

UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA

Cu titlul de manuscris

C.Z.U.: 547.497.1.03/04:615.27(043)

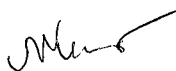
ERHAN TATIANA

**SINTEZA ȘI STUDIUL UNOR
N-(n-METILFENIL)HIDRAZINCARBOTIOAMIDE
CU PROPRIETĂȚI FARMACOFORE**

143.01. - CHIMIE ORGANICĂ

Teză de doctor în științe chimice

Conducător științific:



UNGUR Nicon, doctor habilitat în științe chimice,
conferențiar cercetător,
membru corespondent al AȘM

Consultant științific:



GULEA Aurelian, doctor habilitat în științe chimice,
profesor universitar, academician al AȘM,
Om Emerit al Republicii Moldova

Autor:

CHIȘINĂU, 2024

© ERHAN Tatiana, 2024

MULȚUMIRI

Adresez sincere mulțumiri tuturor celor care m-au încurajat și mi-au oferit ajutor necondiționat pe parcursul realizării tezei de doctorat.

Cu plecăciune aduc sincere mulțumiri, aleasă prețuire și recunoștință, în mod exclusiv D-lui Academician, doctor habilitat în științe chimice, Profesor Aurelian GULEA, consultant și îndrumător al parcursului meu în realizarea acestei lucrări. Vă mulțumesc, D-nule Profesor pentru îndrumarea, susținerea și contribuția oferite necondiționat.

Îmi exprim gratitudinea și recunoștința, D-lui membru corespondent, doctor habilitat, conferențiar cercetător Nicon UNGUR, conducător științific și susținător al parcursului meu în elaborarea și perfectarea prezentei lucrări. Vă mulțumesc pentru încrederea oferită, încurajarea, sfaturile și receptivitatea constantă.

Aduc sincere mulțumiri celui care “m-a adus de mână” în minunata lume a sintezei organice, D-lui doctor, conferențiar universitar Ion CORJA, călăuzitor și formator al parcursului meu în devenire. Vă mulțumesc pentru cunoștințele împărtășite, răbdarea și sprijinul oferit.

Alese mulțumiri dnei doctor habilitat, conferențiar cercetător Aculina ARÎCU, pentru timpul acordat, asistare și contribuția semnificativă pe parcursul susținerii tezei de doctorat, dar și tuturor profesorilor și cercetătorilor din cadrul Institutului de Chimie, USM, pentru recomandările oferite.

Îmi exprim recunoștința pentru sfaturile utile și bunăvoința profesorilor din cadrul Departamentului Chimie (Secția Chimie Organică) dnei doctor, conf. univ. Galina DRAGALINA, dlui doctor habilitat, conf. univ. Iacob GUȚU, dnei doctor, conf. univ. Maria BOTNARU, dlui doctor, conf. univ. Alexandru ZADOROJNÎI, dlui doctor, conf. univ. Ștefan ROBU, dnei doctor, lector univ. Ana POPUȘOI. Mulțumesc pentru sfaturile utile și încurajare Șeful Departamentului Chimie, Dlui doctor, conf. univ. Ion BULIMESTRU. De asemenea exprim sincere mulțumiri pentru suportul oferit și sfaturile utile dlui doctor, conf. univ. Victor ȚAPCOV și dlui doctor, lector universitar Roman RUSNAC.

Mulțumesc pentru studiile valoroase ale proprietăților biologice dnei doctor în științe biologice, Olga GARBUZ, iar pentru elucidare formulelor chimice prin intermediul RMN dlui doctor în științe chimice, Alic BARBĂ și domnului doctor, conferențiar cercetător Peter Petrenko pentru studiul structurii compușilor sintetizați prin metoda difracției de raze X de monocristal.

Exprim sincere mulțumiri colectivului din cadrul Laboratorului Protecția Integrată a Plantelor, în mod special dnei cercetător științific Svetlana JALBĂ, dar și tuturor colegilor receptivi și binevoitori ai IGFPP, USM.

Mulțumesc FAMILIEI mele, în mod exclusiv soțului meu, Ivan ERHAN pentru susținerea, înțelepciunea și încurajarea oferită.

CUPRINS

ADNOTĂRI	6
LISTA TABELELOR	9
LISTA FIGURILOR	10
LISTA ABREVIERILOR	14
INTRODUCERE	15
1.HIDRAZINCARBOTIOAMIDE N-FENIL SUBSTITUITE. SINTEZA, STRUCTURA ȘI PROPRIETĂȚI BIOLOGICE	22
1.1. Structura hidrazincarbotioamidelor	22
1.2. Metode de sinteză a N-fenilhidrazincarbotioamidelor substituie.....	25
1.2.1. Metode de sinteză a N-fenilhidrazincarbotioamidelor.....	32
1.3. Proprietăți biologice ale unor N-fenilhidrazincarbotioamide	39
1.3.1. Proprietăți anticancer.....	41
1.3.2. Proprietăți antibacteriene și antifungice.....	45
1.3.3. Proprietăți antioxidante.....	47
1.4. Abilitatea de coordinare a unor hidrazincarbotioamide N-fenil substituie cu ioni metalici.....	50
1.5. Concluzii la capitolul 1.....	52
2.MATERIALE ȘI METODE DE ANALIZĂ	54
2.1. Metode fizice de analiză.....	54
2.2. Metode computaționale de cercetate.....	55
2.3. Metode de testare a activității biologice.....	59
2.4. Concluzii la capitolul 2.....	68
3.SINTEZA, CARACTERIZARE ȘI CERCETAREA UNOR N-(n-METILFENIL)HIDRAZINCARBOTIOAMIDE	69
3.1. Strategia generalizată de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor.....	69
3.2. Sinteza N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor.....	72
3.2.1. Activitate antioxidantă a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor.....	78
3.3. Sinteza n-metilfenilizotiocianatilor.....	80
3.4. Sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor.....	83
3.4.1. Activitate antioxidantă a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor.....	89
3.4.2. Cercetarea N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor prin metoda de andocare moleculară.....	90
3.4.3. Activitate anticancerigenă a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor.....	92
3.5. Concluzii la capitolul 3.....	94
4.SINTEZA ȘI CERCETAREA UNOR N-(n-METILFENIL)-HIDRAZINCARBOTIOAMIDE AROMATICE ȘI HETEROCICLICE	96
4.1. Metode de cercetare computațională a potențialului activității biologice.....	97
4.2. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor.....	97
4.2.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamidelor.....	104
4.3. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidelor.....	105
4.3.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamidelor.....	110
4.3.2. Activitate anticancerigenă a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamidelor.....	110
4.4. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor.....	114

4.4.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotioamidelor.....	117
4.5. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor.....	119
4.5.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)-hidrazincarbotioamidelor.....	122
4.5.2. Activitatea anticancerigenă a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamide.....	124
4.5.3. Activitate antimicrobiană și antifungică a unor N-(n-dimetilfenil)-hidrazincarbotioamide.....	126
4.6. Cercetarea relației structură-activitate și a proprietăților farmacofore.....	128
4.7. Concluzii la capitolul 4.....	129
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI.....	131
BIBLIOGRAFIE.....	133
ANEXE.....	152
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	167
CURRICULUM VITAE.....	168

ADNOTARE

ERHAN Tatiana, „Sinteza și studiul unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide cu proprietăți farmacofore”, teză de doctor în științe chimice, Chișinău, 2024.

Structura tezei: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 178 de titluri, 13 anexe, 132 de pagini de text de bază, 107 de figuri, 11 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 16 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide, sinteză organică, analiză spectrală, farmacofor, activitate antioxidantă, activitate anticancerigenă, activitate antibacteriană, activitate antifungică, proprietăți farmacofore, legătura structură chimică-activitate biologică.

Scopul lucrării: sinteza unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide, caracterizarea structurii prin metode spectrale de analiză; cercetarea proprietăților farmacofore, activității biologice și elucidarea influenței structurii chimice asupra activității biologice.

Obiectivele cercetării: sinteza unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide cu N-substituenții: 2-metilfenil-; 3-metilfenil- și 4-metilfenil-; 2,3-dimetilfenil-; 2,4-dimetilfenil-; 2,5-dimetilfenil-; 2,6-dimetilfenil-; 3,4-dimetilfenil-; 3,5-dimetilfenil-; 2,4,6-trimetilfenil-, utilizând metode de sinteză optimizate; condensarea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor sintetizate cu compuși carbonilici aromatici: 2-hidroxibenzaldehida și 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida și heterociclici: piridin-2-carbaldehida și 1-(piridin-2-il)etan-1-ona; caracterizarea compușilor sintetizați prin metode spectrale (FT-IR, ^1H -, ^{13}C -, ^{15}N RMN) și prin metoda difracției de raze X pe monocristal; cercetarea proprietăților farmacofore, cercetarea activității antioxidante, anticancerigene, antibacteriene și antifungice a compușilor sintetizați; stabilirea influenței numărului și poziției grupelor metil din inelul benzenic, dar și naturii componentei carbonilice asupra activității biologice; elucidarea influenței structurii chimice asupra activității biologice.

Noutatea și originalitatea științifică: au fost dezvoltate metode eficiente de sinteză a 50 N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide necunoscute anterior, care conțin diferite grupări farmacofore, iar influența structurii fragmentelor aromatice și heterociclice precum și a radicalului metil asupra potențialului citotoxic, antimicrobian și antioxidant a fost studiat sistematic.

Rezultatele obținute care contribuie la soluționarea problemei științifice importante: constă în stabilirea condițiilor de sinteză, prin optimizarea metodelor clasice a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor cât și elucidarea influenței structurii chimice a compușilor sintetizați asupra proprietăților biologice.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării: au fost acumulate date care permit extinderea bazei de compuși cu potențial biologic ridicat; N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidele sintetizate prezintă interes atât în calitate de agenți terapeutici cu toxicitate redusă, selectivitate și lipofilitate înaltă, precum și în calitate de liganzi pentru asamblarea de compuși coordinați cu proprietăți valoroase.

Implementarea rezultatelor științifice: este extinderea bazei de compuși din clasa N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide cu proprietăți antioxidante, anticancerigene și antifungice valoroase. Brevetarea unui compus în calitate de fungicid față de *Candida albicans* și brevetarea unui compus coordinați de Ni cu N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida, cu activitate antioxidantă valoroasă.

АННОТАЦИЯ

ЕРХАН ТАТИАНА, „Синтез и исследование некоторых N-(н-метилфенил)-гидразинкарботиоамидов с фармакофорными свойствами”, диссертация на соискание учёной степени доктора химических наук, Кишинэу, 2024.

Структура диссертации: введение, 4 главы, общие выводы и рекомендации, библиография из 178 названий, 13 приложений, 132 страниц основного текста, 107 рисунков, 11 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 16 научных статьях.

Ключевые слова: органический синтез, N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамиды, структурный анализ, фармакофор, антиоксидантная активность, противораковая активность, антибактериальная активность, противогрибковая активность, связь между химической структурой и биологической активностью.

Цель научной работы: синтез некоторых N-(н-метилфенил)-гидразинкарботиоамидов, характеристика строения спектральными методами анализа; исследование фармакофорных свойств, биологической активности и выявление влияния химической структуры на биологическую активность

Задачи исследования: синтез некоторых N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамидов с N-заместителями: 2-метилфенил-; 3-метилфенил- и 4-метилфенил-; 2,3-диметилфенил-; 2,4-диметилфенил-; 2,5-диметилфенил-; 2,6-диметилфенил-; 3,4-диметилфенил-; 3,5-диметилфенил-; 2,4,6-триметилфенил- с использованием оптимизированных методов синтеза; конденсация синтезированных N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамидов с ароматическими карбонильными соединениями: 2-гидроксибензальдегидом и 2-гидрокси-3-метоксибензальдегидом и гетероциклами: пиридин-2-карбальдегидом, 1-(пиридин-2-ил)этан-1-оном; подтверждение химического строения спектральными методами анализа (*ИК-Фурье*, ^1H , ^{13}C , ^{15}N ЯМР) и методом рентгеноструктурного анализа монокристаллов; исследование антиоксидантной, противоопухолевой, антибактериальной и противогрибковой активности синтезированных соединений; установление влияния количества и положения метильных групп в бензольном кольце, а также влияния природы карбонильной составляющей на биологическую активность; выяснение взаимосвязь между химической структурой и биологических свойствах.

Научная новизна и оригинальность исследования: разработаны эффективные методы синтеза ранее неизвестных 50 N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамидов, содержащие в своем составе различные фармакофорные группы и систематически исследовано влияние структуры ароматических и гетероциклических фрагментов, а также метильных групп на цитотоксический, антимикробный и антиоксидантный потенциалы.

Полученные результаты способствуют решению важной научной задачи: которая заключается в установлении условий синтеза, оптимизации классических методов получения N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамидов, а также в выяснении влияния химической структуры синтезированных соединений на их биологические свойства.

Теоретическая значимость и прикладная ценность работы: накопленные данные позволяют расширить базу соединений с высоким биологическим потенциалом; синтезированные N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамиды представляют интерес как в качестве терапевтических средств с низкой токсичностью как и в качестве лигандов для получения координационных соединений с ценными свойствами.

Внедрение научных результатов: заключается в расширении базы класса N-(н-метилфенил)гидразинкарботиоамидов, обладающих ценными антиоксидантными, противораковыми и противогрибковыми свойствами. Патентование соединения в качестве фунгицида против *Candida albicans* и патентование координационного соединения Ni с N-(2,4-диметилфенил)-2-(2-гидрокси-3-метоксибензилиден)гидразинкарботиоамидом, обладающим ценной антиоксидантной активностью.

SUMMARY

ERHAN Tatiana, „ Synthesis and study of some N-(n-methylphenyl) hydrazinecarbothioamide with pharmacophoric properties”,
PhD thesis in chemical sciences, Chisinau, 2024.

Thesis structure: introduction, 4 chapters, general conclusions and recommendations, 178 bibliography references, 13 annexes, 132 pages of basic text, 107 figures, 11 tables. The obtained results are published in 16 scientific papers.

Keywords: organic synthesis, N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamide, structural analysis, pharmacophore, antioxidant activity, anticancer activity, antibacterial activity, antifungal activity, chemical structure-biological activity relationship.

The aim of the thesis: synthesis of some N-(n-methylphenyl)hydrazine carbothioamides, characterization of the structure by spectral methods of analysis; the research of the pharmacophoric properties, the biological activity and the elucidation of the influence of the chemical structure on the biological activity.

The objectives of the thesis: synthesis of some N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamides with N-substituents: 2-methylphenyl-; 3-methylphenyl- and 4-methylphenyl-; 2,3-dimethylphenyl-; 2,4-dimethylphenyl-; 2,5-dimethylphenyl-; 2,6-dimethylphenyl-; 3,4-dimethylphenyl-; 3,5-dimethylphenyl-; 2,4,6-trimethylphenyl-, using optimized synthesis methods; condensation of synthesized N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamides with aromatic carbonyl compounds: 2-hydroxybenzaldehyde and 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde and heterocyclics: pyridine-2-carbaldehyde, 1-(pyridin-2-yl)ethan-1-one; characterization of the synthesized compounds: determination of the chemical structure by spectral methods (*FT-IR*, 1H , ^{13}C , ^{15}N NMR) and by the single crystal *X-ray* diffraction method; research of the antioxidant, anticancer, antibacterial and antifungal activity of the synthesized compounds, as well as their pharmacophoric properties; establishing the influence of the number and position of the methyl groups in the benzene ring, but also the nature of the carbonyl component on the biological activity; elucidating the influence of chemical structure on biological properties.

Novelty and relevance of the research: effective methods for the synthesis of previously unknown 50 N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamides containing various pharmacophoric groups and the influence of the structure of aromatic and heterocyclic fragments as well as methyl groups on cytotoxic, antimicrobial and antioxidant potential have been systematically investigated.

Scientific problem solved in this thesis: it consists in establishing the synthesis conditions, by optimizing the classic methods used in the synthesis of N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamides, as well as elucidating the influence of the chemical structure of the synthesized compounds on the biological properties.

Theoretical significance and applicative value: the accumulated data allow the expansion of the base of compounds with high biological potential; The synthesized N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamides are of interest both as therapeutic remedies with low toxicity, selectivity and high lipophilicity, and as ligands for the assembly of coordinated compounds with valuable properties.

Implementation of scientific results: consists in expanding the base of the N-(n-methylphenyl)hydrazinecarbothioamide class with valuable antioxidant, anticancer and antifungal properties. Patenting of a compound as a fungicide against *Candida albicans* and patenting of a coordinating compound of Ni with N-(2,4-dimethylphenyl)-2-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)hydrazinecarbothioamide, with valuable antioxidant activity.

LISTA TABELELOR

Tabelul	Denumirea	Pagina
Tabelul 1.1.	Condițiile de sinteză a compușilor (8a-h).	28
Tabelul 1.2.	Reactivi și condiții de obținere a N-(fenil)-2-[1-(fenil)etiliden]hidrazincarbotoamidei (15).	30
Tabelul 1.3.	Condițiile de obținere a unor derivați ai N-(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]hidrazincarbotoamidei (15).	30
Tabelul 1.4	Rezultatele cercetării proprietăților anticancer a compușilor 38 a-b, <i>in vitro</i> , față de liniile celulare de Colo205 și Colo320.	43
Tabelul 1.5.	Rezultatele cercetării proprietăților anticancer, <i>in vitro</i> a compușilor (39 a-c) și (40 a-c) față de celule de HL-60.	43
Tabelul 1.6.	Rezultatele cercetării proprietăților antioxidante a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidei.	48
Tabelul 1.7.	Rezultatele cercetării proprietăților antioxidante a unor N-(fenil)-2-(benziliden)hidrazincarbotoamide (46 a-g).	49
Tabelul 3.1.	Caracteristicile de bază ale reacției interacțiunii arilaminelor cu DTMT.	78
Tabelul 3.2.	Caracteristicile de bază, ale reacției de descompunere a N'-(n-metilfenil)-N, N-dimetiltioureelor în prezența acidului clorhidric.	82
Tabelul 3.3.	Caracteristicile de bază ale interacțiunii n-metilfenilizotiocianaților cu monohidratul de hidrazină.	88
Tabelul 4.1.	Generalizarea proprietăților farmacofore a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor, pe exemplul N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor	127

LISTA FIGURILOR

Figura	Denumirea	Pagina
Fig. 0.1.	Formula generală de structură a hidrazincarbotoamidelor, unde $R^1, R^2, R^3, R^4 = H$ sau radical	16
Fig. 0.2.	Formula de structură a <i>N</i> -{[(<i>E</i>)-(2-carbamotioil-hidraziniliden)-metil]fenil}acetamidei sau hidrazin-carbotoamida <i>p</i> -acetamido-benzaldehidei (Tioacetazona) sau Tibon	16
Fig. 0.3.	Formula de structură a 2-(1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-3H-indol-3-iliden)-hidrazin-1-carbotoamidei sau hidrazincarbotoamida <i>N</i> -metil- β -izatinei (Metisazona)	17
Fig. 0.4.	Formula de structură a hidrazincarbotoamidei 3-amino-2-piridinecarbaldehidei (3-AP) sau (Triapina)	17
Fig. 1.1.	Formula generală de structură a hidrazincarbotoamidelor, conform nomenclaturii IUPAC unde $R^1, R^2, R^3, R^4 = H$ sau radical.	22
Fig. 1.2.	Lungimea legăturilor interatomice, în Å	23
Fig. 1.3.	Schema generală de izomerizare și tautomerizare a hidrazincarbotoamidelor piridin-2-carbaldehidei, unde R^1 și $R^2 = H$ sau substituent; zwitterion	24
Fig. 1.4.	Schema generală de izomerizare a hidrazincarbotoamidelor derivate de la piridin-2-carbaldehida, din configurația <i>E</i> în <i>Z</i> , unde $R^1, R^2 = H$ sau substituent.	24
Fig. 1.5.	Mecanismul de sinteză ipotetic a hidrazincarbotoamidelor	26
Fig. 1.6.	Schema generală de sinteză și condițiile de reacție a unor derivați ai <i>N</i> -(fenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotoamidei (4 a-c)	27
Fig. 1.7.	Schema generală de sinteză a compușilor (8 a-h)	27
Fig. 1.8.	Schema generală de sinteză a compușilor (10 a-b)	28
Fig. 1.9.	Schema de sinteză a compusului (13)	29
Fig. 1.10.	Schema de sinteză a <i>N</i> -(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]-hidrazincarbotoamidei (15)	29
Fig. 1.11.	Mecanismul de sinteză presupus, a <i>N</i> -(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]hidrazincarbotoamidei (15), catalizată de acidul antranilic	31
Fig. 1.12.	Schema de sinteză a <i>N</i> -(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidei (23)	31
Fig. 1.13.	Formula generală de structură a <i>N</i> -fenilhidrazincarbotoamidei, unde $R=H$ sau radical organic	32
Fig. 1.14.	Schema generală de sinteză a <i>N</i> -fenilhidrazincarbotoamidelor, unde $R=H$ sau radical organic	32
Fig. 1.15.	Schema de sinteză generală a unor hidrazincarbotoamide <i>N</i> -substituie	33
Fig. 1.16.	Schema de sinteză generală a unor <i>N</i> -(<i>n</i> -alchilfenil)hidrazincarbotoamide	34
Fig. 1.17.	Schema generală de interacțiunea arilaminelor cu tiofosgenul, unde $R = Ph, H$ sau alchil	34
Fig. 1.18.	Schema generală de sinteză a unor <i>N,N</i> -dimetil-feniltiourei	35
Fig. 1.19.	Schema generală de sinteză a unor <i>N,N</i> -dimetil-feniltiourei (33 a-d)	35
Fig. 1.20.	Mecanismul generalizat de reacție al aminelor aromatice cu DTMT	36
Fig. 1.21.	Schema generală de obținere a arilizotiocianaților, la descompunerea unor <i>N'</i> -aril- <i>N,N</i> -dimetiltiourei	37
Fig. 1.22.	Schema de interacțiune a arilizotiocianaților cu hidrazine, unde $R = H$ sau radical	38
Fig. 1.23.	Mecanismul general de interacțiune a arilizotiocianaților cu monohidratul de hidrazină, unde $R = H$ sau radical	39
Fig. 1.24.	Formulele de structură a 3-AP (hidrazincarbotoamida 3-amino-2-piridinecarbaldehidei) și 3-AMP (3-amino-4-metil-2-piridinecarbaldehidei)	41

Fig. 1.25.	Formula generală de structură a N-(4-hidroxi-3,5-dimetil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbonioamidelor (38 a-b), unde R = H sau CH ₃	41
Fig. 1.26.	Formula de structură a unor compuși aflați la studii clinice	42
Fig. 1.27.	Structura moleculară a N-(4-hidroxi-3,5-dimetil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbonioamidelor (38 a-b)	42
Fig. 1.28.	Formulele generale de structură a unor N-hidrazincarbonioamide ale 2-hidroxibenzaldehidei 5-substituite (39 a-c și 40 a-c)	43
Fig. 1.29.	Formula generală de structură a unor N-(4-metoxifenil)-2-(benziliden)hidrazincarbonioamide (41 a-d)	44
Fig. 1.30.	Formula de structură generală a unor N-fenilhidrazincarbonioamide și valorile IC ₅₀ pentru activitatea de inhibiție aIDO (indolamina 2,3-deoxigenaza)	45
Fig. 1.31.	Formula generală de structură a unor N-(fenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbonioamide	46
Fig. 1.32.	Formula generală de structură și rezultatele testării activității antifungice <i>in vitro</i> , a compușilor (43 a-c, k, l, e)	46
Fig. 1.33.	Formula generală de structură și rezultatele testării activității antibacteriene și antifungice, a unor N-(alchil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbonioamide	47
Fig. 1.34.	Structura moleculară a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbonioamidei	44
Fig. 1.35.	Formula generală de structură a unor N-(fenil)-2-(benziliden)-hidrazincarbonioamide (46 a-g)	49
Fig. 1.36.	Structura moleculară a compusului coordinativ Ni(L)Cl, în baza N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbonioamidei	51
Fig. 1.37.	Formule generale de structură a compușilor coordinativi dimerici ai Cu(II), Cu(L)X în baza N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbonioamidei	51
Fig. 1.38.	Structurile cristaline a compușilor coordinativi Ni(H ₂ L)(L)·C ₂ H ₅ OH și Cu(H ₂ L)(L)·C ₂ H ₅ OH, în baza N-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbonioamidei	52
Fig. 2.1.	Interfața instrumentului “Calculul proprietăților moleculare și predicția bioactivității”, Molinspiration.	56
Fig. 2.2.	Rezultatele calculelor cu ajutorul instrumentului “Calculul proprietăților moleculare și predicția bioactivității”, Molinspiration	56
Fig. 2.3.	Structura proteinei RNR pe <i>RCSB Protein Data Bank</i>	57
Fig. 2.4.	Structura redactată a proteinei în Autodock Tools.	58
Fig. 2.5.	Simularea interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbonioamidei (84) cu fragmentul activ al RNR, lanțul R1 (RNR_R1).	58
Fig. 2.6.	Reducerea Resazurinei la Resorufin.	61
Fig. 2.7.	Mecanismul ipotetic de obținere a cation-radicalului ABTS ^{•+} .	64
Fig. 2.8.	Mecanismul de interacțiune a DPPH cu antioxidantul	65
Fig. 3.1.	Design-ul N-(n-metilfenil)hidrazincarbonioamidelor proiectate	69
Fig. 3.2.	Formula structură a N-substituenților a N-fenilhidrazincarbonioamidelor proiectate	70
Fig. 3.3.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbonioamidelor, R= -CH ₃	70
Fig. 3.4.	Valorile calculate teoretic a logP pe clase de compuși, prin programul Molinspiration	71
Fig. 3.5.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-N,N'-dimiltioureelor, unde, R = -CH ₃	72
Fig. 3.6.	Structura moleculară a N,N-dimetil-N'-(3-metilfenil)tioureei (61), [<i>3-MePhTio</i>]	73
Fig. 3.7.	Structura moleculară a N'-(2,3-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureei (63), [<i>2,3-diMePhTio</i>]	74

Fig. 3.8.	Structura moleculară a N'-(2,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureei (64), [2,4-diMePhTio]	75
Fig. 3.9.	Structura moleculară a N'-(3,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureei (68), [3,5-diMePhTio]	76
Fig. 3.10.	Structura moleculară a N,N-dimetil-N'-(2,4,6-trimetilfenil)toureei (69), [2,4,6-triMePhTio]	77
Fig. 3.11.	Rezultatele testării activității antioxidante a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureeilor (60-69), prin metoda ABTS, în ordine crescătoare	79
Fig. 3.12.	Schema generală de sinteză a n-metilfenilizotiocianaților, unde R = -CH ₃	80
Fig. 3.13.	Spectrul FT-IR al 2-izotiociano-1,3-dimetilbenzen-ului (79)	82
Fig. 3.14.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor (80-89), unde R = -CH ₃	83
Fig. 3.15.	Structura moleculară a N-(2,3-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (83), [2,3-diMePhTSC]	85
Fig. 3.16.	Structura moleculară a N-(2,5-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (85), [2,5-diMePhTSC]	86
Fig. 3.17.	Structura moleculară a N-(3,5-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (88), [3,5-diMePhTSC]	87
Fig. 3.18.	Structura moleculară a N-(2,4,6-trimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (89), [2,4,6-triMePhTSC]	87
Fig. 3.19.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotoamidelor (80-89), metoda ABTS	89
Fig. 3.20.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor (80-89), metoda DPPH	90
Fig. 3.21.	Simulare interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (84), cu fragmentul activ al RNR	91
Fig. 3.22.	Energia de legare de receptor a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor (83-88)	91
Fig. 3.23.	Rezultatele testării <i>in vitro</i> , a activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor (83-88)	92
Fig. 3.24.	Rezultatele testării activității de inhibare a celulelor normale de MDCK, a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor (83-88)	93
Fig. 4.1.	Formula generală de structură a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor proiectate	96
Fig. 4.2.	Valorile calculate teoretic a logP prin programul Molinspiration, a compușilor proiectați	97
Fig. 4.3.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidelor (90-99)	98
Fig. 4.4.	Structura moleculară a N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidei (94), [2,4-diMePhTSCPy]	99
Fig. 4.5.	Structura moleculară a N-(2,6-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidei (96), [2,6-diMePhTSCPy]	100
Fig. 4.6.	Structura moleculară a N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidei (97), [3,4-diMePhTSCPy]	101
Fig. 4.7.	Spectrul ¹ H RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidei (98), [3,5-diMePhTSCPy]	102
Fig. 4.8.	Spectrul ¹³ C RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidei (98), [3,5-diMePhTSCPy]	103
Fig. 4.9.	Spectrul ¹⁵ N RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidei (98), [3,5-diMePhTSCPy]	103
Fig. 4.10.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotoamidelor, prin metoda ABTS	104
Fig. 4.11.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotoamidelor (100-109)	105
Fig. 4.12.	Structura moleculară a N-(2-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-	106

	hidrazincarbotoamidei (100), [2-MePhTSCAPy]	
Fig. 4.13.	Structura moleculară a N-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotoamidei (104), [2,4-diMePhTSCAPy]	107
Fig. 4.14.	Structura moleculară a N-(2,5-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotoamidei (105), [2,5-diMePhTSCAPy]	107
Fig. 4.15.	Structura moleculară a N-(2,6-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-Hidrazincarbotoamidei (106) [2,6-diMePhTSCAPy]	108
Fig. 4.16.	Structura moleculară a N-(2,4,6-trimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-Hidrazincarbotoamidei (109), [2,4,6-triMePhTSCAPy]	109
Fig. 4.17	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor (100-109), prin metoda ABTS	110
Fig. 4.18.	Strategia de selectare a N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotoamidelor pentru testarea activității anticancerigene	111
Fig. 4.19.	Rezultatele testării <i>in vitro</i> activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden) hidrazincarbotoamidelor față de linia de celule de cancer HL-60 (Leucemie umană)	112
Fig. 4.20.	Rezultatele testării <i>in vitro</i> , a activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor față de linia de celule de cancer MCF-7 (adenocarcinom mamar)	112
Fig. 4.21.	Rezultatele testării <i>in vitro</i> , a activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor față de linia de celule de cancer LNCaP (adenocarcinom de prostată)	113
Fig. 4.22.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (110-119)	114
Fig. 4.23.	Structura moleculară a N-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida (112), [4-MePhTSCVn]	115
Fig. 4.24.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (110-119), prin metoda ABTS	118
Fig. 4.25	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (110-119), prin metoda DPPH	118
Fig. 4.26.	Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-(2-hidroxibenziliden)-Hidrazincarbotoamidelor (120-129)	119
Fig. 4.27.	Structura moleculară a N-(2,6-dimetilfenil)-(2-hidroxibenziliden)-Hidrazincarbotoamidei (126), [2,6-diMePhTSCAs]	121
Fig. 4.28.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (120-129), prin metoda ABTS	123
Fig. 4.29.	Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (120-129), prin metoda DPPH	124
Fig. 4.30.	Strategia de selectare a unor a N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamide (84, 94, 104, 124) pentru testarea activității anticancerigene	124
Fig. 4.31.	Rezultatele testării <i>in vitro</i> , a activității anticancerigene a N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor, față de linia de celule de cancer HL-60 (Leucemie umană)	125
Fig. 4.32.	Strategia de selectare a unor N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotoamide pentru testarea activității antimicrobiene și antifungice	126
Fig. 4.33.	Simularea interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxibenziliden)-hidrazincarbotoamidei cu fragmentul activ al RNR	128

LISTA ABREVIERILOR

N	poziția substituentului	n	număr de grupe
Me	metil	diMe	dimetil
triMe	trimetil	Ph	fenil
Tio	N,N-dimetiltiouree	Ar	aril
DTMT	disulfura de tetrametiltiuram	Py	piridină
TSC	hidrazincarbotoamida (tiosemicarbazida)		
TSCP_y	N-...[2-(piridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotoamida		
TSCAP_y	N-...[2-(1-piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamida		
TSCAs	N-...[-(2-hidroxifenil)metiliden]hidrazincarbotoamida		
TSCV_n	N-...[-(4-hidroxi-3-metoxifenil)metiliden]hidrazincarbotoamida		
CSS	Cromatografia pe strat subțire		
FT-IR	Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier		
v, (cm⁻¹)	număr de undă		
RMN	Spectroscopie de Rezonanța Magnetică Nucleară		
ppm	părți pe milion	s	singlet
t	triplet	m	multiplet
raze X	difracție de raze X pe monocristal	Å	Ångström
p. t.	punct (temperatura) de topire, °C		
p. f.	punct (temperatura) de fierbere, °C		
IUPAC	Uniunea Internațională de Chimie Pură și Aplicată		
inh.	inhibare		
ABTS	Acidul 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic)		
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil		
RNR	Ribonucleotid reductaza		
HeLa	Adenocarcinomul cervical (de col uterin)		
BxPC-3	Adenocarcinomul pancreatic uman		
RD	Miosarcoma țesutului muscular		
MDCK	Celule epiteliale renale normale		
HL-60	Leucemie umană mieloidă		
MCF-7	Adenocarcinomul mamar		
LNCaP	Adenocarcinomul de prostată		
Gr.(+)	gram pozitiv		
Gr.(-)	gram negativ		
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883		
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 259		
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231		

INTRODUCERE

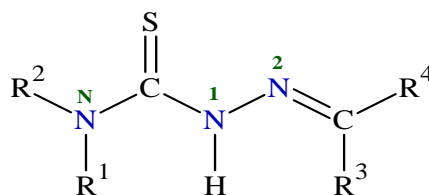
Actualitatea și importanța temei abordate: dorința umană de a trăi “o viață veșnică și indestructibilă”, reprezintă forța motrice de căutare a noi și noi remedii pentru toate formele de amenințare. Dezvoltarea vertiginoasă a tehnologiilor, fac posibilă implementarea practică, a tuturor ideilor și verificarea teoriilor existente și presupuse. Una dintre cele mari slăbiciuni a ființei umane este organismul, care este pus în fața a numeroase pericole interne și externe. O parte impunătoare de cercetători chimiști, biologi, biochimiști etc. lucrează la identificarea de noi și noi remedii farmacologice, îmbunătățind baza de date cu compuși cu proprietăți valoroase precum absorbție, toxicitate și selectivitate din ce în ce mai înalte. În top cele mai studiate proprietăți biologice sunt: anticancer [1; 2], antioxidante [3; 4] și antibacteriene [5; 6].

