

SINTEZA ȘI CERCETAREA PROPRIETĂȚILOR FARMACOFORE ALE UNOR N-(DIMETILFENIL) HIDRAZINCARBOTIOAMIDE

DOI: <https://doi.org/10.52673/18570461.23.2-69.07>

CZU: 54.057:547.858+615.014

Doctorandă, cercetător științific **Tatiana ERHAN**¹

E-mail: taerhan28@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0008-2538-0368>Doctor în științe biologice **Olga GARBUZ**^{1,2}

E-mail: olhamos@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8783-892X>Membru corespondent al AȘM **Nicon UNGUR**³

E-mail: nicon.ungur@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7457-4520>Academician **Aurelian GULEA**¹

E-mail: guleaaurelian@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2010-7959>¹Universitatea de Stat din Moldova²Institutul de Zoologie al Universității de Stat din Moldova³Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova

SYNTHESIS AND RESEARCH OF THE PHARMACOPHORIC PROPERTIES OF SOME N-(DIMETHYLPHENYL) HYDRAZINECARBOTIOAMIDE

Summary. The present study was focused on the synthesis of some N-(dimethylphenyl)hydrazine carbothioamides **1-4**, that contain the following N-substituents: 2,4-dimethylphenyl; 2,5-dimethylphenyl; 2,6-dimethylphenyl; 3,4-dimethylphenyl, to increase lipophilicity and N-(dimethylphenyl)-2-(pyridin-2-ylmethylidene)hydrazinecarbothioamides **5-8**, analogous of Triapine. The structural formula of the compounds was characterized by means of spectroscopy: FT-IR, ¹H-, and ¹³CRMN, and the molecular structure, for the first time, by means of X-ray diffraction. The study of antioxidant activity has shown that all compounds 1-8 are powerful antioxidants. N-(dimethylphenyl)-2-(pyridin-2-ylmethylidene)hydrazinecarbothioamides **5-8** were tested as inhibitors of MCF-7 (breast cancer) cell proliferation. It was found that all the compounds exhibit activity comparable to that of Doxorubicin, among them the compound N-(2,5-dimethylphenyl)-2-(pyridin-2-ylmethylidene)hydrazinecarbothioamide **6**, with IC₅₀=0.8 μM/L, demonstrated the highest activity.

Keyword: synthesis, hydrazinecarbothioamide, antioxidant activity, anticancer activity.

Rezumat. Studiul de față a fost axat pe sinteza unor N-(dimetilfenil)hidrazincarbotoamide **1-4** cu următorii N-substituenți: 2,4-dimetilfenil; 2,5-dimetilfenil; 2,6-dimetilfenil; 3,4-dimetilfenil, pentru a mări lipofilitatea și N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamide **5-8**, analogice Triapinei. Formula de structură a compușilor a fost stabilită prin intermediul spectroscopiei FT-IR, ¹H-, și ¹³CRMN, iar structura moleculară, în premieră, prin intermediul difracției cu raze X. A fost studiată activitatea antioxidantă a tuturor compușilor sintetizați 1-8, care s-au dovedit a fi antioxidanți performanți. N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidele **5-8** au fost testate ca inhibitori ai proliferării celulelor MCF-7 (cancerul mamar). S-a constatat că toți compușii manifestă activitate comparabilă cu cea a Doxorubicinei, dintre aceștia compusul N-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida **6**, cu IC₅₀=0,8 μM/L, a demonstrat cele mai bune rezultate.

Cuvinte-cheie: sinteză, hidrazincarbotoamide, activitate antioxidantă, activitate anticancerigenă.

INTRODUCERE

Procesul de oxidare este parte importantă a metabolismului organismelor vii, în cadrul căruia sunt generați radicali liberi care conțin specii reactive de

oxigen O₂[•] [1]. Radicalii liberi formați au un rol dual, de caracteristici benefice, dar și nocive, excesul lor provocând leziuni ireversibile ale compușilor macromoleculari precum lipidele, proteinele și ADN-ul. În detrimentul mecanismelor de protecție antioxidantă

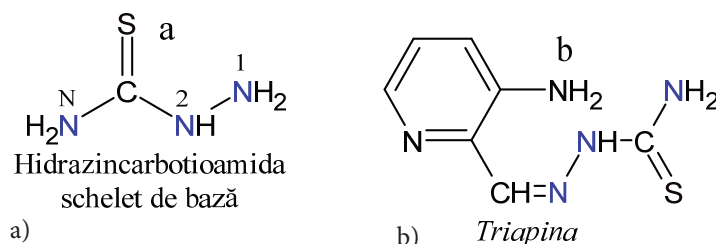


Figura 1. Formule de structură: a) hidrazincarbotioamida; b) Triapina.

vine expunerea la condițiile existente, precum poluarea chimică a aerului și a produselor alimentare pe bază de compuși sintetici, radiațiile dar și stresul. Acesta din urmă generează, la rândul său, un dezechilibru din care rezultă așa-numitul „stres oxidativ”. Stresul oxidativ cronic și cumulativ este un factor decisiv în dezvoltarea celulelor tumorale și în dobândirea de către acestea a proprietăților maligne. Așadar, radicalii liberi constituie o clasă numeroasă și variată de agenți cancerigeni [2]. Din acest motiv, cercetătorii manifestă astăzi un interes fără precedent pentru oxidanți ca obiect de studiu, aceștia având un potențial de prevenție, de captare sau neutralizare a radicalilor liberi [3-5].

