

**MINISTERUL EDUCAȚIEI AL REPUBLICII MOLDOVA  
UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA**

Cu titlu de manuscris

CZU: 54-386:546.47'56'72'73'74':547.497.1:615.28

**GRAUR VASILII**

**DESIGNUL ȘI SINTEZA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI AI  
METALELOR 3d CU 4-ALILCALCOGENSEMICARBAZONE ȘI  
DERIVAȚII LOR**

**141.02 – CHIMIE COORDINATIVĂ**

**Autoreferatul tezei de doctor în științe chimice**

**CHIȘINĂU, 2017**

Teza a fost elaborată la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică USM, Departamentul Chimie, LCS “Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică”

**Conducător științific:**

**Gulea Aurelian**                      academician, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, Om Emerit al Republicii Moldova

**Referenți oficiali:**

**Cecal Alexandru**                      doctor în științe chimice, professor Emeritus, Universitatea Alexandu Ioan Cuza din Iași, România.

**Dragancea Diana**                      doctor în științe chimice, conferențiar cercetător, Institutul de Chimie al AȘM

**Componenta Consiliului științific specializat:**

**Guțanu Vasile**                      **președinte**, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar

**Bîrcă Maria**                      **secretar științific**, doctor în științe chimice, conferențiar universitar

**Rudic Valeriu**                      academician, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, Om Emerit al R. Moldova

**Bulimestru Ion**                      doctor în științe chimice, conferențiar universitar

**Cotovaia Aliona**                      doctor în științe chimice, conferențiar universitar

**Bulhac Ion**                      doctor habilitat în științe chimice, conferențiar cercetător

Susținerea va avea loc la 12 aprilie 2017, ora 14<sup>00</sup>

în ședința Consiliului științific specializat D 30.141.02-01 din cadrul Universității de Stat din Moldova, or. Chișinău, str. A. Mateevici 60, blocul 4, bir. 222

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat din Moldova și la pagina web a C.N.A.A. ([www.cnaa.md](http://www.cnaa.md))

Autoreferatul a fost expediat la 10 martie 2017

**Secretar științific al Consiliului științific specializat:**

**Bîrcă Maria**                      doctor în științe chimice, conferențiar universitar

**Conducător științific:**

**Gulea Aurelian**                      academician, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, Om Emerit al Republicii Moldova

**Autor:**

**Graur Vasili**

© Graur Vasili 2017

## REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

### **Actualitatea temei.**

În ultimele decenii, interesul față de medicamentele care conțin atomi de metal este în creștere continuă. Diversitatea numerelor de coordinare ale generatorului de complex, a configurațiilor geometrice adoptate, a proprietăților cinetice conferă compușilor coordinativi o gamă vastă de proprietăți biologice, ceea ce permite aplicarea acestora în practica medicală, inclusiv în chimioterapie [1]. În același timp, substanțele organice utilizate ca medicamente pot fi activate de ionii metalelor [2].

Descoperirea activității anticancer a cisplatinei a dus la intensificarea studiului proprietăților anticancer ale compușilor coordinativi. Chiar dacă la moment se cunosc numeroase combinații coordinative cu activitate biologică pronunțată, rămîne actuală problema îmbunătățirii eficacității acestora datorită faptului, că o concentrație mai mică de medicament poate produce același efect terapeutic și, din altă parte, proprietățile toxicologice ale compusului pot fi cu mult îmbunătățite. În acest sens sînt sintetizați noi compuși complecși ai biometalelor cu diferiți liganzi organici polifuncționali.

Un interes în acest sens prezintă sinteza și studiul proprietăților calcogensemicarbazonelor, precum și a compușilor coordinativi ai biometalelor cu acești liganzi datorită diversității proprietăților farmacologice pe care le prezintă: antimicrobiene, antifungice, antivirale, anticancer etc. [3]

Astfel, studiul noilor tiosemicarbazone substituie și a compușilor complecși cu acești liganzi în scopul identificării compușilor noi cu activitate selectivă antimicrobiană, antifungică și anticancer și în același timp cu o toxicitate redusă, rămîne a fi un domeniu important al chimiei coordinative moderne.

### **Scopul și obiectivele lucrării.**

Pe baza celor discutate mai sus, în lucrare s-a urmărit scopul studiului influenței naturii atomului central și al liganzilor asupra compoziției, structurii, proprietăților fizico-chimice și biologice ale compușilor coordinativi ai metalelor 3d cu 4-alilcalcogensemicarbazone și derivații lor, precum și identificarea substanțelor ce posedă activitate antitumorală sporită și toxicitatea redusă. Pentru aceasta, s-au stabilit ca **obiective**: sinteza 4-aliltiosemicarbazonelor diferitor aldehide și cetone aromatice și heteroaromatice; alchilarea atomului de sulf din compoziția tiosemicarbazonei; substituția atomului de sulf din compoziția ligandului prin atom de selen; sinteza compușilor coordinativi ai metalelor 3d cu acești liganzi; introducerea aminelor în sfera interioară a complecșilor cuprului(II); determinarea compoziției, structurii, activităților antimicrobiene, antifungice și antiproliferative pentru compușii sintetizați.

**Metodologia cercetării științifice.** Compoziția, structura și proprietățile fizico-chimice ale compușilor sintetizați a fost stabilită în baza rezultatelor analizei elementelor, a cercetărilor spectrale IR și RMN, determinării conductibilității electrice molare, măsurătorilor magnetochimice și analizei cu raze X. Proprietățile biologice au fost determinate față de o serie de tulpini standarde de microorganisme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella abony*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, fungii *Candida albicans*, celulele canceroase HL-60, HeLa și celulele normale MDCK.

**Noutatea și originalitatea științifică a lucrării** constă în sinteza a 74 compuși organici și coordinați noi cu potențiale proprietăți biologice. În calitate de agenți de coordonare la atomii biometalelor au fost folosite 4-alilcalcogensemicarbazonele, derivații acestora și, pentru unii compuși coordinați ai cuprului(II), diferite amine aromatice. În baza studiului proprietăților fizico-chimice a compușilor sintetizați și analiza datelor din literatura de specialitate, a fost stabilită compoziția și structura probabilă a acestora. Pentru 28 de compuși organici și coordinați structura a fost confirmată cu ajutorul analizei roentgenostructurale. A fost studiată influența substituenților din prima poziție a fragmentului tiosemicarbazonic, alchilării atomului de sulf, înlocuirii sulfului prin selen asupra compoziției, structurii, proprietăților fizico-chimice și biologice ale compușilor coordinați, influența naturii atomului central și a anionului restului acid asupra activității antimicrobiene, antifungice și anticancer a compușilor coordinați ai biometalelor cu acești liganzi, precum și influența introducerii unor amine în sfera interioară a compușilor complecși de cupru(II) cu 4-aliltiosemicarbazona aldehydei salicilice asupra proprietăților biologice. Ca rezultat au fost identificate substanțele ce posedă activitate antimicrobiană, antifungică, anticancer selectivă și toxicitate redusă.

**Problema științifică importantă soluționată.** Au fost sintetizați noi inhibitori moleculari a proliferării celulelor canceroase cu activitate selectivă și toxicitate redusă și substanțe noi cu proprietăți antimicrobiene și antifungice.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării.** Valoarea teoretică constă în stabilirea influenței fragmentelor din compoziția tiosemicarbazonelor și a tipurilor de legături din compoziția compusului care influențează proprietățile biologice și a relației compoziție-structură-proprietăți biologice ale compușilor coordinați. Valoarea practică constă în sinteza noilor compuși cu activitate antiproliferativă, antimicrobiană și antifungică, care pot contribui la extinderea arsenalului de inhibitori ai fungilor, bacteriilor și celulelor canceroase. Rezultatele obținute pot fi folosite și pentru predarea cursurilor speciale studenților de la specialitățile Chimie și Chimie Biofarmaceutică, studiile de licență și master.

**Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:**

- Sinteza a unsprezece 4-aliltiosemicarbazone noi și derivații acestora, precum și 63 compuși complecși noi de cupru(II), nichel(II), cobalt(III), fier(III) și zinc în baza acestor liganzi.

- Stabilirea structurii cristaline pentru 28 compuși în baza rezultatelor analizei cu raze X.
- Studiul activității anticancer, antimicrobiana și antifungice a substanțelor sintetizate și stabilirea influenței substituenților din prima poziție a fragmentului tiosemicarbazonic, alchilării atomului de sulf, substituției sulfurii prin selen, naturii atomului central și al anionului restului acid, introducerii aminelor în sfera interioară a complexilor asupra activității biologice.
- Identificarea substanțelor ce posedă activitate antimicrobiană, antifungică, anticancer selectivă și, în același timp, cu o toxicitate redusă față de celulele normale.

**Implementarea rezultatelor științifice.** S-a demonstrat activitatea antimicrobiană și antifungică a unora din compușii sintetizați, activitatea selectivă față de celulele canceroase HL-60 ale leucemiei mieloide umane, HeLa ale cancerului de col uterin și, concomitent, activitatea citotoxică scăzută a acestora față de celulele normale. În baza rezultatelor a fost obținut un brevet de invenție pentru hidratul de clorură de bis-[N-alil-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamid]nichel(II) ca inhibitor molecular de proliferare a celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane (nr. 4407, BOPI nr. 3/2016).

**Aprobarea rezultatelor științifice.** Rezultatele principale ale tezei au fost prezentate sub formă de comunicare orală și postere la conferințele: The 8<sup>th</sup> International Conference on materials science and condensed matter physics (Chișinău, 2016); The XVIII<sup>th</sup> International Conference „Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry” (Chișinău, 2015); 2<sup>nd</sup> International Conference on Microbial Biotechnology (Chișinău, 2014); The International Conference dedicated to the 55<sup>th</sup> anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova (Chișinău, 2014); The VII<sup>th</sup> International Conference on materials science and condensed matter physics (Chișinău, 2014); The XVII<sup>th</sup> International Conference „Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry” (Chișinău, 2012); 2<sup>nd</sup> French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry (Iași, România, 2012).

