

CZU: 544.142.3

## COMPUȘII COORDINATIVI AI UNOR BIOMETALE CU LIGANZII ÎN BAZA TIOSEMICARBAZONELOR CE CONȚIN 4-AMINOBENZOAT DE ETIL

Anna RUSNAC

Universitatea de Stat din Moldova

Lucrarea prezintă studiul literaturii de specialitate în care se iau în atenție sinteza și proprietățile biologice ale unor compuși coordinativi ai metalelor 3d cu liganzii în baza N(4)-aril-tiosemicarbazone. Conform literaturii de specialitate, există doar o tiosemicarbazonă a 2-acetilpiridinei în baza 4-aminobenzoatului de etil. Compușii coordinativi ai metalelor 3d cu N(4)-aril-tiosemicarbazone posedă un spectru larg de activități biologice, cum ar fi: antibacteriană, antifungică, antivirală, antimalarială, antitumorală. Compușii coordinativi descriși în prezenta lucrare au o capacitate de inhibiție sporită la nivel de concentrații nanomolare ( $IC_{50} = 0,01 - 0,001 \mu M$ ) care întrec de zeci și sute de ori activitatea antitumorală, spre exemplu, a doxorubicinei.

**Cuvinte-cheie:** 4-aminobenzoat de etil, tiosemicarbazone, compuși coordinativi, structură, activitate biologică.

### COORDINATION COMPOUNDS WITH SOME BIOMETHALS IN THE BASE OF TIOSEMICARBAZONES CONTAINING 4-ETHYL AMINOBENZOATE

This paper presents the study of the specialized literature on the synthesis and biological properties of the coordinating compounds of some 3d metals based on 4-aryl thiosemicarbazones. According to the specialized literature there are only one thiosemicarbazone of 2-acetylpyridine based on 4-ethyl aminobenzoate. Coordination compounds of 3d metals with 4-aryl thiosemicarbazones possess a wide range of biological activities, such as: antibacterial, antifungal, antiviral, antimalarial, antitumor. Coordination compounds described in this paper have an increased inhibition capacity at the level of nanomolar concentrations ( $IC_{50} = 0.01 - 0.001 \mu M$ ) that exceeds tens and hundreds of times the antitumor activity, for example, of doxorubicin.

**Keywords:** 4-ethyl aminobenzoate, thiosemicarbazones, coordination compounds, structure, biological activity.

### Introducere

Chimia coordinativă se dezvoltă virtiginos de la o zi la alta. Compușii organici folosiți în calitate de liganzi posedă seturi de atomi donori diferiți, interesanți și deseori unici după proprietățile stereochemice. Compușii coordinativi ai acestor liganzi cu elemente de tranziție sunt asemănători celor din lumea vie, ca, de exemplu, clorofila (Mg), hemoglobina (Fe), hemocianina (Cu), care sunt larg răspândiți în lumea vie unde joacă un rol biologic important [1]. Cercetătorii din întreaga lume tind să sintetizeze medicamente noi care să fie asemănătoare lumii vii, pentru ca acestea să fie asimilate de către organism apoi metabolizate fără intermediari toxici. Din această cauză chimia coordinativă a devenit un studiu de interes și se dezvoltă până în zilele de astăzi exponențial.

Tiosemicarbazonele sunt o clasă importantă de compuși care au atras o atenție semnificativă în industria farmaceutică datorită activității lor biologice bogate, cum ar fi antibacteriană, antifungică, antivirală, antimalarială, antitumorală și altele [2].

Cancerul este a doua cauză majoră de deces în țările industrializate. În prezent există o gamă largă de diferiți compuși, cu diverse mecanisme de activitate anticanceroasă pentru tratament. În pofida diversității medicamentelor, cancerul se dovedește adesea a fi de nevindecat din cauza dezvoltării rezistenței la medicament. Mai mult, celulele canceroase care dezvoltă rezistență față de un singur agent citotoxic prezintă rezistență încrucișată la medicamente care nu au o legătură cu structura și mecanismele agenților utilizați [3]. Deci, există o necesitate constantă de compuși chimioterapeutici noi cu activitate antitumorală înaltă și selectivă, care pot depăși rezistența celulelor tumorale după chimioterapiile efectuate anterior (MDR *din engleză* - multidrug resistance).

În literatura de specialitate aproximativ timp de 60 de ani spațiul chimic a fost explorat intens în jurul mai multor tiosemicarbazone în calitate de agenți anticancerigeni cu potențial activ. Începând cu anul 1956 cercetătorul R.W. Brokman a raportat despre sinteza și studiul antitumoral al tiosemicarbazonei 2-formilpiridinei, care a fost testată pe celule leucemice L1210 demonstrând o inhibiție de 50% față de martor (în comparație cu

antitatea echivalentă de celule tumorale netratate) în concentrație de 8 mg/kg [4]. Cel mai investigat chelator în zilele de astăzi este tiosemicarbazona 3-aminopiridin-2-carboxaldehidei (numită și *triapină*), care reprezintă un ligand tridentat de tip  $\alpha$ -N-piridil-tiosemicarbazonă (Fig.1). Triapina este un puternic inhibitor al ribonucleotid reductazei (RR), reprezentând o enzimă care asigură conversia ribonucleotidei la dezoxiribonucleotidă, rezultând stoparea sau încetinirea sintezei ADN-ului din celulele tumorale. Activitatea antitumorală și raportul terapeutic favorabil demonstrat de triapină pe modele de șoareci sugerează că inhibarea cronică intermitentă a RR are un efect mai mare asupra celulelor tumorale în comparație cu țesuturile gazdă normale. Triapina a fost supusă studiilor clinice de fază I și II. Faza I: studiile clinice au demonstrat capacitatea de administrare a triapinei în siguranță la o doză de 96 mg/m<sup>2</sup>, iar prin perfuzie de 2 h zilnic, 4 – 5 zile la fiecare doua săptămâni. Acest regim de tratament eficient inhibă RR. În cele din urmă, dovezi ale activităților antitumorale pe celule maligne rezistente au fost observate. În special, un pacient cu boală în progres în regiunea amigdalelor a rămas stabil pe tratament cu triapină timp de 10 luni. Prin urmare, triapina a fost examinată în studiu de fază II la pacienții cu recurent sau metastază HNSCC [5].

S-a demonstrat că substituția la azotul terminal (N<sup>4</sup>) al tiosemicarbazonelor contribuie la creșterea activității biologice a derivaților acestora. S-a dovedit că 4,4-dimetil-3-tiosemicarbazona di(piridilcetonei) (Dp44mT, Fig.1) a prezentat o hipertoxicitate paradoxală împotriva liniei celulare tumorale rezistente la medicamente – cancer de col uterin (P-glycoprotein-expressing cells KBV1) [6].