O contribuție deosebită au avut numeroase studii a compușilor chimici, unde s-a observat că cele mai reușite tehnici de identificare și dezvoltare de noi agenți terapeutici, se bazează pe experiența acumulată în anii de studiu și intuiția chimică și biologică, precum și testarea a numeroși compuși, în vederea stabilirii efectelor asupra materiei vii sau altfel numit, activitatea biologică. De remarcat, este că pe lângă aspectele sintetice și de calcul, un studiu aparte revine înțelegerii modului de acțiune a compusului chimic asupra țintei biologice, adică a relației structură chimică-activitate biologică, ce contribuie decisiv la identificarea, dezvoltarea, proiectarea și sinteza de noi agenți terapeutici performanți și non-toxici.

Compușii organici, prin compoziția sa, furnizează cea mai mare parte a substanțelor medicamentoase, datorită faptului că prezintă analogii cu compușii naturali existenți dar și posibilitatea modelării structurale în vederea asamblării de compuși cu structură și proprietăți predeterminate.

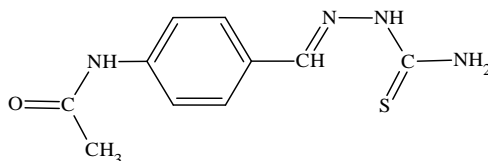
Studiile efectuate asupra a numeroși compuși terapeutici, au dus la identificarea fragmentelor structurale sau a seturilor de atomi, capabili să formeze legături cu receptorii biologici, inducând un răspuns fiziologic așteptat, numindu-i farmacofori sau grupe farmacofore [7].

Clasa *hidrazincarbonamide* cât și derivații acestora, reprezintă o clasă de farmacofori inediți [8], o clasă promițătoare de compuși polifuncționali [9], datorită particularității de modelare a structurii moleculare, care a permis proiectarea unui număr în creștere continuă de compuși tot mai complicați și mai variați de la prima raportare a acestora. Compuși care și-au găsit un spectru larg de implementare, de la medicamente antituberculoase [11; 12], antivirale [12] și anticancer [13] la indicatori acido-bazici [9; 10], liganzi [15; 16] și precursori de compuși heterociclici [4; 17].



**Fig. 0.1. Formula de structură generală a hidrazincarbotioamidelor,
R¹, R², R³, R⁴ = H sau radical [19]**

O trecere în revistă a celor mai remarcabile materiale consacrate hidrazincarbotioamidelor, reiese că interesul față de această clasă de compuși, a început în anii '40 ai secolului trecut, datorită cercetărilor activității antituberculoase a unei serii de compuși. Hidrazincarbotioamidele, reprezentau compuși intermediari în sinteza aminotioazolidelor substituiți, care s-au dovedit a avea o activitate înaltă la diluții mari, asupra creșterii și multiplicării *Mycobacterium tuberculosis* [10]. Cel mai studiat compus este *N*-{[(*E*)-(2-carbamotioilhidraziniliden)metil]fenil}acetamida (denumirea trivială Tioacetazona sau Tibon) și reprezintă primul medicament aprobat pentru testări clinice. Deși utilizarea practică este limitată de toxicitatea înaltă a compusului (se acumulează în sistemul sanguin), totuși este prescris în combinație cu alte medicamente antituberculoase cu scopul amplificării efectului terapeutic.



**Fig. 0.2. Formula de structură a
N-{[(*E*)-(2-carbamotioilhidraziniliden)metil]fenil}acetamidei
(Tioacetazona sau Tibon) [10]**

Activitatea antivirală a hidrazincarbotioamidelor se raporta în 1950. Hidrazincarbotioamida *N*-metil-β-izatinei (denumirea trivială Metisazona) a manifestat efecte benefice în prevenirea variolei la persoanele expuse la boală, ulterior a fost utilizată în tratamentul pacienților infectați de adenovirusuri și virusul Herpes simplex (HSV), iar în combinația numită "Izatizon" care conține un amestec de Metisazona, dimetilsulfoxid (DMSO) și polietilenglicol, este recomandat ca medicament antiviral, antitumoral, antibacterian și imunomodulator [20].

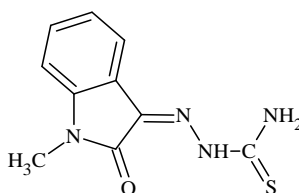


Fig. 0.3. Formula de structură a 2-(1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-3*H*-indol-3-iliden)hidrazin-1-carbotioamidei sau hidrazincarbotioamida *N*-metil-β-izatinei (Metisazona) [20]

Un număr mare de hidrazincarbotioamide ale piridin-2-carbaldehidei, 1-(piridin-2-il)etan-1-ona și derivați N-substituiți, a fost studiat atât pentru diversitatea structurală, cât și pentru proprietățile biologice manifestate. Compusul care a fost remarcat este 2-[(3-aminopiridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotioamida, studiată pentru activitatea de inhibare a celulelor de cancer cervical, la pacienți în stadiul IB-IVA și se află în faza a III-a de studii clinice [10; 11].

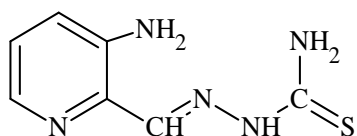


Fig. 0.4. Formula de structură a 2-[(3-aminopiridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotioamidei (3-AP) sau (Triapina) [10]

Un aport remarcabil, au adus cercetările sub conducerea Prof. A. GULEA, consacrate compușilor organici cu proprietăți biologice valoroase. Cercetările s-au axat pe inelul piridinic, în vederea stabilirii legăturii structură chimică-activitate biologică, privind amplificarea potențialului anticancerigen, identificarea fragmentelor farmacofore, dar și proiectarea compușilor cu proprietăți structurale predeterminate și farmacologice valoroase [14; 22–25; 27].

Reușind din cele expuse, proiectarea și sinteza moleculelor cu schelet hibrid este un instrument eficient, în obținerea compușilor cu structuri inedite și merită o atenție deosebită. Fiind o abordare ce se bazează pe combinarea mai multor fragmente farmacofore, care duce atât la amplificarea proprietăților deja cunoscute, manifestând activitate net superioară față de compușii cunoscuți, cât și la identificarea de noi aspecte structurale și farmacologice promițătoare.

Din cele relatate, se poate concluda că *hidrazincarbotioamidele* reprezintă o clasă de compuși inediți care merită o atenție deosebită, datorită spectrului larg de implementare, dar îndeosebi proprietăților biologice valoroase.

Scopul lucrării: sinteza unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide, caracterizarea structurii prin metode spectrale de analiză, cercetarea proprietăților farmacofore, activității biologice și elucidarea influenței structurii chimice asupra activității biologice.

Obiectivele cercetării:

- Sinteza unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide cu N-substituenții: -2-metilfenil; -3-metilfenil; -4-metilfenil; -2,3-dimetilfenil; -2,4-dimetilfenil; -2,5-dimetilfenil; -2,6-dimetilfenil; -3,4-dimetilfenil; -3,5-dimetilfenil; -2,4,6-trimetilfenil, utilizând metode de sinteză optimizate;

- Condensarea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor sintetizate cu compușilor carbonilici aromatici: *2-hidroxibenzaldehida* și *2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida* și heterociclici: *piridin-2-carbaldehida*, *1-(piridin-2-il)etan-1-ona*;
- Caracterizarea compușilor sintetizați și stabilirea structurii moleculare prin metode spectrale de analiză: (*FT-IR*, 1H -, ^{13}C -, ^{15}N *RMN*) și a difracției de *raze X* pe monocristal;
- Cercetarea activității antioxidante, anticancerigene, antibacteriene și antifungice a compușilor sintetizați;
- Cercetarea proprietăților farmacofore prin metode computaționale;
- Stabilirea influenței numărului și poziției grupelor metil din inelul benzenic, dar și naturii componentei carbonilice asupra activității biologice.

Ipoteza de cercetare: investigațiile literare au evidențiat că introducerea în scheletul hidrazincarbotioamidic a substituenților lipofili facilitează penetrarea membranei celulare și generează compuși cu proprietăți anticancerigene, antibacteriene, antioxidante și antifungice valoroase. Diversificarea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor prin condensarea cu compușii carbonilici aromatici și heterociclici, prezintă interes din punct de vedere a structurii moleculare și a proprietăților farmacofore.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese: în scopul realizării obiectivelor formulate au fost utilizate metode de sinteză adaptate și optimizate, precum interacțiunea aminelor aromatice cu DTMT, descompunerea N, N-dimetiltioureelor în prezența de HCl, interacțiunea cu monohidratul de hidrazină și condensarea cu compuși carbonilici aromatici și heterociclici, cu catalizator sau fără.

Pentru stabilirea compoziției și determinarea structurii compușilor sintetizați, au fost utilizate metode spectrale de analiză precum: *FT-IR*, efectuat în cadrul laboratorului de cercetări științifice „Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică”, al USM; 1H -, ^{13}C -, ^{15}N *RMN* efectuate în cadrul Institutului de Chimie, USM; și analiza structurală prin difracție de *raze X* pe monocristal, efectuate în cadrul Institutului de Fizică, USM.

În scopul evaluării potențialului biologic, a parametrilor stipulați în “regula lui Lipinski”. compușii proiectați au fost evaluați prin metoda computațională Molinspiration.

Proprietățile farmacofore au fost cercetate prin studiul de andocare moleculară, prin intermediul programului AutoDock Vina [28].

Pentru cercetarea activității biologice au fost evaluate:

a) activitatea anticancerigenă- *in vitro*, a fost efectuată față de liniile de celule de cancer de: adenocarcinom cervical (HeLa), adenocarcinom pancreatic (BxPC-3), miosarcoma țesutului muscular (RD), leucemie umană (HL-60), adenocarcinom mamar (MCF-7), adenocarcinom de

prostată (LNCaP), iar toxicitatea a fost evaluată pe linia de celule epiteliale renale normale (MDCK). Testarea asupra liniilor de celule de cancer de: adenocarcinom cervical (de col uterin) (HeLa), adenocarcinom pancreatic uman (BxPC-3), miosarcoma țesutului muscular (RD) și asupra liniei de celule epiteliale renale normale (MDCK), au fost realizate în cadrul Laboratorului de Biochimie a USMF “Nicolae Testemițanu”. Testele pe liniile de celule de cancer de: leucemie umană (HL-60) [26], adenocarcinom mamar (MCF-7) [29] și adenocarcinom de prostată (LNCaP) [30] au fost efectuate la Laval University, Quebec, Canada.

b) activitatea antioxidantă a fost efectuată prin intermediul metodelor de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+} (acidul 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazol-6-sulfonic) și a radicalului DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazil-ul), comparată cu activitatea antioxidantă a Trolox-ului (acidul 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic) derivat al vitaminei E [31; 33; 34]. Testele au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Sistematică și Filogenie Moleculară, Centrul de Cercetare a Invaziilor Biologice al Institutului de Zoologie, USM. În calitate de indicator pentru activitatea antioxidantă a fost luată concentrația de inhibare semimaximală IC₅₀, μM.

c) activitatea antibacteriană- *in vitro*, a fost efectuată față de microorganismele Gram pozitive: *Staphylococcus aureus* (Gr.+) și Gram negative: *Klebsiella pneumoniae* (Gr.-), *Escherichia coli* (Gr.-) și *Pseudomonas aeruginosa* (Gr.-). Testele biologice au fost efectuate în Laboratorul de Microbiologie al Agenției Naționale de Sănătate Publică.

d) activitatea antifungică- *in vitro*, a fost efectuată față de tulpinile de *Candida albicans*. Testele biologice au fost efectuate în Laboratorul de Microbiologie al Agenției Naționale de Sănătate Publică.

Valoarea aplicativă: valoarea aplicativă reprezintă sinteza a 50 de compuși din clasa N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor condensate cu piridin-2-carbaldehida, 1-(piridin-2-il)etan-1-ona, 2-hidroxibenzaldehida și 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehida, dintre care 25 de compuși noi (conform căutărilor în SciFinder, Reaxys și Cambridge Crystallographic Data Centre), care manifestă activitate antioxidantă, anticancerigenă, antibacteriană și antifungică înaltă. Un compus a fost brevetat în calitate de fungicid, față de tulpinile de fungi *Candida albicans* ATCC 10231. Al doilea brevet de invenție a fost obținut în domeniul de aplicare a unui compus sintetizat, în calitate de ligand la asamblarea unui compus coordinativ cu proprietăți antioxidante valoroase.

Publicații la tema tezei: rezultatele obținute în cadrul cercetărilor la tema tezei de doctor au fost diseminate în 16 lucrări științifice dintre care: 3 articole în reviste naționale, 2 articole în culegeri științifice, 11 rezumate la conferințe naționale și internaționale. Au fost obținute 2 brevete de invenții și 2 medalii (aur și argint) la saloane de inventică.

Volumul și structura tezei: conținutul tezei este expus pe 132 de pagini de text de bază (până la Bibliografie) și conține 107 figuri, 11 tabele, 178 referințe bibliografice și 13 anexe. Lucrarea este compusă din introducere, rezumatul în 3 limbi (română, rusă și engleză), lista abrevierilor; lista tabelor și figurilor; 4 capitole unde: în capitolul 1 sunt descrise investigațiile în studiul actual al cunoașterii, în capitolul 2 sunt descrise materialele și metodele de analiză iar capitolele 3 și 4, sunt dedicate contribuțiilor personale; concluzii generale și recomandări; bibliografie; declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul autorului.

Introducerea cuprinde actualitatea și importanța temei abordate, este descris stadiul actual al cunoașterii și identificată direcția de cercetare, este formulat scopul lucrării și elaborate obiectivele necesare atingerii scopului, este relatată sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese, este justificată valoarea aplicativă a lucrării și descrisă structura lucrării.

În capitolul 1, “HIDRAZINCARBOTIOAMIDE N-FENIL SUBSTITUITE. SINTEZA, STRUCTURA ȘI PROPRIETĂȚI BIOLOGICE”, este investigat studiul actual al cunoașterii ce ține de nomenclatura aprobată la nivel internațional, cu ultima modificare (IUPAC), structura moleculară și tipurile de izomerie cunoscute a N-fenilhidrazincarbotoamidelor. Studiile de bază s-au axat atât pe condițiile de sinteză clasică a hidrazincarbotoamidelor ce ține de: solventul utilizat, timpul de reacție și catalizatorul, pentru a putea selecta cele mai optimale condiții dar și pe posibilitatea de a mări randamentul de reacție. De asemenea au fost cercetate schemele și condițiile de sinteză indirectă, ce țin de materia primă accesibilă, utilizarea de reagenți mai puțin nocivi, timp de reacție mai scurt și metode de purificare viabile.

Un alt element investigat a fost scheletul hidrazincarbotoamic și anume influența substituenților la atomul de N^N cât și influența compușilor carbonilici asupra potențialului biologic, în vederea proiectării unor compuși cu potențial biologic ridicat. De asemenea au fost studiate metodele computaționale accesibile, în vederea evaluării virtuale „ab initio” a potențialului biologic a compușilor proiectați, dar și aspectele recomandate în proiectarea compușilor cu potențial biologic ridicat ca: masă moleculară, numărul de atomi donori și acceptori, volumul molar și lipofilitatea. La fel a fost abordată selectiv, abilitatea de coordonare a unor N-fenilhidrazincarbotoamide cu unele metale *3d*.

În capitolul al 2-lea “MATERIALE ȘI METODE DE ANALIZĂ” sunt descrise materialele utilizate; metodele fizice de analiză; metoda de studiu a andocării moleculare și de evaluare computațională a potențialului biologic; testarea *in vitro* a activității anticancerigene, antibacteriene, antifungice și a toxicității și determinarea activității antioxidante a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor sintetizate.

Capitolul al 3-lea, “SINTEZA, CARACTERIZARE ȘI CERCETAREA UNOR N-(n-METILFENIL)HIDRAZINCARBOTIOAMIDE”, include descrierea strategiei de sinteză selectată, evaluarea computațională a potențialului biologic, precum și metode de obținere a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor, cât și a compușilor intermediari N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor. Sunt date rezultatele studiilor spectrale de analiză: *FT-IR*, 1H , ^{13}C RMN și analiza structurală prin difracție de *raze X* pe monocristal. De asemenea sunt date rezultatele evaluării activității biologice precum activitate antioxidantă, prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+} și a radicalului DPPH[•] și activitatea anticancerigenă față de o serie de celule de cancer. De asemenea a fost evaluată toxicitatea față de linia de celule normale MDCK și rezultatele cercetării proprietăților farmacofore prin studiul de andocare moleculară.

În capitolul al 4-lea, “SINTEZA ȘI CERCETAREA UNOR N-(n-METILFENIL)-HIDRAZINCARBOTIOAMIDE AROMATICE ȘI HETEROCICLICE”, este urmărită ideea de combinare a fragmentelor farmacofore în vederea amplificării activității biologice și cuprinde evaluarea computațională inițială a potențialului biologic, în vederea justificării compușilor proiectați spre sinteză. Sunt descrise metodele de sinteză, condițiile de reacție și reagenții utilizați pentru obținerea a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor derivate de la compuși carbonilici aromatici: *2-hidroxibenzaldehida*, *2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida* și heterociclici: *piridin-2-carbaldehida* și *1-(piridin-2-il)etan-1-ona*. De asemenea, sunt descrise aspectele structurale ale compușilor sintetizați ca rezultat al analizelor spectrale: *FT-IR*, 1H , ^{13}C , ^{15}N RMN și analizelor prin difracție de *raze X* pe monocristal. Sunt date rezultatele evaluării activității biologice, ce țin de: activitatea antioxidantă, prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+} și a radicalului DPPH[•], activitatea anticancerigenă pe o serie de linii de celule de cancer și testarea activității antibacteriene pe o serie de tulpini de bacterii gram pozitive și gram negative și antifungice față de tulpina de fungi *Candida albicans* ATCC 10231. Este analizată legătură dintre structura chimică și activitatea biologică a compușilor sintetizați.

Cuvinte-cheie: N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide, sinteză organică, analiză spectrală, farmacofor, activitate antioxidantă, activitate anticancerigenă, activitate antibacteriană, activitate antifungică, proprietăți farmacofore, legătura structură chimică-activitate biologică.

1. HIDRAZINCARBOTIOAMIDE N-FENIL SUBSTITUITE.

SINTEZA, STRUCTURA ȘI PROPRIETĂȚI BIOLOGICE

Hidrazincarbotoamidele sunt o clasă de compuși intens studiați în ultimii 80 de ani și sunt intens cercetați datorită proprietăților biologice manifestate, precum: antitumorale [35; 36], antibacteriene [37; 38] antivirale [38], antiprotozoaice, [39], anticonvulsante [40] dar și inhibitori ai ureei [42; 43], tirozinazei [43] etc. Capacitatea excelentă de complexare a acestor compuși cu un număr mare de ioni ai metalelor tranzitionale [24], cu formarea de compuși coordinativi cu o varietate de proprietăți fizice, structurale, chimice și farmacologice valoroase [44]. Un alt aspect important, este calitatea de intermediari în sinteza unui număr impunător de compuși heterociclici cu dimensiuni diferite, precum: pirazoli, tiazoli, triazoli, oxadiazoli, tiadiazoli, triazină și tiadiazină [19].

Sunt considerați compuși polifuncționali datorită metodelor de obținere, stabilității, reactivității dar și farmacofori inediți pentru varietatea de proprietăți biologice manifestate.

Aplicațiile farmacologice au fost intens dezvoltate în ultimele decenii, având la bază particularitatea de modelarea a structurii moleculare, care au contribuit decisiv la valorificarea acestora.

1.1. Structura hidrazincarbotoamidelor

Numerotarea în scheletul provenit din hidrazincarbotoamidă (denumire trivială tiosemicarbazidă), se efectuează conform nomenclurii IUPAC, 1993 (The International Union of Pure and Applied Chemistry) [45] (a se vedea figura 1.1.). Deși, unii autori nu o consideră potrivită, deoarece are loc numerotarea doar a scheletului provenit din hidrazincarbotoamidă și nu include numerotarea atomilor din grupările de la: R^1 , R^2 , R^3 și R^4 . Acesta ar fi motivul de ce sunt întâlnite mai multe moduri de numerotare în literatura de specialitate [47; 48].

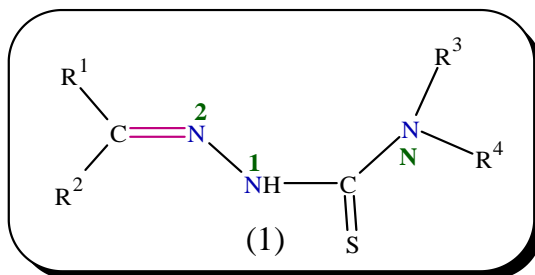
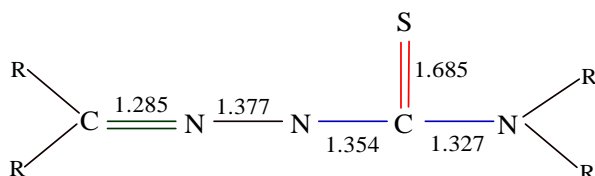


Fig. 1.1. Formula de structură generală a hidrazincarbotoamidelor și numerotarea atomilor, conform IUPAC, unde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 = H sau radical

Hidrazincarbotioamidele se obțin în reacția chemioselectivă dintre un compus carbonilic (aldehidă sau cetonă) [48] și hidrazincarbotioamida, și primesc denumirea de hidrazincarbotioamida clasei după aldehidă sau cetonă.

Compușii obținuți pornind de la aldehide, au ca substituenți la atomul de carbon C (legat de N²) un atom de hidrogen, radical alchil, aril sau heterociclu, iar dacă condensarea se realizează pornind de la o cetonă, ambii substituenți de la atomul de carbon C (legat de N²) pot fi identici sau diferiți, radicali alchil, aril sau heteril. Pe când, indiferent dacă condensarea se efectuează cu aldehidă sau cetonă, N-substituenții pot fi identici sau diferiți, atomi de hidrogen, radicali alchil, aril sau heteril.

În literatura de specialitate hidrazincarbotioamidele sunt prezentate ca un sistem de electroni care devine delocalizat, atunci când la atomul de carbon (ce provine din compus carbonilic), sunt atașate grupe precum sunt cele aromatice [49].



**Fig. 1.2. Lungimea legăturilor interatomice, în Å [49],
unde R= H, alchil sau aril**

Din figura 1.2. se poate observa că fragmentul N-C-N are o lungime de legătură apropiată de cea pentru legătura dublă (C=C, 1.34 Å), în timp ce lungimea legăturii C=S este de 1.685 Å, fiind mai mare, decât lungimea legăturii duble (C=S, 1.64 Å), dar și mai mică decât pentru legătura simplă (C-S, 1.71 Å) indicând faptul că atomul de sulf permite o mai mare implicare a celor două legături C-N în delocalizarea electronilor π . Datorită acestui electron delocalizat, hidrazincarbotioamidele pot coexista în echilibru tautomic, care se manifestă în soluție [50].

Un studiu efectuat [51], arată prezența izomerilor tautomeri *E* (tion) și *EZ* (tiolat) care se echilibrează în mediul acid sau a unui solvent protic, până la un amestec cu prezență crescută a formei *Z* (tion). Raportul relativ dintre formele *E* (tion) /*EZ* (tiolat) sunt dependente de prezența N-substituenților la gruparea tioamidică terminală. Aceeași formă tautomeră *EZ* (tiolat) poate fi prezentă și în hidrazincarbotioamida în stare liberă, fiind stabilizată în soluție, prin legături de hidrogen între atomii donori de N, N, S. Pentru hidrazincarbotioamidele N-disubstituite, formele tautomere *E* (tion) și *Z* (tion) sunt defavorizate, deoarece nu există atom de H liber care ar forma legături de hidrogen intramoleculare. Tautomerul neobișnuit *EZ* (tiolat) zwitterion [50] a fost identificat în hidrazincarbotioamidele derivate de la 1-(piridin-2-il)etan-1-ona. Pentru cele care au

cel puțin un proton de H nesubstituit, poate fi prezentă legătura intramoleculară de H, care stabilizează atât forma *E* (tion) cât și forma *Z* (tion).

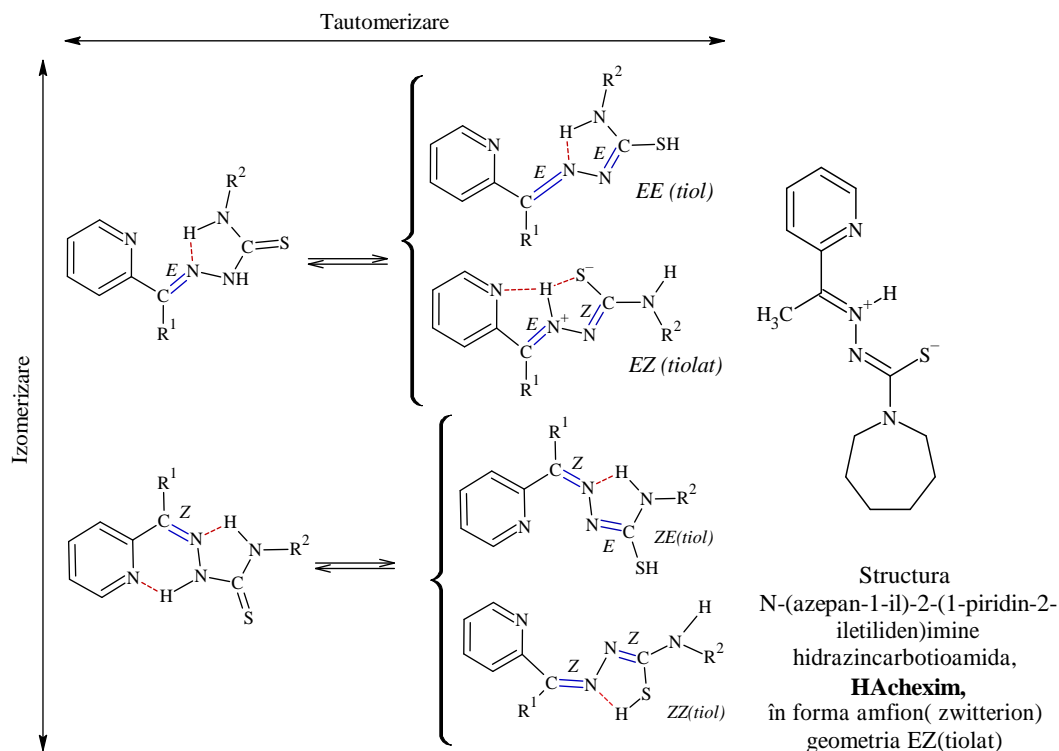


Fig. 1.3. Schema generală de izomerizare și tautomerizare [52], a hidrazincarbotoamidelor piridin-2-carbaldehidei, unde R^1 și R^2 - H sau substituent; zwitterion [50]

În spectrul IR, forma predominantă a acestui echilibru tautomic se constată prin prezența unei benzi în regiunea $1028-1082\text{ cm}^{-1}$, care este atribuită grupei tiocarbonil ($-C=S$), în timp ce lipsa acestei benzi și semnalizarea alteleia în regiunea $2000-2500\text{ cm}^{-1}$ indică prezența formei ($-C-SH$) [53], adică tiol. În spectrele $^1H\text{ RMN}$, la hidrazincarbotoamidelor derivate de la piridin-2-carbaldehida, este semnalizat un semnal la 8.8 ppm , care reprezintă atomul de H-adiacent grupării azinice în configurația *Z*, iar atomul de H din configurația *E*, se găsește la deplasarea chimică de 8.6 ppm [54].

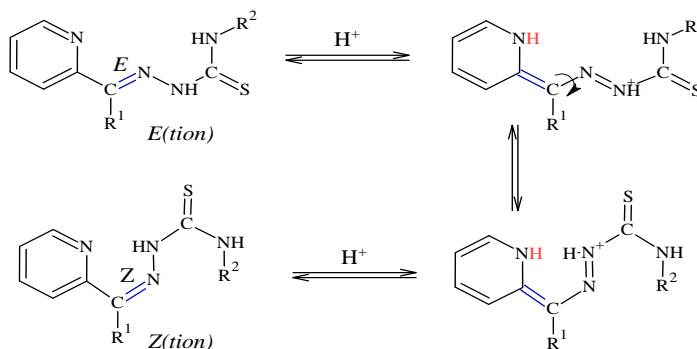


Fig. 1.4. Schema generală de izomerizare a hidrazincarbotoamidelor derivate de la piridin-2-carbaldehida, din configurația *E* în *Z* [49], unde $R^1, R^2 = H$ sau substituent

Procesul de izomerizare a hidrazincarbotioamidelor derivate de la compuși carbonilici, din configurația *E-trans* în configurația *Z-cis*, este considerată dependentă de mediul de reacție sau solvent și se consideră că are loc în mediu slab acid, pH = 6-6,5 sau în mediu de solvent protic [49].

1.2. Metode de sinteză a hidrazincarbotioamidelor substituie

Prima mențiune despre hidrazincarbotioamide, datează din anul 1941, fiind sintetizate cu scopul amplificării activității antituberculoase ale sulfamidelor deja cunoscute [10], în mare parte erau derivați ai benzalhidei mono-substituie.

Din studiile efectuate asupra metodelor de sinteză ale hidrazincarbotioamidelor derivate de la compuși carbonilici [19], cel mai des utilizate sunt metodele care aduc avantaje precum: reactivi accesibili, toxicitate scăzută și timp redus de reacție.

În general, sunt folosite două strategii:

- a) clasică, prin reacția de condensare a două componente [55], hidrazincarbotioamida și compusul carbonilic, desigur având deja hidrazincarbotioamida necesară, fie
- b) indirectă, prin prepararea prealabilă a hidrazincarbotioamidei [56], urmată de condensarea cu compusul carbonilic [57] sau prin intermediul altor compuși organici.

a) Din categoria de metode de sinteză directă, sau așa numită clasică, face parte reacția cel mai des utilizată pentru obținerea hidrazincarbotioamidelor derivate de la compuși carbonilici, este cea de condensare echimolară dintre o hidrazincarbotioamidă și un compus carbonilic, catalizată de un acid organic sau mineral, ori în absența catalizatorului [59; 60].

Mecanismul după care decurge această reacție, este adăție-eliminare, similar cu formarea iminei. Această reacție începe cu protonarea oxigenului carbonilic, pentru a forma ioni de oxoniu intermediari, urmat de atacul nucleofil al N (2) al hidrazincarbotioamidei, pentru formarea hemiaminei intermediare protonate, care ulterior elimină apă și formează hidrazincarbotioamida [49].

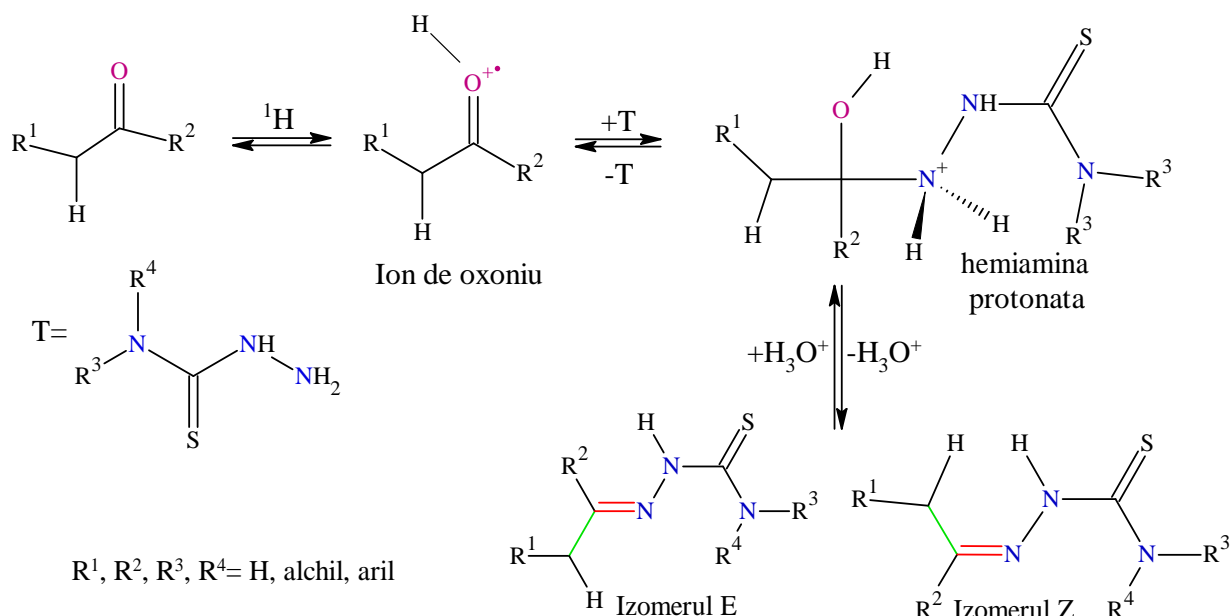
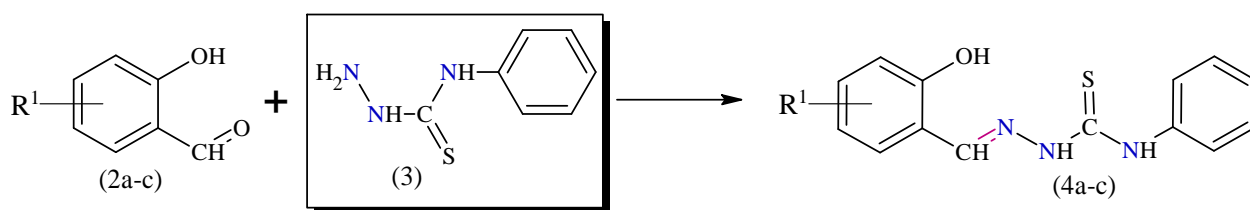


Fig. 1.5. Mecanismul de sinteză presupus a hidrazincarbotioamidelor [49]

În general, conform autorilor [60] formarea hidrazincarbotioamidelor se consideră mai rapidă, la un pH al soluției cuprins între 4 și 5. La valori ale pH-ului mai scăzut de 4, există posibilitatea protonării N (2) din hidrazincarbotioamidă și în consecință, viteza de condensare poate fi mai lentă. Pe de altă parte, la $\text{pH} > 5$ viteza de reacție scade, deoarece grupa carbonil se poate deprotona.