**Publicațiile la tema tezei.** Principalele rezultate ale tezei au fost publicate în patru articole științifice (Studia Universitatis Moldaviae și Journal of Academy of Sciences of Moldova. Life Sciences), inclusiv un articol fără coautori, 12 teze la conferințe și un brevet de invenție (BOPI).

**Volumul și structura tezei.** Teza constă din: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 148 surse, 5 anexe, 120 pagini, 53 figuri, 20 scheme și 31 tabele.

**Cuvintele-cheie:** compuși coordinativi, metale 3d, 4-alilcalcogenemicarbazone, 4-alil-S-metilzotiosemicarbazone, activitate antiproliferativă, activitate antimicrobiană, activitate antifungică.

## CONȚINUTUL TEZEI

În **Introducere** sînt descrise actualitatea și importanța problemei abordate, scopul și obiectivele tezei, noutatea științifică a rezultatelor, problema științifică soluționată, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, aprobarea rezultatelor și publicațiile la tema tezei și sumarul compartimentelor tezei.

### **1. COMPUȘI COORDINATIVI AI METALELOR 3d CU 4-ALILTIOSEMICARBAZONE ȘI DERIVAȚII LOR**

Acest capitol reprezintă o analiză a literaturii de specialitate privind sinteza, structura și proprietățile biologice ale compușilor coordinativi ai metalelor 3d cu unele tiosemicarbazone, în special 4-aliltiosemicarbazone și derivații acesteia [4]. În capitol sînt descriși compușii complecși cu tiosemicarbazone alifactice, aromatice, heteroaromatice și derivații acestora, precum și complecșii care conțin în sfera interioară, pe lîngă tiosemicarbazone, diferite amine și fosfine.

### **2. COMPUȘI COORDINATIVI AI METALELOR 3d CU 4-ALILTIOSEMICARBAZONE ALE COMPUȘILOR CARBONILICI AROMATICI**

Al doilea capitol este consacrat sintezei, structurii și proprietăților 4-aliltiosemicarbazonei aldehidei salicilice, derivaților ei și a compușilor coordinativi ai unor metale 3d cu acești liganzi. Unele dintre aceste substanțe au fost descrise în literatura de specialitate, dar, practic, nu este studiată activitatea lor biologică.

#### **2.1. Compuși complecși ai metalelor 3d cu 4-aliltiosemicarbazone ale aldehidei salicilice și 2-hidroxiacetofenonei**

Sinteza 4-aliltiosemicarbazonelor aldehidei salicilice și 2-hidroxiacetofenonei a fost realizată prin reacția dintre soluțiile etanolice ce conțin 4-aliltiosemicarbazida și compusul carbonilic corespunzător. Spectroscopia RMN  $^{13}\text{C}$  (prezența în spectru a semnalului cu deplasarea chimică 177-179 ppm caracteristic pentru atomul de carbon al grupei C=S) și analiza de difracție a razelor X (Fig. 1) au arătat, că atît în stare solidă, cît și în soluție, tiosemicarbazonele sus numite se prezintă în formă tionică.

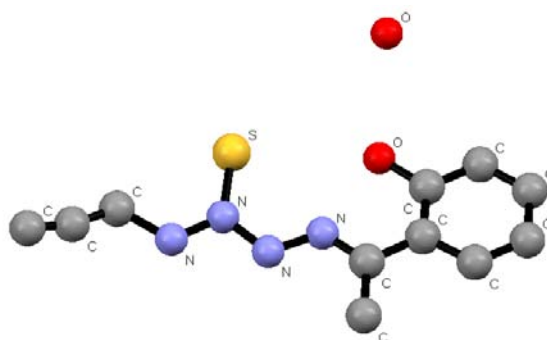


Fig. 1. Structura hidratului de 4-aliltiosemicarbazonă a 2-hidroxiacetofenonei.

În rezultatul interacțiunii soluțiilor etanolice ale tiosemicarbazonei date cu săruri de cupru(II), nichel(II), cobalt(II), fier(III) și zinc au fost obținuți compuși coordinativi. Studiul comparativ al spectrelor IR al acestor substanțe a arătat, că tiosemicarbazonele coordinează la atomii biometalelor prin intermediul atomilor de oxigen fenolic deprotonat, azot azometinic și sulf, formînd metalocicluri din cinci și șase atomi [5]. În rezultatul recristalizării din dimetilsulfoxidă a complexului sintetizat în rezultatul reacției dintre nitratul de cupru(II) cu 4-aliltiosemicarbazona aldehydei salicilice, s-au obținut monocristale de culoare verde, structura cărora a fost determinată prin analiza cu raze X (Fig. 2) [6].

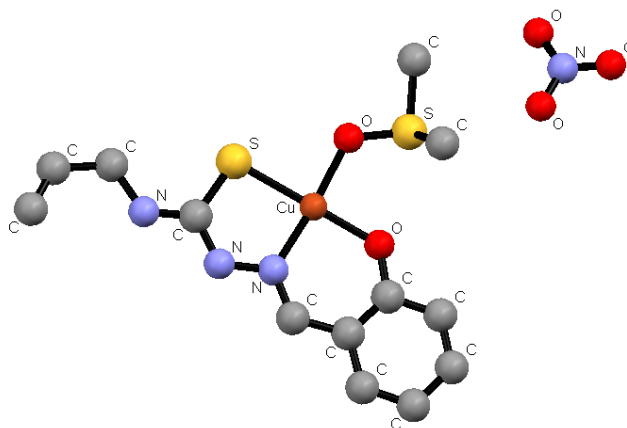


Fig. 2. Structura complexului  $[Cu(DMSO)(HL^1)]NO_3$   
( $H_2L^1$  – 4-aliltiosemicarbazona aldehydei salicilice).

S-a stabilit, că complexul dat posedă o structură monomerică. Trei locuri coordinative ale atomului central sînt ocupate de atomii donori O,N,S ai ligandului  $H_2L^1$  monodeprotonat, iar locul patru este ocupat de atomul de oxigen al moleculei de dimetilsulfoxidă. În sfera exterioară se conține un ion nitrat.

Studiul activității antimicrobiene și antifungice a arătat, că 4-aliltiosemicarbazona aldehydei salicilice nu manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile gram-negative și

*Candida albicans*, dar manifestă activitățile bacteriostatice și bactericide față de microorganismele gram-pozitive în diapazonul concentrațiilor 7-60  $\mu\text{g/mL}$ . Coordinarea acestui ligand la ionii de cobalt(III) duce la pierderea completă a activității biologice a ligandului. Valorile concentrației minime de inhibare (CMI) pentru compușii complecși ai cuprului(II) față de microorganismele gram-negative sunt cuprinse în intervalul 15-60  $\mu\text{g/mL}$  și față de bacteriile gram-pozitive - 0,7-7  $\mu\text{g/mL}$ .

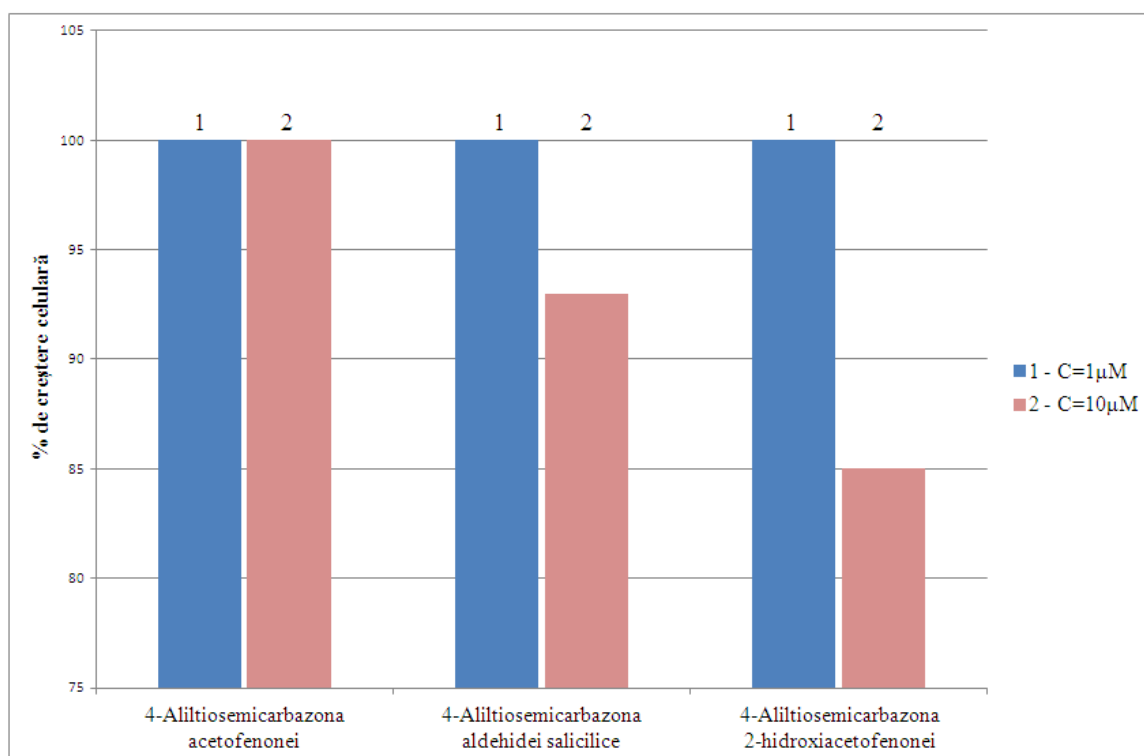


Fig. 3. Proliferarea celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane în prezența substanțelor testate.

