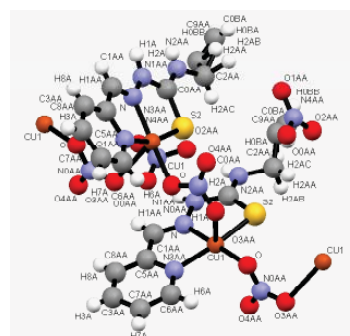
Inhibitori	Formula de structură a complexelor de cupru			Inhibirea proliferării celulelor, %			Inhibitori	Formula de structură a complexelor de cupru			Inhibirea proliferării celulelor, %		
	R_1	R_2	Y	10 μM	1 μM	0.1 μM		R_1	R_2	A	10 μM	1 μM	0.1 μM
							XV	H	H	Py	-	60	0
I	H	H	H	98	50	0	XVI	H	Cl	Py	-	25	5
II	H	H	-C ₆ H ₅	100	90	0	XVII	H	Br	Py	-	50	0
III	H	NO ₂	H	90	70	0	XVIII	H	NO ₂	Py	-	10	0
IV	H	NO ₂	-C ₆ H ₅	96	78	0	XIX	H	CH ₃	Py	-	55	0
V	H	Br	H	95	90	0	XX	Cl	Cl	Py	-	60	10
VI	H	Br	-C ₆ H ₅	90	90	0	XXI	Br	Br	NH ₃	-	25	0
VII	H	Cl	H	95	95	0	XXII	Br	Br	4-MePy	-	20	0
VIII	H	H	H	100	95	0	XXIII	Br	Br	3-MePy	-	30	15
IX	H	H	-C ₆ H ₅	100	100	0	XXIV	Br	Br	2-MePy	-	30	5
X	H	NO ₂	H	100	90	0	XXV	Br	Br	Ethazole	-	60	15
XI	H	NO ₂	-C ₆ H ₅	100	90	0	XXVI	Br	Br	Streptocide	65	40	5
XII	H	Br	H	98	95	0	XXVII	Br	Br	Sulfocile	65	40	5
XIII	H	Br	C ₆ H ₅	100	80	0	XXVIII	Br	Br	Norsulfosole	65	55	5
XIV	H	Cl	H	100	90	0	XXIX	Br	Br	Sulfadimazine	65	40	5
Doxorubicine DOX				100	100	30	XXX	H	H	Ethazole	60	65	0
							XXXI	H	H	Ethazole	5	5	5
							XXXII	H	H	Ethazole	10	5	0



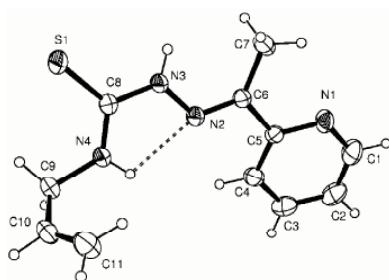
Activitatea liganzilor versus activității complexelor



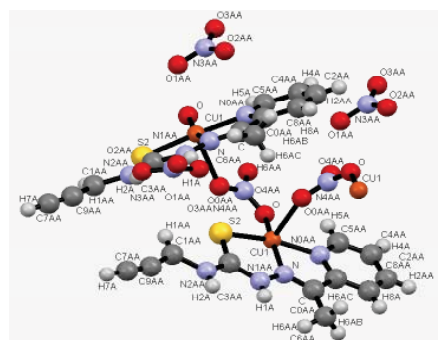
IC₅₀ = 0,12 μM



IC₅₀ = 0,015 μM



IC₅₀ = 0,01 μM



IC₅₀ = 0,008 μM

J. Med. Chem. 2009, 52, 1459-1470

IC₅₀ – concentrația minimă de inhibare, μM/L

Fig. 3. Proliferarea celulelor de cancer în prezența diferitor inhibitori

Activitatea antiproliferativă la celulele de cancer este mai mare pentru complexii metalici decât la moleculele organice (liganzi) aproximativ de 5-10 ori, mecanismul de inhibiție a proliferației celulelor de cancer fiind unul întemeiat suplimentar

pe interacțiunea dintre metal și enzimă. Un alt mecanism de inhibiție, caracteristic în special pentru moleculele organice, este bazat pe contactul intim cu ARN. Astfel, bazele aflate în componența ARN-ului, spre exemplu guanina (Fig. 4), sunt capabile de