Cancerul este a doua cauză de deces și cea mai de temut maladie contemporană. Deși există o gamă variată de compuși cu mecanisme diferite de activitate anticancerigenă disponibili pentru tratament, unele tipuri de cancer devin incurabile din cauza că dezvoltă rezistență la medicamente, ca urmare a absorbției reduse și toxicității înalte. În consecință, există o cerere constantă de noi agenți anticancerigeni cu selectivitate și lipofilitate înaltă și cu toxicitate redusă [6].

„Un farmacofor reprezintă un ansamblu de caracteristici sterice și electronice necesare pentru a asigura interacțiunile supra moleculare optime cu o țintă biologică specifică și pentru a declanșa un răspuns biologic al acesteia” [7]. Caracteristicile unui farmacofor model includ centre hidrofobe, inele aromatice, acceptori sau donatori de legături de hidrogen, cationi și anioni etc. [8].

Hidrazincarbotioamidele reprezintă o clasă de farmacofori inediți intens studiați pentru potențialul său biologic, dar și pentru caracteristicile structurale. Ele manifestă un spectru vast de proprietăți: antituberculoase [9], antivirale [10], antimicrobiene [6], antioxidante [11], anticancerigene [11; 13] etc. Calitatea de liganzi în chelatarea metalelor de tranziție precum fier, cupru, nichel și zinc etc. [14] permite extinderea studiilor acestei clase de compuși. Cercetările recente arată că inhibarea RR (ribonucleotid reductaza) – enzima care conține fier – este factorul principal ce determină proprietățile anticancerigene [15].

Structura scheletului de baza al hidrazincarbotioamidelor (figura 1a) este intens studiată datorită particularității sale de a fi ușor modelată în scopul amplificării sau atribuirii proprietăților necesare. Studiile recente sugerează că N-substituenții precum gruparea fenil generează compuși cu proprietăți biologice promițătoare [16]. Pe de altă parte, molecula Triapina, care demonstrează proprietăți anticancerigene valoroase și se află deja în cercetările clinice faza a III-a (figura 1b), confirmă că hidrazincarbotioamidele α -N-heterociclice prezintă interes considerabil [17; 18].

În urma studiilor a fost sintetizată o serie de N-(dimetilfenil)hidrazincarbotioamide ale piridin-2-carbaldehidei care au N-dimetilfenil substituenți (figura 2).

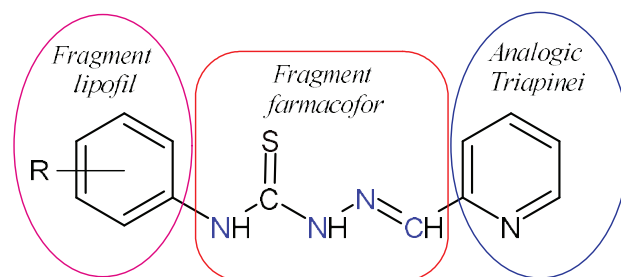


Figura 2. Designul compușilor cercetați 1-8, unde R=CH₃.

Proprietățile antioxidante și anticancerigene ale compușilor sintetizați nu au fost cercetate anterior, prin urmare sinteza și studiul în vederea elucidării legăturii structură-activitate prezintă interes științific.

MATERIALE ȘI METODE

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost procurați de la Sigma-Aldrich[®] și au fost de puritate înaltă.

1) Punctul de topire a substanțelor sintetizate a fost înregistrat la dispozitivul KSP1N, în intervalul 20-300 °C, cu rezoluția de 1 °C.

2) Cromatografia în strat subțire este cea mai simplă metodă de control cromatografic al reacțiilor chimice, de identificare și separare a substanțelor chimice, bazată pe diferența dintre coeficienții de repartitie a substanțelor studiate. Analizele au fost efectuate pe foi de cromatografie cu silicagel (Macherey-Nagel, 0,2 mm, Silica gel 60 with fluorescent indicator UV254).

3) Spectroscopia în infraroșu cu transformata Fourier (FT-IR) a fost efectuată la spectrometrul BRUKER ALPHA, în intervalul lungimii de undă 4 000-400 cm^{-1} , în cadrul Laboratorului de cercetări științifice „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică” al Universității de Stat din Moldova [19].

4) Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (^1H -, ^{13}C RMN) a fost efectuată la temperatura camerei utilizând spectrometrul BRUKER DRX-400, la frecvența de 400 MHz pentru ^1H și 100 MHz pentru ^{13}C , față de tetrametilsilan (TMS), în calitate de solvent a fost utilizat $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ [20].