În scopul stabilirii activității anticancer a tiosemicarbazonele sintetizate, a fost studiată activitatea lor antiproliferativă față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane în comparație cu 4-aliltiosemicarbazona acetofenonei (Fig. 3). Rezultatele obținute indică, că lipsa grupei hidroxil în molecula azometinei conduce la pierderea completă a activității anticanceroase. Compararea activității 4-aliltiosemicarbazonei aldehidei salicilice și 2-hidroxiacetofenonei a arătat, că înlocuirea atomului de hidrogen din grupa azometinică printr-un radical metil este însoțită de o intensificare a activității anticancer. Cea mai activă dintre tiosemicarbazonele studiate (4-aliltiosemicarbazona 2-hidroxiacetofenonei) inhibă creșterea și multiplicarea a 15% din celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane la o concentrație de 10  $\mu\text{M}$  și activitatea se pierde complet la o concentrație mai mică (1  $\mu\text{M}$ ). O dependență similară se observă și în cazul proliferării celulelor HeLa ale cancerului de col uterin [7].



Experimentul a arătat, că în rezultatul coordinării 4-alitiosemicarbazonei aldehidei salicilice la ionii de cupru(II) activitatea antiproliferativă față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloidă umane se intensifică. La o concentrație de 10  $\mu\text{M}$  creșterea și multiplicarea celulelor canceroase este suprimată la 100%, însă, activitatea dispare la concentrații mai mici. Coordinarea 4-alitiosemicarbazonei aldehidei salicilice la ionii de cobalt(III) duce la pierderea completă a activității antiproliferative. Studiul efectului inhibitor al acestor compuși complecși față de celulele normale MDCK a arătat, că deși activitatea față de celulele canceroase este mai pronunțată, complecșii nu posedă o selectivitate semnificativă.

## 2.2. Compuși complecși ai metalelor 3d cu 4-alitiosemicarbazone ale aldehydelor salicilice substituie

În scopul studiului influenței diferitor substituenți din fragmentul salicilidenic asupra proprietăților tiosemicarbazonelor și a compușilor coordinativi ai biometalelor în baza acestor liganzi, au fost sintetizate șase 4-alitiosemicarbazone care conțin în fragmentul salicilidenic în diferite poziții  $-\text{Br}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$  [8]. Pentru patru din aceste tiosemicarbazone structura a fost confirmată cu ajutorul analizei de difracție a razelor X [9]. Studiul spectrelor RMN  $^{13}\text{C}$  a arătat că, la fel ca și în cazul 4-alitiosemicarbazonei aldehidei salicilice, tiosemicarbazonele date se află în forma tionică. Studiul spectrelor de absorbție în domeniul IR a compușilor coordinativi ai cuprului(II) și cobaltului(III) a arătat, că introducerea substituenților nu a modificat modul de coordinare al 4-alitiosemicarbazonelor la ionii de metal: 4-alitiosemicarbazonele aldehydelor salicilice substituie se comportă ca liganzi tridentati cu setul de atomi donori O,N,S. Structura unui compus complex de cupru(II) a fost stabilită prin analiza roentgenostructurală, care a confirmat concluziile făcute în baza studiilor spectroscopice IR.

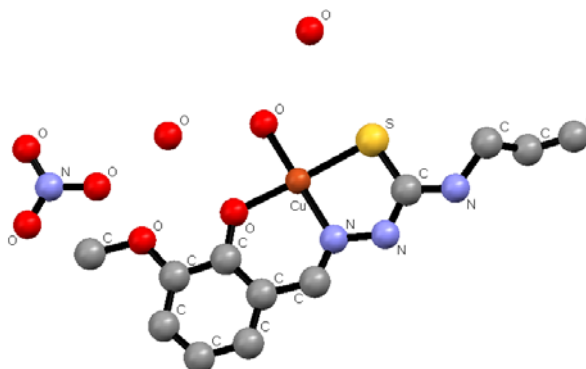


Fig. 4. Structura complexului  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{HL}^8)]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{H}_2\text{L}^8$  – 4-alitiosemicarbazona aldehidei 3-metoxisalicilice).

Introducerea substituenților în fragmentul salicilidenic al tiosemicarbazonelor a dus la o modificare a activității biologice a liganzilor, precum și a compușilor coordinativi ai biometalelor sintetizați în baza lor [10]. Astfel, introducerea de doi atomi de brom în inelul aromatic este însoțită de pierderea completă a activității antiproliferative față de celulele HL-60 de leucemie mieloidă umană. Cele mai active tiosemicarbazone s-au dovedit a fi cele, care conțin în fragmentul salicilidenic atomul de brom în al cincea poziție sau grupa metoxi în poziția a treia. Aceste tiosemicarbazone inhibă creșterea și multiplicarea celulelor canceroase cu mai mult de 50% la concentrația de 10  $\mu\text{M}$ . Complecșii de cupru(II) manifestă o activitate mai pronunțată decât tiosemicarbazonele corespunzătoare, iar complecșii de cobalt(III) sînt mai puțin activi. Cel mai activ compus în această serie este complexul  $\text{Cu}(\text{HL}^8)\text{Cl}$  ( $\text{H}_2\text{L}^8$  – 4-aliltiosemicarbazona aldehidei 3-metoxisalicilice), care inhibă creșterea și multiplicarea celulelor canceroase cu 100% la concentrații de 10  $\mu\text{M}$  și 1  $\mu\text{M}$ , dar își pierde activitatea la o concentrație mai mică. Mai mult decât atât, în majoritatea cazurilor acestui șir de substanțe efectul citostatic față de celulele normale MDCK este de mai mult de 10 ori mai slab decât acțiunea lor față de celulele canceroase HL-60 ale leucemiei mieloidă umane, ceea ce indică la o activitate anticanceroasă selectivă a compușilor sintetizați.

### **2.3. Compuși complecși ai metalelor 3d cu 4-aliltiosemicarbazonă a 2-hidroxi-1-naftaldehidei**

S-a studiat efectul substituției fragmentului salicilidenic al 4-aliltiosemicarbazonei prin fragmentul 2-hidroxi-1-naftalidenic[11]. S-a stabilit, că această substituție nu duce la o creștere a activității antimicrobiene a tiosemicarbazonei și compușilor coordinativi ai biometalelor în baza ei, însă se schimbă proprietățile antiproliferative față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloidă umane. Selectivitatea activității anticancer a compușilor coordinativi noi obținuți rămîne joasă, pentru că valorile concentrației semimaximale ( $\text{IC}_{50}$ ) față de celulele canceroase și normale diferă cu mai puțin de 2 ori.

### **2.4. Compuși complecși ai cuprului(II) cu 4-aliltiosemicarbazone ale aldehidei salicilice și derivații ei care conțin amine**

Deoarece studiul literaturii a arătat, că introducerea aminelor în sfera interioară a compușilor coordinativi ai cuprului(II) duce la schimbări în activitatea lor biologică, a fost sintetizat un șir de compuși coordinativi ai cuprului(II), care conțin în sfera interioară 4-aliltiosemicarbazonele aldehidei salicilice ( $\text{H}_2\text{L}^1$ ) sau derivații ei și diverse amine

heteroaromatice, cum ar fi piridina, 3,5-dibromopiridina, picoline, 2,5-lutidina, imidazolul, 2,2'-bipiridilul, 4,4'-bipiridilul, 1,10-fenantrolina.

Rezultatele analizei magnetochimice realizate pentru compușii coordinativi obținuți indică, că unii din ei posedă o structură monomerică, iar alții - polinucleară. Cu ajutorul analizei cu raze X a monocristalelor au fost determinate structurile pentru șase compuși complecși sintetizați [12, 13].

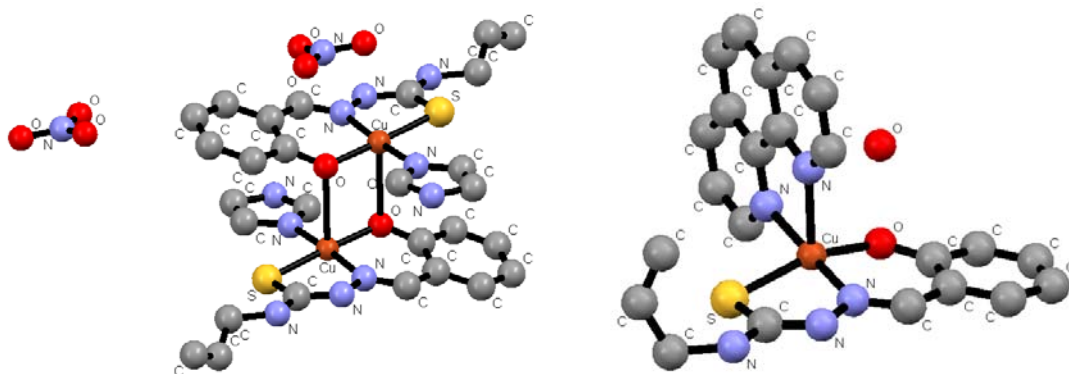


Fig. 5. Structura complecșilor  $[\text{Cu}_2(\text{Im})_2(\text{HL}^1)_2](\text{NO}_3)_2$  și  $[\text{Cu}(1,10\text{-Phen})(\text{L}^1)]\cdot\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{H}_2\text{L}^1$  – 4-alitiosemicarbazona aldehydului salicilic; Im - imidazol; 1,10-Phen – 1,10-fenantrolina).

S-a stabilit, că compușii investigați posedă structură dimerică, cu atomul de oxigen fenolic în calitate de punte sau monomerică, în cazul compușilor acetatului de cupru(II) cu amine bidentate (Fig. 5). Poliedrele de coordinare reprezintă piramide pătrate distorsionate. Numărul de coordinare al atomului central de cupru este egal cu 5. Tiosemicarbazonele coordonate se comportă ca liganzi tridentati monodeprotonați, coordinând la atomul central prin intermediul atomilor de oxigen fenolic deprotonat, azot azometinic și sulf, care se află în forma tionică (lungimea legăturii C=S este de 1,699-1,717 Å) sau în forma tiolică (lungimea legăturii C-S este de 1,741-1,742 Å). Ca rezultat, se formează metalocicluri alcătuite din cinci și șase atomi. Al patrulea loc coordinativ în baza piramidei, în cazul compușilor complecși dimerici, este ocupat de un atom de azot al aminei corespunzătoare, iar în poziția apicală se află atomul de oxigen fenolic al ligandului adiacent. În cazul compușilor monomerici, pozițiile patru și cinci sînt ocupate de atomi de azot ai aminei bidentate corespunzătoare.