Metoda de obținere a hidrazincarbotioamidelor, prin condensarea echimolară dintre o hidrazincarbotioamidă și un compus carbonilic, este cunoscută și bine documentată în literatura științifică. Se cunoaște că, pentru aldehide, condensarea are loc în general rapid chiar și la temperatura camerei, cu sau în absența catalizatorului. Pe când în cazul cetonelor aromatice, care sunt mai puțin reactive, sunt necesare atât temperaturi mai ridicate și catalizator, cât și timp de reacție prelungit. În acest context, au fost studiate mai multe lucrări unde sunt cercetate condițiile de desfășurare a acestor sinteze ce țin de: solventul folosit, temperatura de reacție și catalizatorul.

În 2008 autorii [35] au sintetizat o serie de N-(fenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamide, structura cărora a fost confirmată ulterior prin metode fizico-chimice de analiză: ^1H -, ^{13}C RMN, analiză elementală și difracție de raze X pe monocristal. Sintezele au fost efectuate prin metoda de condensare echimolară a hidrazincarbotioamidei, prealabil dizolvate într-o cantitate minimă de metanol, la agitare, cu aldehydă. Amestecul format a fost agitat un timp stabilit, apoi cristalele formate au fost filtrate, spălate cu metanol rece și uscate în vid.



Nr.	R ¹	Timp, ore	Temperatura	Randament, %
(4a)	-H	4	camerei	60
(4b)	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	3	camerei	28
(4c)	-OCH ₃	4	camerei	54

Fig. 1.6. Schema generală de sinteză și condițiile de reacție, a unor derivați a N-(fenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidei (4a-c)

Din datele prezentate (a se vedea figura 1.6.), se poate concluce că prezența diferitor radicali R, influențează atât timpul de reacție cât și randamentul. Randamentul scăzut poate fi explicat prin prezența grupărilor puternic activate precum dietilamina (-N(CH₂CH₃)₂) și metoxi (-OCH₃), care diminuează aciditatea grupării fenolice.

Există însă studii ample, în care reacția de condensare dintre hidrazincarbotioamide și compuși carbonilici, este efectuată în prezența de diferiți catalizatori.

În cercetarea din 2011 [61] au fost sintetizate o serie de N-(fenil)hidrazincarbotioamide prin iradiere cu microunde la 100W și 800W, în etanol sau fără, catalizat de CH₃COOH, acid acetic glacial. Timpul total de reacție (20-40 min în etanol și 3 min fără solvent) a fost mult mai scurt decât în cazul sintezei clasice și au fost obținute randamente situate între 65-93% iar structura compușilor sintetizați, a fost confirmată prin analize spectrale ¹H- și ¹³C RMN.

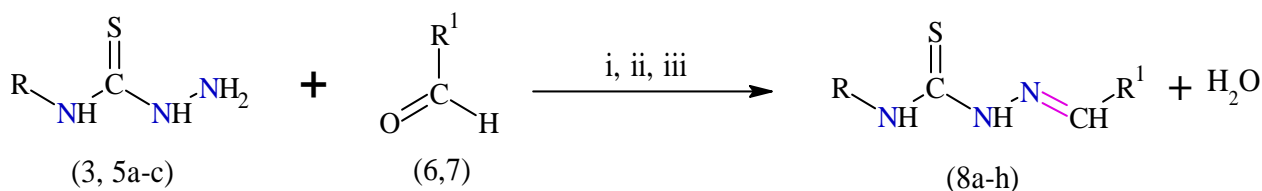
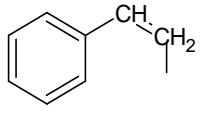
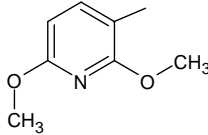


Fig. 1.7. Schema generală de sinteză a compușilor (8a-h)

Tabelul 1.1. Condițiile de sinteză a compușilor (8a-h)

Nr	R	R ¹	i) În lipsă de solvent, 800W, 3 min, η, %	ii) În C ₂ H ₅ OH, 100W, 40 min η, %	iii) la reflux, în C ₂ H ₅ OH, 8 ore, η, %
8a	-C ₆ H ₅	 (6)	90	86	83
8b	-pCH ₃ C ₆ H ₄		92	79	74
8c	-pCH ₃ OC ₆ H ₄		97	71	70
8d	-pNO ₃ C ₆ H ₄		90	80	67
8e	-C ₆ H ₅	 (7)	93	82	-
8f	-pCH ₃ C ₆ H ₄		86	70	-
8g	-pCH ₃ OC ₆ H ₄		91	78	-
8h	-pNO ₃ C ₆ H ₄		90	82	-

Un studiu realizat în 2012 [62], descrie sintetiza N-(fenil)-2-[1-(4-metilfenil)etiliden]hidrazincarbotoamidei (10a) și N-(fenil)-2-(4-etilbenziliden)hidrazincarbotoamidei (10b), (a se vedea figura 1.8.) catalizată de acid acetic CH₃COOH_{glacial}, care presupune interacțiunea în raport echimolar, dintre N-fenilhidrazincarbotoamidă și de compușii carbonilici în etanol. Substanțele obținute au fost analizate și confirmată structura moleculară prin metode fizico-chimice de analiză: ¹H-, ¹³C RMN și difracție de raze X pe monocristal.

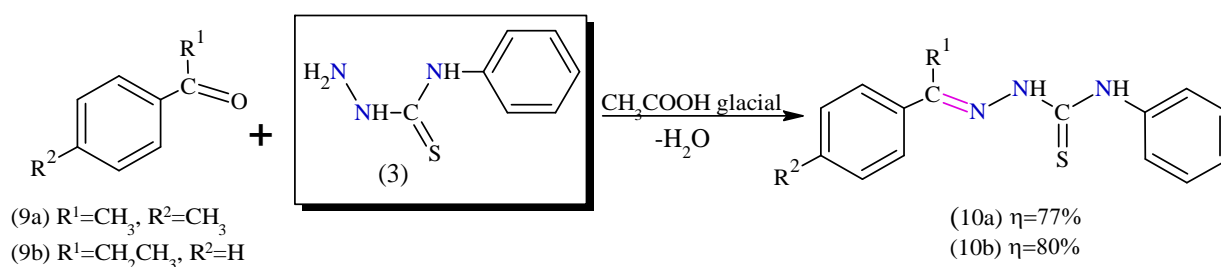


Fig. 1.8. Schema generală de sinteză a compușilor (10 a-b)

Autorii studiului [59], au sintetizat N-(metil)-2-[1-(5-cloro-2-hidroxifenil)etiliden]hidrazincarbotoamida (13), (a se vedea figura 1.9.), prin refluxarea 1-(5-chloro-2-hidroxifenil)ethan-1-onei și N-(metil)hidrazincarbotoamida, în raport echimolar, timp de 3-4 ore, cu adăugarea a 2-3 picături de H₂SO₄(conc), cantități catalitice. Structura substanței obținute a fost cercetată prin metode fizico-chimice de analiză.

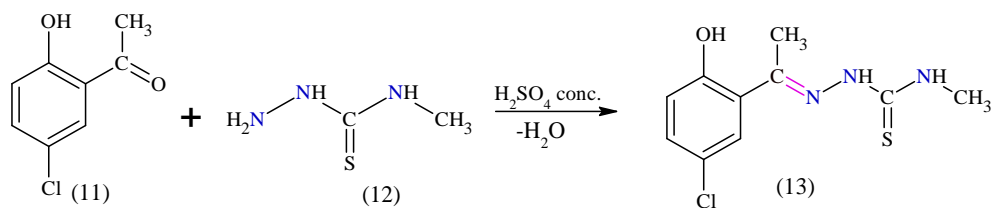


Fig. 1.9. Schema de sinteză a compusului (13)

Încercările de a stabili influența catalizatorului asupra randamentului de reacție, a dus la cercetarea [57], în cadrul căreia a fost obținută N-(fenil)-(4-nitrofenil)etiliden)hidrazincarbotoamida, utilizând diferiți catalizatori.

Conform cercetărilor, referitor la sinteza rapidă a N-(fenil)hidrazincarbotoamidelor derivate de la aldehide aromatice și cetone, a fost demonstrat beneficiul utilizării unor catalizatori nucleofili, în general al catalizei acido-bazice. Acidul antranilic a fost selectat pentru structura moleculară, deoarece conține atât fragmentul nucleofil (-NH₂) cât și fragment acid (-COOH) în strânsă apropiere. Prin urmare, s-a considerat că fragmentul carboxilic poate influența atât generarea iminei intermediare activate cât și descompunerea acesteia, prin atacul nucleofil ulterior al azotului hidrazinic al N-(fenil)hidrazincarbotoamidei. Scopul principal era ca strategia a catalizei nucleofile, se bazează pe faptul de a înlocui o singură reacție (condensarea directă) cu două reacții consecutive cu energie de activare mai reduse.

Valoarea acestei lucrări este cercetarea acidului antranilic în calitate de catalizator nucleofil, în schema generală de sinteză a N-(fenil)hidrazincarbotoamidelor. Cercetătorii au clasat metanolul, drept un solvent bun în condensarea diferitelor substraturi cetonice cu N-fenilhidrazincarbotoamidele.

Ulterior au fost efectuate sinteze prin metoda de condensare în raport echimolar a N-fenilhidrazincarbotoamidei și 1-(4-nitrofenil)-etan-1-ona, în metanol, cu adăugarea a 500 mg de catalizatori (variind catalizatorul). Reacțiile efectuate la agitare cu reflux, la 65 °C, timp de 3 ore, apoi răcire bruscă iar cristalele formate au fost filtrate și uscate în vid. Structura compușilor obținuți a fost confirmată prin metode spectrale de analiză: ¹H-, ¹³C RMN și difracție de raze X pe monocristal.

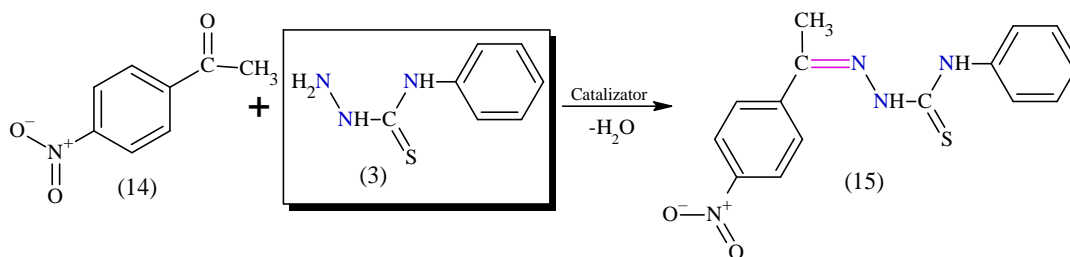


Fig. 1.10. Schema de sinteză a N-(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden] hidrazincarbotoamidei (15)

**Tabelul 1.2. Reactivi și condiții de obținere a
N-(fenil)-2-[1-(fenil)etiliden]hidrazincarbotioamidei (15)**

Nr.	Timp, ore	Temperatură, °C	Solvent	Catalizator	Randament, %
1	3	65	Metanol	Anilina/Acid etanoic	70
2				Anilina/Acid metanoic	82
3				Anilina/Acid clorhidric	88
4				Acid etanoic	86
5				Acid antranilic (2-aminobenzoic), 99%	92

În urma reacțiilor efectuate, autorii au stabilit eficiența acidului antranilic (2-aminobenzoic), în calitate de catalizator. Ulterior au efectuat o serie de sinteze, unde au variat componenta carbonică, solventul și au modificat timpul de reacție, majorându-l până la 24 de ore.

Tabelul 1.3. Condițiile de obținere a unor derivați a N-(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]hidrazincarbotioamidei (15)

Nr.	Compus carbonilic	Solvent	Randament,%
16	1-(4-nitrofenil)-etan-1-ona	1,2-propandiol	85
17	1-(4-nitrofenil)-etan-1-ona	metanol	92
18	1-(4-bromfenil)-etan-1-ona	metanol	91
19	1-(fenil)-etan-1-ona	trifluoroetanol	75
20	1-(fenil)-etan-1-ona	metanol	85
21	9-fluorenonă	metanol	90

Mecanismul propus, de cataliză a acidul antranilic, are loc în două etape: în primul rând, la reacția de activare se formează o imină, între cetonă și acidul antranilic, care are loc prin formarea unui aduct tetraedric. Sarcina negativă a oxigenului este stabilizată printr-o legătură de hidrogen intramoleculară, oferită de acidul carboxilic, situat în vecinătate poziției *orto*, iar eliminarea ulterioară a apei duce la imină. În a doua etapă, atașarea azotului hidrazincarbotioamidic, nucleofil, la imina formată anterior, duce la un aduct tetraedric, care din nou este stabilizat printr-o legătură intramoleculară de hidrogen. Tautomeria și rearanjarea protonilor generează hidrazincarbotioamida, cu regenerarea catalizatorului.

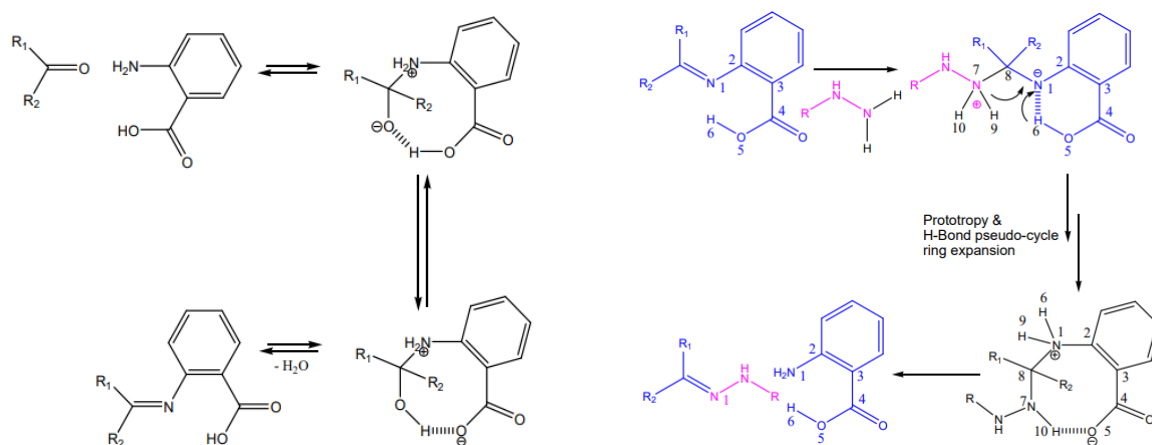


Fig. 1.11. Mecanismul de sinteză presupus, a N-(fenil)-2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]hidrazincarbotioamidei (15), catalizată de acidul antranilic [57]

În 2015 D. C. Ilieș și colab. [63], au relatat despre sinteza N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei prin metoda de condensare echimolară, la interacțiunea N-fenilhidrazincarbotioamidei cu piridin-2-carbaldehida, în etanol, cu adăugarea a câteva picături de $\text{HCl}_{\text{conc.}}$, în calitate de catalizator. Amestecul rezultat a fost refluxat timp de 4 ore la baie de apă, apoi, precipitatul format a fost filtrat, spălat și recristalizat din metanol. Randamentul de reacție a fost de 76%. Structura substanței obținute a fost studiată prin metode spectrale de analiză: ^1H -, ^{13}C RMN și a difracției de raze X pe monocristal.

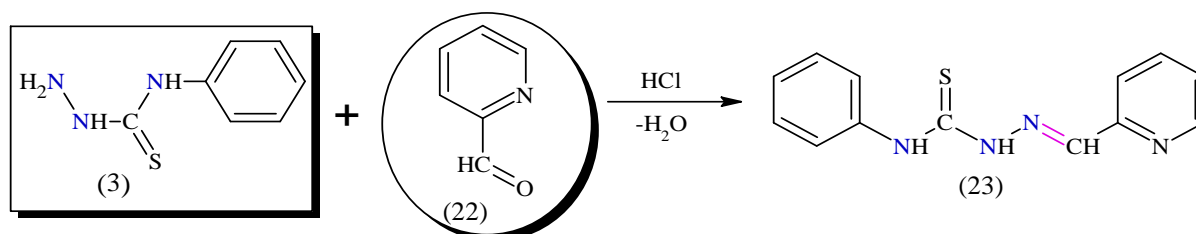


Fig. 1.12. Schema de sinteză a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotioamidei (23) [64]

Studiile efectuate au permis formularea unor concluzii asupra condițiilor de sinteză la condensarea N-fenilhidrazinocarbotioamidelor, care sugerează că timpul de reacție dar și randamentul sunt influențate atât de natura catalizatorului și de cea a solventului, cât și de prezența substituenților și natura componentei carbonilice [65].

b) metoda indirectă de sinteză a hidrazincarbotioamidelor presupune prepararea prealabilă a hidrazincarbotioamidei [56], ulterior, condensarea cu derivatul carbonilic [57] sau prin intermediul altor compuși organici intermediari.

1.2.1. Metode de sinteză a N-fenilhidrazincarbotoamidelor

N-fenilhidrazincarbotoamidele reprezintă o clasă de compuși care provin de la hidrazincarbotoamidă (tiosemicarbazidă) $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{S})-\text{NH}-\text{NH}_2$, obținute prin substituția: la atomul de azot tioamic din poziția (N):

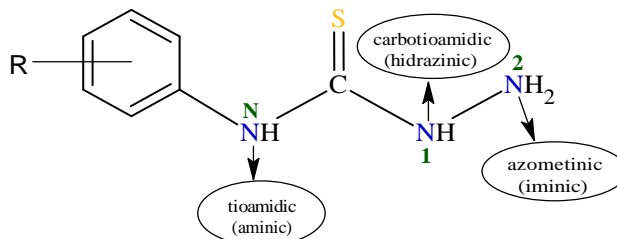


Fig. 1.13. Formula de structură generală a N-fenilhidrazincarbotoamidei, unde R=H sau radical

În literatura de specialitate, sunt evidențiate două strategii în sinteza hidrazincarbotoamidelor, care sunt fie prin gruparea tiocarbamoil ($-\text{NH}-\text{C}(\text{S})-\text{NH}-$) [66] sau prin intermediul grupării tiocbazoil ($-\text{NH}-\text{C}(\text{S})-\text{NH}-\text{N}=\text{}$) [67]. De remarcat, că atunci când se caută strategii de sinteză a hidrazincarbotoamidelor N-substituite, metodele de sinteză presupun mai multe etape. În continuare vor fi relatate rezultatele cercetărilor asupra unor metode de sinteză a N-fenilhidrazincarbotoamidelor, care pot fi redate prin schema:

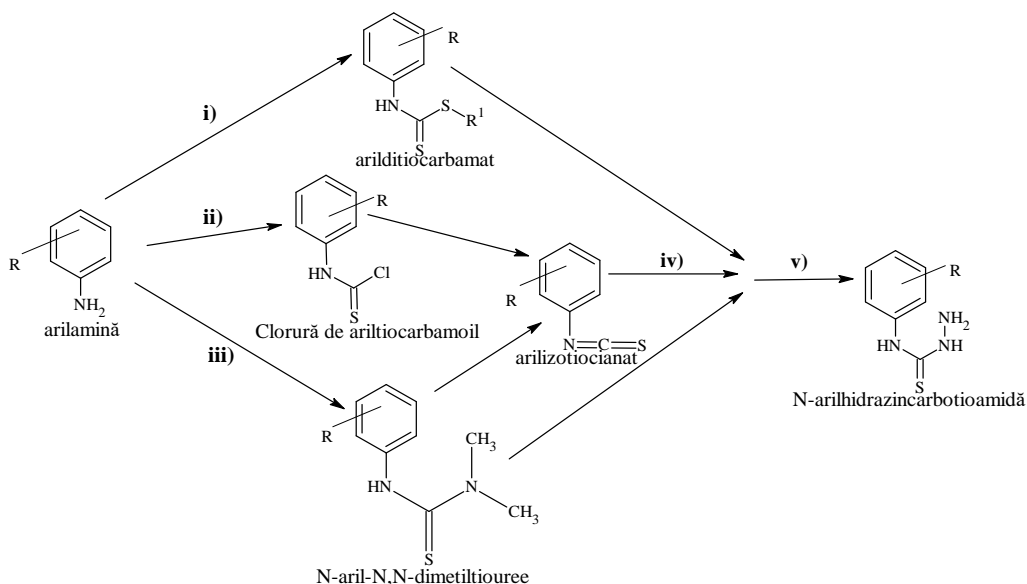


Fig. 1.14. Schema generală de sinteză a N-fenilhidrazincarbotoamidelor, unde R=H sau radical

i) La interacțiunea aminelor aromatice cu disulfura de carbon (CS_2) și acidul cloracetic, se formează acidul tiocarbamoiltioglicolic care oferă o cale accesibilă, în cazul când

N-substituenții prezintă grupări deosebite sau se dorește obținerea compușilor inaccesibili comercial [50].

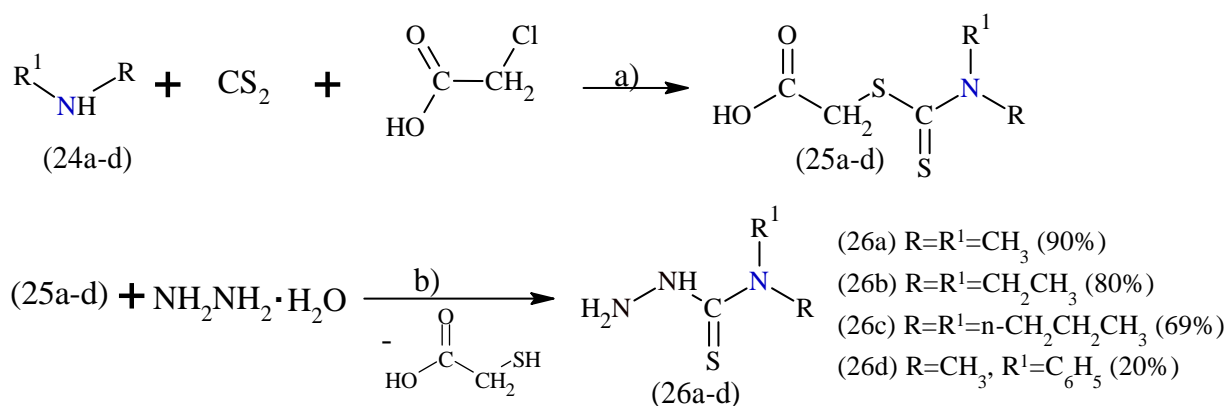


Fig. 1.15. Schema generală de sinteză a unor hidrazincarbotoamide N-substituite [68]

Autorii [68] au sintetizat o serie de hidrazincarbotoamide (26a-d) cu randamentul situat în intervalul de 20-90 %, sintezele au fost efectuate în două etape. La etapa a) inițială a fost preparat acidul N-dialchiltioglicolic din disulfura de carbon, la care s-a adăugat cu picătura aminele substituite (24a-d), soluție de KOH și cloracetatul de sodiu ulterior au fost izolați acizii N-di-alchiltioglicolici (25a-d). În etapa a 2-a (a se vedea figura 1.15, b) acizii (25a-d) obținuți anterior au fost amestecați cu soluție de NaOH și hidrat de hidrazină. Autorii au menționat că structura radicalilor R¹R influențează randamentul de reacție și cu mărirea numărului de atomi de carbon randamentul scade, iar în cazul grupelor mici precum metil, rezultatele sunt în jur de 90%.

În lucrarea [69] autorii au sintetizat hidrazincarbotoamidă N-fenil substituită, (a se vedea figura 1.16.), pornind de la anilină, cu izolarea compusului intermediar și respectiv efectuarea sintezei în două etape. La etapa întâi a) a fost efectuată interacțiunea dintre fenilamine (27a-i) cu exces de disulfura de carbon (CS₂), în prezența de KOH, cu izolarea compușilor intermediari a sărurilor de ditiocarbamat de potasiu (28a-i). Ulterior compușii (28a-i) au fost încălziți la reflux, b) cu un exces de monohidrat de hidrazină (NH₂NH₂·H₂O). Veridicitatea compușilor obținuți a fost confirmată prin analize spectrale: ¹H- și ¹³C RMN.

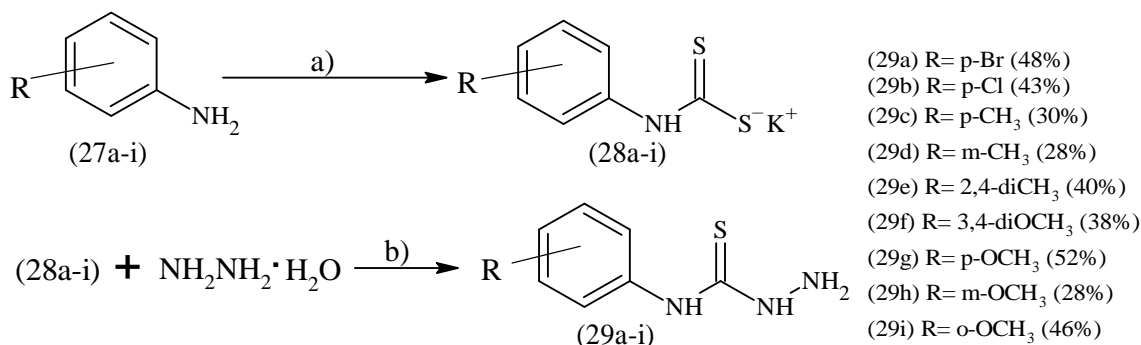


Fig. 1.16. Schema generală de sinteză a unor N-(n-alkilfenil)hidrazincarbotiamide [69]

De remarcat este faptul că deși a fost obținută o serie de compuși cu radicali diferiți, această metodă de sinteză a oferit randamente scăzute de reacție (28-52 %).

ii) Aminele primare și secundare reacționează cu tiofosgenul (a se vedea figura 1.17.), cu formarea clorurii de ditiocarbamoil ca intermediar, care apoi sunt transformate în tiourei di- și tetrasubstituite. În cazul aminelor primare, este foarte important raportul molar, amină: tiofosgen, dacă este 1:1, se poate forma izotiocianat, iar atunci când este 2:1 se formează tiouree [70] cu un randament de până la 70 %:

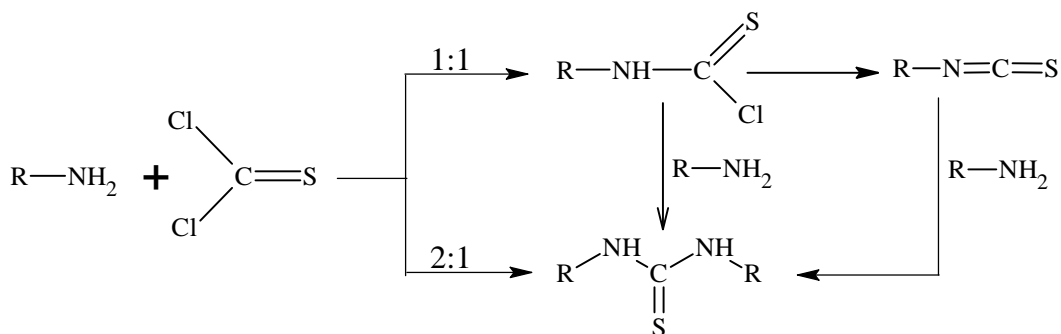


Fig. 1.17. Schema generală de interacțiune a arilaminelor cu tiofosgenul, unde R= Ph sau alchil

iii) Autorii [71] au descris metoda de sinteză a N,N-dimetil-feniltioureelor (31a-f), care presupune interacțiunea dintre arilamine și S-aril-N,N-dimetiltiocarbamații (30a-f), obținuți anterior la interacțiunea anilinei cu dimetilditiocarbamatul, în prezența de NaH/ DMSO (a se vedea figura 1.18.). Această reacție este accesibilă în cazul arilaminelor substituite în poziția *orto*. Autorii menționează despre influența grupelor donore și acceptoare la valoarea randamentului de reacție. În cazul prezenței grupelor donore de electroni randamentul a fost situat între valorile 73-92 %, iar a celor acceptoare de electroni, s-a situat în jur de 70 % [71].

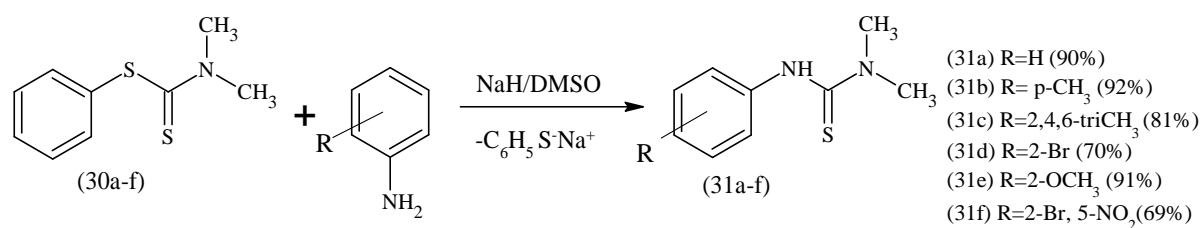


Fig. 1.18. Schema generală de sinteză a unor N,N-dimetil-N'-feniltiourei [71]

O metodă care se caracterizează printr-o serie de avantaje, precum reagenți accesibili, non-toxici și timp de reacție moderat, a fost dezvoltată și intens studiată la Catedra Chimie Organică, sub conducerea Profesorului dlui Iacob GUȚU, care presupune interacțiunea aminelor aromatice cu disulfura de tetrametiltiuram (DTMT) [72].

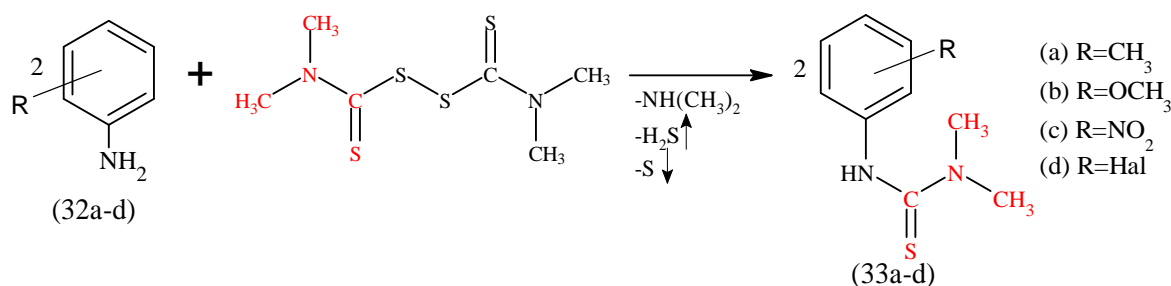


Fig. 1.19. Schema generală de sinteză a unor N, N-dimetil-N'-feniltiourei (33 a-d)

Conform ecuației, aminele aromatice reacționează cu DTMT în raport molar de 2:1, însă din cauza reacțiilor secundare care se petrec, un randament mai înalt poate fi obținut la adăugarea unui exces de DTMT. De precizat faptul, că natura solventului joacă un rol important în această reacție. Cercetările efectuate în acest scop, arată că efectuarea reacției în solvenți cu temperatura de fierbere ridicată duce la micșorarea timpului de reacție cât și la mărirea randamentului de reacție. În calitate de solvenți pot fi utilizați de exemplu: toluenul, benzenul, propan-2-ol-lul, propan-1-ol-lul sau dimetilformamida (DMF).

Deci, aminele aromatice interacționează cu DTMT cu formarea de N'-aril-N,N-dimetiltioureie, sulf, hidrogen sulfurat și alte produse secundare. Inițial a fost propusă schema de reacție care justifică reacțiile de formare a produșilor principali de reacție și presupune că la încălzire DTMT se transformă în monosulfură de tetrametiltiuram, care mai apoi suportă un atac nucleofil al aminelor aromatice:

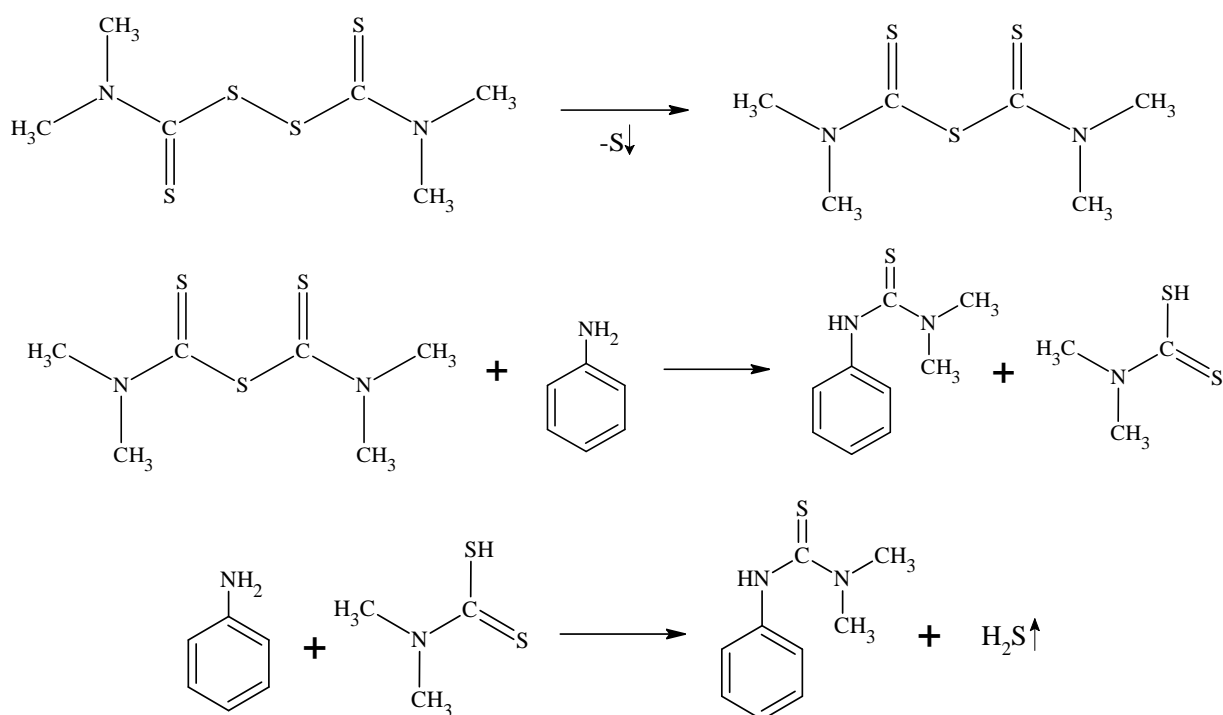
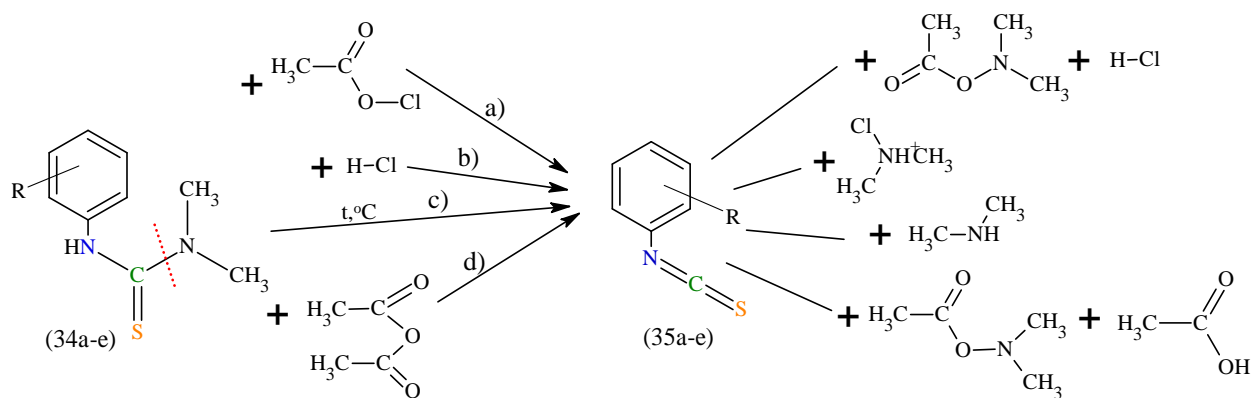


Fig. 1.20. Mecanismul generalizat de reacție al aminelor aromatice cu DTMT [73]

Cercetările ulterioare au arătat că reacția dintre DTMT cu aminele aromatice este un proces mai complex, însă totuși a fost propus un mecanism, care presupune că reacția de formare a N'-aril-N,N-dimetiltioureelor decurge printr-o serie de procese concurente ce duc la același produs final. Astfel, au fost luate în considerare proprietățile deja cunoscute a DTMT.