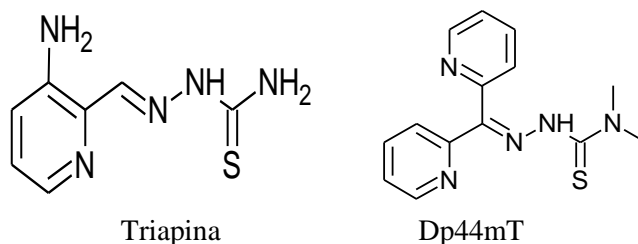


Fig.1. Formule structurale ale Triapinei și Dp44mT.

Reieșind din datele relatate mai sus, **scopul** lucrării a fost: analiza literaturii de specialitate în care sunt abordate N(4)-(aminobenzoat de etil)-tiosemicarbazonele cu derivați ai aldehidei salicilice și ai 2-formilpiridinei în calitate de liganzi pentru complexarea metalelor 3d și formarea compușilor coordinativi noi cu potențial anticancer. Pentru verificarea prezenței sau lipsei formulelor s-au utilizat softurile Cambridge Structural Database, SciFinder și Reaxys.

#### 4-Aminobenzoat de etil (1) (anestezina {benzocaina} – denumire farmaceutică)

*Istorie.* În 1898, Heinrich Franz Peter Limpricht a obținut pentru prima dată anestezina și novocaina.

*Proprietățile fizice.* Este o pulbere cristalină albă, fără miros, are gust ușor amar; provoacă o senzație de amorțeală pe limbă. 1 g de benzocaină este solubil în 2500 mL apă, 5 mL etanol, 4 mL eter, 2 mL cloroform, în uleiuri grase (de la 30 până la 50 mL), în acid clorhidric diluat.

*Proprietățile farmacologice.* Acțiune farmacologică – este un anestezic local. Reduce permeabilitatea membranei celulare pentru ionii Na<sup>+</sup>, eliberează Ca<sup>2+</sup> de la receptorii localizați pe suprafața interioară a membranei și blochează apariția și transferul impulsurilor nervoase. În cazul administrării locale și orale, absorbția este minimă. Atunci când este aplicat pe mucoase, efectul se dezvoltă într-un minut și durează 15-20 de minute. Nu s-au efectuat studii pe termen lung la animale și oameni pentru a evalua potențialul cancerigen și mutagen, precum și efectul asupra fertilității, din cauza toxicității scăzute.

*Utilizarea.* Intern, în calitate de anestezic la: gastralgie, esofagită, ulcer peptic al stomacului și duoden. Local: inflamație acută a urechii medii, dureri în canalul auditiv extern, urticarie, boli ale pielii însoțite de mâncărime; fisuri perianale, hemoroizi. Anestezic la materiale de contracepție [7].

Introducerea 4-benzoatului de etil în poziția 4 a tiosemicarbazonelor (cu derivați ai aldehidei salicilice și ai formilpiridinei) permite posibilitatea de creare a noi compuși cu potențial antitumoral, scheletul cărora va fi alcătuit din două părți: pe de o parte – proprietățile antitumorale, pe de altă parte – proprietățile anestezice.

#### Metode de sinteză a 4-izotiociantobenzoatului de etil

În literatură sunt cunoscute mai multe metode de sinteză a 4-izotiociantobenzoatului de etil ilustrate în Figura 2.

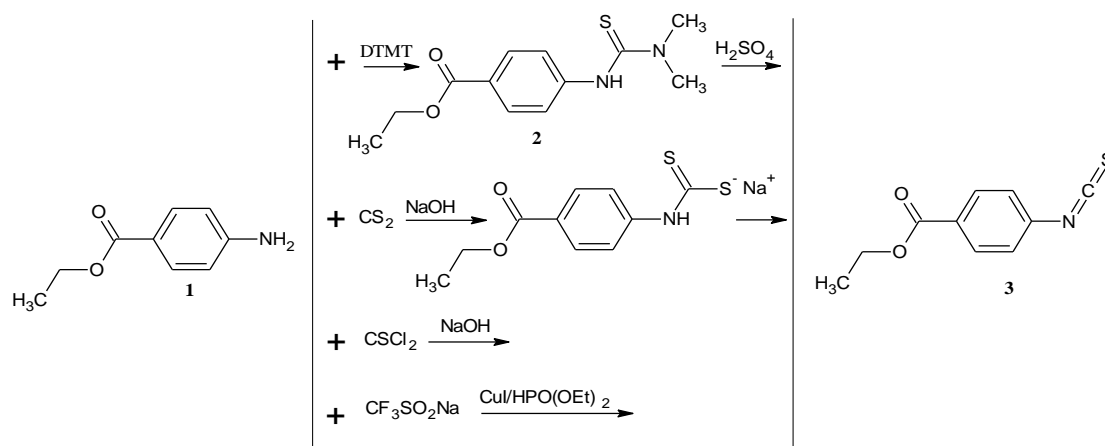


Fig.2. Metode de sinteză a 4-izotiocianatobenzoatului de etil.

Profesorul N.Barbă și alții au propus o metodă nouă de sinteză a 4-izotiocianatobenzoatului de etil (**3**), în două etape, cu utilizarea disulfurii de tetrametiluram (DTMT) care este un reactiv solid, cu toxicitate minimală. 4-(Dimetilcarbamotioil)aminobenzoatul de etil (**2**) se obține în urma reacției dintre 4-aminobenzoat de etil (**1**) și DTMT în raport molar de 1:1 la încălzire în dimetilformamidă. Apoi compusul **2** este supus degradării termice (la încălzire cu diferiți acizi minerali concentrați în raport molar de 1:1 în 1,4-dioxan absolut) formând 4-izotiocianatobenzoatul de etil (**3**) care se extrage în stratul de solvent organic [8].

Metoda a doua constă în reacția dintre amina **1** și CS<sub>2</sub> în soluție de tetrahidrofuran (THF) și NaOH la 0°C, apoi temperatura se ridică treptat până la temperatura camerei, după care amestecul se refluxează 18 ore și se răcește. Apoi se adaugă di-tert-butil dicarbonat și DMAP (4-dimetilaminopiridină) dizolvate în THF, amestecul se agită timp de 60 min la temperatura camerei. În continuare la soluție se adaugă HCl de 1 N și se extrage cu eter dietilic. Ulterior are loc regenerarea solventului prin distilare și purificarea izotiocianatului **3** prin coloana cromatografică (silicagel, heptan/etilacetat, 5/1) [9].