În scopul evidențierii proprietăților biologice ale compușilor coordinativi sintetizați a fost studiată activitatea anticancer ( $\text{IC}_{50}$ ) față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane, HeLa ale cancerului de col uterin, precum și activitatea citostatică față de celulele normale MDCK ale epitelului rinichilor de câine pentru 4-alitiosemicarbazona aldehydei salicilice ( $\text{H}_2\text{L}^1$ ), compusul

complex al cuprului(II) cu acest ligand  $\text{Cu}(\text{HL}^1)\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  și doi compuși complecși, ce conțin în sfera interioară amine -  $\text{Cu}(\text{Im})(\text{HL}^1)\text{NO}_3$  și  $\text{Cu}(3,5\text{-Br}_2\text{Py})(\text{HL}^1)\text{NO}_3$  (Tabel 1). S-a stabilit, că ambii compuși coordinativi ce conțin amine manifestă activitate selectivă față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane. Introducerea aminelor în sfera interioară a compușilor complecși a dus la micșorarea valorilor  $\text{IC}_{50}$  cu mai mult de 15 ori în comparație cu complexul respectiv fără amină. Totodată, valorile  $\text{IC}_{50}$  pentru aceste tipuri de celule canceroase sînt de circa 30 de ori mai mici decît pentru celulele normale, respectiv, efectul negativ al compușilor complecși investigați asupra celulelor normale este mult mai mic decît față de celulele canceroase HL-60. Astfel, introducerea aminelor a condus la creșterea activității anticancer și a selectivității activității inhibitoare.

Tabel 1. Valorile  $\text{IC}_{50}$  ale unor compuși sintetizați față de celulele HL-60, HeLa și MDCK.

Compusul	$\text{IC}_{50}^*$ , $\mu\text{M}$		
	HL-60	HeLa	MDCK
$\text{H}_2\text{L}^1$	>10	>100	>100
$\text{Cu}(\text{HL}^1)\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5.0	1.3	6.0
$\text{Cu}(\text{Im})(\text{HL}^1)\text{NO}_3$	0.32	7.0	12
$\text{Cu}(3,5\text{-Br}_2\text{Py})(\text{HL}^1)\text{NO}_3$	0.28	5.0	9.0

\* - valorile prezentate reprezintă media obținută din rezultatele a trei experimente independente ( $\text{SEM} \leq \pm 4\%$ )

Studiul activității antimicrobiene și antifungice față de bacteriile gram-pozitive, gram-negative și *Candida albicans* a arătat, că introducerea aminelor în sfera interioară a complecșilor de cupru(II) este însoțită de reducerea valorilor concentrațiilor minime inhibitoare (CMI) și bactericide (CMB). Complexul care conține  $\gamma$ -picolină -  $\text{Cu}(\gamma\text{-Pic})(\text{HL}^1)\text{NO}_3$  - manifestă cea mai mare activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-negative, iar pentru complexul cu amina bidentată 1,10-fenantrolină -  $\text{Cu}(1,10\text{-Phen})(\text{L}^1) \cdot \text{H}_2\text{O}$  - se atestă cea mai mică valoare a concentrației minime inhibitoare față de microorganismele gram-pozitive și *Candida albicans*. Substituția 3,5-dibromopiridinei prin imidazol conduce la creșterea activității față de toată gama de microorganisme și fungi utilizate, iar substituția fragmentului salicilidenic al tiosemicarbazonei coordonate prin fragmentul 3,5-dibrobosalicilidenic, conduce la creșterea activității față de microorganismele gram-pozitive și *Candida albicans*.

### **3. COMPUȘI COORDINATIVI AI METALELOR 3d CU 4-ALILTIOSEMICARBAZONE ALE COMPUȘILOR CARBONILICI HETEROAROMATICI**

#### **3.1. Compuși coordinativi ai metalelor 3d cu 4-aliltiosemicarbazona 5-nitrofuraldehidei**

Fragmentul 5-nitrofuranic este frecvent întâlnit în compoziția compușilor ce manifestă proprietăți antimicrobiene cum ar fi furacilina, nitrofurantoina, furazolidona etc. De aceea, a prezentat interes studiul influenței introducerii acestui fragment în compoziția tiosemicarbazonelor cercetate asupra proprietăților lor biologice. În acest sens, inițial a fost sintetizată 4-aliltiosemicarbazona 5-nitrofuraldehidei prin reacția de condensare. Puritatea și structura produsului de condensare au fost stabilite utilizând spectroscopia RMN  $^1\text{H}$  și  $^{13}\text{C}$  [14]. Tiosemicarbazona obținută formează compuși complecși cu ionii de cupru(II) și nichel(II) în raport molar de 2:1. Analiza comparativă a spectrelor de absorbție în domeniul IR ale 4-aliltiosemicarbazonei 5-nitrofuraldehidei și ale compușilor coordinativi obținuți în baza ei a arătat, că tiosemicarbazona respectivă se comportă ca un ligand N,S-bidentat. Investigarea proprietăților anticancer ale acestor compuși coordinativi a demonstrat, că ei inhibă proliferarea a 50-70% de celulele canceroase HL-60 doar la concentrația de 10  $\mu\text{M}$ . De asemenea, s-a constatat, că acești compuși nu manifestă activitate antimicrobiană puternică. Valorile CMI și CMB sînt cuprinse în intervalul de 0.12-2.0 mg/mL [15].

#### **3.2. 4-Aliltiosemicarbazone ale 2-, 3-, 4-formilpiridinelor și derivții lor**

În scopul identificării tiosemicarbazonelor cu cea mai pronunțată activitate biologică, au fost sintetizate 4-aliltiosemicarbazone ale formilpiridinelor, ce conțin grupa carbonil în diferite poziții ale inelului piridinic, ale 2-acetil- și 2-benzoilpiridinelor, precum și 2-formilchinolinei și 6-bromo-2-formilpiridinei.

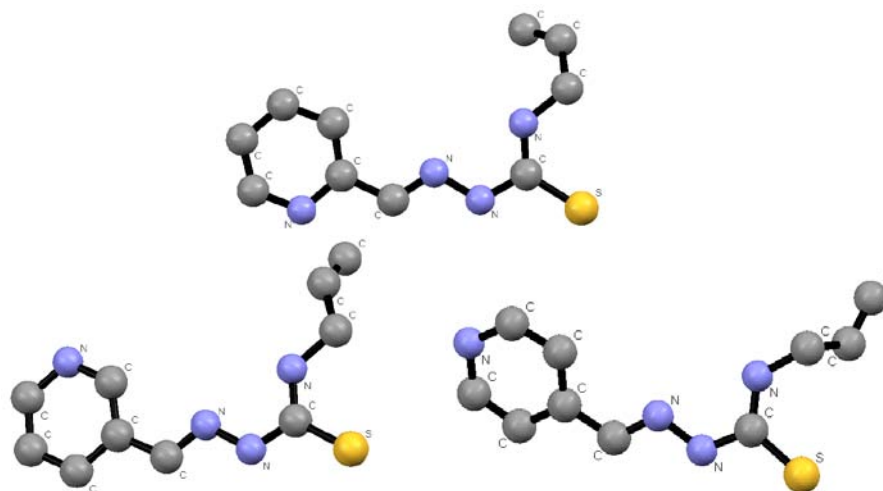


Fig. 6. Structura 4-alitiosemicarbazonei 2-, 3-, 4-formilpiridinei.

Studiul activității anticancer a 4-alitiosemicarbazonei 2-, 3-, și 4-formilpiridinelor față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane a arătat, că poziția atomului de azot afectează în mod semnificativ activitatea acestor compuși: 4-alitiosemicarbazona 2-formilpiridinei (HL<sup>11</sup>) inhibă creșterea și multiplicarea celulelor leucemiei umane la 100% la concentrații de 10 și 1  $\mu\text{M}$ . Schimbarea poziției azotului din fragmentul piridinic duce la pierderea completă a activității anticancer. Același efect se atestă și în rezultatul introducerii atomului de brom în a șasea poziție a inelului piridinic. Astfel, putem concluziona, că introducerea substituenților acceptori de electroni în fragmentul piridinic al tiosemicarbazonei reduce activitatea antiproliferativă față de celulele canceroase. Introducerea fragmentului de chinolină, de asemenea, reduce activitatea anticancer. De aceea, pentru cercetările următoare au fost folosite 4-alitiosemicarbazonele 2-formil-, 2-acetil- și 2-benzoilpiridinelor. Purity și structura tiosemicarbazonei obținute au fost confirmate folosind spectroscopia RMN <sup>1</sup>H și <sup>13</sup>C.

Experimentul a demonstrat, că substituția atomului de hidrogen azometinic din compoziția tiosemicarbazonei prin radicalii metil sau fenil duce la intensificarea activității anticancer. Astfel, 4-alitiosemicarbazonele 2-acetil- și 2-benzoilpiridinelor inhibă creșterea și multiplicarea aproape a 100% de celulele HL-60 la concentrațiile 10, 1 și 0,1  $\mu\text{M}$ . Rezultatele obținute au condus la realizarea unui studiu suplimentar al activității anticancer pentru concentrația de 0,01  $\mu\text{M}$ . S-a stabilit, că la această concentrație tiosemicarbazonele investigate inhibă creșterea și multiplicarea celulele canceroase în intervalul de la 10 până la 17%.

Studiul activității inhibitoare a acestor substanțe față de celulele normale MDCK a arătat, că valorile IC<sub>50</sub> pentru celulele normale depășesc de mai mult de 250 ori valorile corespunzătoare pentru celulele canceroase HL-60, ceea ce indică la o selectivitate a efectului

anticancer al acestor substanțe. Valoarea toxicității letale (LD<sub>50</sub>) de 1050 mg/kg pentru 4-alitiosemicarbazona 2-acetilpiridinei, indică la o toxicitate redusă a acestui compus.