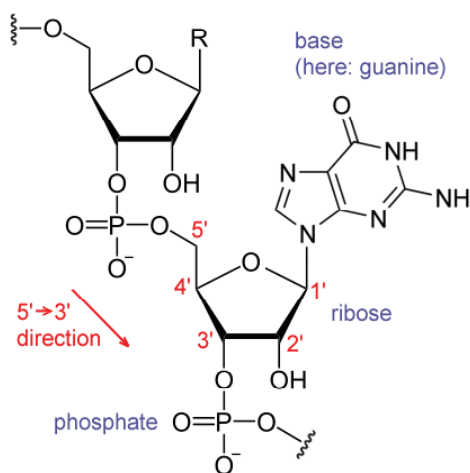


Fig. 4. Fragment al ADN ce conține guanină

a forma legături slabe de hidrogen de tip N-H...N sau N-H...O cu molecula de inhibitor după schema arătată mai jos (Fig. 5). Astfel, au fost sintetizate clase noi de inhibitori anticancer care au capacitatea de a penetra în celulele de cancer pentru ca mai apoi să formeze legături slabe de hidrogen cu ARN. Ulterior, aceste molecule de inhibitor – parte componentă a acidului ribonucleic – sunt implicate la replica de formare a acidului diazoribonucleic. Deoarece inhibitorul reprezintă o moleculă străină, aceasta nu este recunoscută și procesul de replicare se oprește, ca urmare inhibându-se procesul de înmulțire a celulelor de cancer. Drept rezultat, procesul de proliferare a celulelor de cancer este oprit. Pentru substanțele biologice active concentrațiile minime de inhibare IC_{50} sunt de ordinul a micro sau chiar nanomoli pe litru.

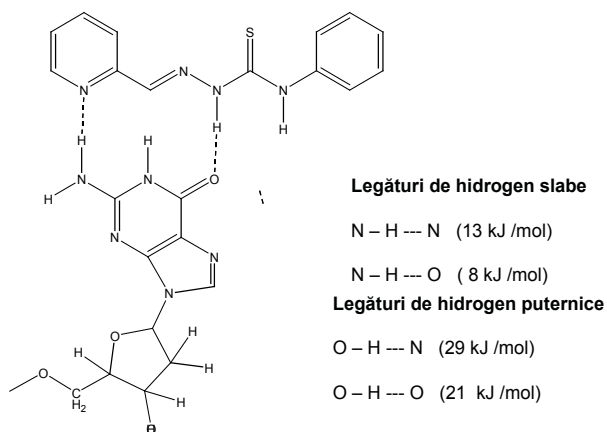


Fig. 5. Legături de hidrogen dintre guanină și molecula de inhibitor

Capacitatea azotului piridinic de a forma legături de hidrogen în funcție de poziția sa în inel a fost determinată teoretic. S-a demonstrat că această proprietate este adecvată atomului de azot în poziția

α și puțin probabilă în pozițiile β și γ . Măsurătorile experimentale ale proprietăților antiproliferative au demonstrat că moleculele ce conțin azot în inelul piridinic în poziția α au activitate de 1000 ori mai mare față de pozițiile β și γ (Fig.6).

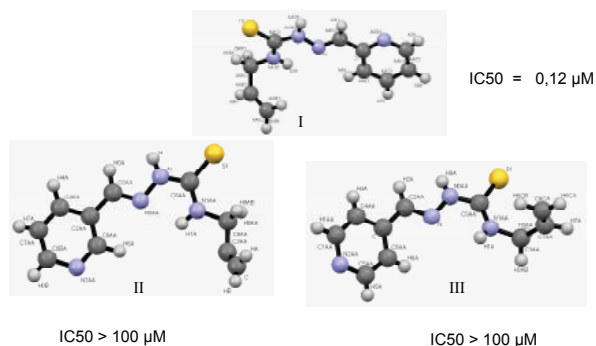


Fig. 6. Activitatea moleculelor de inhibitori în funcție de poziția inelului piridinic

Echipa principală de cercetători activează în Laboratorul Chimie coordonativă al Universității de Stat din Moldova (3 dr. hab. și 8 dr. în chimie, 3 doctoranzi și 4 studenți masteranzi), care au realizat designul și sinteza agenților moleculari de inhibiție în baza metalelor nonplatinice cu liganzi organici și steroidieni și studiul proprietăților acestora. Proprietățile anticancer au fost investigate în Centrul Oncologic de la Universitatea Laval (Prof. Donald Poirier). Cercetările preclinice se realizează în Laboratorul central de la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu” (prof., dr. hab. Valentin Gudumac), iar cercetările clinice – la Institutul Oncologic (prof., dr.hab. Larisa Sofroni).