Metoda a treia constă în adăugarea tiofosgenului (CSCl<sub>2</sub>) la amestecul format din amina **1** și trietilamină în THF la 0°C, după care amestecul reactant se lasă la 25°C timp de 12 ore. Apoi se adaugă apa și din amestecul obținut se efectuează extragere cu eter dietilic. Se concentrează și se purifică prin cromatografie pe coloană (hexan/etilacetat = 30/1), se obține 4-izotiocianatobenzoat de etil sub forma unui solid galben, p. t. 38-40°C, 99% [10].

A patra metodă constă în utilizarea reagentului *Langlois* (F<sub>3</sub>CSO<sub>2</sub>Na). Metodele tradiționale de sinteză a izotiocianatului implică utilizarea disulfurii de carbon (CS<sub>2</sub>) sau tiofosgen (CCl<sub>2</sub>S), reactivi care sunt foarte toxici. Reagentul *Langlois* (F<sub>3</sub>CSO<sub>2</sub>Na) în reacție cu amine formează fluorura de tiocarbonil pentru izotiocianarea aminei primare în prezența iodurii de cupru(I) (catalizatorul de cupru joacă rol în deoxigenare și deflorurare) și a dietil fosfonatului. Utilizarea reagentului F<sub>3</sub>CSO<sub>2</sub>Na este mai rentabilă, deoarece este mai ieftin și stabil ca reactiv pentru obținerea izotiocianaților atât ai aminelor alifatiche, cât și ai celor aromatice. Izotiocianarea aminei **1**, utilizând reactivul *Langlois* în prezența catalizatorului de iodură de cupru(I) 5 mol% și a dietil fosfonatului, are loc la 110°C, în toluen, obținându-se izotiocianatul **3** cu un randament de 85% [11].

#### Sinteza 4-benzoat de etil tiosemicarbazidei și a 4-benzoat de etil tiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei

4-(Hidrazincarbotioamido)benzoatului de etil (**4**) se obține la picurarea soluției de izotiocianat **3** la exces de hidrat de hidrazină în 1,4-dioxan absolut [12]. 4-[[2-[1-(Piridin-2-il)etiliden]hidrazinil]carbonotioil]amino]benzoat de etil (**5**) a fost obținut la condensarea tiosemicarbazidei **4** cu 2-acetilpiridina în etanol, reacția are loc la reflux timp de 3 ore (Fig.3) [13].

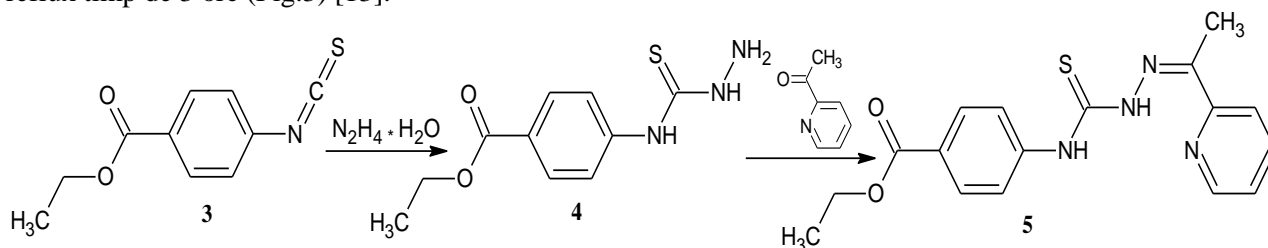


Fig.3. Sinteza tiosemicarbazidei **4** și a tiosemicarbazonei **5** în baza compusului **3**.

La tiosemicarbazona **5** au fost studiate proprietățile antimalariene pe celule *Plasmodium berghei*. Rezultatele: timp de 14 ore la o concentrație de 640 mg/kg sunt inhibitate 2/5 din celulele țintă [13].

Alte TSC în baza 4-aminobenzoatului de etil cu derivați ai 2-formilpiridinei sau ai aldehidei salicilice și compuși coordinativi ai acestora nu sunt descriși în literatură până în prezent. Deci, prezintă interes sinteza și cercetarea proprietăților antitumorale ale acestora.

În continuare sunt date câteva exemple de 4-aril-tiosemicarbazone cu derivați ai 2-formil-piridinei sau ai aldehidei salicilice, pentru a studia sinteza acestora și proprietățile biologice, pentru a face corelația cu tiosemicarbazida **4**.

#### Sinteza N(4)-aril-tiosemicarbazonelor cu derivați ai salicil, formil alchidelor și a combinațiilor coordinative ale unor metale **3d**

Majoritatea tiosemicarbazonelor se obțin în urma reacției dintre carbonil și tiosemicarbazidă la reflux în solvenți polari, catalizate de acizi. Tiosemicarbazonele  $[R^1R^2C^2=N^3-N^2H-C^1(=S)-N^1HR^3]$  reprezintă o clasă interesantă de liganzi donatori N, S datorită capacității lor variabile de donatori și diversității structurale. Tiosemicarbazonele aldehidei salicilice cu atomi donori O, N, S prezintă interes considerabil datorită proprietăților lor structurale și biologice remarcabile [14]. Tiosemicarbazonele sunt bine cunoscute ca agenți de complexare, deoarece au capacitatea de chelatare la metalele de tranziție, cum ar fi fier(III), cobalt(III), cupru(II) și zinc(II) (Fig.4, 5, 6), pentru a forma compuși coordinativi cu activitate biologică sporită. Interacțiunile dintre inelele aromatice ale liganzilor – tiosemicarbazone ale aldehidei salicilice sunt foarte importante în proteine și în sisteme proteine-ADN pentru stabilizarea proteinelor și pentru diferite procese de reglementare. Un număr de tiosemicarbazone ale aldehidei salicilice și de compuși coordinativi ai cuprului s-au dovedit a fi activi în distrugerea celulelor tumorale, precum și în inhibarea sintezei ADN al acestora. Ionul de cupru(II) este deosebit de atractiv pentru studiu datorită proprietăților sale spectroscopice și magnetice bogate, care se schimbă adesea pe parcursul catalizei enzimatică. A existat un interes considerabil pentru compușii care conțin co-liganzi donatori N, N, cum ar fi biperidina și fenantrolina, datorită proprietăților lor versante de autoasamblare și tendinței de a acționa ca blocuri de construcție în proiectarea rețelelor metal-ligand.