### 3.3. Compuși coordinativi ai metalelor 3d cu 4-alitiosemicarbazone ale 2-formil-, 2-acetil- și 2-benzoilpiridinelor

Sinteza compușilor coordinativi ai cuprului(II), nichelului(II), fierului(III) și cobaltului(III) cu 4-alitiosemicarbazonele 2-formil- și 2-acetilpiridinelor a fost efectuată în soluții etanolice prin reacția dintre sărurile metalelor sus-numite și tiosemicarbazonele corespunzătoare. Pentru sinteza compușilor coordinativi cu 4-alitiosemicarbazona 2-benzoilpiridinei a fost folosită metoda templată, care a redus semnificativ timpul efectuării sintezei.

Analiza magnetochimică a compușilor sintetizați a arătat, că majoritatea complexelor de cupru(II) au valoarea momentului magnetic efectiv caracteristic pentru un electron necuplat, ceea ce indică la absența cuplării parțiale a electronilor atomilor de cupru. În cazul compușilor complecși ai acetatului de cupru(II) cu acești liganzi, valorile momentelor magnetice efective sînt scăzute (1.18-1.25 M.B.), ceea ce indică la o structură polinucleară a acestor compuși. Compușii coordinativi ai cobaltului sînt diamagnetici, ceea ce indică structura octaedrică a acestora, atomul central de cobalt aflîndu-se în gradul de oxidare +3. Analiza comparativă a spectrelor IR ale tiosemicarbazonelor și complexelor obținute în baza lor a arătat, că tiosemicarbazonele coordonează la atomii centrali prin intermediul atomilor de azot azometinic și piridinic, precum și a atomului de sulf aflat în formă tiolică sau tionică.

Pentru cinci compuși coordinativi ai cuprului(II) și nichelului(II) structura a fost stabilită cu ajutorul analizei cu raze X (Fig. 7).

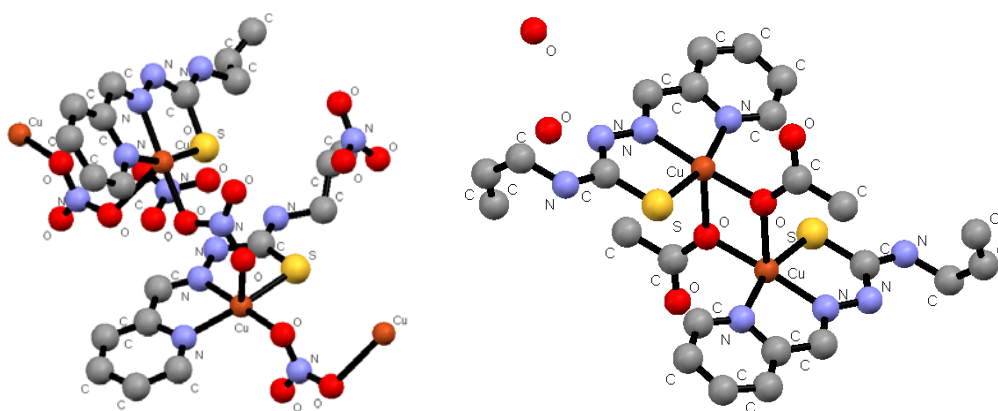


Fig. 7. Structura complexelor  $[\text{Cu}(\text{HL}^{11})\text{NO}_3]_n(\text{NO}_3)_n$  și  $[\text{Cu}_2(\text{L}^{11})_2(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{HL}^{11}$  – 4-alitiosemicarbazona 2-formilpiridinei).

S-a stabilit, că complexul  $\text{Cu}(\text{HL}^{11})(\text{NO}_3)_2$  are o structură polimerică. Poliedrul de coordinare al atomului central de cupru reprezintă o piramidă pătrată distorsionată. Tiosemicarbazona  $\text{HL}^{11}$  se comportă ca un ligand tridentat nedeprotonat în formă tionică (lungimea legăturii  $\text{C}=\text{S}$  alcătuieste 1,698 Å) și coordonează la atomul central prin atomii de azot piridinic și azometinic și atomul de sulf. Ca rezultat, se formează două metalocicluri alcătuite din cinci atomi. Al patrulea loc de coordinare al atomului central în baza piramidei și poziția apicală sînt ocupate de atomii de oxigen ai ionilor nitrat, care joacă rolul de punte între atomii de cupru. Fiecărui atom central î-i revine cîte un ion nitrat în sfera exterioară a complexului.

În procesul reacției ce decurge în soluția etanolică între acetatul de cupru(II) și 4-aliltiosemicarbazona 2-fornilpiridinei are loc tautomerizarea tiosemicarbazonei într-o formă tiolică (lungimea legăturii  $\text{C}-\text{S}$  este de 1.736 Å), cu deprotonarea ulterioară a ligandului formarea complexului de cupru(II) cu structura dimerică. Poziția a patra în baza piramidei și poziția apicală ale atomului central sînt ocupate de atomii de oxigen din compoziția a doi ioni acetat, care servesc în calitate de punte între atomii de cupru, formînd legaturi prin intermediul acelorași atomi de oxigen și cu atomul de cupru vecin.

Studiul activității bacteriostatice și bactericide ale compușilor sintetizați a arătat, că 4-aliltiosemicarbazonele 2-formil- și 2-acetilpiridinelor au valorile CMI și CMB cuprinse între 1.5 și 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Coordinarea acestor tiosemicarbazone la ionii de cupru(II) conduce la o creștere a activității antimicrobiene și antifungice. Valorile CMI și CMB pentru compușii coordinativi se află în intervalul de concentrații 0.7-120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Complecșii de cupru(II) manifestă aproximativ aceeași activitate față de bacteriile gram-pozitive, gram-negative și *Candida albicans*. Substituirea ionului nitrat prin ioni de clorură în complecșii de cupru(II) este însoțită de o intensificare a activității.

Studiul activității anticancer a compușilor sintetizați față de celulele HL-60 a arătat, că natura atomului central are o influență semnificativă asupra activității anticancer. Activitatea antiproliferativă pentru compuși cu compoziție similară scade conform următorului șir:  $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Fe} > \text{Co}$ . S-a stabilit, că la compușii complecși ai cuprului(II) și nichelului(II) se atestă o activitate mai mare comparativ cu tiosemicarbazonele corespunzătoare necoordinate. Compararea activității compușilor coordinativi homotipici ai cuprului(II) cu acești liganzi a arătat, că activitatea se intensifică în funcție de natura substituentului din grupul azometinic al tiosemicarbazonei în următoarea consecutivitate  $\text{H} < \text{C}_6\text{H}_5 < \text{CH}_3$ . Natura restului acid, de asemenea, influențează activitatea anticancer a substanțelor testate. Cu toate acestea, influența naturii anionului este mult mai slabă comparativ cu influența atomului central și a substituentului din fragmentul azometinic. Pentru doi compuși coordinativi ai cuprului(II) cu cea mai pronunțată



activitate anticancer, a fost studiată activitatea antiproliferativă față de celulele HL-60 și la concentrația 0.01  $\mu\text{M}$ . S-a stabilit, că activitatea lor depășește activitatea doxorubicinei, utilizate în practica medicală, la concentrații de 0.1 și 0.01  $\mu\text{M}$ , ceea ce indică la perspectiva continuării cercetărilor acestor substanțe pentru aplicarea lor în practică.

În scopul identificării selectivității acțiunii anticancer a compușilor sintetizați s-au determinat activitățile antiproliferative față de celulele HeLa ale cancerului de col uterin și efectul citostatic al acestor substanțe față de celulele normale MDCK (Tabel 2).

Tabel 2. Valorile  $\text{IC}_{50}$  ale unor compuși sintetizați asupra celulelor HL-60, HeLa și MDCK.

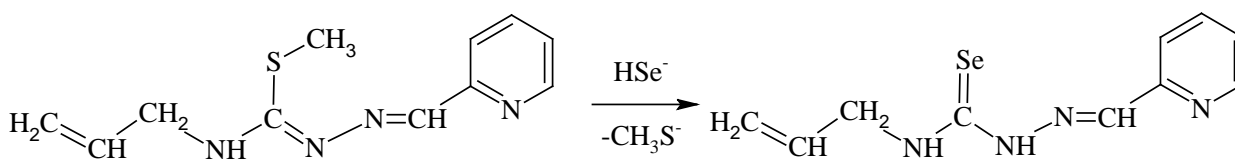
Compusul	$\text{IC}_{50}^*$ , $\mu\text{M}$		
	HL-60	HeLa	MDCK
HL <sup>11</sup>	0.38	>100	>100
$\text{Cu}(\text{HL}^{11})(\text{NO}_3)_2$	0.052	0.60	6.0
$\text{Cu}(\text{L}^{11})(\text{CH}_3\text{COO})\cdot\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.35	3.5
$\text{Zn}(\text{L}^{11})\text{Cl}$	0.38	-	-
$\text{Ni}(\text{HL}^{11})_2\text{Cl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	0.060	>100	>100
HL <sup>14</sup>	0.035	4.5	>100
$\text{Cu}(\text{HL}^{14})(\text{NO}_3)_2$	0.022	3.2	4.2
$\text{Cu}(\text{L}^{14})(\text{CH}_3\text{COO})$	0.040	0.32	3.6
HL <sup>15</sup>	0.032	-	>100
$\text{Cu}(\text{L}^{15})\text{Cl}$	0.040	0.038	2.4

\* - valorile prezentate reprezintă media obținută din rezultatele a trei experimente independente ( $\text{SEM} < \pm 4\%$ )

Analiza valorilor  $\text{IC}_{50}$  obținute pentru cele trei tipuri de celule arată, că substanțele sintetizate manifestă activitatea cea mai mare față de celulele HL-60. Celulele HeLa sunt mai puțin sensibile la acțiunea acestor compuși. Valorile  $\text{IC}_{50}$  determinate pentru celulele normale depășesc de 15 sau mai multe ori valorile  $\text{IC}_{50}$  determinate pentru celulele canceroase HL-60. Respectiv, compușii investigați manifestă o acțiune selectivă față de celulele canceroase. Pentru cele mai selective substanțe, activitatea antiproliferativă față de celulele canceroase este de mai mult de 100 de ori mai mare decât față de celulele normale. Astfel, complexul  $\text{Ni}(\text{HL}^{11})_2\text{Cl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ , care posedă activitate sporită împotriva cancerului, practic nu influențează creșterea și multiplicarea celulelor normale [16].