Concluzii

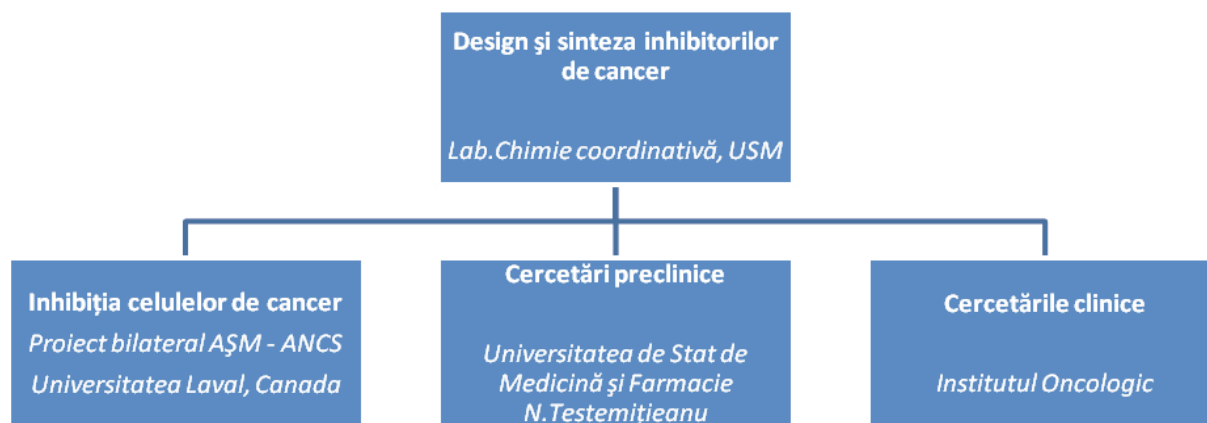
1. A fost realizat designul inhibitorilor de proliferare a celulelor tumorale de o nouă generație, care conțin:

- molecule organice cu setul de atomi donor N, O, S (Se);
- complecși ai metalelor nonplatinice ce se deosebesc prin structura geometrică, structura electronică, stabilitatea termodinamică și o toxicitate redusă.

2. Peste 500 de substanțe au fost studiate ca inhibitori ai proliferării celulelor de cancer de tipul **HL-60** (Leucemie mieloidă umană), **MCF-7**, **T47D** (Cancer la glanda mamară), **HepG2** (Cancer la ficat), **LNCaP** (Cancer la prostată).

3. Au fost selectate clase noi de substanțe biologice active cu o capacitate de inhibiție sporită la nivel de concentrații nanomolare ($IC_{50} = 0,01- 0,001 \mu M$).

4. Cercetările în acest domeniu extrem de im-



portant, cu impact benefic pentru societate și, în primul rând, pentru sănătatea cetățenilor, vor fi valorificate cu eforturi comune în baza colaborărilor cu Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițeanu” și cu Institutul Național de Oncologie. Pe plan internațional, rezultatele științifice vor fi valorificate în baza contractului bilateral Republica Moldova-România cu tema „Detecție și inhibare a cancerului la nivel molecular”, a grantului individual cu Guvernul Canadei „Synthèse et caractérisation de nouveaux complexes métal-stéroïde comme agents anticancéreux”, în Centrul de cercetări oncologice, Universitatea Laval, Canada, în cadrul proiectului Internațional Econet cu tema „Methodes netraditionnelles de synthese des agents bioactifs avec application en medecine” în colaborare cu Universitatea Paul Sabatier, Franța.