5) Difracția cu raze X pe monocristal a fost efectuată pe difractometrul XCALIBUR E CCD cu o sursă de raze Mo-K_α grafit-monocromat. Determinarea celei unitare și integrarea datelor au fost realizate folosind pachetul CrysAlis de Difracția Oxford. Structurile au fost determinate prin metoda pătratelor minime în apropiere anizotrope pentru atomii de hidrogen prin programul SHELX-97 [21].

6) Pentru determinarea proprietăților antioxidante ale substanțelor studiate a fost aplicată metoda ABTS. Soluțiile standard de cationi radicali $\text{ABTS}^{+\cdot}$ și substanțele testate, precum și condițiile de măsurători spectrofotometrice și calcule de inhibiție au fost realizate așa cum este descris [22]. Soluțiile stoc de 10 μM ale compușilor studiați, precum și compusul de referință Trolox au fost preparate prin dizolvarea a 10 μM din compusul corespunzător în 1 mL de DMSO. Soluțiile de 1, 10, 100 și 1 000 μM au fost preparate prin diluarea soluțiilor stoc cu DMSO. După aceea, 20 μL din fiecare soluție de compus testat au fost transferați într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri și s-au adăugat 180 μL de soluție de lucru $\text{ABTS}^{+\cdot}$ pentru a primi soluții cu concentrații finale de compuși testați 0,1; 1; 10 și respectiv 100.

7) Proprietățile anticancerigene s-au determinat în raport cu linia celulară MCF-7 (adenocarcinom mamar), care a fost obținută din Colecția de culturi de tip american (ATCC, Manassas, VA). Testul de proliferare celulară a fost realizat folosind 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfonil)-2H-tetrazolium (Cell Titre 96 Aqueous, Promega, Nepean, ON, Canada). Celulele au fost plasate în triplicat în plăci cu 96 de godeuri (1 044 celule per godeu) în mediu de cultură adecvat (volum total de 90 μL). Înainte de fiecare tratament, celulele au fost incubate la 37 $^\circ\text{C}$ în atmosferă umidificată cu 5 % CO_2 timp de 24 de ore. Substanțele de analizat au fost dizolvate în metanol (50 μM). Soluțiile stoc au fost diluate la concentrații multiple cu medii de cultură pentru a obține concentrația finală dorită, adăugând 10 μL în fiecare godeu, apoi amestecul a fost incubat timp de trei zile.

Ca urmare a tratamentului, s-a adăugat MTS (10 μL) la fiecare godeu, iar amestecul a fost incubat timp de 4 ore. Plăcile au fost ulterior analizate la 490 nm utilizând un cititor de micro plăci Tecan M-200 (Mnedorf, Elveția), iar valorile IC_{50} au fost calculate folosind GraphPad Software-ul Prism 6. Selectivitatea pentru celulele canceroase față de celulele normale a fost calculată prin împărțirea IC_{50} obținut pentru celulele normale MCF-10A, la IC_{50} obținut pentru celulele canceroase MCF-7. Valorile reprezintă media a două experimente independente realizate în trei exemplare [23].

SINTEZA UNOR N-(DIMETILFENIL) HIDRAZINCARBOTIOAMIDE

N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidele 5-8 au fost sintetizate conform schemei (figura 3), din N-(dimetilfenil)hidrazincarbotoamidele 1-4 obținute anterior [24], având ca materie primă n-dimetilanilinele corespunzătoare.

Metoda generală de sinteză presupune că n-dimetilanilinele inițiale, la interacțiunea cu DTMT (disulfura de terametiltiuram), raport molar de 2:1, în propan-1-ol au fost agitate, la reflux, timp de 3-4 ore. După un timp, a fost semnalată schimbarea culorii amestecului (a devenit brun) și apariția unui precipitat gălbui (sulf), sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS (cromatografie în strat subțire), eluent benzen : acetona (5:1). Ulterior, soluția fierbinte a fost decantată pentru a îndepărta sulful depus, apoi plasată în baie cu gheață, pentru răcire și precipitare. Tiourea formată a fost filtrată, apoi dizolvată în HCl conc. pentru a îndepărta resturile de sulf, iar după filtrare, neutralizare și precipitare, filtrată iar și recristalizată din etanol. N'-(metilfenil)-N,N-dimetiltioureele reprezintă substanțe cristaline de culoare albă. Formula de structură a compușilor sintetizați a fost stabilită prin intermediul metodelor fizico-chimice de analiză precum spectroscopia FT-IR, ^1H , și ^{13}C RMN [24].

În următoarea etapă N'-(dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureele au fost descompuse la interacțiunea cu HCl conc. Metoda generală presupune că amestecul format din N'-(dimetilfenil)-N,N-dimetiltiouree și HCl conc., raport molar 1:1, în toluen a fost agitat, la reflux, timp de 3 ore. Sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS (cromatografie în strat subțire), eluent benzen : acetona (5:1). După răcire, stratul organic a fost separat prin decantare, iar după neutralizare solventul a fost înlăturat prin distilare. n-dimetilfenilizotiocianții formați au fost purificați prin distilare fracționată în vid.