### 3.4. Sinteza, structura și proprietățile 4-alil-S-metilzotiosemicarbazonei și 4-alilselenosemicarbazonei 2-formilpiridinei și compușilor coordinativi ai clorurii de cupru(II) cu acești liganzi

A prezentat interes studiul influenței alchilării atomului de sulf, precum și substituția atomului de sulf prin selen în compoziția 4-alitiosemicarbazonei asupra compoziției, structurii și proprietăților acestor compuși. Ca rezultat, au fost găsite condițiile de alchilare a atomului de sulf din fragmentul 4-alitiosemicarbazidic și substituției ulterioare a fragmentului SCH<sub>3</sub> prin ionul de hidroseleneură [17].



Schema 1. Sinteza 4-alilselenosemicarbazonei 2-formilpiridinei.

Compușii obținuți au fost analizați cu ajutorul spectroscopiei RMN și analizei cu raze X. S-a stabilit, că în soluție 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona 2-formilpiridinei se află în două forme tautomere. Alchilarea atomului de sulf este confirmată prin dispariția în spectrul RMN <sup>13</sup>C a semnalului în intervalul de deplasări chimice 177-179 ppm, caracteristic carbonului din grupa C=S, și apariția unui nou semnal la 163-167 ppm, caracteristic pentru carbonul din grupa C-S în izotiosemicarbazone, precum și apariția unui semnal la 12-14 ppm caracteristic carbonului din radicalul metil. Totodată, în spectrul RMN <sup>1</sup>H apare un singlet la 2.41-2.52 ppm, corespunzător atomilor de hidrogen din compoziția radicalului metil. În spectrul RMN <sup>13</sup>C al 4-alilselenosemicarbazonei 2-formilpiridinei apare un semnal la 176.35 ppm, care este caracteristic pentru atomul de carbon din gruparea C=Se. Structura compușilor sintetizați a fost confirmată prin analiza cu raze X (Fig. 8) [18].

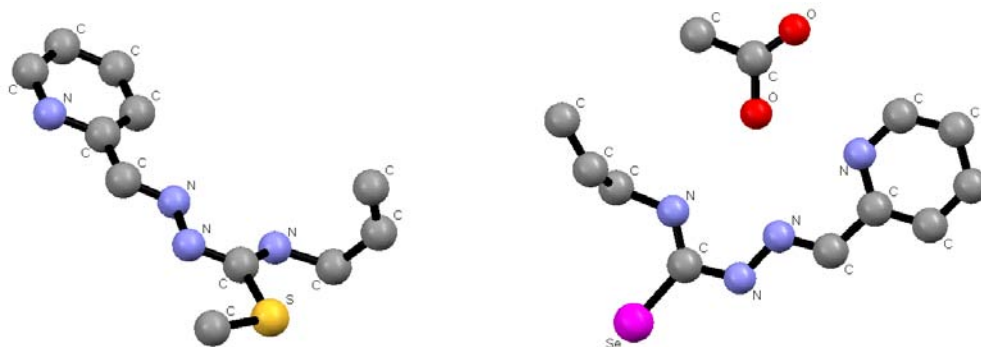


Fig. 8. Structura 4-alil-S-metilzotiosemicarbazonei (HL<sup>18</sup>) și 4-alilselenosemicarbazonei (HL<sup>19</sup>) 2-formilpiridinei.

În rezultatul interacțiunii soluțiilor etanoliche ale compușilor sintetizați cu clorura de cupru(II) au fost obținuți compușii complecși  $\text{Cu}(\text{HL}^{18})\text{Cl}_2$  și  $\text{Cu}(\text{L}^{19})\text{Cl}$ . Studiul comparativ al spectrelor de absorbție în domeniul IR ale ligandului și compușilor coordinativi a arătat, că 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona 2-formilpiridinei coordonează la atomul central prin intermediul setului de atomi donori N,N,N-, iar 4-alilselenosemicarbazona – N,N,Se.

Studiul activității anticancer a compușilor sintetizați față de celulele HL-60 a arătat, că 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona 2-formilpiridinei ( $\text{HL}^{18}$ ) nu manifestă acțiune față de acest tip de celule, iar complexul de cupru(II) cu acest ligand ( $\text{Cu}(\text{HL}^{18})\text{Cl}_2$ ) inhibă proliferarea a 100% din celulele HL-60 de leucemie mieloidă umană la concentrația de  $10 \mu\text{M}$ , și 30% de celule la o concentrație de  $1 \mu\text{M}$ . Activitatea față de acest tip de celule canceroase dispare la concentrații mai mici [19].

Atât 4-alilselenosemicarbazona 2-formilpiridinei ( $\text{HL}^{19}$ ), cât și complexul de cupru(II) cu acest ligand manifestă activitate anticanceroasă față de celulele HL-60 la concentrații de  $10$  și  $1 \mu\text{M}$ . La concentrații mai mici ( $0.1 \mu\text{M}$ ) activitatea aproape dispare. După cum se observă din histogramă (Fig. 9), activitatea complexului  $\text{Cu}(\text{L}^{19})\text{Cl}$  depășește activitatea selenosemicarbazonei  $\text{HL}^{19}$  la concentrații de  $1$  și  $10 \mu\text{M}$ . Compararea activității anticancer a acestor substanțe și ale substanțelor respective care conțin sulf ( $\text{HL}^{11}$ ,  $\text{Cu}(\text{L}^{11})\text{Cl}$ ) induce concluzia, că substituția atomului de sulf prin selen duce la o scădere moderată a activității anticancer.

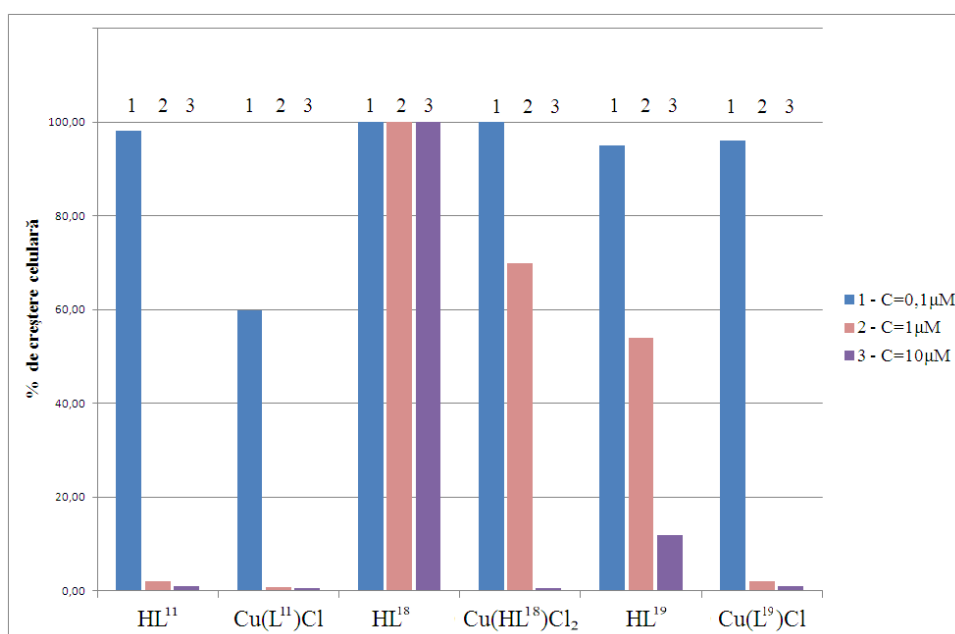


Fig. 9. Proliferarea celulelor HL-60 în prezența compușilor sintetizați.

Experimentul a demonstrat, că activitatea antimicrobiană a acestor compuși față de microorganismele gram-negative este mai puțin pronunțată comparativ cu activitatea față de microorganismele gram-pozitive și *Candida albicans*. Substituția atomului de sulf prin selen și alchilarea atomului de sulf din compoziția tiosemicarbazonelor sunt însoțite de o creștere semnificativă a activității antimicrobiene față de microorganismele gram-pozitive. Astfel, se atestă o reducere a valorilor CMI și CMB de circa 10 și 40 de ori, respectiv. De asemenea, se observă o creștere a activității fungicide față de *Candida albicans* în cazul înlocuirii tiosemicarbazonei prin selenosemicarbazona corespunzătoare: valorile CMI și CMF se micșorează de 2 și 4 ori, respectiv. Totodată, se observă și o scădere a activității antimicrobiene față de microorganismele gram-negative: valorile CMI și CMB cresc de 33 și 2 ori, respectiv.

#### **4. METODE DE SINTEZĂ, ANALIZĂ ȘI CERCETARE**

Capitolul patru conține informații despre materialele utilizate pentru sinteză, metodele de sinteză ale tiosemicarbazonelor, derivaților lor și ale compușilor complecși cu acești liganzi. Sînt prezentate metodele aplicate pentru analiza chimică, cercetările fizice și fizico-chimice, metodele de cercetare a proprietăților biologice ale compușilor organici și coordinativi sintetizați, care includ analiza elementală pentru metale și azot, determinarea punctului de topire, cercetări magnetice, determinarea conductibilității electrice molare, analiza spectrală IR și RMN și difracția cu raze X a monocristalelor. Studiul proprietăților biologice pentru compușii analizați include determinarea activității antimicrobiene, antifungice și citostatice față de celulele canceroase HL-60 și HeLa și celulele normale MDCK.