Bibliografie

- Galanski M, Arion VB, Jakupec MA, Keppler BK. *Current Pharm Design* 2003; 9:2078.
- Poirier D. Recent advances in development of inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Curr. Med. Chem. – Anti Cancer Agents (soumis)* (Review).
- Bérubé M., Laplante Y., Poirier D. (2006) Design, synthesis and in vitro evaluation of 4-androstene-3,17-dione/adenosine hybrid compounds as bisubstrate inhibitors of type 3 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Med. Chem.*, 2: 329-347.
- Gulea A., Poirier D., Roy J., Stavila V., Bulimstru I., Țapcov V., Bârcă M., Popovschi L. In vitro anti-leukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure – activity relationships // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008; V. 23. Nr.6, pp.806-818.
- Novitchi G.; Riblet F.; Scopelliti R.; Helm L.; Gulea A.; Merbach A. E., Mechanism of Pyridine-Ligand Exchanges at the Different Labile Sites of 3d Heterometallic and Mixed Valence μ -3-oxo Trinuclear Clusters. *Inorganic Chemistry* 2008, 47, (22), 10587-10599.
- Vitalie Stavila, Ruven L. Davidovich, Aurelian Gulea, Kenton H. Whitmire Bismuth(III) complexes with amino- and polyamino-polycarboxylic acids: chemistry and structure *Coordination Chemistry Reviews*, 2006, 250, 2782-2810.
- A.P. Gulya, S.N. Spynu, V.I. Tsapkov, and D.Poirier Sulfanylamide-containing coordination compounds of 3d-elements with 2,4-pentanedione bis-thiosemicarbazone and bis-4-phenylthiosemicarbazone // *Russian Journal of General Chemistry*, 2008, V.78, Nr.5, p.984-990.
- Aurelian Gulea, *Modern Coordination Chemistry. Cobalt-59 NMR Spectroscopy* // Chișinău, CEP USM, 2006, 143p.
- Roșu T., Negoiu M., Păsculescu S., Pahonțu E., Poirier D., Gulea A. Metal-based biologically active agents: Synthesis, characterization, antibacterial and antileukemia activity evaluation of Cu(II), V(IV) and Ni(II) complexes with antipyrine-derived compounds // *European Journal of Medicinal Chemistry* 45 (2010) 774-781.
- Roșu T., Pahonțu E., Maxim C., Georgescu R., Stanică N., Almajan G.L., Gulea A. Synthesis, characterization and antibacterial activity of some new complexes of Cu(II), Ni(II), V(IV), Mn(II) with Schiff base derived from 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one // *Polyhedron* 29 (2010) 757-766.
- Gulea A., Tsapkov V., Poirier D., Arucsandei C., Pahonțu E. Sulfanylcontaining copper(II) internal complexes with 2[(2-hydroxifenilamino)-methyl]-fenol and 1-[(2-hydroxifenilamino)-methyl]-naftalene-2-ol // *Russian Journal of General Chemistry* vol. 40, 3 (2010) 212.
- A.P.Gulea, V.I.Prisacar, V.I.Tsapkov, S.A.Buracheva, S.N.Spynu, N.P.Bezhenar, D.Poirier, J.Roy. Synthesis and antimicrobial activity of sulfanylamide containing copper (II) and nickel (II) salicyliden thiosemicarbazidates // *Pharmaceutical Chemistry Journal*, V.41. Nr.11, 2007, p.596-599.
- Roșu T., Gulea A., Nicolae A., Georgescu R. Complexes of 3dn Metal Ions with Thiosemicarbazones: Synthesis and Antimicrobial Activity // *Molecules* 2007, 12, p.782-796.

14. Gulea A., Poirier D., Roy J., Tapcov V. Copper – based biologically active agents: Synthesis, characterisation, In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activity evaluation of copper complexes with some Schiff bases // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013.

15. Samus' N. M., Chumakov Yu. M., Tsapkov V. I., Bocelli G., Simonov Yu. A., Gulea A. Coordination compounds of cobalt, nickel, copper and zinc with 2-bromo-3-phenylpropenal benzoylhydrazone and thiosemicarbazone // *Russian Journal of General Chemistry*. 2009. V. 79. №3. P. 428-434.

16. Brevet de invenție MD Nr. 3890. Inhibitori ai leucemiei mieloidă umane în baza compușilor coordinativi ai cuprului(II) cu saliciliden-tiosemicarbazi /Gulea A., Poirier D., Pahonțu Elena-Mihaela, Tapcov V., Bejenari N., Roy J. Publ. BOPI, nr. 4/2009, p. 35.

17. Brevet de invenție MD Nr.3655. Inhibitor al leucemiei mieloidă umane în bază de bis(2-hidroxi-8-fenil-

tricio/7.3.1.0.2,7/tridecan-13-on-tiosemicarbazonato) cupru /Gulea A., Roșu T., Cotovaia A., Donald P., Jenny R., Tapcov V. BOPI 7/2008, p.36-37.

18. Brevet de invenție MD nr. 3771. Inhibitori ai enzimei 17b-HSD, stimulatori a multiplicării celulelor cancerului prostatei. / Gulea A., Poirier D., Roy J., Tapcov V. Publ. BOPI nr. 12/2008, p. 29.

19. Brevet de invenție MD nr. 3995. Utilizare a di(m-Ofenoxi)-di {[2-(4-aminobenzen-sulfamido)-5-etil-1,3,4-tiadiazolo]-3,5-dibromosalicilidentiosemi-carbazonato (1)-cupru} în calitate de inhibitor al proliferării celulelor T-47D ale cancerului mamar /Gulea A., Tapcov V., Poirier D., Rudic V. Publ. BOPI, nr. 12/2009, p. 29.

20. Brevet de invenție MD nr. 3996. Perclorați de 5-R-saliciliden-4-feniltiosemicarbazonato(1-aquacupru (II) ce posedă proprietăți de inhibitori al activității enzimei 17b-HSD (tipul 1). / Gulea A., Tapcov V., Poirier D., Pahonțu E. Publ. BOPI, nr. 12/2009, p. 30.



Eudochia Zavtur. *Buchetul miresei*. 2008, 900×700 mm. u/p