Dintre produsele obținute la sinteză sunt: gazele care se elimină pe parcursul reacției ce conțin H₂S (prezența căruia poate fi stabilită cu ajutorul soluției de nitrat de plumb, care se înnește), sulfura de carbon și acidul N,N-dimetilditiocarbamic (care se condensează pe pereții refrigerentului). Se poate sublinia un neajuns al acestei metode, formarea sulfurii S în calitate de produs secundar, ce complică procesul de purificare a N,N-dimetiltioureelor obținute.

N'-aril-N,N-dimetiltioureerele pot fi transformate la încălzire în izotiocianații corespunzători [74].



Nr.	Metoda de sinteză, randamentul de reacție, %				R
	a)	b)	c)	d)	
(35a)	98	94	79	89	H
(35b)	65	92	95	82	2-OCH ₃
(35c)	98	93	89	95	3-OCH ₃
(35d)	88	90	81	89	4-C ₂ H ₅
(35e)	96	94	79	80	4-Cl

Fig. 1.21. Schema generală de obținere a arilizotiocianaților, la descompunerea unor N'-aryl-N,N-dimetiltioureii.

Randamentul de reacție poate fi influențat prin micșorarea concentrației N'-aryl-N,N-dimetiltioureii, ce poate fi explicat prin prezența legăturilor de hidrogen intramoleculare de tipul -N-H...N- sau N-H...S=C-, dintre moleculele de N'-aryl-N,N-dimetiltioureie și dimetilamina deja formată.

Descompunerea N'-aryl-N,N-dimetiltioureilor la temperatură ridicată, (a se vedea figura 1.21. c) în solvent inert se efectuează în timp îndelungat, în jur de 8 ore, cu eliminarea dimetilaminei. Aceasta a dus la constatarea că descompunerea are loc mai rapid în cazul când, dimetilamina se va elimina sub formă de sare.

În cazul reacției de descompunere a N'-aryl-N,N-dimetiltioureilor, la influența anhidridei acetice (a se vedea figura 1.21. d), pe lângă izotiocianatul format cu randamentul situat între 65-70 %, se formează acid acetic și dimetil acetamidă, autorul atenționează despre cauzele posibile de micșorare a randamentului, ca fiind posibilă și reacția secundară dintre N'-aryl-N,N-dimetiltioureia și acidul acetic format.

Iar ceea ce ține de descompunerea la influența clorurii de acetyl (a se vedea figura 1.21. a), un randament de reacție mai scăzut și timp de reacție îndelungat, s-ar datora reacției secundare dintre N'-aryl-N,N-dimetiltiourea și clorura de hidrogen formată.

Descompunerea N'-aryl-N,N-dimetiltioureelor la influența acizilor minerali, (a se vedea figura 1.21. b) poate fi considerată o metodă convenabilă din următoarele considerente: reactivi accesibili și ieftini, mai puțin toxici și timp de reacție redus. În studiu de față sunt descrise metodele de descompunere la acțiunea acizilor minerali precum: acidului sulfuric (H₂SO₄), acidului fosforic (H₃PO₄) și acidului clorhidric (HCl). Din datele experimentale se poate concluce că la acțiunea acidului clorhidric (HCl) sau obținut randamente de reacție înalte, de până la 95 % și un timp de reacție relativ scurt, în jur de 0.5 - 3 ore.

Natura solventului joacă un rol important, studiile în acest sens au arătat că cele mai bune rezultate sunt obținute la reacții care au loc în solvenți nepolari sau slab polari, cu temperatură înaltă de fierbere precum: *o*-xilen, *m*-xilen și *p*-xilen, benzen, toluen sau propanol etc.

iv) Interacțiunea dintre arilizotiocianați și monohidratul de hidrazină [62; 76; 77] sau compușii substituiți ai hidrazinei (a se vedea figura 1.22.), este considerată reacția clasică de sinteză a hidrazincarbotioamidelor, desigur atunci când sunt disponibili reactivii necesari. În literatura științifică sunt descrise condițiile de desfășurare ale acestei reacții, care puțin diferă de la caz la caz. Într-o versiune generalizată poate fi descrisă ca: interacțiunea a 1 mol de arilizotiocianat cu un exces de hidrazină, raportul molar fiind de 1:1.2 până la 1.5, unde hidrazina se adaugă încet la arilizotiocianatul prealabil dizolvat în diverși solvenți: etanol, propan-2-ol, dimetilformamidă (DMF), metanol, dioxan, diclormetan sau acetonitril. De remarcat, că în marea majoritate a studiilor în calitate de solvent este luat etanolul, însă există studii care sugerează că etanolul ar putea interacționa cu izotiocianatul. Ulterior, la temperatura camerei sau la reflux, amestecul se încălzește timp de la 0.5 ore până la 3 ore, în dependență de structura arilizotiocianatului, apoi precipitatul este filtrat, spălat și recristalizat. Randamentul acestei reacții este situat între 80 și 95 %.

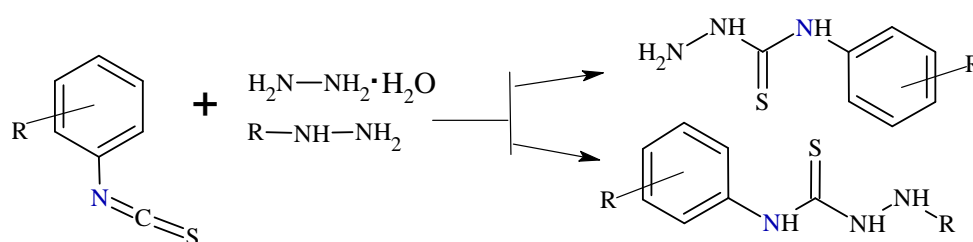


Fig. 1.22. Schema generală de interacțiune a arilizotiocianaților cu hidrazine, unde R= H sau radical

În cazul interacțiunii dintre arilizotiocianați și monohidratul de hidrazină, (a se vedea figura 1.22.) sunt decisive condițiile de desfășurare și modul de adăugare a reagenților, altfel reacția poate decurge cu formarea diferitor produși:

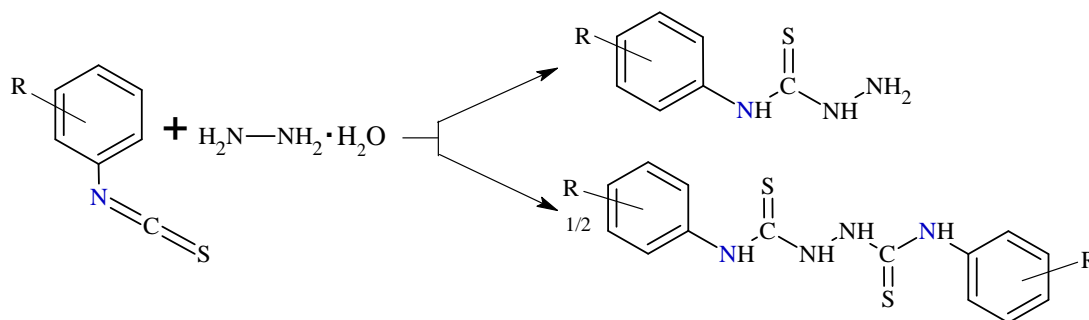


Fig. 1.23. Mecanismul generalizat de interacțiune a arilizotiocianaților cu monohidratul de hidrazină, unde R=H sau radical.

Hidrazincarbotioamidele care se formează, posedă nucleofilicitate înaltă iar pentru a evita formarea ditioureei 1,6-disubstituite, reacția se petrece prin adăugarea soluției de arilizotiocianat la soluția de monohidratul de hidrazină, la agitare puternică și răcire [66].

1.3. Proprietăți biologice ale unor hidrazincarbotioamide substituie

Se consideră că conceptul de “farmacofor” a fost inițial introdus la sfârșitul secolului XIX, mai exact în anul 1898 de către Paul Ehrlich, [77] pentru a defini “grupe chimice” din compoziția unei molecule, care sunt responsabile pentru un efect biologic produs. În zilele noastre, termenul de farmacofor este definit de IUPAC precum: „*Un farmacofor este ansamblul de caracteristici sterice și electronice, necesare pentru a asigura interacțiunile supramoleculare optime cu o țintă biologică cu structură specifică și să declanșeze (sau să blocheze) răspunsul său biologic*” [7]. Descriptorii unui farmacofor sunt: acceptor și/sau donor de legături de hidrogen, caracter anionic / cationic, lipofilicitate înalte, sunt prezente inele aromatice și volumul molar optim.

Descoperirea de farmacofori noi, este pusă pe seama testării compușilor pentru unul sau mai multe tipuri de activitate, care provin fie prin modificarea structurală a agenților terapeutici existenți, pentru noi tipuri de activitate sau din observațiile activității deja existente a compușilor naturali sau identic naturali. Farmacoforii provin prin identificarea fragmentelor sau grupărilor mici, care servesc drept punct de plecare pentru proiectarea compușilor noi. Însă trebuie de remarcat că tehnicile de identificare de noi agenți terapeutici, se bazează mai întâi de toate, pe intuiția formată din studiile anterioare. În procesul de proiectare și/sau optimizare a compușilor, sunt luate în considerare o serie de aspecte ce vizează efectul biologic așteptat.

Drept urmare a numeroase cercetări s-au acumulat un număr impunător de compuși cu proprietăți biologice valoroase. O încercare de a dezvălui legătura structură-activitate a fost întreprinsă în anul 1997, de Christopher A. Lipinski [78], care a evidențiat o serie de aspecte cu un impact major asupra proprietăților biologice a compușilor cunoscuți. Aceasta a primit denumirea de “regula lui Lipinski” sau “*regula celor cinci*” (RO5) [79], care este considerată a fi o regulă generală de evaluare a unui farmacofor sau fragment chimic pentru potențialul biologic. Regula presupune că un compus cu activitate biologică va corespunde următoarelor criterii:

- Numărul de atomi donori de legături de hidrogen, de până la 5;
- Numărul de atomi acceptori de legături de hidrogen, de până la 5;
- Masa moleculară relativă mai mică de 500 g/mol;
- Coeficient de partiție, $\log P$, nu mai mare de 5, care indică nivelul de lipofilitate;
- Structura moleculei: aria suprafeței polare, volumul molecular, chiralitatea etc.

Deși această regulă a fost formulată în urma analizei a unui număr impunător de agenți farmacologici, se admit și abateri de la regulă, de remarcat că totuși au fost scoase în evidență anumite aspecte importante de care este recomandat să fie ținut cont la proiectarea și/sau optimizarea compușilor noi cum sunt: lipofilitate înaltă, masa moleculară relativ mică și prezența atomilor donori de electroni.

O evaluare computațională [80] a hidrazincarbotoamidelor a clasat acești compuși drept potențiali agenți terapeutici valoroși fapt care a fost demonstrat prin numeroase studii și testări atât *in vitro* [82; 83] cât și *in vivo*, pe parcursul ultimilor 80 de ani [84; 85].

Studiile asupra proprietăților biologice ale hidrazincarbotoamidelor, care datează cu începutul sec. XX și sunt actuale și în prezent, arată varietatea și diversitatea aplicațiilor în calitate de agenți farmacologici cu proprietăți precum: antituberculoase [85], antivirale [12], antiinflamatoare [86], antibacteriene [11], antifungice [87], antioxidante [88], anticancer [57; 91] etc. Mulți dintre reprezentanții acestei clase de compuși, au fost remarcați anume pentru activitate anticancerigenă.

În studiile recente, din anul 2021, a fost stipulat că mecanismul de acțiune al hidrazincarbotoamidelor asupra celulelor canceroase, ar presupune că acestea inhibă enzima care conține Fe (fier) și anume, ribonucleotid reductaza (RNR) [90]. RNR este considerată responsabilă pentru diviziunea celulară și biosinteza ADN-ului, dar și reglarea biosintezei dezoxiribonucleozidei trifosfat (dNTP), pe când alterarea dNTP-ului ar conduce atât la instabilitatea genomică cât și la tulburări mitocondriale și respectiv inducerea susceptibilității la cancer. Din cele relatate, se poate conclua că inhibiția RNR nu permite transcrierea și replicarea

De remarcat, că autorii accentuează oportunitatea atașării la atomul de N^N, a radicalului fenil, prin asociere cu structura compușilor precum: Didox (acidul 3,4-dioxidibenzohidroxic), Trimidox (acidul 3,4,5-trioxidibenzohidroxic) și o serie de alcoxifenoli [94] (a se vedea figura 1.26.), care au manifestat proprietatea de inhibare a cofactorul radical tirozil R2, cu scopul de a inhiba RNR și se află la studiile clinice.

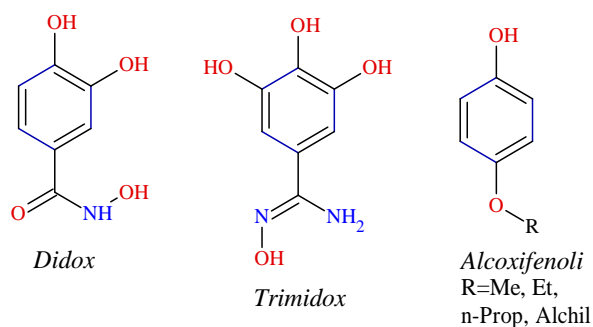


Fig. 1.26. Formulele de structură a unor compuși aflați în faza studiilor clinice [94]

Structura moleculară a compușilor sintetizați a fost confirmată, prin intermediul spectroscopiei RMN, unde au fost identificate prezența ambelor forme izomere atât *E* cât și *Z*, (a se vedea figura 1.27.). Izomerul *Z*, formează legături de hidrogen intramoleculare dintre N (piridinic) și H din gruparea -NH-N, care se presupune că ar duce la creșterea stabilității acestui conformer.

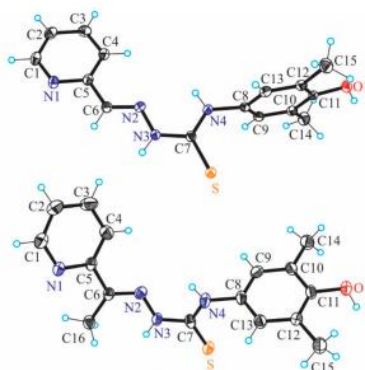


Fig. 1.27. Structurile moleculare a N-(4-hidroxi-3,5-dimetil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamidelor (38a-b) [52]

Studiile prin intermediul difracțiilor de raze *X* pe monocristal au arătat, (a se vedea figura 1.27.), că hidrazincarbotoamidele sintetizate, la cristalizare au adoptat configurația *E*, cu atomul de azot iminic în poziția trans față de atomul de S și N piridinic, sub formă de tion cu lungimea legăturii (C=S) de 1,6839 Å și 1,6830 Å respectiv.

De asemenea, pentru compușii sintetizați a fost evaluat coeficientul de distribuție logD_{7.4}, care indică lipofilitatea compușilor, care reprezintă o proprietate necesară și responsabilă de

penetrarea membranelor celulare. Rezultatele studiului indică că prezența grupării fenil, mărește lipofilitatea.

Tabelul 1.4. Rezultatele cercetării proprietăților anticancer a compușilor (38a-b) *in vitro*, față de liniile celulare de Colo205 și Colo320

$IC_{50}(\mu M)$	Colo 205	Colo 320	MRC-5	$\log D_{7.4}$
(38a)	≥ 100	$6,32 \pm 0,49$	≥ 100	+0,73
(38b)	≥ 100	≥ 100	≥ 100	+1,02
Triapina, 3-AP	$3,34 \pm 0,12$	$4,21 \pm 0,46$	$10,2 \pm 1,3$	+0,85

Rezultatele investigațiilor asupra liniilor de celule de cancer, prezintă interes practic datorită faptului că compusul (38a), are capacitatea de inhibare a cofactorului radical Tirozil R2, rezultatele activității fiind aproape identice cu cele a 3-AP (Triapinei), luată ca martor.

E. Pahonțu și colaboratorii [95] au sintetizat o serie de hidrazincarbotioamide și N-fenil hidrazincarbotioamide derivate de la 2-hidroxibenzaldehida 5-substituită (a se vedea figura 1.28.), prin reacția de condensare, în raport echimolar a hidrazincarbotioamidei cu compușii carbonilici.

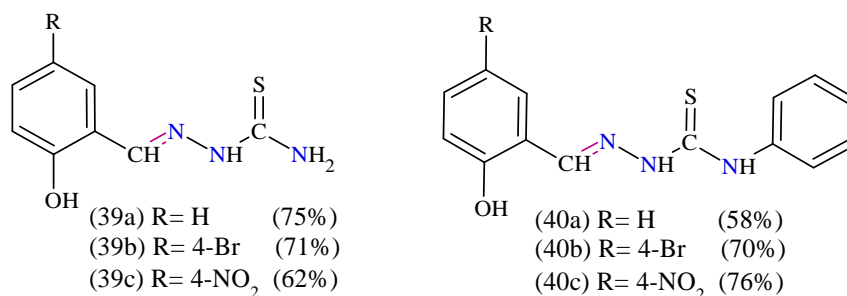


Fig.1.28. Formulele generale de structură, a unor N-hidrazincarbotioamide a 2-hidroxibenzaldehidei 5-substituite (39a-c și 40a-c)

În vederea studierii influenței N-substituenților precum fenil, cât și a radicalilor atașați la inelul benzenic, care provine din componenta carbonilică, compușii studiați au fost testați pentru activitate antiproliferativă *in vitro*, față de linia de celule leucemie umană HL-60, la 3 concentrații (10 μM , 1 μM și 0,1 μM).

Tabelul 1.5. Rezultatele cercetării proprietăților anticancer *in vitro*, a compușilor (39a-c) și (40a-c) față de celulele HL-60 (leucemie umană).

% inh.	(39a)	(39b)	(39c)	(40a)	(40b)	(40c)
10 μM	20	5	0	90	75	70
1 μM	10	0	0	0	0	0
0,1 μM	0	0	0	0	0	0

Rezultatele studiului au elucidat influența N-substituenților, toate N-fenilhidrazincarbotoamidele 2-hidroxibenzaldehydei (40a-c), inhibă proliferarea celulelor HL-60 (leucemie umană) în proporție de 70-90 % la concentrația de 10 μ M, însă odată cu scăderea concentrației capacitatea de inhibare se micșorează esențial. În timp ce hidrazincarbotoamidele (39a-c) în structura cărora atomii de hidrogen de la atomul de azot din poziția N, rămân nesubstituiți, au manifestat activitate de inhibare a proliferării celulelor HL-60 (leucemie umană), de doar 5-20 %.

Un alt studiu, care confirmă influența incontestabilă și impactul substituenților de natură aromatică la atomul de azot tioamidic din poziția N, a fost efectuat în anul 2021, de către Ahmeed et al. [91] Autorii au sintetizat o serie de 4-metoxi-fenilhidrazincarbotoamide ale benzaldehydei substituie, având în calitate de radicali atât grupe metoxi, cian cât și halogen și anume F (fluor). Compușii sintetizați au fost evaluați *in vitro*, pentru proprietăți anticancer față de 60 de linii de celule de cancer, grupate în 9 serii de: leucemie, cancer de plămâni, de colon, renal, melanom, ovarian, de prostată, de sân și de sistem nervos-central. În figura 1.29., sunt prezentate formulele de structură a compușilor care au manifestat activitatea cea mai promițătoare.

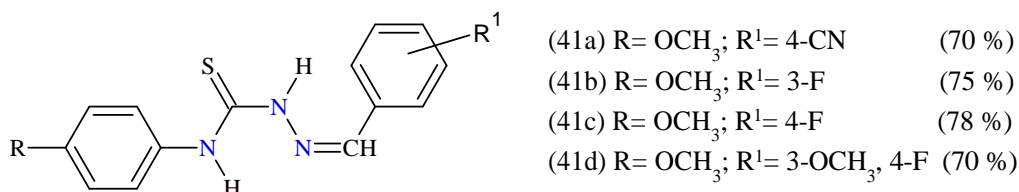
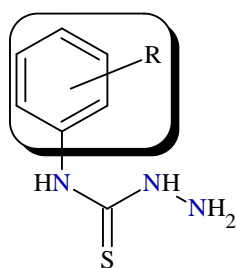


Fig. 1.29. Formula generală de structură a unor

N-(4-metoxifenil)-2-(benziliden)hidrazincarbotoamide (41 a-d)

Deși toți compușii testați au manifestat activitate înaltă sau moderată, compusul (41a), s-a remarcat și a fost ulterior testat pentru activitatea de inhibiție a RNR. Rezultatul IC₅₀ = 1.51 μ M obținut a încurajat studiile biologice ulterioare. Conform autorilor compusul (41a), s-a dovedit a fi un inhibitor puternic al RNR și a fost recomandat pentru studiile ulterioare.

Un alt studiu care vine să confirme importanța studiului scheletului hidrazincarbotoamidic și anume a N-substituenților de la azotul tioamidic din poziția N și care ar permite elucidarea relației structură-activitate, a fost efectuat de către Serra et al. [96] Autorii studiului au sintetizat o serie de derivați ai N-fenilhidrazincarbotoamidei.



(3) R=H (91 %) $IC_{50} = 50 \mu M$	
(42a) R=2-F (77 %) $IC_{50} = 50 \mu M$	(42h) R=4-F (96 %) $IC_{50} = 1,8 \mu M$
(42b) R=2-Br (87 %) $IC_{50} = 50 \mu M$	(42i) R=4-Br (90 %) $IC_{50} = 1,6 \mu M$
(42c) R=2-Cl (89 %) $IC_{50} = 50 \mu M$	(42j) R=4-Cl (81 %) $IC_{50} = 50 \mu M$
(42d) R=3-F (86 %) $IC_{50} = 3,7 \mu M$	(42k) R=2,3-diCl (96 %) $IC_{50} = 50 \mu M$
(42e) R=3-Br (87 %) $IC_{50} = 2,7 \mu M$	(42l) R=2,4-diCl (64 %) $IC_{50} = 50 \mu M$
(42f) R=3-Cl (66 %) $IC_{50} = 15 \mu M$	(42m) R=3,4-diCl (79 %) $IC_{50} = 17 \mu M$
(42g) R=3-CN (76 %) $IC_{50} = 3,8 \mu M$	(42n) R=3,5-diCl (77 %) $IC_{50} = 13 \mu M$

Fig. 1.30. Formula generală de structură a unor N-fenilhidrazincarbotioamide și valorile IC_{50} pentru activitatea de inhibare a IDO (indolamina 2,3-deoxigenaza)

Compușii sintetizați au fost testați pentru activitatea de inhibare a IDO (indolamina 2,3-deoxigenaza), o enzimă care catalizează transformarea aminoacidului L-Triptofan în N-formilchinurenină, suprimând funcțiile celulelor-T, ceea ce permite celulelor canceroase să fie neobservate pentru sistemul imun. IDO reprezintă o țintă terapeutică importantă pentru terapia anticancer. Din rezultatele obținute, autorii au remarcat că introducerea radicalilor în poziția 2 (*orto*-) au dus la activitate scăzută, în timp ce prezența substituenților în pozițiile 3 (*meta*-) și 4 (*para*-) au generat inhibitori performanți.

1.3.2. Proprietăți antibacteriene și antifungice a unor N-fenilhidrazincarbotioamide

Necesitatea de compuși care ar combate infecțiile bacteriene, fungice și protozoice cât și rezistența microorganismelor la preparatele existente, au accelerat procesul de studiu în acest domeniu. Interesul pentru hidrazincarbotioamidele substituie este datorat inclusiv și proprietăților de inhibare a creșterii diferitor bacterii și fungi [5; 76; 98].

La bazele studiilor proprietăților farmacofore ale hidrazincarbotioamidelor 1-(piridin-2-il)etan-1-onei stau Brockman [98] și Klayman [99], a căror lucrări datează cu anii '70 ai secolului trecut. Un studiu important [76], unde se relatează despre sinteza și studiul proprietăților antiprotozoice, *in vivo*, a unei serii impunătoare de derivați ai N-fenilhidrazincarbotioamidei 1-(piridin-2-il)etan-1-onei. De remarcat, sunt concluziile la care au ajuns cercetătorii asupra modelării scheletului hidrazincarbotioamidei. Conform autorilor înlocuirea atomului de S (sulf) cu atomul de O (oxigen), a generat întotdeauna compuși mai puțin activi sau chiar inactivi, acest fapt a fost notat drept un indiciu important. N-substituția a fost considerată o strategie esențială pentru activitatea antimalarială și anume substituția cu inele de 5 și 6 atomi, care au dat cele mai bune rezultate. Ce ține de substituenții din inelul aromatic al N-fenilhidrazincarbotioamidelor 1-(piridin-2-il)etan-1-onei, halogenii au generat compuși inactivi (43e, h, g) și (43h, i, j) sau moderat activi (43b, c, d) la fel ca și nitrocompușii (43m, n, o). Compușii cu grupele precum metil

(43q, r) și (40e) și metoxi (43k, l) și (40e) au dat cele mai promițătoare rezultate, în special substituenții din pozițiile *meta*- și *para*-.

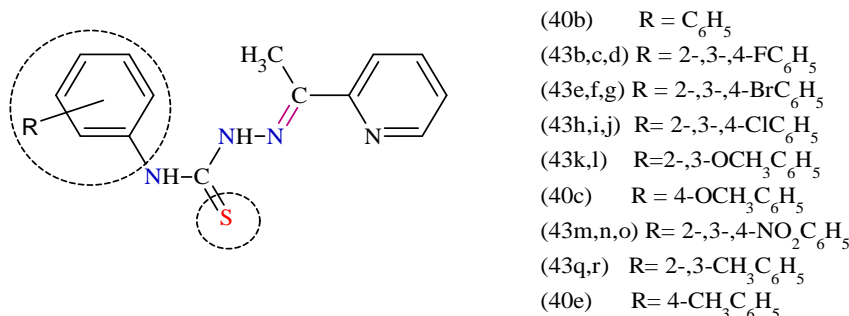
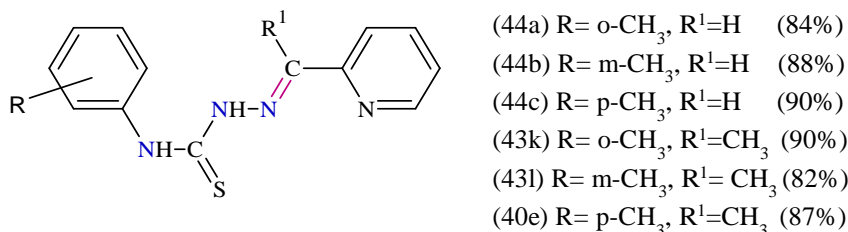


Fig. 1.31. Formula generală de structură a unor

N-(fenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamide

Cercetările efectuate de Mendes și colaboratorii, s-au axat pe studiul proprietăților antifungice *in vitro*, față de tulpinile de *Candida albicans* ATCC 18804, a unor hidrazincarbotioamide derivate a piridinei, în calitate de referință a fost luat Amfotericina B [100].



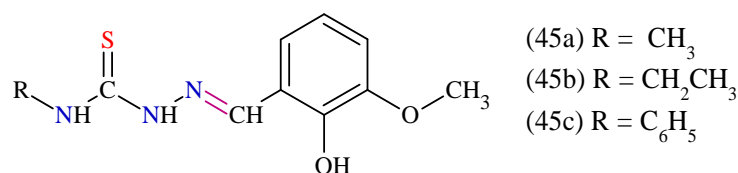
CMF, μM/Cifrul	(44a)	(44b)	(44c)	(43k)	(43l)	(40e)	
<i>Candida albicans</i>	3	3	3	14	5	26	4,4 Amfotericina B

Fig. 1.32. Formula de structură generală și rezultatele testării activității antifungice

***in vitro*, a compușilor (43a-c, k, l, e)**

Din rezultatele obținute (a se vedea figura 1.32.), s-a putut concluda că toți compușii studiați manifestă activitate antifungică pronunțată, iar poziția radicalilor din inelul benzenic, N-substituit, influențează nesemnificativ, excepții fiind compusul (40e). Cele mai promițătoare rezultate au prezentat compușii (44a-c), fiind mai activi decât substanța luată drept referință. În cazul dat introducerea radicalului -CH₃ (metil-) la R¹, duce la micșorarea activității.

În studiul realizat în 2013 [101], autorii au raportat despre proprietățile antibacteriene și antifungice față de microorganismele: *Bacillus subtilis* ATAC 9372, *Staphylococcus aureus* ATAC 25923 și *Aspergillus niger* ATAC 16404, *Alternaria alternate* ATAC 66981 a unor hidrazincarbotioamide N-substituite ale 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehidei. Activitatea a fost testată prin metoda de difuzie pe disc de agar. Susceptibilitatea microorganismelor la compușii (45 a-c) și a dimetilsulfoxidei (DMSO), a fost măsurată prin evaluarea dimensiunii zonelor de inhibare, în mm.



Zona de inhibare, mm	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Alternaria alternate</i>
(45a)	-	6	-	-
(45b)	-	6	-	6
(45c)	-	6	-	6
DMSO	-	-	-	-

Fig. 1.33. Formula generală de structură și rezultatele testării activității antibacteriene și antifungice, a unor N-(alchil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamide

Rezultatele studiului sugerează că compușii (45b) și (45c) manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele *Bacillus subtilis* Gr. (+) și antifungică față de *Alternaria alternate*. Compusul (45a) a manifestat activitate antibacteriană selectivă față microorganismele de *Bacillus subtilis* Gr. (+).

1.3.3. Proprietăți antioxidante a unor N-fenilhidrazincarbotioamide

Radicalii liberi reprezintă molecule reactive sau fragmente de compuși chimici, care se formează în organism în procesul normal de funcționare sau sub influența factorilor nocivi externi. Fiind particule foarte reactive participă la reacțiile în lanț de adiție și substituție radicalică, inducând procese inflamatoare, antibacteriene, antivirale și la metabolizarea anumitor compuși secundari. Totodată acumularea excesivă a radicalilor liberi, poate induce la lezarea catenei ADN-ului producând mutații sau chiar apoptoza celulară. Studiul asupra acestor compuși a început în anii '30 ai secolului trecut datorită cărora au fost identificate unele specii reactive responsabile de stresul oxidativ și care ar genera o serie de maladii precum: îmbătrânire prematură, scăderea rezistenței și elasticității țesuturilor, scăderea activității enzimatice, Alzheimer, Parkinson, fibroze pulmonare, cancer etc. [83; 102].

Studiile în ce privește legătura dintre potențialul antioxidant și potențialul anticancer [1] sugerează că antioxidanții pot fi utilizați în calitate de adjuvanți cât și ca sistem dublu, pentru a inhiba speciile reactive care se formează în calitate de efecte adverse în terapia cancerului. De asemenea, se menționează că administrarea de antioxidanți în calitate de suplimente, în terapia de cancer, poate mări esențial perioada de supraviețuire a pacienților [103].

Rezumând cele expuse, se poate deduce o necesitate stringentă de compuși cu proprietăți antioxidante, în calitate de agenți de inhibare a radicalilor liberi. Evaluarea propriu-zisă a activității antioxidante a compușilor cercetați, se clasifică în funcție de mecanismul de reacție și sunt prin

transfer de atom de hidrogen, a unui electron sau mixt sau testări bazate pe reactivi chimici ori evaluare la nivel celular. Evaluarea bazată pe compuși chimici poate fi la fel clasificată după metoda de lucru. Metoda ABTS (2,2'- acidul azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic) și DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) presupune activitatea de captare a unui radical stabil liber, metoda FC (Folin-Ciocalteu), FRAP și CUPRAC presupun reducerea ionilor metalici iar metoda TRAP ține de potențialul antioxidant reactiv total [104]. Dintre toate metodele enumerate, metodele ABTS și DPPH, reprezintă metode relativ simple, cu utilizarea de reactivi accesibili, timp moderat de efectuare și nu necesită echipament sofisticat fapt care determină să fie cel mai des utilizate, pentru evaluarea activității antioxidante a compușilor cercetați.