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

În baza rezultatelor obținute în urma cercetării se pot formula următoarele concluzii:

1. Au fost sintetizate unsprezece 4-aliltiosemicarbazone și derivați ai acestora noi, precum și 63 de compuși complecși noi de cupru(II), nichel(II), cobalt(III), fier(III) și zinc cu acești liganzi. Au fost găsite condițiile de alchilare a atomului de sulf din compoziția tiosemicarbazonelor, substituția atomului de sulf din compoziția ligandului prin atom de selen, precum și condițiile de introducere a unor amine heteroaromatice în sfera interioară a complecșilor de cupru(II) cu acești liganzi.
2. Cercetarea spectrelor RMN ale 4-alilcalcogensemicarbazonelor sintetizate arată, că aceste molecule în soluție se află în formă tionică. În soluțiile de 4-alil-S-metilzotiosemicarbazona 2-formilpiridinei sunt prezente două forme tautomere.
3. Pentru 28 compuși sintetizați structura a fost confirmată cu ajutorul analizei cu raze X a monocristalelor. S-a stabilit, că în stare solidă 4-alilcalcogensemicarbazonele sintetizate, de asemenea, se află în forma tionică. Aceste molecule sînt practic planare, cu excepția fragmentului alilic.
4. Analiza cu raze X a arătat, că atomii centrali de cupru în compuși complecși posedă numărul de coordinare 4 sau 5. Compușii complecși ai cuprului(II) pot avea o structură monomerică, dimerică sau polinucleară. Compușii coordinativi ai nichelului(II) posedă structură octaedrică meridională. În compușii complecși analizați 4-aliltiosemicarbazonele se comportă ca liganzi tridentați cu setul de atomi N,N,S- sau O,N,S- donori, formînd cu atomul central metalocicluri alcătuite din cinci și șase atomi.
5. Pentru compuși complecși a căror structură nu a fost determinată prin metoda de analiză cu raze X, modul de coordinare al ligandului la atomul central a fost stabilit în baza analizei comparative a spectrelor IR ale liganzilor și complecșilor respectivi, precum și folosind analiza magnetochimică. Măsurările magnetice au arătat, că compușii complecși de cupru(II) pot avea o structură monomerică și polinucleară, complecși de nichel(II) pot avea structură octaedrică și plan-patrată, cobaltul(III) și fierul(III) se află într-un câmp octaedric al liganzilor, atomul central de cobalt se află în starea de oxidare +3.
6. Pentru 4-aliltiosemicarbazone, derivații lor și compușii complecși ai biometalelor cu acești liganzi a fost studiată activitatea antimicrobiană pentru o serii de tulpini de microorganisme gram-pozitive și gram-negative, activitatea antifungică și activitatea anticancer față de celulele HL-60 ale leucemiei mieloide umane, celulele HeLa ale

cancerului de col uterin, precum și efectul inhibitor asupra celulele normale MDCK ale epitelului din rinichi de câine. În baza rezultatelor analizelor realizate a fost identificată influența naturii substituentului în prima poziție a 4-aliltiosemicarbazonelor, alchilării atomului de sulf, substituției atomului de sulf prin selen, a naturii atomului central și restului acid, introducerii aminelor în sfera interioară a compușilor de cupru(II) asupra activități biologice [20]. S-a stabilit, că:

- substituția fragmentului salicilidenic în primă poziție a 4-aliltiosemicarbazonelor cu fragmentul picolidenic este însoțit de o creștere semnificativă a activității biologice;
- schimbarea poziției atomului de azot în fragmentul picolidenic duce la pierderea completă a activității anticancer a 4-aliltiosemicarbazonelor respective;
- înlocuirea atomului de hidrogen din grupa azometinică prin radicalii metil sau fenil duce la intensificarea activității antimicrobiene, antifungice și anticancer a 4-aliltiosemicarbazonelor compușilor carbonilici aromatici și heteroaromatici, precum și a compușilor coordinativi în baza acestor liganzi;
- Metilarea atomului de sulf din compoziția tiosemicarbazonei este însoțită de creșterea activității antimicrobiene față de microorganismele gram-pozitive, însă, în același timp, duce la pierderea activității anticancer;
- substituția atomului de sulf prin selen conduce la creșterea activității antimicrobiene față de microorganismele gram-pozitive și a activității antifungice;
- coordinarea 4-aliltiosemicarbazonelor și a derivaților lor sintetizate la ioni de biometale induce schimbarea activității lor biologice, datorată în primul rând influenței atomului central. Activitatea biologică a compușilor coordinativi ai metalelor studiate scade conform următorului șir:  $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Fe} > \text{Co}$ ;
- natura restului acid din compoziția compusului complex, de asemenea, are un impact asupra activității antimicrobiene, antifungice și anticancer a compușilor sintetizați. Cele mai pronunțate activități antimicrobiene și antifungice se observă în cazul ionilor  $\text{Cl}^-$  și  $\text{Br}^-$ . Influența naturii anionului asupra activității anticancer a compușilor este mai puțin pronunțată;
- introducerea aminelor în sfera interioară a complecșilor de cupru(II) duce la intensificarea activității antimicrobiene, antifungice și la o creștere semnificativă a activității anticancer;
- 4-aliltiosemicarbazonele sintetizate și derivații lor, precum și compuși coordinativi ai biometalelor cu acești liganzi, în multe cazuri, manifestă o

activitate anticancer selectivă, afectând în mod nesemnificativ creșterea și multiplicarea celulelor normale MDCK.

**Problema științifică soluționată** în cadrul acestei teze constă în sinteza noilor inhibitori moleculari a proliferării celulelor canceroase cu activitate selectivă și toxicitate redusă.

- Pe baza rezultatelor obținute se pot face următoarele **recomandări** pentru investigațiile ulterioare:
- sinteza noilor tiosemicarbazone ale cetonei heteroaromatice, în care grupa carbonil se află în poziția  $\alpha$  față de heteroatom;
- intensificarea activității biologice a acestor compuși prin coordonarea la ionii de biometale, în special de cupru(II) și nichel(II);
- introducerea aminelor în sfera interioară a compușilor coordinativi cu tiosemicarbazone în scopul sporirii selectivității acțiunii lor antiproliferative;
- utilizarea în calitate de agenți anticancer pentru continuarea studiilor preclinice și clinice a compușilor complecși de cupru(II) cu 4-alkiltiosemicarbazonele 2-formilpiridinei, derivaților ei, precum și a hidratului clorurii de bis[N-alkil-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamid]nichel(II), care manifestă o activitate sporită față de celule canceroase, și, în același timp, practic nu afectează creșterea și multiplicarea celulelor normale.

## BIBLIOGRAFIE

1. Bruijninx P., Sadler P. New trends for metal complexes with anticancer activity. In: *Current Opinion in Chemical Biology*, 2008, vol. 12(2), p. 197-206.
2. Hambley T. W. Developing new metal-based therapeutics: challenges and opportunities. In: *Dalton Transactions*, 2007, vol. 43, p. 4929-4937.
3. Gulea A., Poirier O., Roy J. et al. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: chemical synthesis and structure - activity relationships. In: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, vol. 23(6), p. 806-818.
4. **Graur V.** Synthesis, structure and biological activity of N(4)-allyl-3-thiosemicarbazones and their coordination compounds with some 3d metals. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2015, vol. 86, p. 130-141.
5. **Graur V.**, Chiumakov Yu., Zariciuc E., Petrenko P., Tsapkov V., Gulea A. Coordination compounds of some 3d-metals with 4-allylthiosemicarbazones of salicylaldehyde and its derivatives. In: *The International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova*. Chişinau, May 28-30, 2014, p. 77.
6. Petrenko P., Chumakov Yu., **Graur V.**, Tsapkov V., Gulea A. The crystal structures of dimethylsulfoxide-N-allyl-2-(2-hydroxybenzylidene)hydrazinecarbothioamido)-copper(II) and dimethylformamide-N-allyl-2-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylen-hydrazinecarbothioamido)-copper(II) nitrates. In: *8<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics*. Chişinau, September 12-16, 2016, p.169.
7. **Graur V.**, Savcin S., Tsapkov V., Gulea A. Synthesis and antitumor activity of copper, nickel and cobalt coordination compounds with 1-(2-hydroxyphenyl)ethanone N(4)-allyl-3-thiosemicarbazone. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2015, vol. 81, p. 210-215.
8. Gulea A., **Graur V.**, Zariciuc E., Jalba A., Tsapkov V., Sofroni L., Rudic V. Synthesis, antitumor, and antimicrobial activity of some 3d-metal complexes with 4-allylthiosemicarbazones of salicylaldehyde and its derivatives. In: *2<sup>nd</sup> French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry*. Iaşi, Romania, October 03-05, 2012, p.59.
9. Chumakov Yu., Petrenko P., **Graur V.**, Tsapkov V., Gulea A. The study of crystal structures of substituted salicylaldehyde 4-allylthiosemicarbazones and their complexes with cobalt and copper. In: *7<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics*. Chişinau, September 16-19, 2014. – p.181.
10. Gulea A., Zariciuc E., **Graur V.**, Tsapkov V., Rudic V. Antimicrobial effect of copper and cobalt coordination compounds with salicylidene-4-allylthiosemicarbazidate and its derivatives. In: *2<sup>nd</sup> International Conference on Microbial Biotechnology*. Chişinau, October 9-10, 2014, p. 136.
11. Gulea A., **Graur V.**, Zariciuc E., Tsapkov V. Synthesis, structure and biological activity of some 3d-metal complexes of some derivatives of salicylaldehyde



4-allylthiosemicarbazones. In: The XVII-th International Conference "Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry". Chişinău, October 24-26, 2012, p. 109-110.

12. Petrenko P., **Graur V.**, Chumakov Yu., Smaglie V., Tsapkov V., Crudu V., Eftodii S., Poirier D., Gulea A. The crystal structures of imidazole-[2-(2-hydroxy-benzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazincarbothioamide]-copper(II) and (3,5-dibromopyridine)-[2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]copper(II) nitrates. In: The XVIII<sup>th</sup> International Conference "Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry". Chişinău, October 8-9, 2015, p.120.

13. Petrenko P., Chumakov Yu., **Graur V.**, Smaglie V., Tsapkov V., Gulea A. The crystal structures of [(2-hydroxybenzylidene)-4-(prop-2-en-1-yl)thiosemicarbazido(2-)]-(2,2'-bipyridine)copper and [(2-hydroxybenzylidene)-4-(prop-2-en-1-yl)-thiosemicarbazido(2-)]-(1,10-phenanthroline)copper hydrates. In: 8<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics. Chişinău, September 12-16, 2016, p.184.