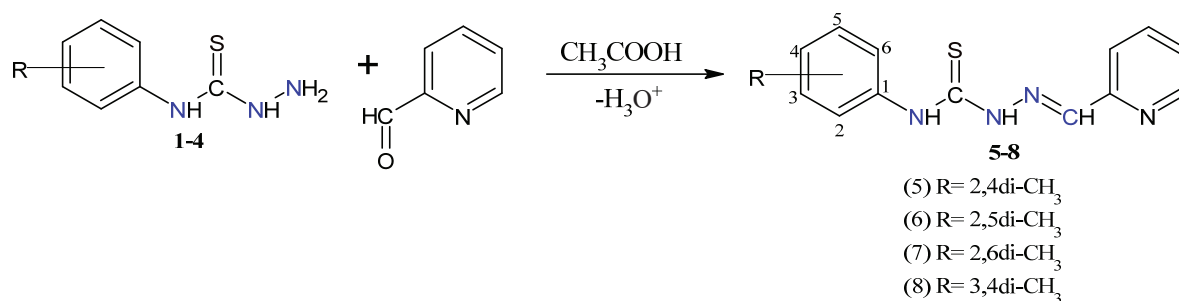


Figura 3. Schema de sinteză generală a N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-il-metiliden)hidrazinocarbotioamidelor 5-8.

N-(dimetilfenil)hidrazinocarbotioamidele 1-4 au fost sintetizate conform metodei generale, care presupune că la monohidratul de hidrazină prealabil răcită a fost adăugat la agitare, în raport molar de 1:1, n-dimetilfenilizotiocianatul prealabil dizolvat în etanol. După adăugarea completă, amestecul răcorit a fost îndepărtat, iar amestecul de reacție agitat la temperatura camerei timp de 1,5 ore. Sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS (cromatografie în strat subțire), eluent benzen : acetonă (5:1). Cristalele formate au fost filtrate, spălate cu etanol rece și uscate. N-(dimetilfenil)hidrazinocarbotioamidele 1-4 reprezintă substanțe cristaline de culoare albă. Formula de structură a compușilor sintetizați a fost stabilită prin intermediul metodelor fizico-chimice de analiză precum: spectroscopia FT-IR, ¹H-, și ¹³CRMN [24].

N-(2,4-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida 1 -
p. t. = 150-152 °C; η = 91 %

N-(2,5-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida 2 -
p. t. = 162-164 °C; η = 88 %

N-(2,6-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida 3 -
p. t. = 223-225 °C; η = 86 %

N-(3,4-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida 4 -
p. t. = 155-157 °C; η = 87 %

N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamidele 5-8 au fost obținute conform metodei generale: într-un balon cu fund rotund ajustat cu refrigerent și cuib de încălzire cu temperatură reglabilă au fost adăugate 0,1 mol de N-(metilfenil)hidrazinocarbotioamidă 1-4 în 10 ml etanol și 0,1 mol de piridin-2-carbaldehidă prealabil dizolvată în 10 ml etanol, ulterior 3-4 picături CH₃COOH glacial. Amestecul a fost refluxat timp de 2-3 ore, sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS (cromatografie în strat subțire), eluent benzen : acetonă (5:1). După răcire, în baie cu gheață, sedimentul format a fost filtrat, spălat cu apă, etanol rece și recristalizat din etanol. N-(metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamidele 5-8 reprezintă substanțe cristaline de culoare galbenă [25].

N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamida 5 (figura 4a).

Mr. = 284; p. t. = 198-200 °C; η = 95 %; FT-IR: ν (cm⁻¹): 3324, m, (N¹-H); 3121, s, (N⁴-H); 3046 s, (C-H, CH₃ py); 2975, s, (CH, aril); 1619, m, (C=N); 1601; 1581, m, (NH); 1536, p, (C=C, aril); 1469, m; 1413, m, (C=C, py); 1396, m, (C=C, aril); 1327, m,