Cercetările asupra proprietăților antioxidante a hidrazincarbotioamidelor derivate de la compușii carbonilici, s-au soldat cu editarea unei serii de lucrări care vin să confirme activitatea antioxidantă performantă a acestor compuși [4;102;105]. De accentuat însă că capacitatea de inhibare a radicalilor liberi este direct influențată atât de natura substituenților cât și de natura compusului carbonilic.

În 2015 Ilieș și colaboratorii [63], au efectuat un studiu asupra proprietăților antioxidante a derivaților piridin-2-carbaldehidei și anume a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei (40 b), prin metodele ABTS și DPPH, în calitate de standard au fost luate (BHT) butilhidroxitoluen și (BHA) butilhidroxianisol (antioxidanți performanți).

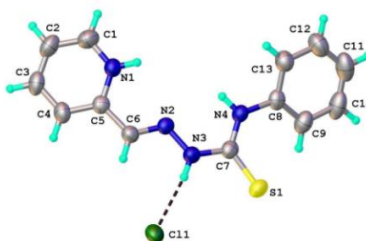


Fig. 1.34. Structura moleculară a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei (40 b) [63]

Din rezultatele obținute se poate concluda că N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotioamida are capacitatea de inhibare a radicalului DPPH• mai înaltă decât a martorilor, pe când capacitatea antioxidantă a acestui compus de inhibare a cation-radicalul ABTS^{•+} a fost mai modestă.

Tabelul 1.6. Rezultatele cercetării proprietăților antioxidante a N-(fenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei

IC ₅₀ μM	(40 b)	BHT	BHA
ABTS ^{•+}	12,10	10,47	9,67
DPPH•	157,55	≥250	34,49

În 2021, Arora et al. [106], au sintetizat o serie de N-fenilhidrazincarbotoamide derivate de la benzaldehida substituită, ulterior compușii sintetizați au fost testați pentru proprietăți antioxidante prin metoda DPPH, în calitate de martor a fost luat acidul ascorbic (antioxidant performant).

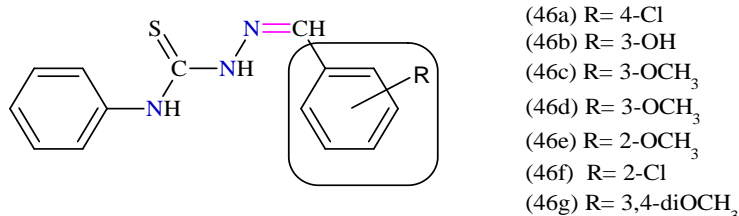


Fig. 1.35. Formula de structură generală a unor N-(fenil)-2-(benziliden)hidrazincarbotoamide(46a-g)

Rezultatele studiului a evidențiat atât influența poziției radicalilor din inelul benzenic, provenit din componenta carbonilică cât și natura acestora. În cazul dat capacitatea de inhibare a radicalilor liberi crește în ordinea: (46a) < (46b) ≈ (46c) ≈ (46d) ≈ (46e) < (46f) ≈ (46g). Compusul cu cea mai înaltă activitate antioxidantă a fost (46g) N-fenilhidrazincarbotoamida 3,4-dimetoxibenzaldehidei, care inhiba 77.63 % din radicalii liberi, la concentrația de 400 μg/mL.

Tabelul 1.7. Rezultatele cercetării proprietăților antioxidante a N-(fenil)-2-(benziliden)hidrazincarbotoamidelor (46a-g)

% inh./cifrul	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL	200 μg/mL	400 μg/mL
(46a)	25,03	29,18	34,72	39,25	44,70
(46b)	30,75	34,66	39,74	44,64	48,70
(46c)	33,65	37,90	41,18	45,87	51,39
(46d)	38,90	42,74	46,88	50,56	57,63
(46e)	43,76	47,95	51,72	54,94	58,70
(46f)	51,82	56,21	62,58	69,56	73,25
(46g)	56,65	61,74	66,65	71,18	77,63
L-Acid ascorbic	68,69	73,53	78,87	83,24	88,24

Cercetările efectuate de Salar et al [107], țin de influența grupelor suplimentare asupra activității antioxidante, a o serie de derivați ai hidrazincarbotoamidei, care au fost evaluate prin metodele ABTS și DPPH. Activitate antioxidantă mai înaltă au manifestat compușii în structura cărora era prezenta grupa -CH₃ (metil-), față de compușii similari care nu o conțineau. Studiile de andocare moleculară pe modul și energia de legare cu situsul activ al α-amilazei, au demonstrat că introducerea grupei metil influențează benefic interacțiunile de legare cu situsul activ al enzimei.

IC ₅₀ μM	(46h)	(46i)	Acid ascorbic
ABTS ^{•+}	1.25	1.85	0.55
DPPH [•]	1.15	1.8	0.4
Energia de legare, KJ	7.01	5.23	-

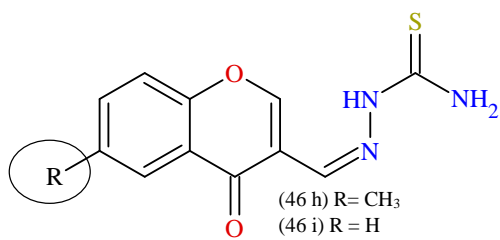


Fig. 1.36. Formula de structură a compușilor (46 h) și (46 i) și rezultatele testării proprietăților antioxidante

Prin urmare rezumând investigațiile efectuate se poate concluziona că hidrazincarbotoamidele posedă activitate antioxidantă pronunțată și asupra potențialului antioxidant este direct influențată atât de natura substituenților ca metil, fenil etc. cât și de natura compusului carbonilic precum derivații piridin-2-carbaldehidei și benzaldehidei.

1.4. Abilitatea de coordinare a N-fenilhidrazincarbotoamidelor cu ionii metalici

Hidrazincarbotoamidele sunt considerate compuși polifuncționali, care se remarcă prin structură moleculară și proprietăți farmacologice valoroase. Prezența atomilor donori de electroni, conferă calitatea de liganzi versatili cu o gamă variată de aplicații. Datorită abilităților de complexare, hidrazincarbotoamidele formează compuși coordinativi cu metalele 3d, precum și cu metalele din blocul p, cu proprietăți și structuri inedite [14; 23; 24; 37; 104; 105]

N-hidrazincarbotoamidele sunt liganzi organici care conform literaturii de specialitate, au 3 sau 4 atomi donori (în dependență de structura componentei carbonilice), capabili să coordoneze la atomul central, de metal [110]:

- (a) prin intermediul atomului de azot N (2) azometinic;
- (b) prin intermediul atomului de azot N (1) carbotoamidic;
- (c) prin intermediul atomului de sulf tiolic -SH sau tionic C=S;
- (d) prin intermediul atomului donor prezent în structura fragmentului carbonilic.

În cadrul Departamentului Chimie, USM, sub conducerea Academicianului A. GULEA, au fost efectuate cercetări ample, care s-au axat pe conceptul „designul-ui de noi inhibitori moleculari ai celulelor de cancer”, în cadrul cărora au fost sintetizați un număr impunător de compuși coordinativi cu un spectru vast de proprietăți biologice.

Structura cristalină a unor compuși coordinativi în baza N-fenilhidrazincarbotoamidei, vor fi redați ulterior.

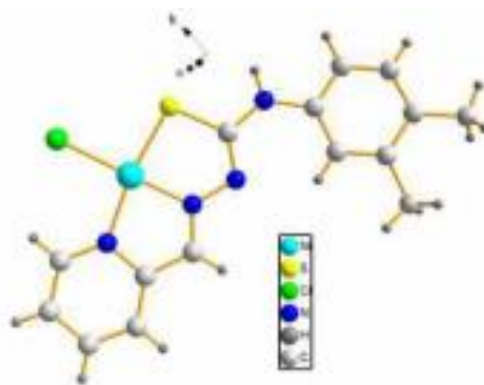


Fig. 1.36. Structura moleculară a compusului coordinativ Ni(L)Cl, în baza N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamiei (47) [111]

În figura 1.36. este reprezentată structura cristalină a compusului coordinativ al Ni(II) cu N-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (47), unde hidrazincarbotoamida se comportă ca un ligand tridentat, formând legături coordinative prin atomul de N (2) azometinic, atomul de azot piridinic și atomul de sulf, forma -tiol deprotonat.

În studiul [25] sunt caracterizați compuși coordinativi ai Cu (II) cu o serie de N-n-metilfenilhidrazincarbotoamide-piridin-2-carbaldehidei.

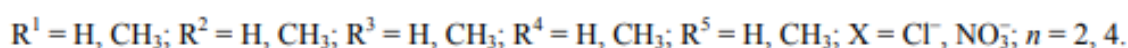
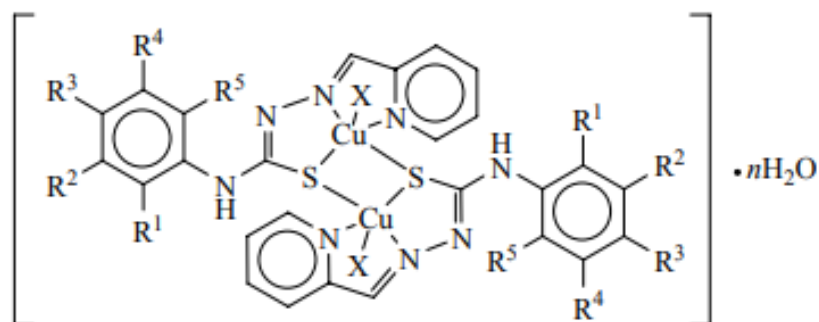


Fig. 1.37. Formula generală de structură a compușilor coordinativi dimerici ai Cu (II), Cu(L)X în baza N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamiei (48) [25]

În figura 1.37. sunt reprezentate formulele de structură a unor compuși coordinativi dimerici ai Cu(II) cu N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (48). Hidrazincarbotoamida (48) dată, coordinează în calitate de ligand tridentat, coordinând prin atomul de N (2) azometinic, atomul de azot piridinic și atomul de sulf S, forma -tiol deprotonat.

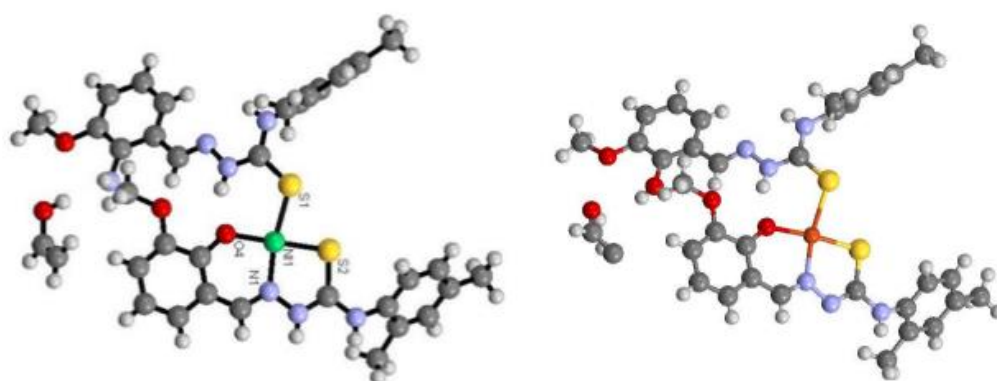


Fig. 1.38. Structurile cristaline a compușilor coordinativi Ni(H₂L)(L)·C₂H₅OH (49 a) și Cu(H₂L)(L)·C₂H₅OH (49 b), în baza N-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden) hidrazincarbotioamidei [112].

În figura 1.38. sunt reprezentate structurile cristaline ale compușilor coordinativi monomerici, ai Ni (II) și Cu (II) în baza N-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotioamidei [113], cu un mod deosebit de coordonare a ligandului. În ambele cazuri în sfera internă sunt două molecule de ligand neechivalente, una coordinând în calitate de ligand tridentat dublu deprotonat prin atomii de oxigen O (fenolic), atomul de sulf S, forma -tiol și atomul de azot N (2) azometinic, pe când a doua moleculă de ligand fiind monodentat - neutru, coordinând prin intermediul atomului de sulf din gruparea tionică (S=C).

1.5. Concluzii la capitolul 1

1. Introducerea radicalilor fenil în calitate de N-substituenți, în scheletul hidrazincarbotioamidei, influențează asupra activității biologice. Componenta carbonilică are un rol semnificativ asupra proprietăților anticancer, antimicrobiene precum și antioxidante.
2. Derivații hidrazincarbotioamidelor posedă potențial înalt de inhibare a radicalilor liberi, fapt ce le conferă calitatea de antioxidanți performanți, iar natura substituenților influențează potențialul antioxidant.
3. Schemele și strategiile de sinteză cercetate a N-fenilhidrazincarbotioamidelor au în calitate de materie primă aminele aromatice, cu introducerea fie a grupei tiocarbamoil (-HN-C(S)-NH-), fie prin intermediul grupării carbazoil (-NH-C(S)-NH-N=).
4. La proiectarea structurii agenților farmacologici pe baza N-hidrazincarbotioamidelor, este recomandată respectarea unor reguli asupra numărului de atomi donori și acceptori de legături de hidrogen, masei moleculare, a coeficientului de partiție și a indicelui de reactivitate, conform “regulii lui Lipinski”, condițiilor cărora se conformează majoritatea agenților terapeutici existenți.

5. N-fenilhidrazincarbotioamidele reprezintă farmacofori inediți, care manifestă un spectru vast de proprietăți precum: anticancer, antimicrobiene, antioxidante și antivirale etc. Particularitatea de modelare a structurii reprezintă un factor decisiv în amplificarea proprietăților farmacofore.

6. Potențialul N-fenilhidrazincarbotioamidelor de a genera compuși coordinativi cu metalele *3d*, în calitate de ligand mono-, bi- sau tridentat, duce la extinderea aplicațiilor acestor compuși.

2. MATERIALE ȘI METODE DE ANALIZĂ

Reactivii utilizați pentru sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor, au fost de proveniență comercială, de puritate înaltă sau de categoria puri pentru analiză și au fost utilizați cu sau fără purificare suplimentară.

2.1. Metode fizice de analiză

Determinarea punctului de topire (p. t.). Punctul de topire a substanțelor sintetizate a fost înregistrat la dispozitivul Stuart SMP10. Substanțele de analizat au fost inițial uscate, prin dispersarea într-un strat fin pe o placă de porțelan, ulterior fiecare substanță a fost introdusă într-un capilar cu diametrul de aproximativ 1 mm, sudat la unul din capete. Cantitate de substanță introdusă în capilar a fost în jur de 1/3 din înălțimea totală a acestuia. Temperatura de topire a fost înregistrată în intervalul de temperatură 20-300 °C, cu rezoluția de 1 °C.

Cromatografia pe strat subțire. Reprezintă cea mai accesibilă metodă de monitorizare a reacțiilor chimice, de identificare și separare a substanțelor chimice, bazată pe diferența dintre coeficienții de repartiție a substanțelor analizate [114]. Analizele au fost efectuate pe plăci de cromatografie cu silicagel (Macherey-Nagel, 0.2 mm Silica gel 60 with fluorescent indicator UV254). Proba a fost luată cu ajutorul unui capilar din amestecul de reacție sau o probă de substanță prealabil dizolvată într-un solvent organic, apoi a fost aplicată la 0.5 cm distanță de la marginea de jos a unei plăci de cromatografie, sub formă de spot pe o linie imaginară numită start. Simetric a fost aplicat și martorul, care poate fi de exemplu o substanță inițială luată la reacție sau mai multe. Ulterior placă a fost uscată la temperatura camerei timp de 5-10 min pentru a se evapora solventul, după care a fost introdusă cu partea inferioară într-o cuvă care conține un solvent sau amestec de solvenți de dezvoltare. Nivelul solventului trebuie să fie sub nivelul liniei de start, în timp solventul a migrat de-a lungul plăcii cromatografice, ridicând cu diferite viteze compușii, separându-i. Nivelul de sus al solventului numit linia de front, la 0.5 cm distanță de la extrema de sus a plăcii. Ulterior placa cromatografică a fost extrasă din cuvă, uscată și dezvoltată prin plasarea în camera cu iod.

Spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR). Spectrele FT-IR au fost înregistrate la spectrometrul BRUKER ALPHA, în intervalul de lungimi de undă 4000-400 cm⁻¹,

la temperatura camerei, în cadrul laboratorului de cercetări științifice „Materiale avansate în Biofarmaceutică”, al Universității de Stat din Moldova [115]. Prelucrarea datelor a fost efectuată prin programul MestReNova.

Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (^1H -, ^{13}C -, ^{15}N RMN). Spectrele RMN au fost înregistrate la temperatura camerei utilizând spectrometrul BRUKER DRX-400 din cadrul Institutului de Chimie, al Universității de Stat din Moldova, la frecvența de 400 MHz, 100 MHz și 40.54 MHz respectiv, pentru izotopii ^1H , ^{13}C și ^{15}N , iar în calitate de solvent a fost utilizat $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (dimetilsulfoxid deuterat) [116]. Toate deplasările chimice (^1H -, ^{13}C -, ^{15}N) au fost prezentate în ppm (părți pe milion) față de SiMe_4 (tetrametil silan). Prelucrarea datelor a fost efectuată prin programul SpinWorks.

Difracția de raze X pe monocristal a fost efectuată cu difractometrul XCALIBUR E CCD cu o sursă de raze X, Mo-K $_{\alpha}$ grafit-monocromat, din cadrul Institutului de Fizică, al Universității de Stat din Moldova. Cristalele au fost plasate la o distanță de 40 mm față de detector CCD. Determinarea celulei unitare și integrarea datelor a fost realizată 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 [117].

2.2. Metode computaționale de cercetare.

În procesul de proiectare de noi compuși cu proprietăți predeterminate, foarte importantă este posibilitatea de evaluare teoretică inițială a compușilor proiectați. Astfel de metode au fost numite “ab initio”, adică la etapa de inițiere, la început.

Drept metodă de evaluare a compușilor proiectați în lucrare a fost selectată evaluarea, computațională a tuturor compușilor, pentru corespundere la „regula lui Lipinski” sau „regula celor cinci” prin instrumentele on-line gratuite *Molinspiration* [118].

Molinspiration este o organizație independentă de instrumente software pentru chimie, ce oferă o gamă de instrumente, on-line gratuite, care permit modelarea și procesarea moleculelor, generarea de tautomeri, fragmentarea moleculară și efectuarea calculelor pentru diferiți parametri fizico-chimici necesari pentru evaluarea QSAR (legătura structură-activitate), precum și proiectare de medicamente noi. Calculul proprietăților moleculare se efectuează cu instrumentul numit “Calculul proprietăților moleculare și predicția bioactivității”, care sprijină căutarea substructurii sau a similitudinii și căutarea similarității farmacoforilor.

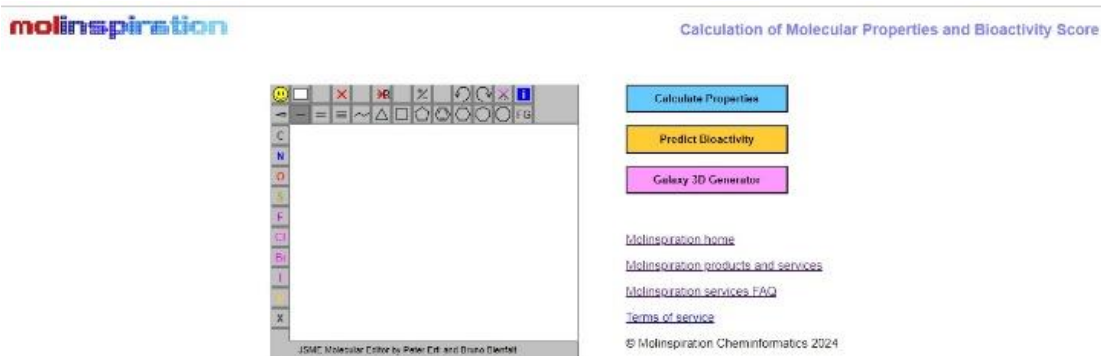


Fig. 2.1. Interfața instrumentului “Calculul proprietăților moleculare și predicția bioactivității”, Molinspiration

Pentru explicarea modului de lucru ca exemplu, în caseta de lucru a fost introdusă formula de structură a unui compus cercetat, ulterior a fost lansată comanda “Calcularea proprietăților moleculare” și s-au obținut rezultatele redată în figura 2.2.:

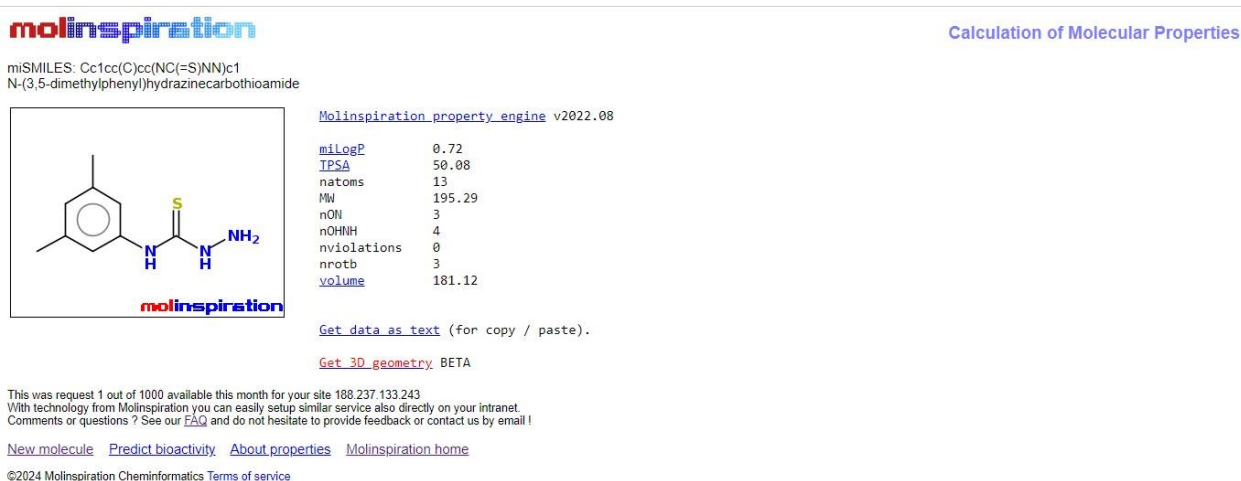


Fig. 2.2. Rezultatele calculelor cu ajutorul instrumentului “Calculul proprietăților moleculare și predicția bioactivității”, Molinspiration

Rezultatele calculelor sunt prezentate sub formă date pentru mai mulți parametri:

✓ Un parametru cheie este **LogP**- sau coeficientul de partiție octanol-apă, care este utilizat în studiile QSAR și proiectarea de medicamente, ca indice a lipofilității moleculare. Calculele teoretice de predicție a lipofilității, se bazează pe potrivirea valorilor obținute în mod practic pentru un set de fragmente mici cu structura de analizat.

✓ **TPSA**- este aria suprafeței polare a moleculei, un parametru utilizat în predicția proprietăților de transport, absorbție și penetrare membranară a potențialului medicament. Și reprezintă suma suprafețelor atomilor polari din moleculă, ca azot, oxigen, sulf etc.

✓ **natoms**- sunt dați numărul total de atomi din molecula de analizat;

✓ **Mr**- este masa moleculară relativă;

✓ **nOH**- numărul de acceptori de legături de hidrogen (atomi de O și N);

✓ **nOHNH**- numărul de donatori de legături de hidrogen (grupe OH și NH);

✓ **nviolations**- numărul de încălcări a regulii lui Lipinski sau regula celor 5;

✓ **nrotv**-numărul de legături rotative;

✓ **volume**- volumul molecular.

Andocare moleculară

Andocarea moleculară sau docking-ul, ține de domeniul modelării moleculare și reprezintă simularea computațională cu scopul de a prezice afinitatea și modul de asociere dintre o moleculă (receptor) cu o altă moleculă (acceptor) pentru formarea unui compus stabil. Andocarea moleculară este utilizată în proiectarea rațională a medicamentelor, deoarece se pot identifica potențialele legături inter-moleculare și afinitate de legare a unui farmacofor de ținte biologice precum: proteine, acizi nucleici, glucide, lipide etc [119].

Studiul de andocare moleculară a fost efectuat cu scopul de a evalua potențialul antiproliferativ al unor N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide, iar în calitate de proteină țintă a fost selectată ribonucleotid reductaza RNR, lanțul R1 (RNR_R1).

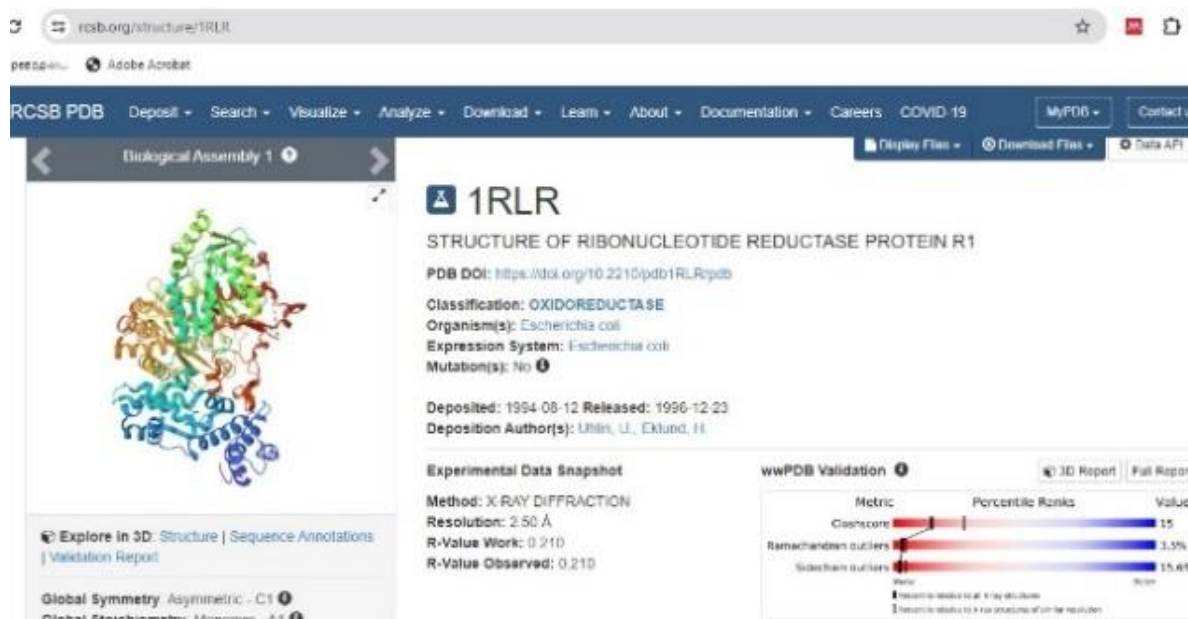


Fig. 2.3. Structura proteinei RNR pe RCSB Protein Data Bank

În calitate de martor a fost selectată 3-AP (2-[(3-aminopiridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotioamida, Triapina) compusul cu proprietăți anticancer pronunțate și care se află la testări clinice.

Pentru efectuarea simulării interacțiunii N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor cu proteina, mai întâi a fost obținută structura 3D a acesteia, obținută prin metoda difracției de raze X de monocristal de pe *RCSB Protein Data Bank* [120].

Pentru stabilirea situsului activ, a fost selectată structura proteinei co-cristalizate cu ligandul nativ, care a fost salvată în formatul *pdb* și transferată în soft-ul *BIOVIA Discovery Studio* [121]. Ulterior din structura proteinei au fost eliminate moleculele de apă și toate lanțurile identice, pentru a obține doar un singur lanț și au fost adăugați hidrogenii polari. Apoi au fost stabilite coordonatele (x, y și z) ale situsului activ, după poziția ligandului nativ, care a fost ulterior eliminat din structura proteinei. Fișierul cu structura redactată a proteinei, în format *pdb* a fost accesat apoi în soft-ul *Autodock Tools* pentru preparare ulterioară [122].

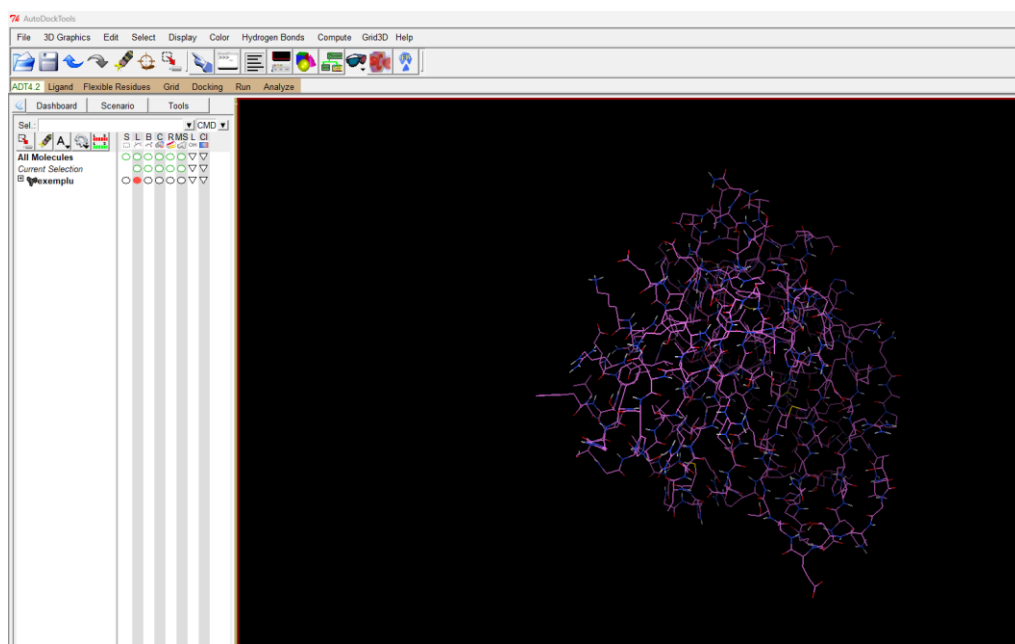


Fig. 2.4. Structura redactată a proteinei în *Autodock Tools*

Pentru simulare au fost adăugate sarcinile Kollman și Gasteiger iar pentru atomii din structura proteinei a fost atribuit tipul AD4. Ulterior a fost setat Grid al moleculei, unde a fost selectată structura proteinei de lucru, după care a fost salvată în formatul *pdbqt*. La etapa următoare au fost preparate structurile compușilor de analizat (metoda *Avogadro*) și salvate în formatul *pdb*, apoi accesate în soft-ul *Autodock Tools* și setat parametrul *Torsion Tree*, după care au salvate în formatul *pdbqt*.

Pentru efectuarea simulării interacțiunii dintre compușii de analizat și situsul activ al ribonucleotid reductazei RNR, lanțul R1 (RNR_R1), a fost utilizat soft-ul *Autodock Vina* [123].

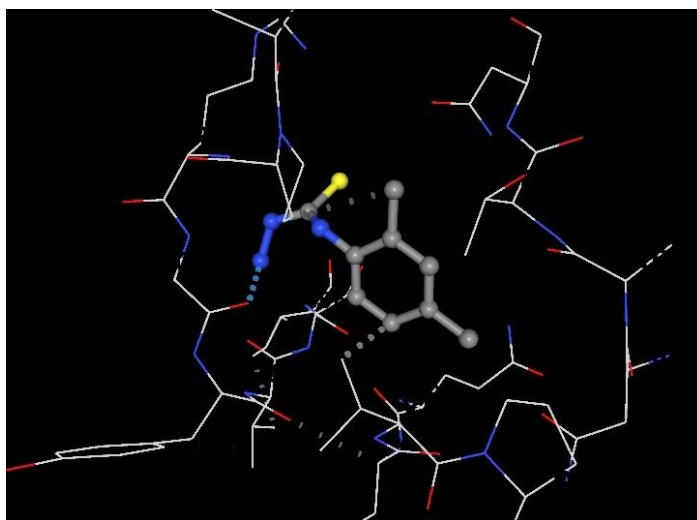


Fig. 2.5. Simularea interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidei (84) cu fragmentul activ al RNR, lanțul R1 (RNR_R1)

2.3. Metode de testare a activității biologice *in vitro*.

a) Activitatea anticancerigenă

Cancerul mamar MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7)

Linia celulară de cancer mamar MCF-7, a fost obținută din Colecția de culturi American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Celulele au fost incubate la 37 °C, în atmosferă cu umiditatea 95 % și 5 % CO₂, timp de 24 de ore, plasate în plăci cu 96 de godeuri (1104 celule per godeu), în mediu de cultură (volum total de 90 μL). Substanțele de analizat au fost dizolvate în metanol (concentrația de 10 μM). Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (Novopharm, Toronto, Canada) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μL în fiecare godeu și incubate timp de 24, 48 și 72 de ore. Ulterior a fost efectuat testul MTT, unde s-a adăugat MTS (3-((4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazoliu) și 10 μL soluție salină tamponată cu fosfat, la fiecare godeu și incubate timp de 4 ore. Incubarea a permis reducerea dehidrogenazei mitocondriale la un produs formazan insolubil, care a fost separat și dizolvat prin adăugare de 100 pl DMSO, obținându-se culoarea purpurie. Plăcile au fost ulterior analizate la 490 nm utilizând un cititor de micro plăci Tecan M-200 (Mnedorf, Elveția) iar valorile IC₅₀ au fost calculate folosind GraphPad Software-ul Prism 6. Selectivitatea pentru celulele canceroase față de celulele normale a fost calculat prin împărțirea IC₅₀ obținut pentru celulele normale MCF-10A la IC₅₀ obținut pentru celulele

canceroase MCF-7. Valorile reprezintă media a două experimente realizate în trei repetări [124][125].