Iată un exemplu în care N(4)-fenil-tiosemicarbazida este pusă în reacție cu 3,5-diiodosalicilaldehidă în metanol la reflux obținându-se tiosemicarbazona (H<sub>2</sub>L) cu randament de 80%. La soluția etanolică de ligand H<sub>2</sub>L s-a adăugat soluție etanolică de acetat de cupru(II) la agitare constantă. Apoi a urmat adăugarea bazei heterociclice: biperidina (bpy), fenantrolina (phen), dipirido[3,2-d':2',3'-f]quinoxalina (dpq) sau dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazine (dppz) în formă solidă, continuându-se agitarea timp de o oră, obținându-se compușii coordinativi de culoare verde  $[CuH_2L(bpy)](1)$ ,  $[CuH_2L(phen)](2)$ ,  $[CuH_2L(dpq)](3)$ ,  $[CuH_2L(dppz)](4)$ . La compusul coordinativ  $[CuH_2L(phen)](2)$  au fost obținute monocristale în urma evaporării lente din soluție acetonă-alcool (1:1), care au fost analizate cu ajutorul difracției razelor X pe monocristal (Fig.4).

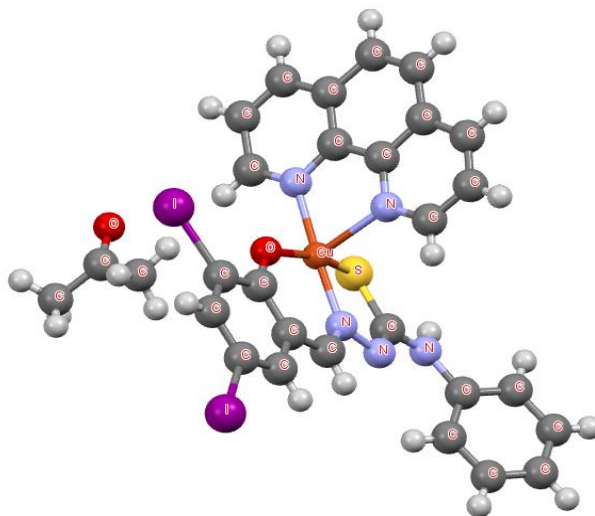
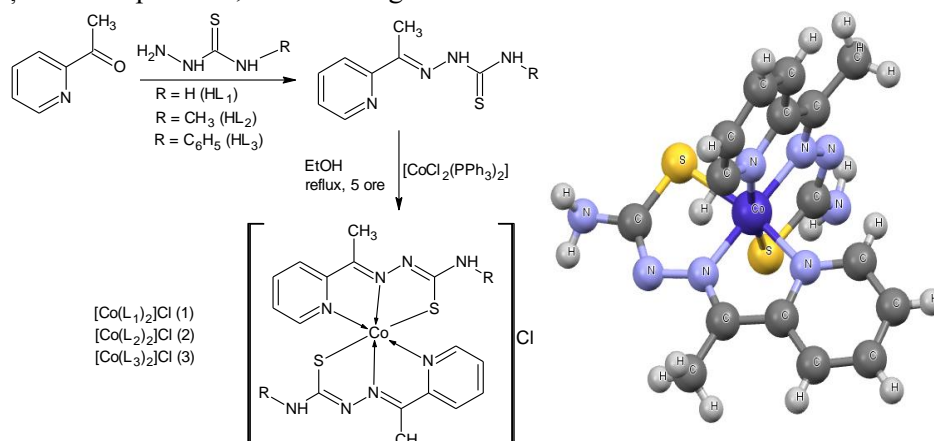


Fig.4. Structura moleculară a complexului  $[CuL(phen)](2)$  CCDC 923697.

De asemenea, a fost cercetată și activitatea anticancer a acestor complecși față de liniile de celule canceroase MCF-7. Complecșii posedă activitate anticancer în ordinea următoare  $4 > 3 > 1 > 2$ ; ligandul și complecșii **1-3** sunt mai puțin eficienți decât complexul **4** ( $IC_{50}$ ,  $\mu M = 21,9$ ), iar complexul **3** ( $IC_{50}$ ,  $\mu M = 28,1$ ) este mai eficient decât  $H_2L$  ( $IC_{50}$ ,  $\mu M = 49,7$ ) față de liniile de celule canceroase MCF-7 [14].

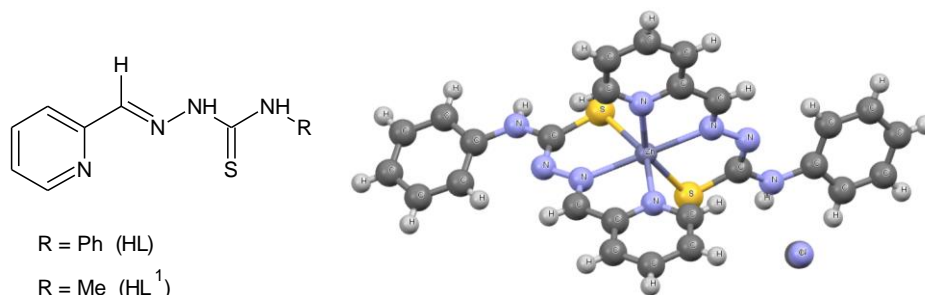
Rajendran Manikandan și alții au sintetizat și caracterizat o serie de liganzii derivați ai N(4)-substituită tiosemicarbazona 2-acetilpiridinei și complecșii corespunzători de cobalt(III) (Fig.5). Structura moleculară a complexului **1** a fost determinată prin studiul difracției cu raze X pe monocristal, unde se dovedește coordinarea celor două molecule de ligand la cationul de cobalt(III) prin intermediul atomilor donori S, N, N.

Cele două molecule de ligand din acest complex sunt monodeprotonate la azotul hidrazinic, rezultând două specii monoanionice tridentate care coordonează la metalul central prin intermediul sulfurii tiolic, azotului iminic și azotului piridinic, rezultând o geometrie octaedrică distorsionată a atomului central [15].