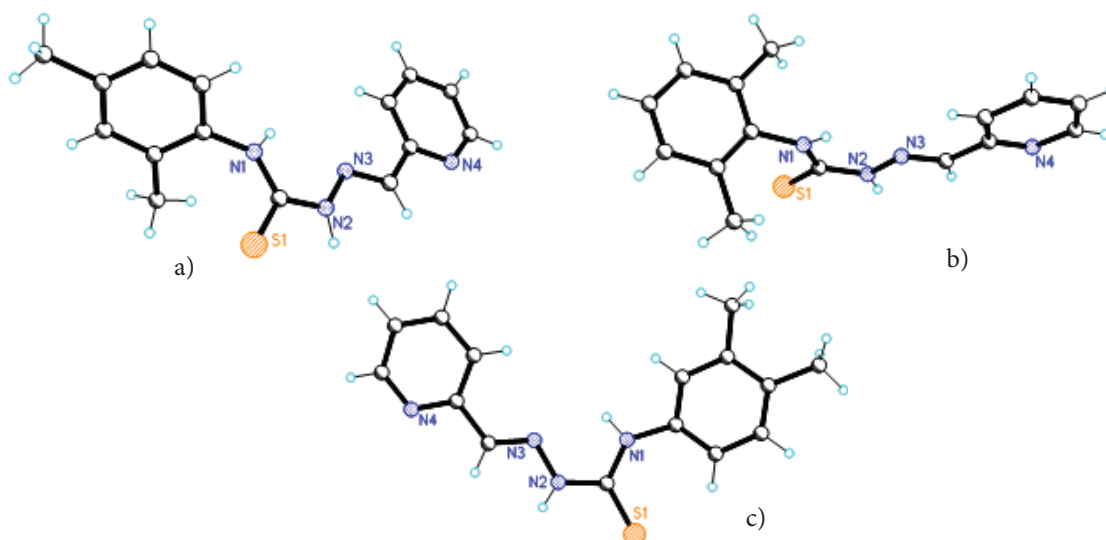


Figura 4. Structuri moleculare: a) N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamida 5; b) N-(2,6-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamida 7; c) N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioamida 8.

(C-N); 1259, m, (C=S); 1152, p; 1085, m, (N-N); 879, m; 831, p; 818, m; 744, p; 612, m, (py).

Distanțele interatomice dintre unii atomi participanți la formarea compusului în Å: C(fenil)-N(4), 1.4128, N(4)-C(S), 1.3564, C=S, 1.6660, C(S)-N(2), 1.3174, N(2)-N(1), 1.3816, N(1)=C, 1.3126, C-C, 1.4148, C-N, (py), 1.3269, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4936, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5180.

N-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamida 6

Mr. = 284; p. t. = 188-190°C; η = 91 %; FT-IR: ν (cm⁻¹): 3320, m, (N¹-H); 3123, s, (N⁴-H); 3041 s, (C-H, CH₃ py); 2972, s, (C-H, aril); 1621, m, (C=N); 1601; 1571, m, (NH); 1538; 1502, p, (C=C, aril); 1468, m; 1414, m, (C=C, py); 1374, m, (C=C, aril); 1326, m, (C-N); 1261, m, (C=S); 1153, p; 1086, m, (N-N); 851, m; 809, m; 746, p; 613, m, (py).

N-(2,6-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamida 7 (figura 4b).

Mr. = 284; p. t. = 211-213 °C; η = 94%; FT-IR: ν (cm⁻¹): 3317, m, (N¹-H); 3131, s, (N⁴-H); 3041, s, (C-H, CH₃ py); 2970, s, (C-H, aril); 1619, m, (C=N); 1599; 1568, m, (NH); 1467, p, (C=C, aril); 1467; 1439, m, (C=C, py); 1384, m, (C=C, aril); 1324, m, (C-N); 1264, m, (C=S); 1155, p; 1083, m, (N-N); 860, m; 811, m; 758; 619, m, (py).

Distanțele interatomice dintre unii atomi participanți la formarea compusului în Å: C(fenil)-N(4), 1.4452, N(4)-C(S), 1.3323, C=S, 1.6671, C(S)-N(2), 1.3633, N(2)-N(1), 1.3701, N(1)=C, 1.2715, C-C, 1.4647, C-N(py), 1.3332, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5086, C(ph)-C(6-CH₃), 1.4994.

N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamida 8 (figura 4c).

Mr. = 284; p. t. = 173-175 °C; η = 92 %; FT-IR: ν (cm⁻¹): 3312, m, (N¹-H); 3138, s, (N⁴-H); 3058, s, (C-H, CH₃ py); 2987, s, (CH, aril); 1615, m, (C=N); 1601, m, (NH); 1537; 1505, p, (C=C, aril); 1466, m; 1433, m, (C=C, py); 1390, m, (C=C, aril); 1328, m, (C-N); 1266, m, (C=S); 1152, p; 1068, m, (N-N); 854, m; 811, m; 755, p; 618, m, (py).

Distanțele interatomice dintre unii atomi participanți la formarea compusului în Å: C(fenil)-N(4), 1.4143, N(4)-C(S), 1.3675, C=S, 1.6649, C(S)-N(2), 1.3582, N(2)-N(1), 1.3739, N(1)=C, 1.2766, C-C, 1.4738, C-N(py), 1.3374, C(ph)-C(3-CH₃), 1.5115, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5052.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Schema de sinteză a N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-il-metiliden)hidrazincarbotoamidelor 5-8 presupune sinteza inițială a N-(dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor, având în calitate de materie primă