Leucemia umană HL-60 (Human leukemia cells)

Linia de celule de leucemie umană HL-60 a fost obținută din Colecția de culturi American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, SUA). Celulele au fost cultivate în mod obișnuit în suspensie 90 % RPMI-1640 (Sigma Saint Louis, SUA) cu conținut de L-glutamină (2 nM), antibiotice (penicilină 100 UI/mL și streptomycină 100 μM/mL) și 10% (v/v) FBS (origin fetal bovine serum), incubate în atmosferă cu umiditatea 95 % și 5 % CO₂, la 37 °C. Celulele au fost menținute în fază omogenă, prin amestecare de 2 ori pe săptămână și diluarea cu mediu de creștere RPMI-1640 (conține glucoză, indicator de pH, săruri, aminoacizi și vitamine) care conține 10 % FBS. Celulele au fost plasate în plăci cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, SUA) în mediu de cultură (volum total de 100 μL). Substanțele de analizat au fost dizolvate în etanol (concentrația de 10 μM). Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (Novopharm, Toronto, Canada) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μL în fiecare godeu și incubate timp de 24, 48 și 72 de ore. Ulterior a fost efectuat testul MTT, unde s-a adăugat MTS (3-((4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazoliu) și 20 μL soluție salină tamponată cu fosfat, la fiecare godeu și au fost incubate timp de 4 ore. Incubarea a permis reducerea dehidrogenazei mitocondriale la un produs formazan insolubil, care a fost separat și dizolvat prin adăugare de 100 μL DMSO, obținându-se culoarea purpurie. Plăcile au fost ulterior analizate la 490 nm utilizând un cititor de micro plăci molecular (Devices, Sunnyvale, CA) iar valorile IC₅₀ au fost calculate folosind GraphPad Software-ul Prism 6. Selectivitatea pentru celulele canceroase față de celulele normale a fost calculat prin împărțirea IC₅₀ obținut pentru celulele normale la IC₅₀ obținut pentru celulele canceroase. Valorile reprezintă media a două experimente realizate în trei repetări [126].

Adenocarcinom de prostată LNCaP (Lymph Node Carcinoma of the Prostate)

Linia de celulele de cancer de prostată uman LNCaP, obținute din Colecția American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) au fost cultivate în formă de suspensie în mediul RPMI-1640 (Sigma Saint Louis, SUA) cu conținut de L-glutamină (2 nM), antibiotice (penicilină 100 UI /mL și streptomycină 100 μM/mL) și 10 % (v/v) FBS (origin fetal bovine serum), incubate în atmosferă cu umiditatea 95 % și 5 % CO₂, la 37 °C. Celulele au fost plasate în plăci cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, SUA) 10.000 celule pe 100 μL mediu

de cultură/ 24 de ore. Substanțele de analizat au fost dizolvate în etanol (concentrația de 10 μ M). Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (Novopharm, Toronto, Canada) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μ L în fiecare godeu și incubate timp de 24, 48 și 72 de ore. Ulterior a fost efectuat testul MTT, unde s-a adăugat MTS (3-((4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazoliu) și 20 μ L soluție salină tamponată cu fosfat, la fiecare godeu și au fost incubate timp de 4 ore. Incubarea a permis reducerea dehidrogenazei mitocondriale la un produs formazan insolubil, care a fost separat și dizolvat prin adăugare de 100 μ L DMSO, obținându-se culoarea purpurie. Plăcile au fost ulterior analizate la 490 nm utilizând un cititor de micro plăci molecular (Devices, Sunnyvale, CA) iar valorile IC₅₀ au fost calculate folosind GraphPad Software-ul Prism 6. Selectivitatea pentru celulele canceroase față de celulele normale a fost calculat prin împărțirea IC₅₀ obținut pentru celulele normale la IC₅₀ obținut pentru celulele canceroase. Valorile reprezintă media a două experimente realizate în trei repetări [127].

Adenocarcinom cervical HeLa (Henrietta Lacks)

Linia de celulele de cancer cervical HeLa obținute din Colecția American Type Culture Collection (ATCC CCL-2), au fost cultivate în mediul ca monostraturi în mediu Eagle modificat Dulbecco (D-MEM), glucoza (Invitrogen), conținând L-glutamină, fracțiunea albumină bovină (V7,5 %) 0,2 %/ v/v (Invitrogen), tampon HEPES (N-acidsulfonic-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etan) 20 mM (Invitrogen), antibiotice (penicilină 100 UI /mL și streptomycină 100 μ M/mL) (Invitrogen) și suplimentat cu 10 % FBS (ser fetal bovin iradiat) (Cambrex) în condiții de cultură (2 % CO₂, 78 % aer în camera umidificat la 37 °C). Celulele au fost tripsinizate cu Tripsina (tripsină-EDTA, acid etilendiaminotetraacetic) (Invitrogen) concentrația 0,05 % și numărate la microscopul inversat (OLYMPUS). Testul de proliferare celulară a fost realizat folosind Resazurin (sare de sodiu al 7-hidroxi-3H-phenoxazin-3-onă-10-oxid, SIGMA- Aldrich), care a permis măsurarea numărul de celule viabile. Celulele au fost plasate în plăci cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, SUA), 104 celule per godeu, 100 μ L celule mediu de cultură timp de 24 de ore. Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μ M. Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (SC Balkan Pharmaceuticals SRL) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μ L în fiecare godeu și incubate timp de 24 de ore. Ulterior a fost făcut testul Resazurin, care este o metodă de măsurare rapidă și sensibilă pentru viabilitatea celulelor, dat fiind faptul că celulele vii sunt active metabolic și sunt capabile să reducă Resazurina slab fluorescent la

Resorufin intens fluorescent (a se vedea fig. 2.3.). Valoarea fluorescenței este proporțională cu numărul de celule viabile iar aceasta permite, de asemenea, calcularea ratei de proliferare a celulelor capabile de diviziune celulară consecutivă.

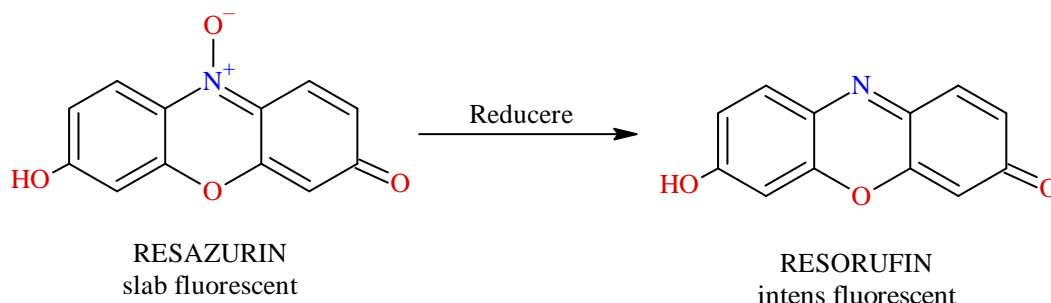


Fig. 2.6. Reducerea Resazurinei la Resorufin

Testul Resazurin s-a efectuat prin adăugarea a câte 20 μ l de soluție de Resazurină la fiecare godeu și au fost incubate timp de 4 ore. Ulterior, absorbanta a fost citită la 570 nm filtre și 600 nm. Măsurătoarea a fost făcută de către cititorul hibrid imagistica (Synergy H1, Biotek). Inhibarea procentuală a fost calculată conform formulei:

$$100 - \left(\frac{\text{Abs}_{570\text{nm probă}} * \text{Abs}_{600\text{nm}}}{\text{Abs}_{570\text{nm de control}} - \text{Abs}_{600\text{nm control}}} \right) \times 100$$

Valorile IC_{50} au fost evaluate prin programul GraphPad Prism [128] [129].

Adenocarcinom pancreatic BxPc-3 (Biopsy xenograft of Pancreatic Carcinoma line-3)

Linia de celulele de adenocarcinom pancreatic BxPc-3, obținute din Colecția American Type Culture Collection (ATCC, CRL-1687) au fost cultivate în formă de suspensie în mediul RPMI-1640 (Sigma Saint Louis, SUA) cu conținut de L-glutamină (2 nM), antibiotice (penicilină 100 UI/mL și streptomicina 100 μ g/mL) și 10 % (v/v) FBS (origin fetal bovine serum), incubate în atmosferă cu umiditatea 95 % și 5 % CO_2 , la 37 °C. Celulele au fost plasate în plăci cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, SUA), 10.000 celule per 100 μ L mediu de cultură timp de 24 de ore. Celulele au fost plasate în plăci cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, SUA), 104 celule per godeu, 100 μ L celule mediu de cultură timp de 24 de ore. Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μ M. Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (SC Balkan Pharmaceuticals SRL) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μ L în fiecare godeu și incubate timp de 24 de ore. Ulterior a fost făcut testul Resazurin, prin adăugarea a câte 20 μ l de soluție de Resazurină la fiecare godeu și incubare timp de 4 ore.

Ulterior, absorbanta a fost citita la 570 nm filtre și 600 nm. Măsurătoarea a fost făcută de către cititorul hibrid imagistica (Synergy H1, Biotek). Inhibarea procentuală a fost calculată conform formulei:

$$100 - \left(\frac{\text{Abs}_{570\text{nm probă}} * \text{Abs}_{600\text{nm}}}{\text{Abs}_{570\text{nm de control}} - \text{Abs}_{600\text{nm control}}} \right) \times 100$$

Valorile IC₅₀ au fost evaluate prin programul GraphPad Prism [129].

Miosarcoma țesutului muscula RD (Rabdomiosarcoma)

Linia de celulele de miosarcoma țesutului muscular **RD**, obținute din Colecția American Type Culture Collection (ATCC, CCL-136) au fost cultivate în formă de suspensie în mediu Eagle Dulbecco (D-MEM) modificat, glucoza (Invitrogen), conținând L-glutamină, fracțiunea albumină bovină (V7,5 %) 0,2 %/ v/v (Invitrogen), tampon HEPES (N-acidsulfonic-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etan) 20 mM (Invitrogen), antibiotice (penicilină 100 UI /mL și streptomycină 100 μM/mL) (Invitrogen) și suplimentat cu 10 % FBS (ser fetal bovin iradiat) (Cambrex) în condiții de cultură (2 % CO₂, 78 % aer, temperatura de 37 °C). Celulele au fost tripsinizate cu Tripsina (tripsină-EDTA, acid etilendiaminotetraacetic) (Invitrogen) concentrația 0,05 % și numărate la microscopul inversat (OLYMPUS). Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μM. Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (SC Balkan Pharmaceuticals SRL) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura, ulterior au fost adăugate a câte 10 μL în fiecare godeu și incubate timp de 24 de ore. Ulterior a fost făcut testul Resazurin, prin adăugarea a câte 20 μl de soluție de Resazurină la fiecare godeu, apoi incubate timp de 4 ore. Ulterior, a fost citită absorbanta la 570 nm filtre și 600 nm. Măsurătoarea a fost făcută de către cititorul hibrid imagistica (Synergy H1, Biotek). Inhibarea procentuală a fost calculată conform formulei:

$$100 - \left(\frac{\text{Abs}_{570\text{nm probă}} * \text{Abs}_{600\text{nm}}}{\text{Abs}_{570\text{nm de control}} - \text{Abs}_{600\text{nm control}}} \right) \times 100$$

Valorile IC₅₀ au fost evaluate prin programul GraphPad Prism [129].

Testarea toxicității față de celulele epiteliale renale normale MDCK (Madin-Darby canine kidney)

Linia de celule epiteliale renale normale MDCK, obținute din Colecția American Type Culture Collection (ATCC, CCL-34), care au fost cultivate în formă de suspensie în mediul Eagle Dulbecco modificat (D-MEM), glucoza (Invitrogen), conținând L-glutamină, fracțiunea albumină bovină (V 7,5 %) 0,2 %/ v/v (Invitrogen), tampon HEPES (N-acidsulfonic-2-hidroxiethylpiperazin-

N¹-2-etan) 20 mM (Invitrogen), antibiotice (penicilină 100 UI /mL și streptomcina 100 μM/mL) și suplimentat cu 10 % FBS (ser fetal bovin iradiate) (Cambrex) în condiții de cultură (2 % CO₂, 78 % umiditate, la 37 °C). Celulele au fost tripsinizate cu Tripsina (tripsină-EDTA, acid etilendiaminotetraacetic) (Invitrogen) și numărate la microscopul inversat (OLYMPUS). Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μM. Apoi soluțiile de analizat cât și Doxorubicina (SC Balkan Pharmaceuticals SRL) ca martor, au fost diluate în concentrații multiple cu medii de cultura ulterior au fost adăugate a câte 10 μL în fiecare godeu și incubate timp de 24 de ore. Ulterior a fost făcut testul Resazurin, prin adăugarea a câte 20 μl de soluție de Resazurină la fiecare godeu, apoi incubate timp de 4 ore. Ulterior, a fost măsurată absorbanta la 570 nm filtre și 600 nm. Măsurătoarea a fost făcută de către cititorul hibrid imagistica (Synergy H1, Biotek). Inhibarea procentuală a fost calculată conform formulei:

$$100 - \left(\frac{\text{Abs}_{570\text{nm probă}} \cdot \text{Abs}_{600\text{nm}}}{\text{Abs}_{570\text{nm de control}} \cdot \text{Abs}_{600\text{nm control}}} \right) \times 100$$

Valorile IC₅₀ au fost evaluate prin programul GraphPad Prism [129]

b) Activitatea antioxidantă

Metoda ABTS

Metoda ABTS este considerată o metodă simplă pentru determinarea activității antioxidante a unui compus nou sintetizat [130].

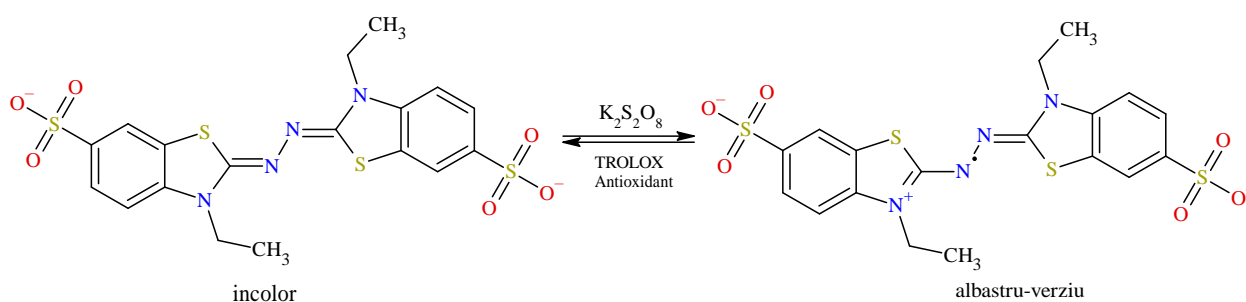


Fig. 2.7. Mecanismul ipotetic de obținere a radical-cationului ABTS^{•+}.

Activitatea antioxidantă a fost efectuată la concentrații cuprinse între 10⁻⁵ - 10⁻⁷ mol/L, prin intermediul metodei de inhibare a cation-radicalilor utilizând acidul 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazol-6-sulfonic) (ABTS) comparată cu activitatea antioxidantă a acidul 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic (Trolox) derivat al vitaminei E, utilizat în medicină ca substanță etalon pentru determinarea activității antioxidante ale compușilor atât naturali cât și sintetici [32]. Determinarea activității antioxidante a fost efectuată prin metoda spectrofotometrică. Radical-cationul ABTS^{•+} s-a obținut la interacțiunea 7 μM de ABTS cu 2.4 μM K₂S₂O₈, care a fost

incubat timp de 12 ore la temperatura de 25 °C. Soluția de lucru a fost diluată ulterior cu soluție tampon acetat până la pH=6.5. Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μM, apoi a câte 20 μL de fiecare substanță au fost transferate pe o placă de microtitrare cu 96 godeuri, unde a fost adăugată cu modulul de distribuire a cititorului hibrid (Sinergy H1, Biotek) 180 μL de soluție de lucru ABTS^{•+}, după 30 de minute de incubare la 25°C a fost măsurată absorbanta la lungime de unda de 734 nm. Inhibarea procentuală a ABTS^{•+} a fost calculat după formula:

$$\% \text{ inhibiție} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100\%$$

unde A₀ este valoarea absorbantei controlului, A₁ este absorbanta probei după incubare.

În calitate de indicator pentru activitatea antioxidantă a fost luată concentrația de inhibare semimaximală IC₅₀.

Metoda DPPH

Metoda DPPH presupune utilizarea unui radical stabil precum DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), care are un electron impar și poate fi detectat la lungimea de undă 517 nm, unde prezintă o bandă de absorbție puternică. La interacțiunea cu un compus antioxidant, se reduce iar culoarea soluției din violet intens devine galben pal, iar intensitatea de absorbție scade.

Metoda DPPH este utilizată pentru a determina activitatea antioxidantă a unui compus nou sintetizat, prin măsurarea capacității unui antioxidant de a reduce radicalul DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) prin transfer de hidrogen. Reducerea radicalului DPPH[•] este măsurată prin metoda spectrofotometrică la 517 nm (λ_{max} DPPH[•]).

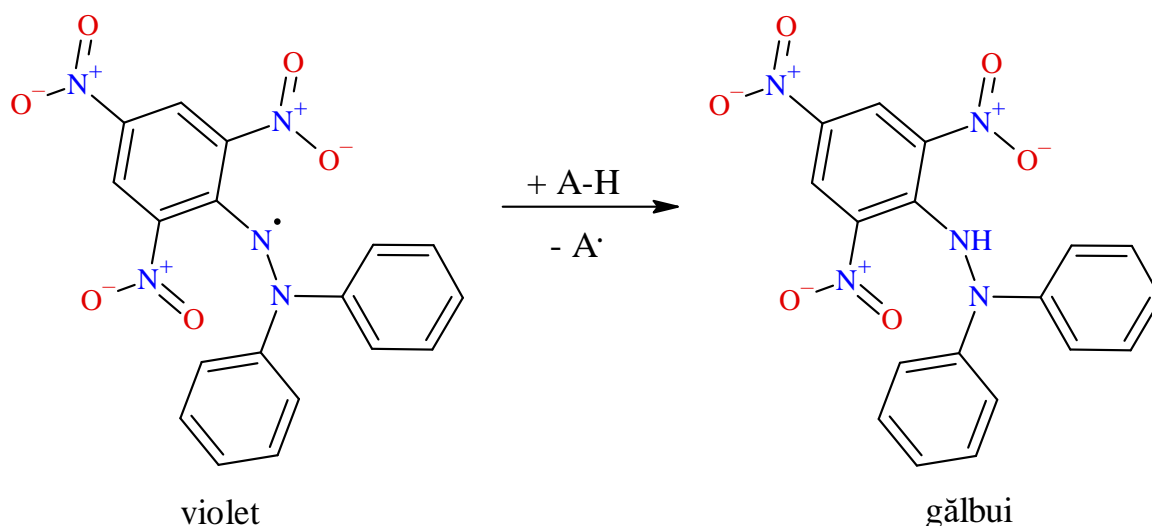


Fig. 2.8. Mecanismul de interacțiune a DPPH cu antioxidantul

Activitatea antioxidantă a fost efectuată la concentrații cuprinse între 10⁻⁵ - 10⁻⁷ mol/L, prin intermediul metodei de inhibare a radicalilor liberi utilizând 2,2-difenil-1-picrilhidrazil-ul [131],

comparată cu activitatea antioxidantă a acidul 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic (Trolox) derivat al vitaminei E, utilizat în medicină ca substanță etalon pentru determinarea activității antioxidante ale compușilor atât naturali cât și sintetici. Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μM, apoi a câte 20 μL de fiecare au fost transferate pe o placă de microtitrare cu 96 godeuri, unde cu a fost adăugată cu modulul de distribuire a cititorului hibrid (Sinergy H1, Biotek) soluție metanolică de 0.004% DPPH•, după 30 de minute de incubare la 25°C a fost măsurată absorbanta la lungime de unda de 517 nm. Inhibarea procentuală a DPPH• a fost calculat după formula:

$$\% \text{ inhibiție} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100\%$$

unde A_0 este valoarea absorbantei controlului, A_1 este absorbanta probei după incubare.

2.4. Metode de testare a activității antimicrobiene

Activitatea antibacteriană

Studiile ce țin de activitatea antibacteriană *in vitro*, a unor substanțelor sintetizate au fost efectuate față de microorganismele: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* G+, ATCC®25923™), *Escherichia coli* (*E. coli* G-, ATCC®259™), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*, G-, ATCC®13883™), și *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, G-, ATCC®27853™), prin metoda diluțiilor în succesive, în mediul nutritiv lichid de bulion peptonat din carne cu concentrația de 2% la un pH=7,0, care au fost crescute inițial pe geloză timp de 18 ore și apoi spălate cu soluție izotonică de NaCl și diluate până la nivelul standardului optic de turbiditate cu obținerea inoculatelor ce conțin 1 mL de corpi microbieni în 1 mL de mediu. Substanțele de analizat au fost dizolvate în DMSO (dimetilsulfoxid) concentrația de 10 μg/mL și adăugate a câte 1,5 mL în tuburi. Ulterior au fost însămânțate cu culturi de microorganisme cu doza de 500 de mii de microorganisme la 1 mL de mediu nutritiv, apoi au fost agitate și termostatate la temperatura de 37 °C timp de 24 ore. În calitate de control au servit tuburile cu medii de cultură în care nu au fost introduse substanțe de cercetat.

Evaluarea activității bacteriostatice (concentrația minimă de inhibiție (CMI)) s-a calculat ca fiind cea mai mică concentrație care a inhibat creșterea microorganismelor, efectuată vizual, conform lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid. Activitatea bactericidă (concentrația minimă bactericidă CMB)) a fost evaluată conform metodei standard, descrisă în literatura de specialitate [132] și s-a determinat în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe geloză peptonată și termostatare ulterioară timp de 24 și 48 de ore. În

calitate de substanță de comparație a servit Furacilina (CMI=3.7-4.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$), pentru microorganismele gram negative [133] și cele gram pozitive [134].

Activitatea antifungică

Studiile ce țin de activitatea antifungică *in vitro*, a unor substanțe sintetizate au fost efectuate față de tulpina de fungi *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC®10231™).

Inițial a fost efectuat screening-ul activității antifungice a substanțelor de analizat față de tulpina de fungi *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC®10231™), prin metoda difuziei în geloză [135]. Toți compușii au fost standardizați la concentrația de 10 mg/mL, doza de testare 1 mg de substanță pe disc. Apariția zonelor de inhibiție a creșterii tulpinilor de fungi *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC®10231™) pe mediul Sabouraud cu geloză, a determinat cercetarea în continuare a compușilor sintetizați. Activitatea antifungică *in vitro* față de tulpina de fungi *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC®10231™) a fost cercetată prin metoda standardizată EUCAST Def. 7.1. (European Committee of Antifungal Susceptibility Testing), care presupune diluții binare descrescânde de antifungice [136].

Mediul de testare utilizat a fost RPMI-1640 ((Sigma Saint Louis, SUA) cu conținut de L-glutamină (2 nM), antibiotice (penicilină 100 UI/mL și streptomycină 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) și 10 % (v/v) FBS (origin fetal bovine serum) un indicator de pH=6.8, fără bicarbonat, suplimentat cu glucoză la o concentrație finală de 2%. Pentru pregătirea mediului nutritiv dublu concentrat s-a utilizat concentrația de 20 g/L. Testarea a fost efectuată în tuburi de 5 mL, iar pentru fiecare compus au fost preparate 10 tuburi, în 8 au fost introduse a câte 1,5 mL de diluții binare a compusului testat, în mediu nutritiv dublu concentrat, iar în 2 tuburi aceeași cantitate de mediu în calitate de martor. Inoculul conținea între $1 \cdot 10^5$ și $2,5 \cdot 10^5$ UFC/mL (unități formatoare de colonii într-un mililitru de soluție). Apoi fiecare tub a fost inoculat cu 1,5 mL suspensie de fungi. Incubarea tuburilor s-a realizat fără agitare, la 37 °C, timp de 48 ore. Rezultatul final a fost citit la spectrofotometru (PG Instruments UVVIS T80) la lungimea de undă de 530 nm. CMI-ul (concentrația minimă de inhibiție) s-a calculat ca fiind cea mai mică concentrație care a inhibat creșterea tulpinilor de fungi, comparativ cu martorul. Activitatea substanțelor studiate față de tulpina de fungi *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC®10231™) a fost comparată cu activitatea Itraconazol-ului și cea a Ketoconazol-ului (preparate medicamentoase utilizate în tratamentul micozelor).

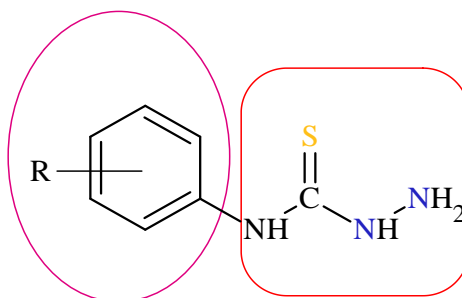
2.4. Concluzii la capitolul 2

1. Pentru confirmarea veridicității compușilor sintetizați au fost selectate metodele spectrale de analiză 1H -, ^{13}C -, ^{15}N RMN; pentru confirmarea prezenței grupelor funcționale și monitorizarea reacțiilor chimice - FT-IR; puritate compușilor dar și monitorizarea reacțiilor chimice - CSS (cromatografie în strat subțire), iar pentru cercetarea structurii chimice ce ține de lungimea legăturilor interatomice, prezență legăturilor inter și intra moleculare, conformației - difracția de raze X pe monocristal.
2. Evaluarea computațională a compușilor proiectați, pentru corespundere la regula lui Lipinski a fost efectuată prin instrumentele on-line gratuite *Molinspiration*.
3. Pentru evaluarea proprietăților farmacofore a fost selectată metoda de andocare moleculară, iar în calitate de proteină țintă a fost selectată ribonucleotid reductaza RNR, lanțul R1 (RNR_R1).
4. Pentru evaluarea activității anticancer „*in vitro*”, a unor compuși sintetizați, au fost selectate linii de celule de cancer precum: HeLa (adenocarcinomul cervical, de col uterin), BxPc-3 (adenocarcinomul pancreatic uman), RD (miosarcoma țesutului muscular), cancer HL-60 (leucemie umană), MCF-7 (adenocarcinom mamar) și LNCaP (adenocarcinom de prostată). Toxicitatea a fost evaluată față de linia de celule normale MDCK (Madin-Darby Canin Kidney, celule sănătoase).
5. Pentru evaluarea activității antibacteriene „*in vitro*”, a unor compuși sintetizați au fost selectate microorganismele Gram pozitive (+): *Staphylococcus aureus* și Gram negative (-): *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*, iar activitatea antifungică „*in vitro*” a unor compuși a fost studiată față de tulpinile de funghi: *Candida albicans*.
6. Pentru evaluarea potențialului antioxidant, de inhibarea a radicalilor liberi, au fost selectate metodele ABTS și DPPH, ca fiind metode accesibile, sigure și cu timp moderat de efectuare.

3. SINTEZA, CARACTERIZARE ȘI CERCETAREA UNOR N-(n-METILFENIL)HIDRAZINCARBOTIOAMIDE

Un farmacofor reprezintă un set de atomi sau grupări funcționale capabile să formeze legături cu “receptorii” și prin urmare să inducă un răspuns fiziologic [7]. Amplificarea activității biologice, prin modificarea structurală cât și prin combinarea grupărilor sau fragmentelor farmacofore, reprezintă o cale demnă de urmat.

Hidrazincarbotoamidele reprezintă substanțe cu un spectru larg de proprietăți, aplicațiile farmacologice ale cărora, au fost dezvoltate intens în ultimele decenii, având la bază particularitatea de modelare a structurii moleculare, care a contribuit esențial la valorificarea acestora [109]. Hidrazincarbotoamidele precum și precursorii săi azometinici, tioureele [137] sunt compuși care conțin grupa farmacoforică ($>N-C(S)-N<$) și prezintă un interes farmacologic considerabil, datorită proprietăților biologice pe larg studiate precum: antioxidante [138], anticancerigene [139], antibacteriene [114; 116] și antifungice [115; 117] etc.



R= grupe $-CH_3$ în număr de 1, 2 sau 3

Fig. 3.1. Design-ul N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor proiectate

3.1. Strategia generalizată de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor

Cercetările efectuate asupra proprietăților biologice, au permis formarea unei strategii asupra „construcției de noi inhibitori moleculari”. Investigațiile ce țin de fragmentul lipofilic, inelul benzenic în cazul dat, au dus la concluzia că nu doar poziția radicalilor din inelul benzenic influențează asupra proprietăților biologice dar și natura acestora. Strategia de proiectare de noi N-fenilhidrazincarbotoamide, a presupus introducerea grupei cu un volum molecular mic, donora de electroni, precum grupa CH_3 metil, în număr de 1, 2 și 3, în diferite poziții ale inelului benzenic (a se vedea figura 3.2.)

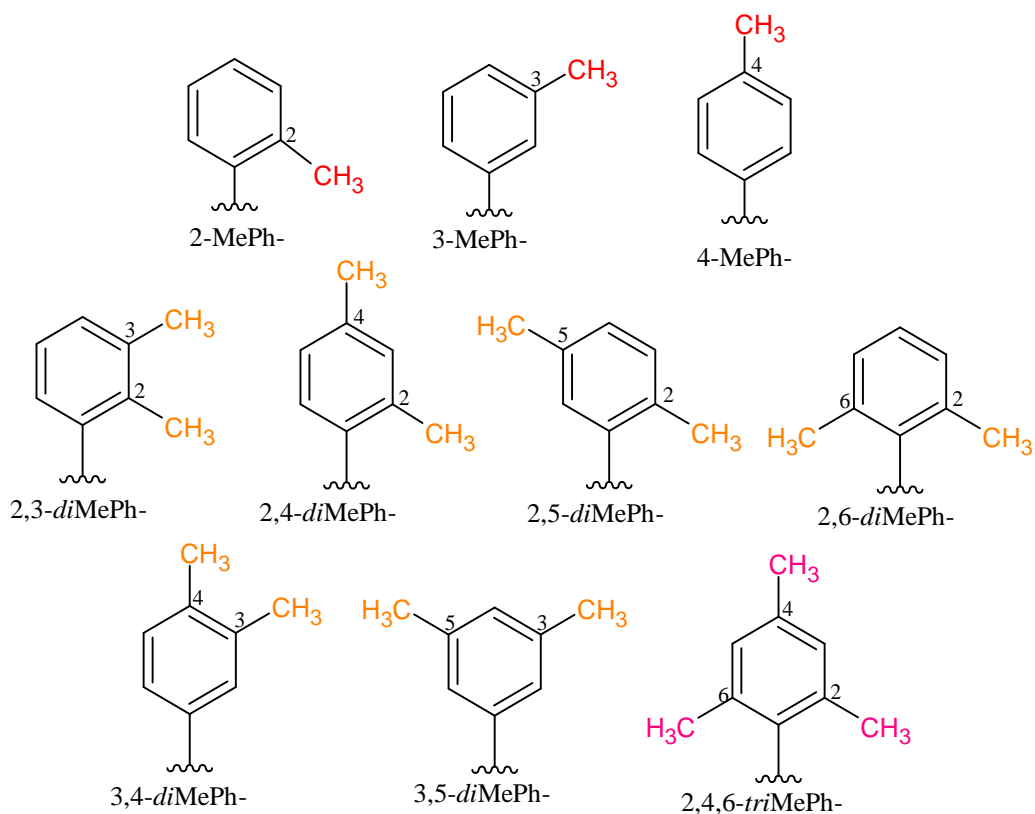


Fig. 3.2. Formulele de structură a N-substituenților a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor proiectate

Analiza literaturii științifice privind sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor proiectate, a permis structurarea unei scheme optimizate de sinteză, prin succesiunea unor reacții chimice, utilizând materie primă accesibilă, cu toxicitate moderată și condiții optime de executare (a se vedea figura 3.3.):

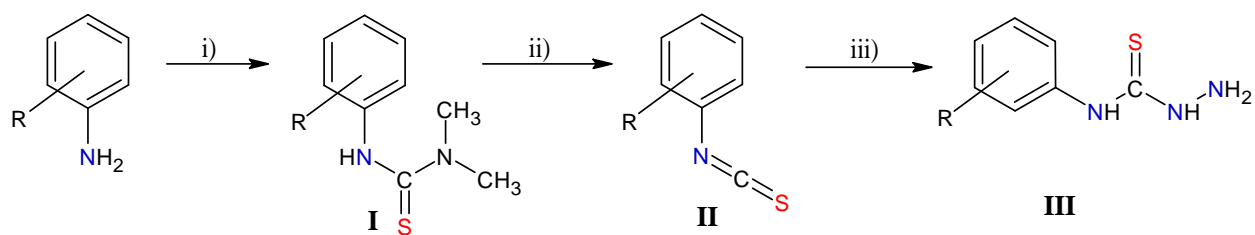


Fig. 3.3. Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor, R = -CH₃

i) Sinteza N'-aril-N,N-dimetiltioureelor a fost efectuată la interacțiunea dintre aminele aromatice corespunzătoare cu disulfura de tetrametiluram (DTMT);

ii) Sinteza n-metilfenilizotiocianatilor a fost efectuată prin descompunerea N'-aril-N,N-dimetiltioureelor la acțiunea acidului clorhidric HCl concentrat;

iii) Sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor a fost efectuată la interacțiunea n-metilfenilizotiocianatilor cu monohidratul de hidrazină.

Pe lângă aspectele structurale însă, un rol nu mai puțin important îl joacă și proprietățile fizico-chimice ale compușilor noi creați. Lipofilicitatea este o proprietate fizico-chimică posibil cea mai importantă a unui potențial medicament, deoarece afectează absorbția compusului sau așa numita penetrare membranară, interacțiunile farmacofor-receptor, metabolismul moleculelor, dar și toxicitatea [144]. LogP sau coeficientul de partiție octanol-apă, este un coeficient utilizat la etapa inițială în procesul de dezvoltare sau proiectare rațională a compușilor farmacologici, dar și un parametru cheie în studiile teoretice [145]. LogP este o componentă esențială a “regulii lui Lipinski” [79], care poate fi determinat atât practic, în laborator, cât și teoretic prin intermediul programelor computaționale. Anexa 2 p.153.