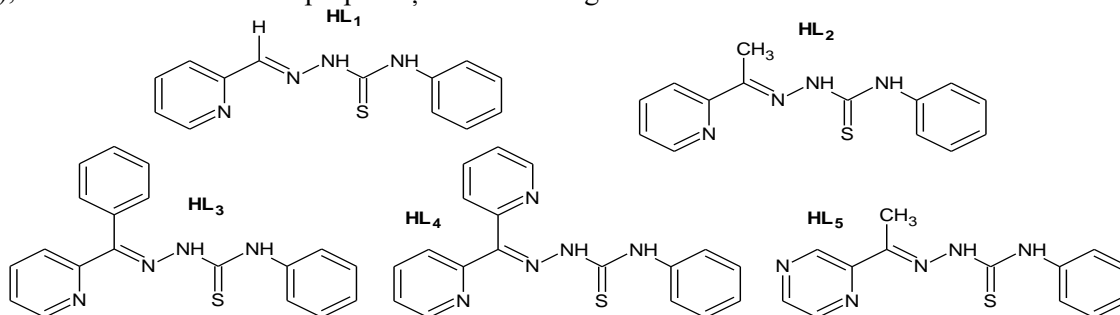
**Fig.5.** Schema de sinteză a complecșilor de Co(III) și structura moleculară a complexului **1**, CCDC 917524.

În altă lucrare cu N(4)-fenil(metil)-tiosemicarbazona și în calitate de ion central a fost utilizat Zn(II). Acești complecși conțin două unități de ligand monodeprotonat și un centru metalic. În plus, în rețeaua cristalină a complexului de zinc se conține o moleculă de acetonitril (Fig.6) [16].



**Fig.6.** Structura liganzilor HL și  $HL^1$  și structura cristalină a complexului  $[Zn(L)_2] \cdot CH_3CN$ , CCDC 645787.

A fost sintetizată o serie de liganzi în baza N(4)-fenil-tiosemicarbazidei cu diferiți derivați ai 2-formilpiridinei (Fig.7), la care au fost cercetate proprietățile anticancerigene.



**Fig.7.** Formulele structurale ale N(4)-fenil-tiosemicarbazonelor cu derivați ai 2-formilpiridinei.

Tabelul 1

Valorile IC<sub>50</sub> ale liganzilor față de liniile celulare timp de 48 de ore

Compusul	IC <sub>50</sub> (μM)				Factorul selectivității**
	A549	MCF-7	T24	MRC-5	
HL <sub>1</sub>	11,58±0,43*	13,21±0,34	12,12±1,28	>60	>5,54
HL <sub>2</sub>	6,64±0,54	7,53±0,29	9,23±1,12	>60	>7,97
HL <sub>3</sub>	2,23±0,15	1,33±0,21	5,36±0,37	54,55±2,75	41,02
HL <sub>4</sub>	0,89±0,23	0,65±0,06	1,45±0,23	40,23±3,43	61,89
HL <sub>5</sub>	15,29±0,56	11,32±0,65	25,34±2,46	>60	>5,30

\*Eroarea (SD) este notată prin ±.

\*\*Valoarea factorului selectivității reprezintă raportul dintre valorile IC<sub>50</sub> ale MRC-5 și MCF-7.

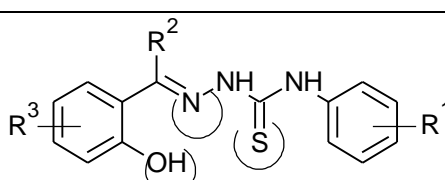
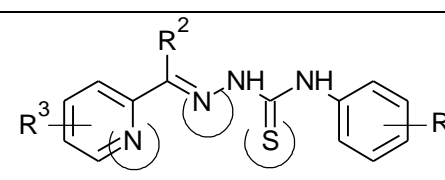
Au fost selectate patru linii celulare tumorale maligne pentru a evalua proprietățile anticancer ale liganzilor. Liniile celulare sunt celulele epiteliale alveolare bazale ale adenocarcinomului uman (A549), linia celulară de cancer de vezică urinară umană (T24), linia celulară de cancer de sân (MCF-7) și celule normale – homo sapiens (MRC-5). Toate tiosemicarbazonele (HL1-HL5) au prezentat o activitate antiproliferativă semnificativă (Tab.1). Cel mai important este faptul că acești agenți prezintă toxicitate mai scăzută pe celule normale (MRC-5) în raport cu celulele tumorale [17].

În cadrul programului de dezvoltare terapeutică (DTP) a NCI60 (tipuri de tumori provenite din diferite țesuturi) s-a efectuat analiza datelor de screening ale potențialelor medicamente care a condus la identificarea unor serii de compuși organici „selectivi pe celule tumorale MDR”. S-a proiectat o serie de compuși care conțin tiosemicarbazone ale derivaților salicil-aldehidei (clasa I) și tiosemicarbazone ale derivaților 2-formilpiridinei (clasa II), în care sunt prezente entitățile chimice respective ale compușilor selectivi față de MDR (Tab.2). **În general, există o corelație între structura tiosemicarbazonei și selectivitatea acestora față de MDR.**

Seria este formată din două grupe de tiosemicarbazone (I-II), toate având un fragment N(4)-aril substituit, deoarece relația structură-activitate sugerează că **grupările electron donore de electroni în poziția para- a inelului aromatic au un efect benefic pentru activitatea selectivă către liniile celulare MDR**, ca, de exemplu, compuși cu grupări metil- și metoxi- în această poziție (Tab.2).

Tabelul 2

Prezentare generală a tiosemicarbazonei selective MDR

Chelatori donori ONS Clasa I				Chelatori donori NNS Clasa II							
											
R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>		R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>		R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	
<b>1a</b>	H	H	H	<b>2a</b>	H	H	H	<b>2i</b>	2-Me	Me	H
<b>1b</b>	4-OMe	H	H	<b>2b</b>	H	Me	H	<b>2j</b>	4-NO <sub>2</sub>	H	H
<b>1c</b>	4-Me	H	H	<b>2c</b>	4-OMe	Me	H	<b>2k</b>	4-NO <sub>2</sub>	H	3-Et
<b>1d</b>	4-Me	Me	H	<b>2d</b>	4-OMe	H	2-Me	<b>2l</b>	3-CF <sub>3</sub>	H	H
<b>1e</b>	3-CF <sub>3</sub>	H	H	<b>2e</b>	4-OMe	H	3-Et	<b>2m</b>	3-CF <sub>3</sub>	Me	H
<b>1f</b>	3-CF <sub>3</sub>	H	4-NO <sub>2</sub>	<b>2f</b>	4-Me	H	H	<b>2n</b>	2-CF <sub>3</sub>	H	H
<b>1g</b>	2-CF <sub>3</sub>	H	4-NO <sub>2</sub>	<b>2g</b>	4-Me	Me	H	<b>2o</b>	2-CF <sub>3</sub>	Me	H
				<b>2h</b>	3-Me	Me	H				

Saliciliden-tiosemicarbazonele (clasa I), picoliden-tiosemicarbazonele (clasa II) sunt chelatori cu atomii donatori ONS și NNS (în Tabelul 2 atomii donatori ai liganzilor sunt încerciuți). Analiza relațiilor structură-activitate în cadrul seriei de compuși investigați indică faptul că chelatorii donatorilor de NNS prezintă o activitate anticancer mai mare în comparație cu derivații ONS, indiferent de rezistența celulelor; aceasta se observă bine dacă comparăm tiosemicarbazonele **1a** cu **2a**, **1c** cu **2f** și **1d** cu **2g** (Tab.3) [18].