n-dimetilanilinele corespunzătoare care la tiocarbamoilarea cu intermediul DTMT (disulfura de tetrametiluram) au format N²-(dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureele. Utilizarea DTMT presupune o serie de beneficii, și anume: timp redus de reacție dar și utilizarea unui reactiv accesibil, ieftin și non-toxic. Un neajuns al acestei transformări, care prelungește metoda de izolare și purificare, este formarea sulfului, însă acest dezavantaj a putut fi depășit prin dizolvarea N²-(dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureelelor în HCl_{conc.}, dat fiind faptul că sulful este insolubil în acid clorhidric concentrat. N²-(dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureele formate au fost ulterior descompuse cu HCl conc., un reactiv accesibil, cu formare de n-dimetilfenilizotiocianți. n-dimetilfenilizotiocianții formați la interacțiunea cu monohidratul de hidrazină au format N-(dimetilfenil)hidrazincarbotoamidele 1-4. Întrucât cele din urmă posedă nucleofilitate sporită, reacția a decurs cu adăugarea n-dimetilfenilizotiocianților la monohidratul de hidrazină și nu invers. Ulterior, la interacțiunea N-(dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor 1-4 cu piridin-2-carbaldehida, reacție considerată clasică, s-au obținut N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-il-metiliden)hidrazincarbotoamidele 5-8.

Formula de structură a compușilor sintetizați a fost stabilită prin intermediul metodelor fizico-chimice de analiză precum spectroscopia FT-IR, ¹H, și ¹³CRMN, iar structura moleculară, în premieră, a fost confirmată prin analiza cu raze X pe monocristal. Distanța dintre atomii de C și S fiind de 1,66 Å, pentru cei trei compuși analizați 5, 7 și 8, indică prezența legăturii duble C=S, configurația E, tion.

Compușii sintetizați 1-8 au fost testați pentru capacitatea de inhibiție a cation radicalului ABTS⁺, drept substanță de referință fiind luat Trolox-ul (acidul 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic, un derivat al Vitaminei E). Din rezultatele obținute se poate concluși că N-(dimetilfenil)-hidrazincarbotoamidele sintetizate prezintă o activitate antioxidantă înaltă în raport cu Trolox-ul, substanța luată ca referință (tabelul 1). Mai mult ca atât, condensarea compușilor 1-4 cu piridin-2-carbaldehida amplifică activitatea antioxidantă, poziția grupelor metil din inelul benzenic având un impact substanțial asupra proprietăților antioxidante.

Respectiv, activitatea antioxidantă crește în ordinea 8 < 7 ≤ 6 < 5 (figura 5), prin urmare compusul N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-il-metiliden)hidrazincarbotoamida 5 are capacitatea cea mai înaltă de inhibare a radicalilor liberi, IC₅₀=7,2 μM. Compușii 5-8 au fost testați pentru activitatea biologică, și anume pentru activitatea anticancerigenă, pe linia de celule de cancer mamar MCF-7, comparate cu DOXO (Doxorubicina). Din rezultatele obținute (tabelul 2)

Tabelul 1

Activitatea antioxidantă a compușilor 1-8, prin metoda de inhibiție a cation radicalului ABTS⁺, comparate cu substanța de referință Trolox

Cifru	% inh. 100 μM±SD	% inh. 10 μM±SD	% inh. 1 μM±SD	% inh. 0,1 μM±SD	IC ₅₀ μM±SD
1	94,6±0,3	34,6±1,0	6,0±1,0	5,1±1,0	15,3±0,8
2	94,3±0,8	30,2±1,0	3,6±0,1	5,2±0,2	14,2±1,0
3	94,9±0,01	33,4±0,2	3,1±0,1	0,1±0,01	15,5±0,2
4	94,0±1,0	39,1±1,0	5,9±0,1	1,8±0,2	13,6±0,5
5	94,4±0,1	62,6±0,4	3,9±0,9	0,1±0,01	7,2±0,2
6	93,6±1,0	50,8±1,0	10,1±0,8	0,6±0,01	9,4±0,5
7	93,8±1,0	50,1±1,0	7,0±0,01	0,2±0,01	9,8±0,3
8	93,9±0,8	49,1±0,8	2,6±1,76	0,1±0,01	10,3±0,3
Trolox	92,0±0,7	14,8±1,0	-1,5	-4,1	26,3±0,7

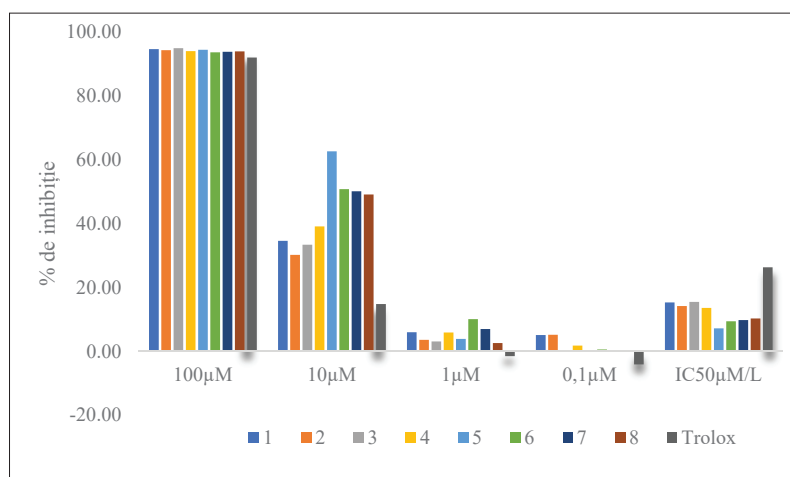


Figura 5. Proprietățile antioxidante ale compușilor 1-8, comparate cu substanța de referință Trolox.