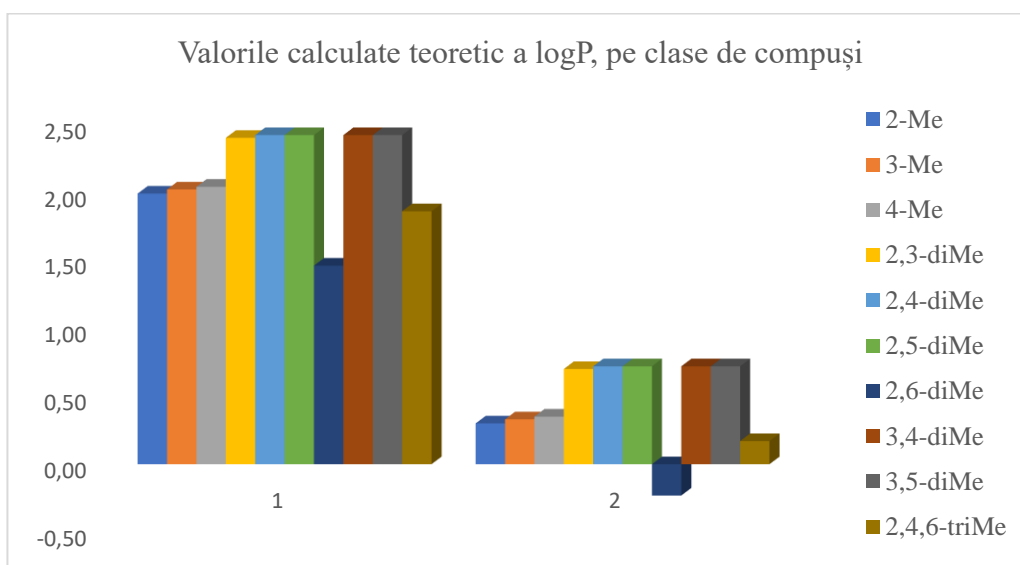


Fig. 3.4. Valorile calculate teoretic a logP prin programul Molinspiration, pe clase de compuși

Unde 1 sunt (N'-(n-metilfenil)-N, N-dimetiltioureele) și 2 sunt (N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotioamidele) proiectate. Valorile calculate teoretic, prin programul Molinspiration, detaliate sunt date în Anexa 2, p. 153.

În urma evaluării teoretice a logP, coeficientului de lipofilicitate a compușilor proiectați pentru sinteză, a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelelor (1) și N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotioamidelor (2), se poate concluce că toți compușii au un coeficient de lipofilicitate optim, cuprins în limitele -0.5-2.5. De menționat că au fost evaluați toți parametri stipulați în “regula lui Lipinski” și toate valorile obținute se încadrează în limitele recomandate. (Anexa 2, p. 153). Aceste rezultate sugerează că compușii proiectați pentru sinteză manifestă potențial biologic.

3.2. Sinteza N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor

Cercetările asupra interacțiunii DTMT cu arilaminele, au elucidat factorii care influențează asupra vitezei și randamentului de reacție, precum natura solventului, cantitatea reagenților și temperatura la care se petrece reacția. Conform studiilor abordate, în solvenți polari dar și la o temperatură de peste 80 °C, reacția decurge cu o viteză mai mare. În consecință, în calitate de solvent a fost luat n-propanolul, deoarece este polar și are temperatura de fierbere 97-98 °C dar și solubilitatea scăzută a sulfului format în procesul de reacție în calitate de produs secundar. Ce ține de cantitate reagenților, din studiile efectuate pentru a mări randamentul, DTMT se va lua în exces, din cauza reacțiilor secundare care se petrec. Sinteza N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69) a fost efectuată având ca materie primă aminele aromatice corespunzătoare, conform schemei de sinteză generale:

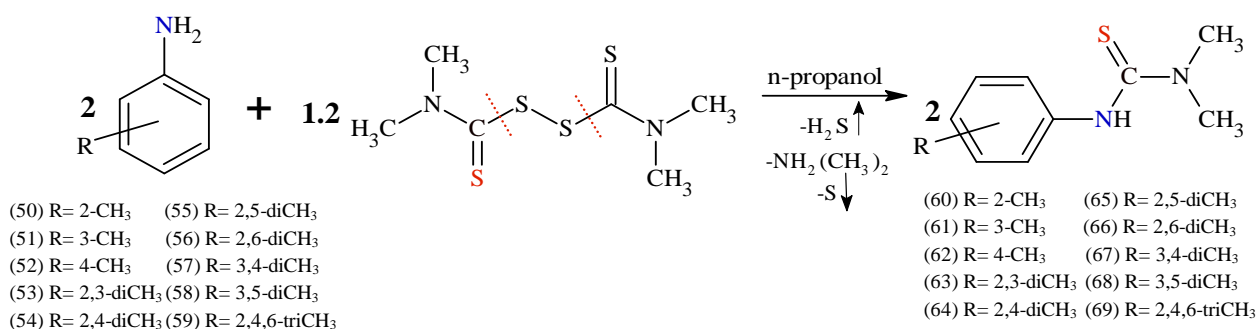


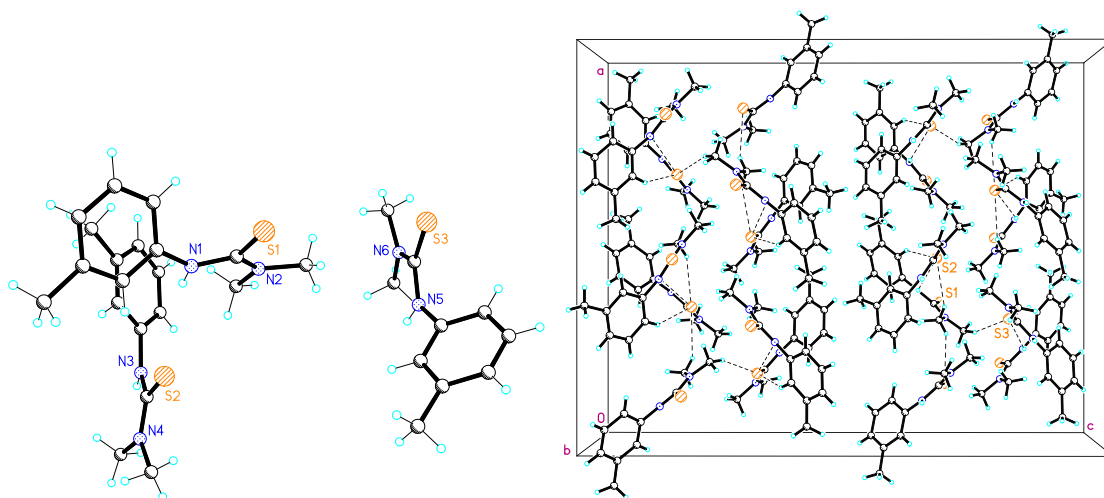
Fig. 3.5. Schema de sinteză a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69) [146]

Ținând cont de cele relatate anterior, amestecul format din n-metil-anilină și disulfură de tetrametiltiuram (DTMT), raportul molar de 2 :1.2, a fost dizolvat în propan-1-ol (calculat de 1g de substanță - 5 ml solvent), adăugat într-un balon termorezistent, ajustat cu un refrigerent și plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă. Amestecul a fost refluxat timp de 2-4 ore (în dependență de structura n-metil-anilinei (50-59)), (a se vedea Tabelul 2.1., p. 78), la temperatura de 97-100 °C. După un timp (20-30 min.) a fost semnalată schimbarea culorii amestecului (a devenit brun) și apariția unui precipitat gălbui (sulf). Sfârșitul reacției a fost determinat cu ajutorul CSS (cromatografiei în strat subțire), eluent benzen : acetona (5:1). Soluția fierbinte a fost decantată, pentru a îndepărta o parte din sulful depus sub formă de precipitat, apoi plasată în baie cu gheață pentru răcire și precipitare. Tioureea formată a fost filtrată prin pâlnia Büchner cu disc fretat și spălată cu propan-1-ol rece. Ulterior pentru a separa resturile de sulf, tioureea a fost dizolvată în soluția de HCl, filtrată și apoi neutralizată cu soluție de NaHCO₃, la pH=7. Cristalele formate au fost filtrate prin pâlnia Büchner cu disc fretat, apoi recristalizate din etanol rece și

uscate în exsicator cu vid. N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureeele reprezintă substanțe cristaline de culoare albă.

(60) *N,N*-dimetil-*N'*-(2-metilfenil)tioureea [*2-MePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. =136-138 °C; $\eta = 88\%$. *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3246, m, (N-H); 2982, s, (C-H, CH₃, *as*); 2913, s, (C-H, CH₃); 1602, m, (C=C, aril); 1579, p, (δ , N-H); 1519, m, (C=C, aril); 1432, m, (δ , CH₃, *as*); 1369, m, (δ , CH₃); 1329, p, (C-N); 1257, m, (C=S); 1107, m; 1056, m; 866, p; 848, m, (C=S); 723, p, (N-(CH₃)₂).

(61) *N,N*-dimetil-*N'*-(3-metilfenil)tioureea [*3-MePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. =140-141 °C; $\eta = 80\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3260, m, (N-H); 3047, s, (C-H, CH₃, *as*); 2918, s, (C-H, CH₃); 1605, m, (C=C, aril); 1589, p, (δ , N-H); 1539, m, (C=C, aril); 1447, m, (δ , CH₃, *as*); 1369, m, (δ , CH₃); 1318, p, (C-N); 1260, m, (C=S); 1134, m; 1056, m; 897, p; 864, m, (C=S); 711, p, (N-(CH₃)₂).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(1), 1.4207, N(1)-C(S), 1.3534, **C=S, 1.6930**, C(S)-N(2), 1.3454, N(2)-C(CH₃), 1.4569 și 1.4581, C(ph)-C(3-CH₃), 1.5059.

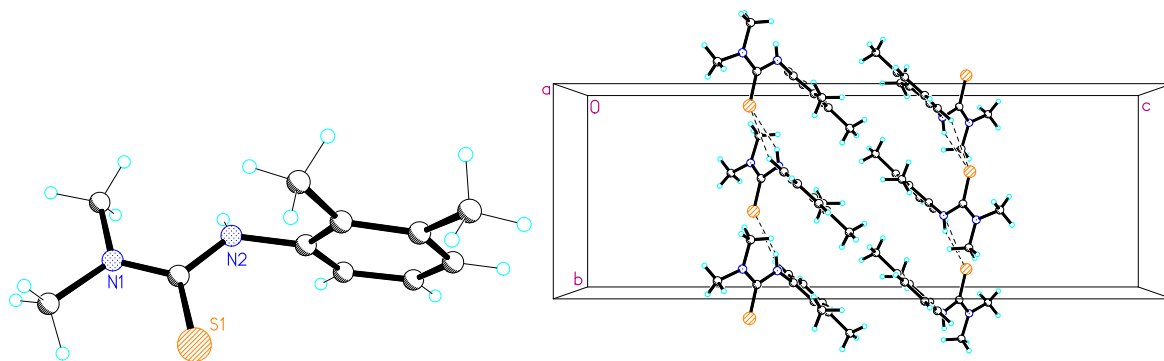
Datele cristalografice și unii parametri în Anexa 1, p. 152.

Fig. 3.6. Structura moleculară a *N,N*-dimetil-*N'*-(3-metilfenil)tioureei (61) [*3-MePhTio*] [147]

(62) *N,N*-dimetil-*N'*-(4-metilfenil)tioureea [*4-MePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 166-168 °C; $\eta = 90\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3273, m, (N-H); 3023, s, (C-H, CH₃); 2917, s, (C-H, CH₃); 1591, m, (C=C, aril); 1533, p, (δ , N-H); 1514, m, (C=C, aril); 1411, m, (δ , CH₃); 1372, m, (δ , CH₃); 1322, p, (C-N); 1253, m, (C=S); 1137, m; 1057, m; 828, p; 816, m, (C=S); 722, m, (-N(CH₃)₂); *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 8.80 (s, 1H, NH); 7.12 (d, 2H, Aril); 6.82 (d, 2H, Aril); 3.66 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.21 (s, 3H, *p*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN*

(100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 182.5 (C=S); (Aril): 134.76, 132.7, 128.1, 127.3, 126.8; 41.2 (N-(CH₃)₂); 21.05 (*p*-CH₃) [71].

(63) *N'*-(2,3-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [2,3-diMePhTio]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 170-172 °C; η = 83 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3267, m, (N-H); 2980, s, (C-H, CH₃); 2913, s, (C-H, CH₃); 1600, m, (C=C, aril); 1528, p, (δ , N-H); 1472, m, (C=C, aril); 1403, m, (δ , CH₃); 1370, m, (δ , CH₃); 1316, p, (C-N); 1261, m, (C=S); 1138, m; 1055, m; 883, p; 810, m, (C=S); 727, m, (N(CH₃)₂); *Spectrul ¹H RMN* (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 8.8 (s, 1H, NH); 6.8-7 (m, 3H, Aril); 3.45 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.24 (s, 3H, *m*-CH₃); 2.03 (s, 3H *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN* (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 181.9 (C=S); (Aril): 137.1, 134.7, 128, 127.2, 125.3; 41.1 (N-(CH₃)₂); 20.6 (*m*-CH₃); 14.7 (*o*-CH₃) [146].

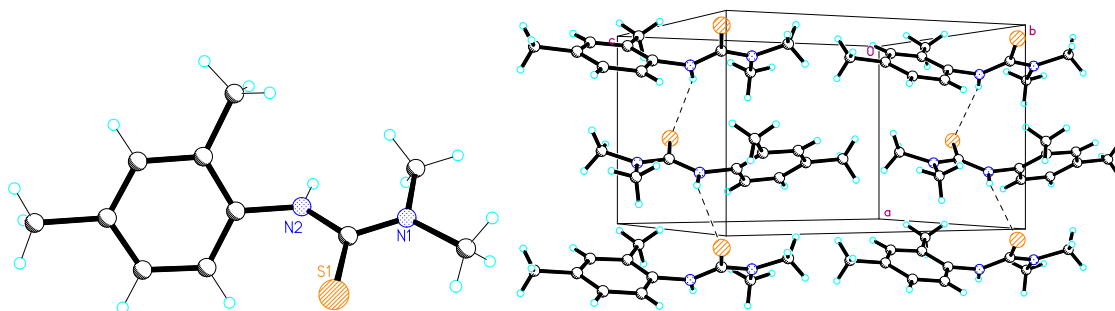


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(2), 1.4320, N(2)-C(S), 1.3625, C=S, **1.6805**, C(S)-N(1), 1.3465, N(1)-C(CH₃), 1.4684 și 1.4587, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4926, C(ph)-C(3-CH₃), 1.5103.

Datele cristalografice și unii parametri în Anexa 1, p. 152.

Fig. 3.7. Structura moleculară a *N'*-(2,3-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureei (63) [2,3-diMePhTio] [147]

(64) *N'*-(2,4-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [2,4-diMePhTio]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 160-162 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3224, m, (N-H); 2976, s, (C-H, CH₃); 2914, s, (C-H, CH₃); 1581, m, (C=C, aril); 1522, p, (δ , N-H); 1434, m, (C=C, aril); 1403, m, (δ , CH₃); 1372, m, (δ , CH₃); 1322, p, (C-N); 1275, m, (C=S); 1156, m; 1060, m; 887, p; 827, m, (C=S); 731, m, (-N-(CH₃)₂); *Spectrul ¹H RMN* (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 8.76 (s, 1H, NH); 6.9-7.01 (m, 3H, Aril); 3.26 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.27 (s, 3H, *p*-CH₃); 2.12 (s, 3H *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN* (100MHz/(CD₃)₂SO) δ (ppm): 182.07 (C=S); (Aril): 137.76, 135.7, 131.1, 129.3, 126.8; 41.1 (N-(CH₃)₂); 21.05 (*p*-CH₃); 18.3 (*o*-CH₃) [146].



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(2), 1.4453, N(2)-C(S), 1.3504, C=S, **1.6931**, C(S)-N(1), 1.3548, N(1)-C(CH₃), 1.4397 și 1.4580, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5083, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5295.

Datele cristalografice și unii parametri în Anexa 1, p.152.

Fig. 3.8. Structura moleculară a *N'*-(2,4-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureei (64)
[2,4-diMePhTio] [147]

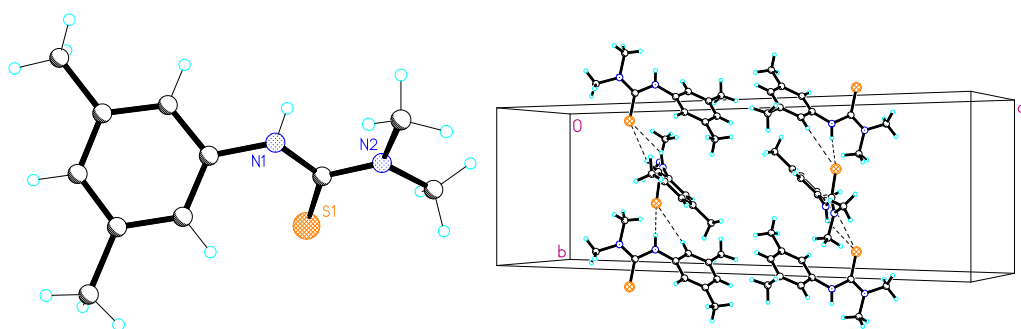
(65) *N'*-(2,5-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [*2,5-diMePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 145-147 °C; $\eta = 81$ %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3224, m, (N-H); 2979, s, (C-H, CH₃); 2911, s, (C-H, CH₃); 1571, m, (C=C, aril); 1522, p, (δ , N-H); 1436, m, (C=C, aril); 1365, m, (δ , CH₃); 1335, m, (δ , CH₃); 1289, s, (C-N); 1265, m, (C=S); 1143, m; 1061, m; 877, p; 812, m, (C=S); 727, m, (N-(CH₃)₂); *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 8.75 (s.1H, NH); 6,8-7,12 (m, 3H, Aril); 3.45 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.26 (s, 3H, *m*-CH₃); 2.12 (s, 3H, *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 181.9 (C=S); (Aril): 140.0, 135.1, 133.2, 130.3, 129.1, 127.4; 41.1 (N-(CH₃)₂); 20.8 (*m*-CH₃); 17.9 (*o*-CH₃) [146].

(66) *N'*-(2,6-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [*2,6-diMePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 140-142 °C; $\eta = 79$ %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3231, m, (N-H); 2977, s, (C-H, CH₃); 2920, s, (C-H, CH₃); 1590, m, (C=C, aril); 1516, p, (δ , N-H); 1445, m, (C=C, aril); 1366, m, (δ , CH₃); 1330, m, (δ , CH₃); 1263, s, (C-N); 1234, m, (C=S); 1133, m; 1093, m; 879, p; 814, m, (C=S); 714, m, (N-(CH₃)₂); *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 8.80 (s, 1H, NH); 7.48-7.72 (m, 3H, Aril); 3.42 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.27 (s, 6H, *o*-CH₃)₂; *Spectrul ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO)* δ (ppm): 176.8 (C=S); (Aril): 135.5, 129.6; 128.8; 128.3; 126.7; 125.6; 40.6 (N-(CH₃)₂); 19.0 (*o*-CH₃)₂ [146].

(67) *N'*-(3,4-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [*3,4-diMePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 180-182 °C; $\eta = 80$ %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3274, m, (N-H); 2961, s, (C-H, CH₃); 2915, s, (C-H, CH₃); 1586, m, (C=C, aril); 1532, p, (δ , N-H); 1439, m, (C=C, aril); 1370, m, (δ , CH₃); 1316, m, (δ , CH₃); 1258, s, (C-N); 1214, m, (C=S); 1136, m; 1056, m; 872, p; 822,

m, (C=S); 720, m, (N-(CH₃)₂); *Spectrul* ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 8.88 (s, 1H, NH); 6.8-7.2 (m, 3H, Aril); 3.25 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.28 (s, 3H, *p*-CH₃); 2.18 (s, 3H, *m*-CH₃); *Spectrul* ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 181.8 (C=S); (Aril): 135.1, 132.2; 129.0; 127.3; 125.0; 123.1; 41.2 (N-(CH₃)₂); 19.9 (*p*-CH₃); 19.3 (*m*-CH₃) [146].

(68) *N'*-(3,5-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureea [*3,5-diMePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 190-192 °C; η = 92 %; *Spectrul* FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3263, m, (N-H); 2942, s, (C-H, CH₃, *as*); 2916, s, (C-H, CH₃, *sim*); 1595, m, (C=C, aril); 1542, p, (δ, N-H); 1429, m, (C=C, aril); 1371, m, (δ, CH₃); 1312, m, (δ, CH₃); 1263, s, (C-N); 1224, m, (C=S); 1135, m; 1058, m; 882, p; 840, m, (C=S); 721, m, (N-(CH₃)₂); *Spectrul* ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 8.81 (s, 1H, NH); 6.74-6.89 (m, 3H, Aril); 3.25 (s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.24 (s, 6H, *m*-CH₃)₂; *Spectrul* ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 181.6 (C=S); (Aril): 141.1; 137.0; 136.1; 126.4; 126.1; 123.0; 41.4 (N-(CH₃)₂); 21.4 (*m*-CH₃)₂ [146].

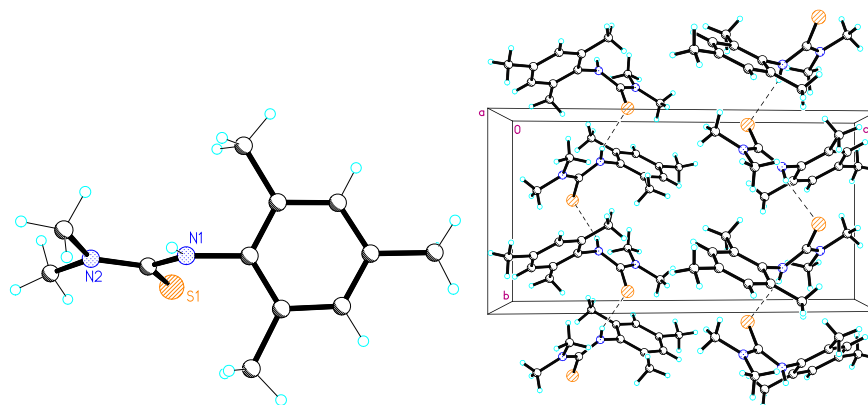


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(2), 1.4146, N(2)-C(S), 1.3627, C=S, 1.6766, C(S)-N(1), 1.3316, N(1)-C(CH₃), 1.4606 și 1.4557, C(ph)-C(3-CH₃), 1.5237, C(ph)-C(5-CH₃), 1.4974.

Datele cristalografice și unii parametri în Anexa 1, p.152.

Fig. 3.9. Structura moleculară a *N'*-(3,5-dimetilfenil)-*N,N*-dimetiltioureei (68) [*3,5-triMePhTio*] [147]

(69) *N,N*-dimetil-*N'*-(2,4,6-trimetilfenil)tioureea [*2,4,6-triMePhTio*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 175-176 °C; η = 83 %; *Spectrul* FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3200, m, (N-H); 2970, s, (C-H, CH₃); 2915, s, (C-H, CH₃); 1603, m, (C=C, aril); 1521, p, (δ, N-H); 1434, m, (C=C, aril); 1369, m, (δ, CH₃); 1334, m, (δ, CH₃); 1263, s, (C-N); 1240, m, (C=S); 1133, m; 1057, m; 852, p; 840, m, (C=S); 741, m, (N-(CH₃)₂); *Spectrul* ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 8.82 (s, 1H, NH); 6.90 (s, 1H, Aril); 6.64 (s, 1H, Aril); 3.34(s, 6H, N-(CH₃)₂); 2.25 (s, 6H, *o*-CH₃)₂; 2.18 (s, 6H, (*o*-CH₃)₂); *Spectrul* ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 182.0 (C=S); (Aril): 141.8; 136.8; 136.0; 128.2; 127.9; 126.2; 41.1 (N-(CH₃)₂); 18.5 (*p*-CH₃)₂; 14.4 (*o*-CH₃)₂ [71].



Unele distanțe interatomice, în Å: C(phenil)-N(2), 1.4349, N(2)-C(S), 1.3516, C=S, **1.6916**, C(S)-N(1), 1.3410, N(1)-C(CH₃), 1.4647 și 1.4547, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5068, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5053, C(ph)-C(6-CH₃), 1.5036. Datele cristalografice și unii parametri în Anexa 1, p.152.

Fig. 3.10. Structura moleculară a *N,N*-dimetil-*N'*-(2,4,6-trimetilfenil)tioureei (69) [2,4,6-triMePhTio] [147]

Tabelul 3.1. Caracteristicile de bază a reacției dintre *n*-metilaniline (50-59) și DTMT

Numărul	Cifrul	Randamentul, %	Timpul de reacție, ore
60	[2-MePhTio]	88	3.5
61	[3-MePhTio]	80	2
62	[4-MePhTio]	90	3
63	[2,3-diMePhTio]	90	3.5
64	[2,4-diMePhTio]	81	3
65	[2,5-diMePhTio]	80	3.5
66	[2,6-diMePhTio]	79	4
67	[3,4-diMePhTio]	80	3.5
68	[3,5-diMePhTio]	92	2
69	[2,4,6-triMePhTio]	83	4

Confirmarea structurii compușilor sintetizați a fost efectuată prin intermediul metodelor spectrale de analiza: FT-IR, ¹H-, ¹³C RMN și difracției de raze X pe monocristal. În spectrele FT-IR ale *N'*-(*n*-metilfenil)-*N,N*-dimetiltioureeilor (60-69), au fost evidențiate prezența benzilor de absorbție caracteristice grupării -N-H în diapazonul 3200-3280 cm⁻¹ și a grupei -C=S în intervalul 1130-1140 cm⁻¹ [148].

Studiile *spectrelor* 1H RMN, au elucidat că în câmp puternic ecranat se conțin semnale singlet a grupărilor metil din inelul benzenic în intervalul 2.10-2.22 ppm și semnalele a 6 protoni din gruparea -N-(CH₃)₂ în intervalul 3.2-3.45 ppm. Semnalele din intervalul 6.8-7.2 ppm, confirmă prezența protonilor din inelul benzenic, iar protonul de la gruparea -N-H, a fost semnalat în intervalul 8.72-8.88 ppm. În *spectrele* ^{13}C RMN se conțin semnale ale grupelor metil din inelul benzenic în intervalul 14.1-20.8 ppm, iar a grupelor metil din gruparea marginală -N-(CH₃)₂, în intervalul 40.6-41.2 ppm. În intervalul 125-137 ppm sunt prezente semnalele atribuite atomilor de carbon din inelul benzenic. Iar un semnal puternic în intervalul 181.2-182.1 ppm confirmă prezența grupei -C=S. Difrakția de *raze X* pe monocristal ale unor N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureii [147], efectuate în premieră, demonstrează structura moleculară și indică că molecule sunt neplanare, dat fiind faptul că există rotația inelului benzenic față de restul moleculei. Împachetarea în cristal a moleculei este determinată de existența legăturilor de hidrogen intermoleculare de tipul -N¹-H···S, în compușii (64) și (69), formând lanțuri de tip zig-zag. În compusul (63) împachetarea în cristal este determinată de legături de hidrogen intermoleculare de tipul -N¹-H···S···H-N¹- și interacțiuni de tip „π-π stacking” între inelele fenil. Pe când în compusul (61) există 3 tipuri de legături de hidrogen: de tipul -N¹-H···S···H-N¹-, -N²-H···S···H-C (N-(CH₃)₂) și -N¹-H···S···H-C² (aril).

3.2.1. Activitate antioxidantă a N'-(n-metilfenil)-N, N-dimetiltioureilor sintetizate

Radicalii liberi sunt molecule, ioni sau atomi cu electroni impari în stratul electronic exterior și pot deveni toxici când se formează în exces în organismul uman. Nivelurile ridicate de radicali liberi pot provoca leziuni bimoleculare care pot duce la boli cum ar fi: cancer, diabet, boli cardiovasculare, boli autoimune, tulburări neurodegenerative și îmbătrânire etc. [121; 122]. Antioxidanții sunt compuși importanți care neutralizează radicalii liberi, protejând astfel celulele sănătoase de leziuni oxidative. Din acest motiv, cercetări considerabile au fost direcționate spre identificarea de antioxidanți noi pentru a preveni daunele induse de ei [151].

Datorită faptului că în scheletul N,N-dimetiltioureilor este prezentă gruparea C=S, care are capacitatea de inhibare a radicalii liberi, N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureile sintetizate (60-69), (Anexa 3, p. 156) au fost testate pentru activitatea antioxidantă prin metoda ABTS.

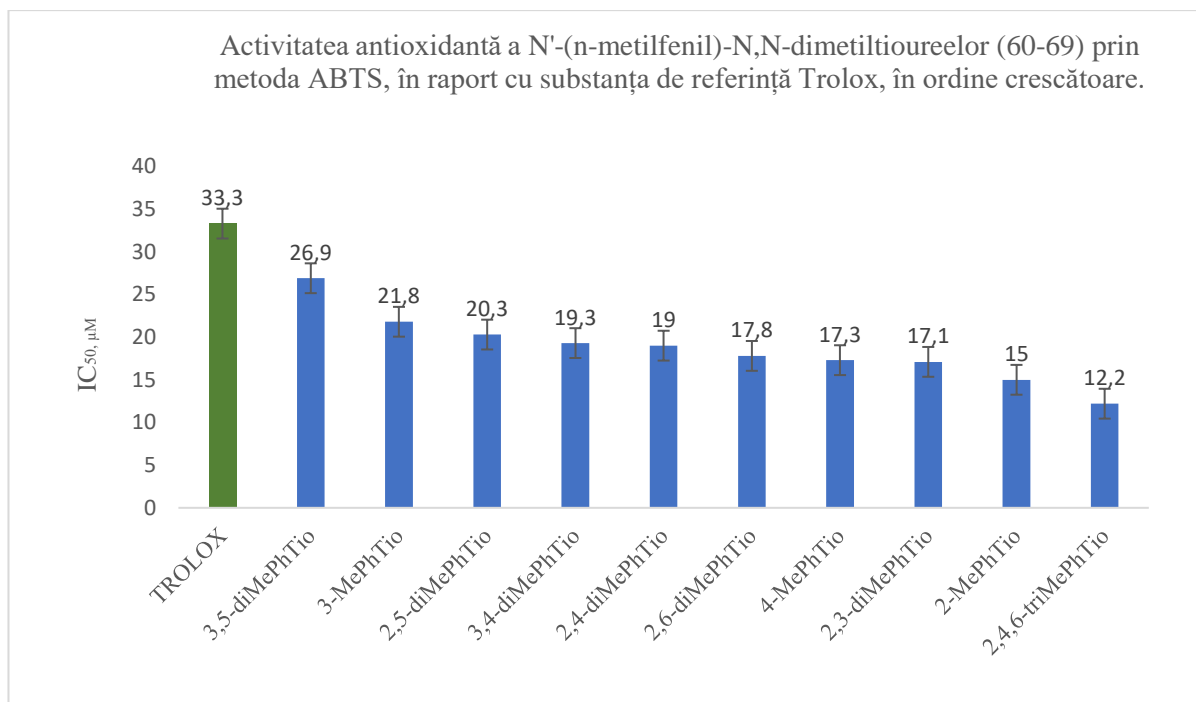


Fig. 3.11. Rezultatele testării activității antioxidante a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69) prin metoda ABTS, în ordine crescătoare.

Rezultatele sunt redată în Anexa 3, p. 156.

În urma studiului asupra potențialului antioxidant al N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69), din diagramă (a se vedea figura 3.11.), se poate conchide că toate substanțele analizate prin metoda ABTS, manifestă activitate antioxidantă înaltă. De menționat este faptul că cea mai mare valoare pentru activitatea de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+} cu concentrația semimaximală, IC₅₀ = 12.2; 15 și 17.1 μM au manifestat N'-(2,4,6-trimetil)-N,N-dimetiltiureea (69), N'-(2-metilfenil)-N,N-dimetiltiureea (60) și N'-(2,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiureea (64) respectiv, în compoziția cărora, sunt grupe metil în inelul benzenic, a câte 1, 2 și 3 în pozițiile *orto*- și *para*-. Concentrația de inhibare a cation-radicalului, cu valoarea IC₅₀ = 26.9 μM a revenit N'-(3,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiureei (68), fapt care ar putea fi explicat prin stereochemia compusului, unde ambele grupe metil în inelul benzenic, sunt în poziția *meta*-. Rezultate asemănătoare sunt și pentru compusul N'-(3-metil)-N,N-dimetiltiureea (61), care s-ar datora prezenței legăturilor intramoleculare (a se vedea fig. 3.5. și 3.8.) care ar minimiza implicarea atomului de sulf.

3.3. Sinteza n-metilfenilizotiocianatilor

Din materialele investigate, sinteza arilizotiocianatilor poate fi efectuată prin descompunerea N'-(aril)-N,N-dimetiltioureelelor trisubstituite la tratarea cu agenți de acilare, precum clorură de hidrogen și acizi minerali, la temperaturi înalte, timp de 3-5 ore. În rezultatul reacției, tioureele elimină dimetilamina și se transformă în izotiocianati [152]. Pentru obținerea n-metilfenilizotiocianatilor, a fost selectată metoda cu utilizarea acidului clorhidric concentrat $\text{HCl}_{\text{conc.}}$, deoarece este accesibil, ieftin în comparație cu alți reagenți alternativi dar și sarea formată este ușor solubilă și nu creează impedimente pentru separarea produsul final.

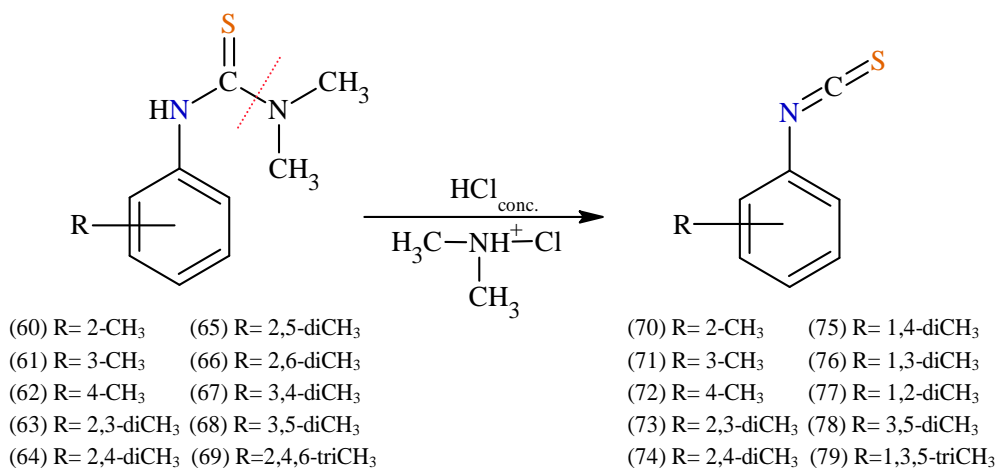


Fig. 3.12. Schema generală de sinteză a n-metilfenilizotiocianatilor (70-79)

Amestecul format din N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltiouree și $\text{HCl}_{\text{conc.}}$, raport molar 1:1, solvent toluen, a fost adăugată într-un balon cu fundul rotund, termorezistent, ajustat cu refrigerent, plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă. Compoziția a fost refluxată timp de 2-4 ore (în dependență de structura tioureei, a se vedea Tabelul 3.2., p. 82), la temperatura de 97-100 °C cu agitare continuă. În timp (după 15-20 minute) a fost semnalată dizolvarea tioureei, iar sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS, eluent benzen : acetonă (5:1). Amestecul a fost transferat într-o pâlnie de separe, de unde a fost extras n-metilfenilizotiocianatul cu benzen (de 3 ori) și apoi a fost concentrat solventul. n-metilfenilizotiocianatii au fost purificați prin distilare fracționată în vid iar în cazul substanțelor cristaline, au fost filtrate și purificate prin recristalizare cu 1,4-dioxan. De remarcat, n-metilfenilizotiocianatii sintetizați (70-79) reprezintă substanțe cu miros specific dulceag.