Tabelul 3

**Date privind activitatea anticancer în (pIC<sub>50</sub>) la saliciliden tiosemicarbazone (1) și picoliniliden tiosemicarbazone (2), pe linii celulare de sarcom uman MES-SA și Dx5**

Compuși		pIC <sub>50</sub>							
		1a	1b	1c	1d				
Celule tumorale	MES-SA	4,94	5,42	5,43	5,01				
	Dx5	5,32	5,46	5,39	5,36				
Compuși		2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	2h
Celule tumorale	MES-SA	6,16	n.tox	6,47	5,33	6,38	6,12	7,38	7,50
	Dx5	6,25	n.tox	7,85	5,38	7,20	6,25	7,59	7,21
Compuși		2i	2j	2k	2l	2m	2n	2o	
Celule tumorale	MES-SA	7,53	5,57	4,97	6,08	5,02	6,92	7,49	
	Dx5	7,06	5,56	5,09	6,16	4,93	6,86	6,85	

Legendă la Tabelul 3:

pIC <sub>50</sub>	n.tox	4,00	4,50	5,00	5,50	6,00	6,50	7,00	7,50	8,00	8,50
IC <sub>50</sub> , μM	Nu e toxic	100,0	31,6	10	3,2	1,0	0,316	0,100	0,031	0,010	0,0032

MES-SA și Dx5 sunt liniile celulare de sarcom uman (este o tumoare malignă de țesut conjunctiv, cu răspândirea metastazei pe cale sanguină și limfatică) care au fost luate ca celule rezistente după multidrog pentru cercetarea activității anticancer a tiosemicarbazonelor [18].

Isolda C. Mendes și alții au obținut trei complecși de cupru în baza N(4)-orto, N(4)-meta și N(4)-para-tolil-tiosemicarbazone-2-benzoilpiridinei cu formula generală [Cu(HL)Cl<sub>2</sub>]. Tiosemicarbazonele și complecșii lor de cupru(II) prezintă activități antifungice ridicate împotriva *Candida albicans* cu valori scăzute ale concentrației minime de inhibiție (CMI), în intervalul 8-0,3 μg mL<sup>-1</sup> (23 - 0,7 μmol·L<sup>-1</sup>) pentru bazele libere și în concentrația 1-0,1 μg·mL<sup>-1</sup> (2 - 0,3 μmol·L<sup>-1</sup>) pentru complecși. **Rezultatele sugerează că coordinarea ligan-dului la cuprul (II) este benefică, deoarece reduce doza concentrației minime de inhibiție** de 46 de ori în cazul HL<sub>2</sub> (Tab.4) [19].

Tabelul 4

**Concentrația minimă de inhibiție (CMI) împotriva *Candida albicans* (ATCC18804) pentru N(4)-orto, N(4)-meta și N(4)-para-tolil-tiosemicarbazone-2-benzoilpiridinei, care sunt notate prin (HL<sub>1</sub>), (HL<sub>2</sub>) și, respectiv, (HL<sub>3</sub>) și complecșii acestora de cupru(II)**

Compusul	CMI		Compusul	CMI	
	μg mL <sup>-1</sup>	μmol·L <sup>-1</sup>		μg mL <sup>-1</sup>	μmol·L <sup>-1</sup>
HL <sub>1</sub>	2	6	[Cu(HL <sub>1</sub> )Cl <sub>2</sub> ] (1)	1	2
HL <sub>2</sub>	8	23	[Cu(HL <sub>2</sub> )Cl <sub>2</sub> ] (2)	0,3	0,5
HL <sub>3</sub>	0,3	0,7	[Cu(HL <sub>3</sub> )Cl <sub>2</sub> ] (3)	0,1	0,3
-	-	-	CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	64	375

Academicianul A.Gulea și colaboratorii săi au cercetat activitatea anticancer a nitrato-[4-(3,4-dimetilfenil)-2-(2-oxo-3-metoxienziliden)hidrazinecarbotioamido]cupru(II). Rezultatele sugerează că compusul sus-numit este eficient în inhibarea proliferării celulelor canceroase pancreatice BxPC-3 și prezintă o activitate inhibitoare mai puternică asupra celulelor canceroase HeLa decât doxorubicina. În același timp, acest compus exercită efecte citotoxice scăzute asupra celulelor normale MDCK, de 10 ori mai mici decât doxorubicina. Rezultatele studiului antioxidantiv au corelat cu proprietățile antitumorale [20].

În altă lucrare academicianul A.Gulea descrie rezultatele unui proiect bazat pe combinațiile coordinative ale N(4)-aril-tiosemicarbazonelor în baza derivaților aldehidei salicilice și 2-formilpiridinei ca noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. Rezultatele arată că tiosemicarbazonele derivate de la 2-formilpiridină posedă proprietăți antiproliferative mai pronunțate în comparație cu tiosemicarbazonele derivate de la salicil aldehida. A fost propus un mecanism de inhibiție, caracteristic în special pentru moleculele organice, bazat pe contactul cu ARN. Astfel, bazele aflate în componența ARN-ului (spre exemplu, guanina) sunt capabile de 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.8).

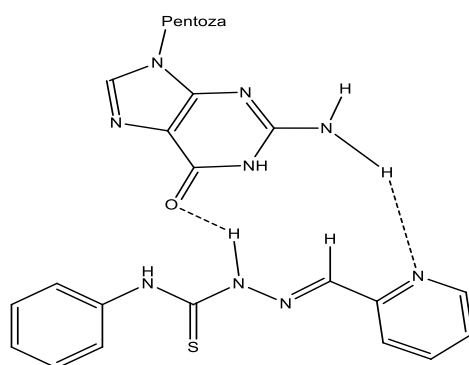


Fig.8. Legături de hidrogen dintre guanină și molecula de inhibitor.

Mecanismul teoretic propus mai sus are la baza măsurătorile experimentale ale proprietăților antiproliferative care au demonstrat că moleculele ce conțin azot în inelul piridinic în poziția  $\alpha$  au activitate de 1000 de ori mai mare față de pozițiile  $\beta$  și  $\gamma$  (Fig.9).