Tabelul 2

Activitatea anticancerigenă pe linia de celule de cancer mamar MCF-7, comparate cu DOXO (Doxorubicina) [26]

Cifru	% inh. 1 μM	% inh. 0,1 μM	% inh. 0,01 μM	IC ₅₀ μM/L
5	40,9	50,1	0,8	1
6	52	25,6	0,1	0,8
7	31,9	26,5	0,1	1
8	33,1	28,3	4,4	1
DOXO	75	50	15	0,75

rezultă că toți compușii 5-8 testați manifestă o activitate comparabilă cu cea a Doxorubicinei, agent terapeutic utilizat în chimioterapia cancerului.

Cea mai pronunțată activitate anticancerigenă IC₅₀=0,8 μM/L, valoare aproximativ egală cu a Doxorubicinei, manifestă compusul 6, sau N-(2,5-dimetilfe-

nil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida. Aceste rezultate sugerează că activitatea anticancerigenă este influențată de natura fragmentului carbonilic, în cazul dat piridin-2-carbaldehida. Prin urmare, compușii 5-8 prezintă interes pentru studiile ulterioare datorită proprietăților antiproliferative manifestate.

CONCLUZII

1. A fost sintetizată o serie de N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbonioamide **1-4**, care au în scheletul de baza N-substituenți precum: 2,4-dimetilfenil; 2,5-dimetilfenil; 2,6-dimetilfenil; 3,4-dimetilfenil, generând centru lipofil dar și N-(dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbonioamide **5-8**, analogic Triapinei.

2. Formula de structură a compușilor sintetizați a fost stabilită prin intermediul metodelor fizico-chimice de analiză spectroscopia FT-IR, ¹H-, și ¹³CRMN, iar structura moleculară, în premieră, confirmată prin analiza cu raze X pe monocristal. Distanța dintre atomii de C și S, fiind de 1,66 Å pentru toți trei compuși analizați **5**, **7** și **8** indică prezența legăturii duble C=S, configurația E, tion.

3. Toți compușii sintetizați au fost evaluați pentru activitatea antioxidantă prin metoda de inhibare a cation radicalului ABTS⁺, drept substanță de referință fiind luat Trolox-ul. În consecință, toți compușii s-au dovedit a fi agenți antioxidanți performanți.

4. Compușii **5-8** au fost testați pentru capacitatea de inhibiție pe linia de celule de cancer mamar MCF-7, comparate cu DOXO (Doxorubicina). Toți compușii manifestă activitate comparabilă cu cea a Doxorubicinei, însă compusul N-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbonioamida **6**, cu IC₅₀=0,8 μM/L, a dat cele mai bune rezultate.