14. **Graur V.**, Zariciuc E., Tsapkov V., Gulea A. Synthesis and antimicrobial activity of cobalt, nickel, copper, and zinc coordination compounds with 5-nitro-2-furfurilidene-4-allylthiosemicarbazide. In: The International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova. Chişinău, May 28-30, 2014, p. 141.

15. **Graur V.**, Zariciuc E., Tsapkov V., Barba N., Gulea A. Synthesis and biological activity of nickel and copper coordination compounds of 5-nitro-2-furfuraldehyde N(4)-allyl-3-thiosemicarbazone. In: Studia Universitatis Moldaviae, 2014, vol. 76, p. 119-123.

16. Brevet de invenție. 4407 B1, MD, C07D 213/48, C07F 15/04, C07C 337/08, A61K 31/4402, A61P 35/02. Inhibitor al celulelor HL-60 ale leucemiei umane mieloide în baza hidratului clorurii de bis[N-(prop-2-en-1-il)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotioamid]-nichel(II) / Aurelian Gulea, Vasiliu Graur, Victor Tsapkov (MD). Cererea depusă 29.04.2015, BOPI nr 3/2016.

17. **Graur V.** Synthesis of 2-formylpyridine 4-allylselenosemicarbazone. In: The International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova. Chişinău, May 28-30, 2014, p. 79.

18. Petrenko P., Chumakov Yu., **Graur V.**, Pahontu E., Gulea A. The crystal structure of 2-formylpyridine 4-allylselenosemicarbazone acetic acid solvate. In: 8<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics. Chişinău, September 12-16, 2016, p.170.

19. **Graur V.**, Garbuz O., Zariciuc E., Gudumac V., Gulea A. Synthesis and biological activity of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone and its copper coordination compound. In: Journal of Academy of Sciences of Moldova. Life Sciences, 2015, vol. 327, p. 135-142.

20. **Graur V.** Synthesis and structure of biologically active 3d-metal coordination compounds with 4-allylchalcogenosemicarbazones and their derivatives. In: 2<sup>nd</sup> International Conference on Microbial Biotechnology. Chişinău, October 9-10, 2014. – p. 57-59.

## ADNOTARE

Graur Vasilii: „*Designul și sinteza compușilor biologic activi ai metalelor 3d cu 4-alilcalcogensemicarbazone și derivații lor*”, teză de doctor în științe chimice, Chișinău, 2017. Teza constă din: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 148 surse, 5 anexe, 120 pagini, 53 figuri, 20 scheme și 31 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 17 lucrări științifice (patru articole, 12 teze la conferințe, un brevet de invenție).

**Cuvintele-cheie:** compuși coordinativi, metale 3d, 4-alilcalcogensemicarbazone, 4-alil-S-metiloziosemicarbazone, activitate antiproliferativă, activitate antimicrobiană, activitate antifungică.

**Domeniul de studiu:** științe ale naturii.

**Scopul și obiectivele lucrării.** În lucrare s-a urmărit scopul studiului influenței naturii atomului central și al liganzilor asupra compoziției, structurii, proprietăților fizico-chimice și biologice ale compușilor coordinativi ai metalelor 3d cu 4-alilcalcogensemicarbazone și derivații lor, precum și identificarea substanțelor ce posedă activitate antitumorală sporită și toxicitatea redusă. Pentru aceasta, s-au stabilit ca **obiective:** sinteza 4-aliltiosemicarbazonelor diferitor aldehide și cetone aromatice și heteroaromatice; alchilarea atomului de sulf din compoziția tiosemicarbazonei; substituția atomului de sulf din compoziția ligandului prin atom de selen; sinteza compușilor coordinativi ai metalelor 3d cu acești liganzi; introducerea aminelor în sfera interioară a complexilor cuprului(II); determinarea compoziției, structurii, activităților antimicrobiene, antifungice și antiproliferative pentru compușii sintetizați.

**Noutatea și originalitatea științifică a lucrării** constă în sinteza a 74 compuși organici și coordinativi noi cu potențiale proprietăți biologice. A fost studiată influența liganzilor, atomului central, anionului restului acid asupra compoziției, structurii, proprietăților fizico-chimice și biologice ale compușilor coordinativi.

**Problema științifică importantă soluționată.** Au fost sintetizați noi inhibitori moleculari a proliferării celulelor canceroase cu activitate selectivă și toxicitate redusă și substanțe noi cu proprietăți antimicrobiene și antifungice.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării.** A fost extins șirul de compuși organici și coordinativi cu activitate biologică sporită. A fost determinată influența diferitor fragmente structurale asupra proprietăților antimicrobiene, antifungice și anticancer.

**Implementarea rezultatelor științifice.** S-a demonstrat activitatea selectivă a compușilor sintetizați față de celulele canceroase și activitate citostatică scăzută față de celulele normale.

## АННОТАЦИЯ

Граур Василий: *„Дизайн и синтез биологически активных координационных соединений 3d-металлов с 4-аллилхалькогенсемикарбазонами и их производными”*, диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук, Кишинёв, 2017. Диссертация состоит из: введения, 4-х глав, общих выводов и рекомендаций, библиографии из 148 наименований, 5 приложений, 120 страниц, 53 рисунков, 20 схем и 31 таблицы. Результаты опубликованы в 17 научных работах (4 статьи, 12 тезисов докладов, 1 патент).

**Ключевые слова:** координационные соединения, 3d металлы, 4-аллилхалькогенсемикарбазоны, 4-аллил-S-метилизотиосемикарбазоны, антипролиферативная активность, противомикробная активность, противогрибковая активность.

**Область исследования:** естественные науки.

**Цель работы:** установление влияния введения различных заместителей в первом положении 4-аллилтисемикарбазида, алкилирования атома серы, замещения атома серы на селен, природы центрального атома, аминов во внутренней сфере на биологическую активность координационных соединений 3d металлов; нахождение веществ с селективной противораковой активностью и низкой токсичностью. Для этого были поставлены **задачи:** синтез различных 4-аллилхалькогенсемикарбазонов и их производных; синтез комплексов 3d металлов с данными лигандами; введение аминов во внутреннюю сферу комплексов; установление состава и строения, противомикробной, противогрибковой и антипролиферативной активности синтезированных веществ.

**Научная новизна и оригинальность:** синтезированы и описаны 74 новых органических и комплексных соединений; изучено влияние заместителей в первом положении тиосемикарбазидов, аликилирования серы и замещения серы на селен, введения аминов на свойства координационных соединений некоторых биометаллов.

**Решенная научная проблема:** синтезированы новые ингибиторы роста и размножения раковых клеток, обладающих селективной активностью и низкой токсичностью.

**Теоретическое и прикладное значение работы:** расширен список биологически активных органических и комплексных соединений, установлено влияние различных фрагментов в их составе на противомикробные и противораковые свойства.

**Внедрение полученных научных результатов:** продемонстрирована селективная активность синтезированных веществ в отношении раковых клеток, одновременно с их низкой цитостатической активностью в отношении здоровых клеток.

## ANNOTATION

Graur Vasilii, „*The design and synthesis of biologically active 3d metal coordination compounds of 4-allylchalcogensemicarbazones and their derivatives*”, thesis for Ph.D. in chemical sciences, Chişinău, 2017. The thesis consists of introduction, four chapters, general conclusions and recommendations, 148 references, 5 annexes, 120 pages, 53 figures, 20 schemes, 31 tables. The results are published in 17 scientific publications (4 articles, 12 theses at conferences, 1 patent).

**Keywords:** coordination compounds, 3d metals, 4-allylchalcogensemicarbazones, 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazones, antiproliferative activity, antimicrobial activity, antifungal activity.

**Field of study:** Nature Sciences

**The aim and the objectives of the thesis.** The aim of this thesis consists in determination of the influence on the biological activity of different substituents in the first position of 4-allylthiosemicarbazide, alkylation of sulphur atom, and substitution of sulphur atom by selenium atom; determination of the influence of the nature of central atom, nature of ligands, introduction of amines in the inner sphere on composition, structure, physico-chemical and biological properties of the coordination compounds with these ligands; finding of new substances with selective antiproliferative activity against cancer cells and low toxicity. For achievement of these aims, the following objectives were set: synthesis of different 4-allylchalcogensemicarbazones; alkylation of sulphur atom; synthesis of complexes of some 3d metals with these ligands; introduction of amines in the inner sphere of complexes; determination of composition, structure and biological activity of the synthesized substances.

**Novelty and relevance of the study** consists in the synthesis of 74 new organic and coordination compounds, determination of the effect of substituents in the first position of thiosemicarbazides, alkylation of sulphur atom and substitution of sulphur by selenium atom, introduction of amines in the inner sphere on the properties of biometal coordination compounds.

**Scientific problem solved in this thesis:** new inhibitors of cancer cells proliferation with high selective activity and low toxicity were synthesized.

**The theoretical importance and potential application value of the work.** The list of biologically active organic and coordination compounds was enlarged. The influence of different fragments in their composition on the antimicrobial and antitumor properties was determined.

**Implementation of scientific results.** It was demonstrated that the synthesized substances manifest selective antiproliferative activity towards cancer cells, antimicrobial and antifungal activities and low cytostatic activity against normal cells.

**GRAUR VASILII**

**DESIGNUL ȘI SINTEZA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI AI  
METALELOR 3d CU 4-ALILCALCOGENSEMICARBAZONE ȘI  
DERIVAȚII LOR**

**141.02 – CHIMIE COORDINATIVĂ**

**Autoreferatul tezei de doctor în științe chimice**

---

Aprobat spre tipar: 7.03.2017

Formatul hîrtiei 60x84 1/16

Hîrtie ofset. Tipar digital

Tiraj 50 ex.

Coli de tipar: 2,0

Comanda nr. 198

---

CEP USM

Chișinău, str. Alexei Mateevici 60

tel: 0-22-57-74-14; fax: 0-22-57-74-40