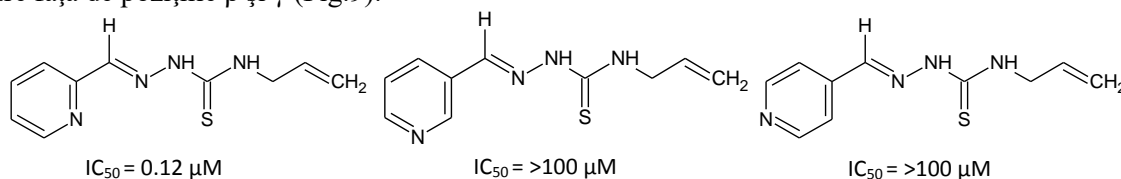
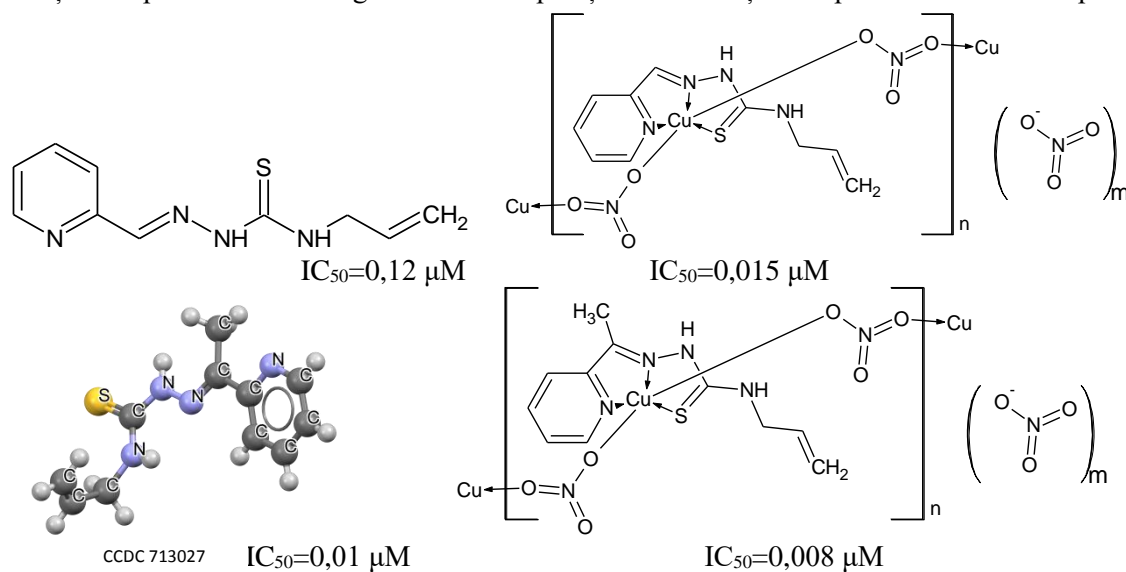


Fig.9. Activitatea antitumorală a moleculelor de inhibitori în funcție de poziția azotului în inelului piridinic.

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 proliferării celulelor de cancer fiind unul întemeiat suplimentar pe interacțiunea dintre metal și enzimă.

Activitățile antiproliferative ale liganzilor în comparație cu activitățile antiproliferative ale complexelor:



$IC_{50}$  – concentrația semimaximală de inhibare,  $\mu M$

Fig.10. Proliferarea celulelor de cancer în prezența diferitor inhibitori.



Acești compuși au o capacitate de inhibiție sporită la nivel de concentrații nanomolare ( $IC_{50} = 0,01- 0,001 \mu M$ ) care întrec de zeci și sute de ori activitatea antitumorală, spre exemplu, a doxorubicinei – preparat utilizat actualmente pe larg în oncologie. De menționat și faptul că acești compuși au concomitent și o toxicitate mică [21].

### Rezultate și discuții

1. Pentru obținerea izotiocianatilor atât ai aminelor alifactice, cât și ai celor aromatice mai ieftin și stabil este folosit reactivul *Langlois*  $F_3CSO_2Na$ .
2. Există doar o tiosemicarbazonă a 2-acetilpiridinei în baza 4-aminobenzoatului de etil. De unde rezultă că pot fi obținute tiosemicarbazone noi cu potențial anticancer.
3. Tiosemicarbazonele  $[R^1R^2C^2=N^3-N^2H-C^1(=S)-N^1HR^3]$  reprezintă o clasă interesantă de liganzi donatori N, S datorită capacității lor variabile de donatori și diversității structurale.
4. Salicilalden-tiosemicarbazonele cu atomi de donatori O, N, S sunt de interes considerabil datorită proprietăților lor structurale și biologice remarcabile. Interacțiunile dintre inelele aromatice ale liganzilor – tiosemicarbazone ale salicilaldehidei sunt foarte importante în proteine și în sistemele proteină-ADN pentru stabilizarea proteinelor și diferitele procese de reglementare.
5. Un număr de tiosemicarbazone și complecși de cupru(II) s-au dovedit a fi activi în distrugerea celulelor tumorale, precum și în inhibarea sintezei ADN al acestora. Ionul de cupru(II) este deosebit de atractiv pentru studiu datorită proprietăților sale spectroscopice și magnetice bogate, care se schimbă adesea pe parcursul catalizei enzimatic.
6. Tiosemicarbazonele derivaților 2-formilpiridinei de asemenea sunt de interes considerabil datorită proprietăților lor structurale (coordonează prin setul de atomi donori NNS) și antiproliferative.
7. Coordinarea tiosemicarbazonelor la cupru(II) este benefică deoarece reduce doza concentrației minime de inhibiție în comparație cu tiosemicarbazonele necoordinate.

### Concluzii

Tiosemicarbazonele derivate de la 2-formilpiridină se comportă ca liganzi donori de tip NNS, sunt de obicei acizi monobazici, dar pot fi și neutri. Indiferent de substituentul din poziția azotului terminal ( $N^4$ ) al tiosemicarbazidei, modul de coordonare al atomului central rămâne neschimbat. Compușii coordinativi în majoritatea cazurilor cu metale *3d* sunt monomeri, iar în unele cazuri se dimerizează prin intermediul perechilor de electroni necuplate de la atomi donori, cum ar fi O, N, S, precum în cazul atomilor de halogenură ( $I^-$ ,  $Br^-$ ,  $Cl^-$ ). Dat fiind faptul că tiosemicarbazonele derivate de la 2-formilpiridină sunt un obiectiv al cercetării, prezintă interes cercetarea acestora privind strânsa legătură dintre activitatea biologică și structura acestora.