BIBLIOGRAFIE

- Wang R., Liang L., Matsumoto M., Iwata K., Umemura A., And He F., Reactive Oxygen Species and NRF2 Signaling, Friends or Foes in Cancer? In: *Biomolecules*, vol. 13, no. 2, p. 353, Feb. 2023, doi: 10.3390/biom13020353
- Dreher D., and Junod A.F. Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development. In: *Eur. J. Cancer*, vol. 32, no. 1, 30-38, 1996, doi: 10.1016/0959-8049(95)00531-5
- Ilies D.C., Shova S., Radulescu V., Pahontu E., and Rosu T. Synthesis, characterization, crystal structure and antioxidant activity of Ni(II) and Cu(II) complexes with 2-formilpyridine N(4)-phenylthiosemicarbazone. In: *Polyhedron*, vol. 97, no. Ii, 157-166, 2015, doi: 10.1016/j.poly.2015.05.009
- Sampath K., Sathiyaraj S., and Jayabalakrishnan C. DNA interaction, antioxidant, and in vitro antitumor activity of binuclear ruthenium(III) complexes of benzothiazole-substituted ferrocenyl thiosemicarbazones. In: *Med. Chem. Res.*, vol. 23, no. 2, 2014, 958-968, doi: 10.1007/s00044-013-0698-x
- Mir P., A. and Uppal J. Synthesis and evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of thiosemicarbazone derivatives. In: *European Journal Pharmaceutical and Medical Research*, martie 2022, 8(10):552-560.
- Gulea A., et al. *In vitro* antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure - Activity relationships. In: *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 23, no. 6, 2008, 806-818, doi: 10.1080/14756360701743002
- International Union of Pure and Applied Chemistry, *Glossary of Terms Used*, vol. 70, no. 5, 1998, 1129-1143.
- Karaküçük-İyidoğan A., Aydinöz B., Taşkin-Tok T., et. all. Synthesis, Biological Evaluation and Ligand Based Pharmacophore Modeling of New Aromatic Thiosemicarbazones as Potential Anticancer Agents. In: *Pharm. Chem. J.*, vol. 53, no. 2, 2019, 139-149, doi: 10.1007/s11094-019-01968-3
- Pavan F.R. et al. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti-Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. In: *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 45, no. 5, 2010, 1898-1905, doi: 10.1016/j.ejmech.2010.01.028
- Sevinçli Z.Ş., Duran G.N., Özbil M. and Karali N. Synthesis, molecular modeling and antiviral activity of novel 5-fluoro-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazones. In: *Bioorg. Chem.*, vol. 104, no. August, 2020, 104-202, doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104202
- Al-amiery A.A., Al-majedy Y.K., Ibrahim H., and Al-tamimi A.A. Antioxidant, antimicrobial, and theoretical studies of the thiosemicarbazone derivative Schiff base. In: *Org. Chem. Med Letters*, 2012, 1-7.
- Paholnițaia A., Barbă N., Gulea A., Jalbă A. Sinteză și caracteristica hidrazonelor obținute în baza 2-hidrazinobenzotiazolului cu proprietăți antimicrobiene și antiproliferative. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, vol. 6, no. 6, 2012, 82-86.
- Besleaga I. et al. Triapine Analogues and Their Copper(II) Complexes: Synthesis, Characterization, Solution Speciation, Redox Activity, Cytotoxicity, and mR2 RNR Inhibition. In: *Inorg. Chem.*, vol. 60, no. 15, 2021, 11297-11319, doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c01275
- Gulea A., Țăpcov V., Cebotari D. and Garbuz O. Sinteză, structura și proprietățile compușilor coordinativi ai unor metale 3d cu 4-(dimetilfenil)thiosemicarbazone. În: *Studia Universitatis Moldaviae*, vol. 1, no. 1, 2020, 3-15.
- Ahmed M.F. and Almalki A. H. Design, synthesis, antiproliferative activity, and cell cycle analysis of new thiosemicarbazone derivatives targeting ribonucleotide reductase. In: *Arab. J. Chem.*, vol. 14, no. 3, 2021, 102989, doi: 10.1016/j.arabjc.2021.102989
- Joseph M., Kuriakose M., Kurup P., et all. Structural, antimicrobial and spectral studies of copper(II) complexes of 2-benzoylpyridine N(4)-phenyl thiosemicarbazone. In: *Polyhedron*, vol. 25, no. 1, 2006, 61-70, doi: 10.1016/j.poly.2005.07.006
- Gulea A. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. În: *Akademios*, nr. 1(28), 2013, 102-107.
- Nutting C.M. et all. Phase II study of 3-AP Triapine in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. In: *Ann. Oncol.*, vol. 20, no. 7, 2009, 1275-1279, doi: 10.1093/annonc/mdn775
- Uddin J. Macro to Nano Spectroscopy. Intech Open, 2012. 460 p.

20. Nyquist R.A. Interpreting Infrared, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance Spectra. Academic Press, 2001.

21. Pahonțu E. et al. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. In: J. Cell. Mol. Med., vol. 19, no. 4, 2015, 865-878, doi: 10.1111/jcmm.12508

22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: Free Radic. Biol. Med., vol. 26, no. 9-10, May 1999, 1231-1237, doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3

23. Perreault M., Maltais R., Roy J., Dutour R., and Poirier D. Design of a Mestranol 2-N-Piperazino-Substituted Derivative Showing Potent and Selective in vitro and in vivo Activities in MCF-7 Breast Cancer Models. In: ChemMedChem, vol. 12, no. 2, 2017, 177-182, doi: 10.1002/cmdc.201600482

24. Erhan T., Garbuz O. and Gulea A. Sinteza și studiul unor N-n-dimetilfenil-N,N-dimetiltiourei și N(4)-n-dimetifeniltiosemicarbazide. In: Studia Universitatis Moldaviae, 2017, nr.1(101) Seria științe reale și ale naturii, vol. 1, no. 1, 2017, 89-95.

25. Gulea A.P., Lozan-tyrshu K. S., Tsapkov V. I., Korja I.D., and Rudik V.F. Coordination compounds of copper with 2-formylpyridine 4-(dimethylphenyl) thiosemicarbazones. In: Russ. J. Gen. Chem., vol. 82, no. 11, 2012, 1869-1872, doi: 10.1134/S1070363212110242

26. Minaei A., Sabzichi M., Ramezani F., Hamishehkar H., and Samadi N. Co-delivery with nano-quercetin enhances doxorubicin-mediated cytotoxicity against MCF-7 cells. In: Mol. Biol. Rep., vol. 43, no. 2, Feb. 2016, 99-105, doi: 10.1007/s11033-016-3942-x



Teodor Buzu. *Coloana Infinitului*, 1995, hârtie, acuarelă, 93 × 46 cm.