Conform studiului literaturii, există doar o tiosemicarbazonă ai 2-acetilpiridinei în baza 4-aminobenzoatului de etil. Alte tiosemicarbazone cu derivații ai 2-formilpiridinei sau a aldehidei salicilice în baza 4-aminobenzoatului de etil și compușii coordinativi ai acestora nu sunt descriși până în prezent în literatură. Deci, prezintă interes sinteza și proprietățile antiproliferative ale acestora.

### Referințe:

1. GERBELEU, N.V., ARION, V.B., BURGESS, J., WEINHEIM, W. 1999, 565 p. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527613809>; GERBELEU, N.V., ARION, V.B. *Template Synthesis of Macrocyclic Compounds*. Kishinev: Stiinta, 1990. 372 p. (in russian).
2. SHAKYA B. et al. 2-Pyridineformamide N(4)-ring incorporated thiosemicarbazones inhibit MCF-7 cells by inhibiting JNK pathway. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2019, vol.29, no.13, p.1677-1681, DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.04.031
3. GOTTESMAN, M.M., FOJO, T., BATES, S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. In: *Nature Reviews Cancer*, 2002, vol.2, no1, p.48, DOI: 10.1038/nrc706
4. BROCKMAN, R.W. et al. Observations on the antileukemic activity of pyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone and thiocarbohydrazone. In: *Cancer Res.*, 1956, vol.16, no2, p.167-170.
5. NUTTING, C.M. et al. Phase II study of 3-AP Triapine in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. In: *Annals of Oncology*, 2009, vol.20, no7, p.1275-1279, DOI: 10.1093/annonc/mdn775
6. JANSSON, P.J. et al. Di-2-pyridylketone 4, 4-dimethyl-3-thiosemicarbazone (Dp44mT) overcomes multidrug resistance by a novel mechanism involving the hijacking of lysosomal P-glycoprotein (Pgp). In: *Journal of Biological Chemistry*, 2015, vol.290, no.15, p.9588-9603, DOI: 10.1074/jbc.M114.631283
7. АКСЕНОВА, Э.Н. и др. *Фармацевтическая химия*, 2004. ISBN 5- 9231-0438-5
8. BARBĂ, N. et al. Sinteza 3(4)-izotiocianatobenzoatilor de etil din esterii acizilor 3(4)-N,N-dimetiltioureidobenzoici. În: *Anale Științifice ale Universității de Stat din Moldova*, 2001, p.221-223. ISBN 978-9975-71-682-6

9. HROCH, L. et al. Synthesis and evaluation of frentizole-based indolyl thiourea analogues as MAO/ABAD inhibitors for Alzheimer's disease treatment. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2017, vol.25, no3, p.1143-1152. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.12.029
10. WILCOX, C.S. et al. Experimental and theoretical studies of substituent effects in hydrogen bond based molecular recognition of a zwitterion by substituted arylureas. In: *Tetrahedron*, 1995, vol.51, no2, p.621-634. DOI: 10.1016/0040-4020(94)00921-G
11. LIAO, Y.Y. et al. Isothiocyanation of amines using the Langlois reagent. In: *Chemical Communications*, 2017, vol.53, no45, p.6073-6076. DOI: 10.1039/C7CC02373A
12. WILCOX, C.S. et al. Experimental and theoretical studies of substituent effects in hydrogen bond based molecular recognition of a zwitterion by substituted arylureas. In: *Tetrahedron*, 1995, vol.51, no2, p.621-634. DOI: 10.1016/0040-4020(94)00921-G
13. KLAYMAN, D.L. et al. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 1. A new class of potential antimalarial agents. In: *Journal of Medicinal Chemistry*, 1979, vol.22, no7, p.855-862. DOI:10.1021/jm00193a020
14. KUMAR, S.M. et al. Synthesis, structural analysis and cytotoxic effect of copper (II)-thiosemicarbazone complexes having heterocyclic bases: A selective naked eye sensor for F<sup>-</sup> and CN<sup>-</sup>. In: *Polyhedron*, 2015, vol.85, p.830-840. DOI: 10.1016/j.poly.2014.09.044
15. MANIKANDAN, R. et al. Synthesis, characterization and crystal structure of cobalt (III) complexes containing 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: DNA/protein interaction, radical scavenging and cytotoxic activities. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, vol.130, p.205-216, DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.11.008
16. BERMEJO, M.R. et al. New Neutral Metal Complexes from the 4-N-Phenylthiosemicarba-zone-2-pyridinecarboxaldehyde Ligand-113Cd and 207Pb NMR Studies. In: *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, 2007, vol.633, no11-12, p.1911-1918. DOI: 10.1002/zaac.200700274
17. QI, J. et al. Synthesis, antiproliferative activity and mechanism of gallium (III)-thiosemicarbazone complexes as potential anti-breast cancer agents. In: *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, vol.154, p.91-100. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.05.016
18. PAPE, V.F.S. et al. Design, synthesis and biological evaluation of thiosemicarbazones, hydrazinobenzothiazoles and arylhydrazones as anticancer agents with a potential to overcome multidrug resistance. In: *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, vol.117, p.335-354. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.03.078
19. MENDES, I.C. et al. N (4)-tolyl-2-benzoylpyridine thiosemicarbazones and their copper (II) complexes with significant antifungal activity: crystal structure of N (4)-para-tolyl-2-benzoylpyridine thiosemicarbazone. In: *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2006, vol.17, no.8, p.1571-1577. DOI: 10.1590/S0103-50532006000800013
20. SCOFERTA, P.G. et al. Антипролиферативная и антиоксидантная активности нитрато[4-(3,4-диметилфенил)-2-(2-оксо-3-метоксибензилиден)гидразинкарботио-амидо]меди. В: *Международный Научно-Исследовательский Журнал*, 2018, no.2. p.19-22, DOI: 10.23670/IRJ.2018.68.005
21. GULEA, A. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. În: *Akadosmos*, 2013, nr.1 (28), p.102-107. [http://www.akadosmos.asm.md/files/Akadosmos\\_nr\\_1\\_2013.pdf](http://www.akadosmos.asm.md/files/Akadosmos_nr_1_2013.pdf)

**Date despre autor:**

**Anna RUSNAC**, doctorandă, Școala doctorală Științe Chimice; cercetător științific stagiar în LCȘ *Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică*, Universitatea de Stat din Moldova.

**Email:** zzannagg@mail.ru

**ORCID:** 0000-0002-2517-8927

Prezentat la 03.02.2020