- (70) *1-izotiocianato-2-metilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben pal; p. f. = 131 °C/12 mmHg; $\eta = 82 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2980, m ; 2922, m; 2174, s; 2062, p, (NCS); 1595, m; 1579, p; 1484, s; 1458, m (C=C, aril); 1380, m (CN); 1289, m, (C=S); 857, p; 828, m (C=S).
- (71) *1-izotiocianato-3-metilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben-pal; p. f. = 125 °C/12 mmHg; $\eta = 79 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2978, m; 2919, m; 2165, s; 2055, p, (NCS); 1603, m; 1582, p; 1494, m; 1483, m (C=C, aril); 1378, m, (CN); 1275, m, (C=S); 897, p; 835, m, (C=S).
- (72) *1-izotiocianato-4-metilbenzen*: substanță cristalină de culoare galben-pal; p. t. = 24 - 25 °C; p. f. = 105 °C/12 mmHg; $\eta = 85 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2982, m; 2917, m; 2172, s; 2071, p, (NCS); 1605, m; 1573, p; 1471, s, (C=C, aril); 1372, m, (CN); 1268, m, (C=S); 890, p; 827, m, (C=S).
- (73) *1-izotiocianato-2,3-dimetilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben-pal; p. f. = 130 °C/14 mmHg; $\eta = 80 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2985, m; 2915, m; 2197, s; 2080, p, (NCS); 1603, m; 1577, p; 1461, m, (C=C, aril); 1382, m, (CN); 1288, m, (C=S); 890, p; 825, m, (C=S) [146].
- (74) *1-izotiocianato-2,4-dimetilbenzen*: substanță cristalină de culoare alb-gălbuie; p. f. = 155 °C/14 mmHg; p. t. = 26-28 °C; $\eta = 75 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2985, m; 2915, m; 2165, s; 2082, p, (NCS); 1604, m; 1569, p; 1437, p, (C=C, aril); 1377, m, (CN); 1286, m, (C=S); 895, p; 812, m, (C=S) [117].
- (75) *2-izotiocianato-1,4-dimetilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben-pal; p. f. = 137 °C/16 mmHg; $\eta = 72 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2978, m; 2919, m; 2155, s; 2062, p, (NCS); 1613, m; 1575, p; 1447, m (C=C, aril); 1378, m, (CN); 1276, m, (C=S); 870, p; 808, m, (C=S) [146].
- (76) *2-izotiocianato-1,3-dimetilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben-pal; p. f. = 155 °C/30mmHg; $\eta = 68 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2980, m; 2918, m; 2149, s; 2068, p, (NCS); 1591, m; 1569, p; 1464, m, (C=C, aril); 1378, m, (CN); 1260, m, (C=S); 895, p; 812, m, (C=S) [146].
- (77) *4-izotiocianato-1,2-dimetilbenzen*: substanță lichidă de culoare galben-verzuie; p. f. = 147 °C/25mmHg; $\eta = 70 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2971, m; 2919, m; 2149, m; 2201, m; 2061, p, (NCS); 1608, m; 1572, p; 1491, m, (C=C, aril); 1382, m, (CN); 1263, m, (C=S); 868, p; 829, m, (C=S) [146].
- (78) *1-izotiocianato-3,5-dimetilbenzen*: substanță cristalină de culoare alb-gălbuie; p. t. = 145-147 °C; $\eta = 75 \%$; *Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm^{-1})*: 2961, m; 2916, m; 2149, m; 2214, s; 2055, p, (NCS); 1602, m; 1465, p, (C=C, aril); 1376, m, (CN); 1261, m, (C=S); 889, p; 841, m, (C=S) [146].

(79) 2-izotiocianato-1,3,5-trimetilbenzen: substanță cristalină de culoare galben-intens; p. t. = 63-65 °C; $\eta = 78\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 2972, m; 2910, m; 2149, m; 2197, s; 2086, p, (NCS); 1582, m; 1472, p, (C=C, aril); 1377, m, (CN); 1230, m, (C=S); 889, p; 854, m, (C=S) [153].

Obținerea n-metilfenilizotiocianaților (70-79) prin descompunerea N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69), a fost confirmată prin analiza spectrală FT-IR. În spectrele FT-IR a fost semnalată prezența unei benzi de absorbție caracteristice, în intervalul de 2000-2090 cm^{-1} care este atribuită grupării -N=C=S.

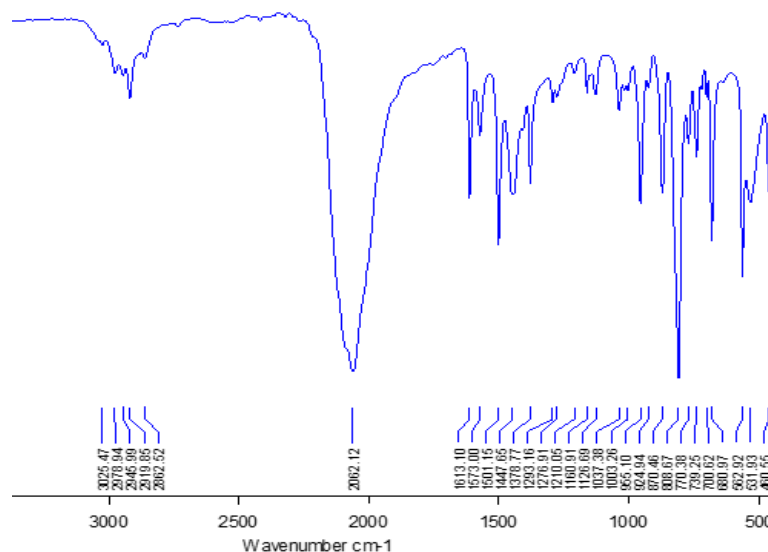


Fig. 3.13. *Spectrul FT-IR* al 2-izotiocianato-1,3-dimetilbenzen-ului (79)

Tabelul 3.2. Caracteristicile de bază ale reacției de obținere a n-metilfenilizotiocianaților (70-79)

Numărul	Denumirea	Randamentul, %	Timpul de reacție, ore
(70)	1-izotiocianato-2-metilbenzen	80	3.5
(71)	1-izotiocianato-3-metilbenzen	79	3
(72)	1-izotiocianato-4-metilbenzen	85	2.5
(73)	1-izotiocianato-2,3-dimetilbenzen	80	3
(74)	1-izotiocianato-2,4-dimetilbenzen	75	3
(75)	2-izotiocianato-1,4-dimetilbenzen	72	2.5
(76)	2-izotiocianato-1,3-dimetilbenzen	68	3.5
(77)	4-izotiocianato-1,2-dimetilbenzen	70	3
(78)	1-izotiocianato-3,5-dimetilbenzen	75	3
(79)	2-izotiocianato-1,3,5-trimetilbenzen	78	3

Din rezultatele (a se vedea Tabelul 3.2) ce țin de timpul de reacției de descompunere a N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor (60-69) la acțiunea acidului clorhidric concentrat, cu formarea n-metilfenilizotiocanaților (70-79), se poate concluda că un timp de reacție mai îndelungat de 3.5 ore a fost în cazul obținerii compușilor (70) și (76). Acest fapt poate fi explicat prin efectul steric și anume prezenței radicalilor metil în poziția 2 sau *ortho*-, în inelul benzenic.

3.4. Sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor

Sinteza N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor a fost realizată prin interacțiunea n-metilfenilizotiocanaților (70-79) cu monohidratul de hidrazină, raport molar al reactanților de 1:1.2. Dat fiind faptul că, conform datelor științifice, N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele care se formează posedă nucleofilicitate înaltă, pentru a evita formarea di-tioureei 1.6-disubstituite, reacția s-a petrecut cu agitare energetică și adăugarea soluției de n-metilfenilizotiocanat la soluția de monohidrat de hidrazină. Sinteza a fost efectuată conform schemei generale:

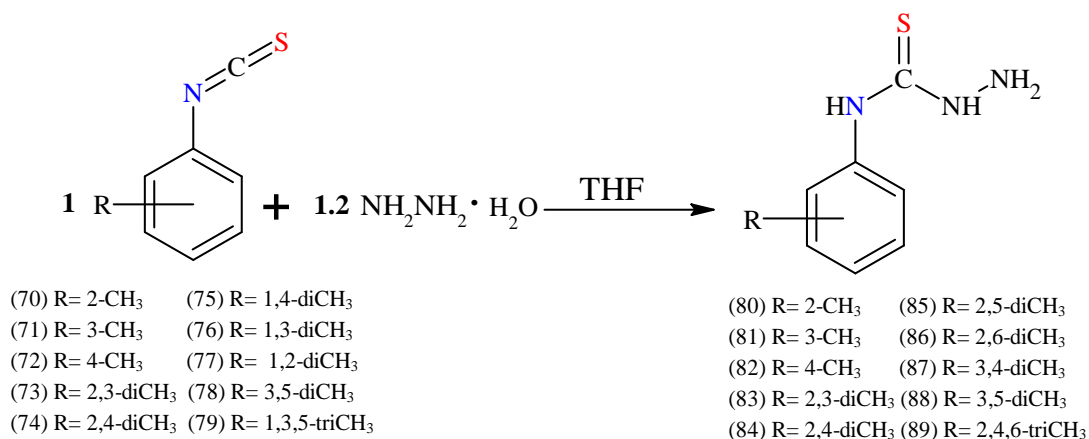


Fig. 3.14. Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89)

Sinteza a fost efectuată într-un balon cu două gâturi înzestrat cu agitator electric și pâlnie de picurare, plasat într-o baie cu gheață, în care a fost adăugat 1.2 mol monohidrat de hidrazină prealabil dizolvată în 5 ml THF. Reacția este exotermă, de aceea soluția de monohidrat de hidrazină a fost agitată timp de 20 min, pentru a fi răcită. În pâlnia de picurare a fost adăugat 1 mol de n-metilfenilizotiocanat, prealabil dizolvat în 5 ml THF, ulterior la agitare energetică, a fost adăugat în picătură la soluția de monohidrat de hidrazină. După care, amestecul a fost agitat încă timp de 20 min, apoi a fost îndepărtată baia cu gheață și agitat în continuare la temperatura camerei timp de 1.5 ore. Sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS, eluent benzen : acetonă (5:1). Cristalele obținute au fost filtrate prin pâlnia Büchner cu disc fretat și spălate cu etanol rece. În vederea obținerii unui produs de puritate înaltă, N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (80-89) au fost recristalizate din etanol, ulterior uscate în exsicator cu vid. Veridicitatea compușilor

obținuți a fost confirmată prin metode spectrale: *FT-IR*, ^1H -, ^{13}C RMN și difracției de raze *X* pe monocristal.

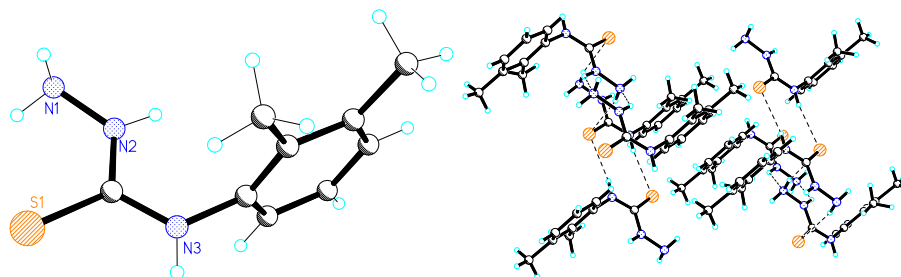
(80) *N*-(2-metilfenil)hidrazincarbotioamida [*2-MePhTSC*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 138-140 °C; η = 86 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3294, m, ($\text{N}^2\text{-H}$); 3187, s, (N-H); 2942 s, (CH , Ar); 1633, m, (C=C); 1581, m, (NH); 1520, p, (C=C , Ar); 1463; 1383, m, (C=C , Ar); 1346, m, (C-N); 1265, m, (C=S); 1214, m; 1073, m, (N-N); 858, m; 800, m, (C=S); 771; 729; *Spectrul ^1H RMN* (400MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 9.01 (s, 1H, C-NH); 8.25 (s, 1H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-NH}$); 7.36-7.18 (m, 3H, Ar); 3.97 (s, 2H, NH_2); 2.29 (m, 3H, $o\text{-CH}_3$); *Spectrul ^{13}C RMN* (100MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 181.9 (C=S); (Ar): 136.8; 134.0; 133.2; 127.1; 127.1; 126.5; 17.8 ($o\text{-CH}_3$) [117].

(81) *N*-(3-metilfenil)hidrazincarbotioamida [*3-MePhTSC*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 100-102 °C; η = 85 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3309, m, ($\text{N}^2\text{-H}$); 3228, s, (N-H); 2912 s, (CH , Ar); 1604, m, (C=C); 1537, m, (NH); 1520, p, (C=C , Ar); 1492; 1376, m, (C=C , Ar); 1348, m, (C-N); 1270, m, (C=S); 1225, m; 1069, m, (N-N); 861, m; 819, m, (C=S); 776; 727; *Spectrul ^1H RMN* (400MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ (ppm): 9.20 (s, 1H, C-NH); 8.39 (s, 1H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-NH}$); 7.38-7.01 (m, 3H, aril); 3.95 (s, 2H, NH_2); 2.35 (s, 3H, $m\text{-CH}_3$); *Spectrul ^{13}C RMN* (100MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 180.54 (C=S); (Ar): 138.7; 137.6; 128.6; 126.7; 124.9; 121.4; 21.4 ($m\text{-CH}_3$) [117].

(82) *N*-(4-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor [*4-MePhTSC*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 135-136 °C; η = 92 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3293, m, ($\text{N}^2\text{-H}$); 3239, s, (N-H); 2913 s, (CH , Ar); 1614, m, (C=C); 1532, m, (NH); 1511, p, (C=C , Ar); 1487; 1352, m, (C=C , Ar); 1348, m, (C-N); 1271, m, (C=S); 1215, m; 1061, m, (N-N); 841, m; 804, m, (C=S); 728; *Spectrul ^1H RMN* (400MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 9.15 (s, 1H, C-NH); 8.21 (s, 1H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-NH}$); 7.39-7.12 (m, 3H, aril); 3.92 (s, 2H, NH_2); 2.34 (s, 3H, $p\text{-CH}_3$); *Spectrul ^{13}C RMN* (100MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 181.2(C=S); (Ar): 135.9; 135.1; 130.1; 129.4; 127.5; 124.5; 20.9 ($p\text{-CH}_3$) [117].

(83) *N*-(2,3-dimetilfenil)hidrazincarbotioamida [*2,3-diMePhTSC*]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 190-192 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3284, m, ($\text{N}^2\text{-H}$); 3203, s, (N-H); 2969 s, (CH , Ar); 1624, m, (C=C); 1521, m, (NH); 1511, p, (C=C , Ar); 1497; 1378, m, (C=C , Ar); 1319, m, (C-N); 1249, m, (C=S); 1222, m; 1063, m, (N-N); 841, m; 806, m, (C=S); 765; 711; *Spectrul ^1H RMN* (400MHz/ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ (ppm): 9.34 (s, 1H, C-NH); 9.01 (s, 1H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-NH}$); 7.03-7.21 (m, 3H, Ar); 4.74 (s, 2H, NH_2); 2,24 (s,3H, $m\text{-CH}_3$); 2,06 (s, 3H, $o\text{-CH}_3$); *Spectrul ^{13}C RMN*

(100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 181.1 (C=S); (Ar): 138.1; 136.8; 133.1; 127.8; 125.9; 125.1; 20.5 (*m*-CH₃); 14.4 (*o*-CH₃) [154].



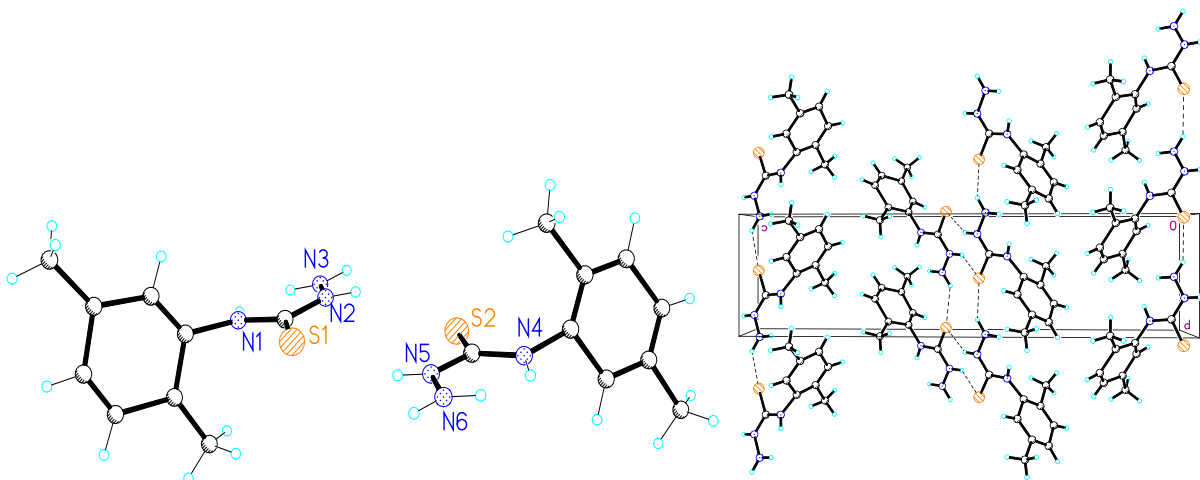
Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4481, N(N)-C(S), 1.3346, C=S, **1.6923**, C(S)-N(1), 1.3393, N(1)-N(2), 1.4104, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5116, C(ph)-C(3-CH₃), 1.4996.

Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1, p.152.

Fig. 3.15. Structura moleculară a *N*-(2,3-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamidei (83) [2,3-diMePhTSC] [155]

(84) *N*-(2,4-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [2,4-diMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 150-152 °C; η = 91 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3290, m, (N²-H); 3196, s, (N-H); 2970 s, (CH, Ar); 1623, m, (C=C); 1504, m, (NH); 1511, p, (C=C, Ar); 1471; 1380, m, (C=C, Ar); 1319, m, (C-N); 1260, m, (C=S); 1223, m; 1041, m, (N-N); 842, m; 803, m, (C=S); 771, m; 703, m; *Spectrul ¹H RMN* (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 9.31 (s, 1H, C-NH); 9.0 (s, 1H, C_(Ari)-NH); 6.96-7.34(m, 3H, Ar); 4.75 (s, 2H, NH₂); 2.26 (s, 3H, *p*-CH₃); 2.16 (s, 3H, *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN* (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 180.9(C=S); (Ar): 135.8; 135.0; 133.7; 130.9; 127.5; 126.6; 21.0 (*p*-CH₃); 18.1 (*o*-CH₃) [156].

(85) *N*-(2,5-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [2,5-diMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 162-164 °C; η = 88 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3303, m, (N²-H); 3194, s, (N-H); 2996 s, (CH, aril); 1615, m, (C=C); 1525, m, (NH); 1505, p, (C=C, aril); 1482; 1376, m, (C=C, aril); 1340, m, (C-N); 1271, m, (C=S); 1229, m; 1039, m, (N-N); 833, m; 818, m, (C=S); 746, m; *Spectrul ¹H RMN* (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 9.34 (s, 1H, C-NH); 8.96 (s, 1H, C_(Ari)-NH); 6.91-7.33 (m, 3H, Aril); 4.74 (s, 2H, NH₂); 2.23 (s, 3H, *m*-CH₃); 2.12 (s, 3H, *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN* (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 180.8 (C=S); (Aril): 138.1; 136.6; 135.1; 130.8; 127.9; 126.8; 20.9 (*m*-CH₃); 17.7 (*o*-CH₃).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4426, N(N)-C(S), 1.3254, C=S, **1.6712**, C(S)-N(1), 1.2980, N(1)-N(2), 1.3602, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4464, C(ph)-C(5-CH₃), 1.4926.

Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1, p.152.

Fig. 3.16. Structura moleculară a *N*-(2,5-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamidei (85)

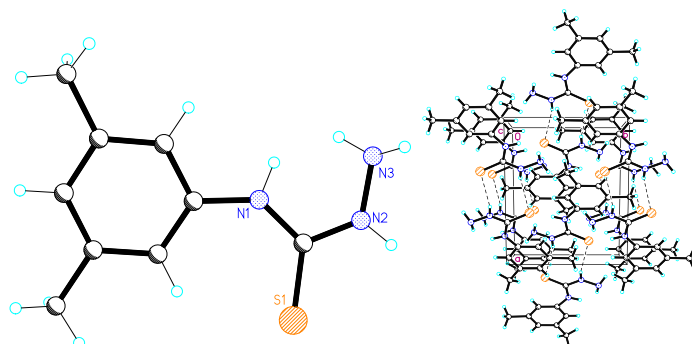
[2,5-diMePhTSC] [155]

(86) *N*-(2,6-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [2,5-diMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 223-225 °C; η = 80 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3319, m, (N²-H); 3181, s, (N-H); 2961 s, (CH, Ar); 1609, m, (C=C); 1522, m, (NH); 1487, p, (C=C, Ar); 1440; 1375, m, (C=C, Ar); 1316, m, (C-N); 1269, m, (C=S); 1244, m; 1030, m, (N-N); 873, m; 796, m, (C=S); 718, m; *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 9.37 (s, 1H, C-NH); 8.89(s, 1H, C_{Ar}-NH); 7.05 (m, 3H, Ar); 4.71 (s, 2H, NH₂); 2.15 (m, 3H, *o*-CH₃)₂; *Spectrul ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 181.4 (C=S); (Ar): 136.8; 136.0; 133.2; 127.7; 126.9; 123.7; 18.3 (*o*-CH₃).

(87) *N*-(3,4-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [3,4-diMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 155-157 °C; η = 87 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3294, m, (N²-H); 3193, s, (N-H); 2960 s, (CH, Ar); 1614, m, (C=C); 1545, m, (NH); 1495, p, (C=C, Ar); 1446; 1375, m, (C=C, Ar); 1309, m, (C-N); 1276, m, (C=S); 1231, m; 1060, m, (N-N); 850, m; 820, m; 760, m, (C=S); 710, m; *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 9.5 (s, 1H, C-NH); 9.02 (s, 1H, C_{Ar}-NH); 7.03-7.35 (m, 3H, Ar); 4.74 (s, 2H, NH₂); 2.21 (m, 3H, *p*-CH₃); 2.18 (m, 3H, *m*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 179.8 (C=S); (Ar): 137.4; 136.1; 132.6; 129.4; 125.1; 121.4; 20.0 (*p*-CH₃); 19.2 (*m*-CH₃).

(88) *N*-(3,5-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [3,5-diMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 112-115 °C; η = 85 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3308, m, (N²-H); 3184, s, (N-H); 2955 s, (CH, Ar); 1620, m, (C=C); 1539, m, (NH); 1493, p, (C=C, Ar); 1448; 1377, m, (C=C, Ar);

1325, m, (C-N); 1271, m, (C=S); 1238, m; 1049, m, (N-N); 833, m; 820, m; 727, m, (C=S); Spectrul 1H RMN (400MHz/ $(CD_3)_2SO$), δ (ppm): 9.06 (s, 1H, C-NH); 8.32 (s, 1H, C_{Ar}-NH); 6.73-6.75 (m, 3H, Ar); 4.76 (s, 2H, NH₂); 2.24 (s, 6H, (m-CH₃)₂); Spectrul ^{13}C RMN (100MHz/ $(CD_3)_2SO$), δ (ppm): 179.5 (C=S); (Ar): 139.5; 137.6; 136.0; 126.1; 125.9; 121.3; 21.0 (m-CH₃).

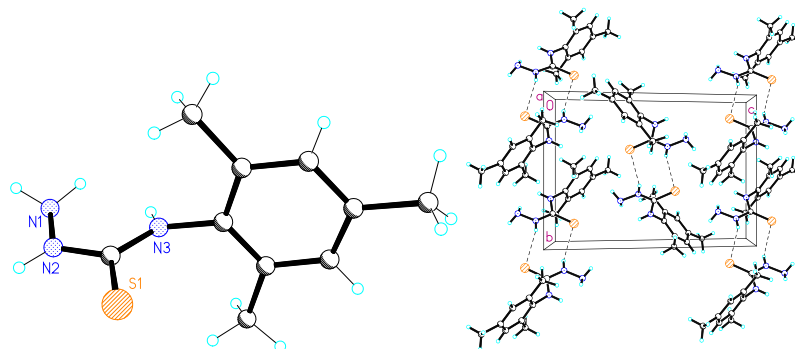


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4067, N(N)-C(S), 1.3366, C=S, **1.6840**, C(S)-N(1), 1.3375, N(1)-N(2), 1.3995, C(ph)-C(3-CH₃), 1.5053, C(ph)-C(5-CH₃), 1.5048.

Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1, p. 152.

Fig. 3.17. Structura moleculară a *N*-(3,5-dimetilfenil)hidrazinocarbotioamidei (88) [3,5-diMePhTSC] [155]

(89) *N*-(2,4,6-trimetilfenil)hidrazinocarbotioamida [2,4,6-triMePhTSC]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 176-178 °C; η = 90 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3203 (N²-H); 2949 (N-H); 1618 (C=C); 1481-1513 (C=N); 1213-1249 (C=S); 727; Spectrul 1H RMN (400MHz/ $(CD_3)_2SO$), δ (ppm): 8.37 (s, 1H, C-NH); 8.39 (s, 1H, C_(Ar)-NH); 7.69-6.92(m, 3H, Ar); 3.94 (s, 2H, NH₂); 2.28 (s, 3H, *p*-CH₃); 2.22 (s, 3H, *o*-CH₃); Spectrul ^{13}C RMN (100MHz/ $(CD_3)_2SO$), δ (ppm): 182.4 (C=S); (Ar): 136.2; 132.7; 129.8; 129.0; 128.9; 128.2; 21.04 (*p*-CH₃); 18.3 (*o*-CH₃) [157].



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4374, N(N)-C(S), 1.3344, C=S, **1.6695**, C(S)-N(1), 1.3516, N(1)-N(2), 1.3945, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5022, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5128, C(ph)-C(6-CH₃), 1.5006.

Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1 p. 152.

Fig. 3.18. Structura moleculară a *N*-(2,4,6-trimetilfenil)hidrazinocarbotioamidei (89) [2,4,6-triMePhTSC]

Tabelul 3.3. Caracteristicile de bază ale reacției de obținere a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89)

Nr.	Cifrul	Randamentul, %	Timpul de reacție
(80)	[2-MePhTSC]	86	≈ 2 ore
(81)	[3-MePhTSC]	85	
(82)	[4-MePhTSC]	92	
(83)	[2,3-diMePhTSC]	90	
(84)	[2,4-diMePhTSC]	91	
(85)	[2,5-diMePhTSC]	88	
(86)	[2,6-diMePhTSC]	80	
(87)	[3,4-diMePhTSC]	87	
(88)	[3,5-diMePhTSC]	85	
(89)	[2,4,6-triMePhTSC]	90	

Din interacțiunea n-metilfenilizotiocanaților (70-79) cu monohidratul de hidrazină, au rezultat N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (80-89), iar în *spectrele FT-IR* a acestora a fost semnalată absența benzii în regiunea 2000-2100 cm^{-1} , ceea ce indică transformarea totală a n-metilfenilizotiocanaților. A fost semnalată prezența benzilor de absorbție caracteristice grupărilor N-H în intervalul 3290-3340 cm^{-1} și 2900-2950 cm^{-1} , iar a grupei -C=S în intervalul 1220-1270 cm^{-1} . *Spectrele $^1\text{H RMN}$* a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor conțin semnale ale grupelor metil din inelul benzenic în câmp puternic ecranat. În cazul când în structura compusului sunt prezente două grupe metil în pozițiile: 2,3-; 2,4-; 2,5-; 3,4- sunt prezente 2 semnale singlet, în diapazonul 2.16-2.25 ppm. În cazul compușilor (86) și (88) care conțin două grupe metil în pozițiile 2,6- și 3,5- respectiv, este semnalată prezența doar a unui singur semnal singlet în diapazonul 2.15-2.24 ppm respectiv, asta se poate explica prin faptul că grupele sunt echivalente energetic. În cazul compusului (89), care are trei grupe metil în compoziție, în pozițiile 2,4,6- ale inelului benzenic, sunt prezente doar două semnale singlet, deoarece grupele metil din pozițiile 2- și 6- sunt echivalente.

Aceeași legitate este și în *spectrul $^{13}\text{C RMN}$* , unde sunt identificate semnale pentru grupele metil din inelul benzenic în domeniul 17.1-21.1 ppm. Protonii din inelul benzenic dau semnale în regiunea 6.90-7.40 ppm. Prezența semnalelor singlet ale protonilor grupei NH_2 , pentru N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (80-82) a fost identificată la 3.92-3.97 ppm, iar pentru N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide (83-88) la 4.71- 4.74 ppm. În *spectrul $^{13}\text{C RMN}$* a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor este semnalat un semnal singlet puternic în domeniul 180.4-182.6 ppm, care confirmă prezența grupării -C=S. O serie de semnale în domeniul 124-138 ppm sunt atribuite atomilor de carbon din inelul benzenic.

Difracția de *raze X* pe monocristal ale unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide demonstrează structura moleculară și indică că moleculele sunt neplanare, dat fiind faptul că există rotația inelului benzenic față de restul moleculei. Împachetarea în cristal a moleculelor este determinată de legături de hidrogen intermoleculare de tipul $-N^1-H\cdots S$, prezente în toate cristalele analizate (83, 85, 88, 89). În compusul (83) mai există legături de hidrogen de tipul $N^N-H\cdots S$ și $N-H\cdots N^2-$, iar în compușii (88) și (89) sunt prezente și interacțiuni de tip „ $\pi-\pi$ stacking” între inelele fenil. În compusul (85) împachetarea în cristal este determinată de legături de hidrogen intermoleculare de tipul $-S\cdots H-N^2-$ și în același timp de tipul $-S\cdots H-N^1-$ cu formarea de lanțuri moleculare. Datele privind lungimea legăturii interatomice C=S este egală cu 1.66 Å, caracteristică pentru legătura dublă, ceea ce indică că N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele analizate (83, 85, 88, 89) sunt în forma tionică.

3.4.1. Activitatea antioxidantă a N-(metilfenil)hidrazincarbotioamidelor sintetizate

N¹-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureele (60-69) sintetizate anterior, au fost supuse descompunerii, la acțiunea acidului clorhidric (HCl) cu formare de N-(n-metilfenil)-izotiocianaților (70-79). La interacțiunea N-(n-metilfenil)izotiocianaților (70-79) cu monohidratul de hidrazină s-au obținut N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (80-89). În vederea stabilirii legăturii structură-activitate, pentru compușii sintetizați (80-89) a fost evaluată activitatea antioxidantă (Anexa 4, p. 157).

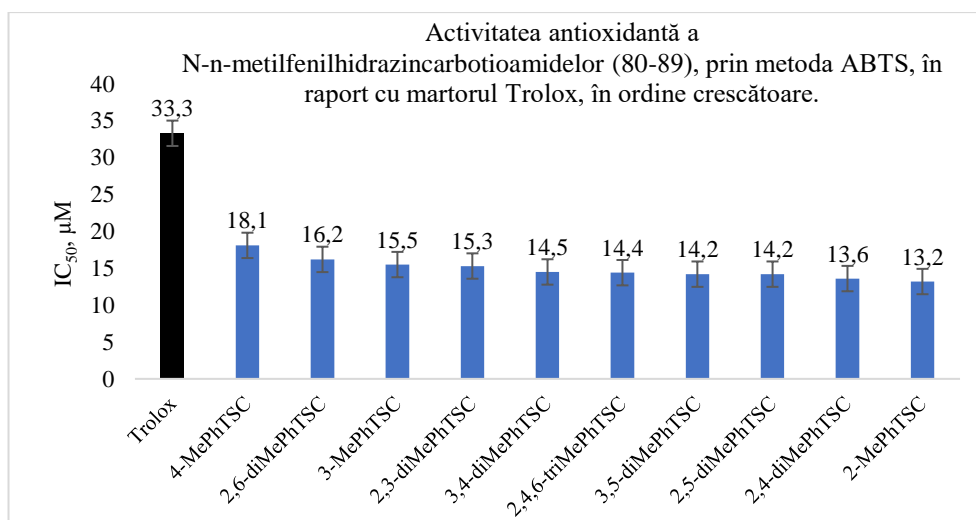


Fig. 3.19. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89), prin metoda ABTS

Rezultatele sunt date în Anexa 4, p. 157.

În diagrama (a se vedea figura 3.19.) sunt expuse rezultatele studiului activității antioxidante ale N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89) (Anexa 4, p.157), prin metoda

de inhibare a cation-radicalului ABTS⁺⁺. Din rezultatele obținute se poate concluce că introducerea fragmentului hidrazinic generează compuși cu activitate semnificativ mai înaltă față de substanța luată ca referință Trolox-ul. De menționat este faptul că cea mai înaltă valoare a concentrației de inhibare semimaximală IC₅₀= 13,2 și 13,6 μM a revenit compușilor care au în compoziția sa grupe metil -CH₃ în pozițiile *orto*-și *para*, în inelul benzenic.

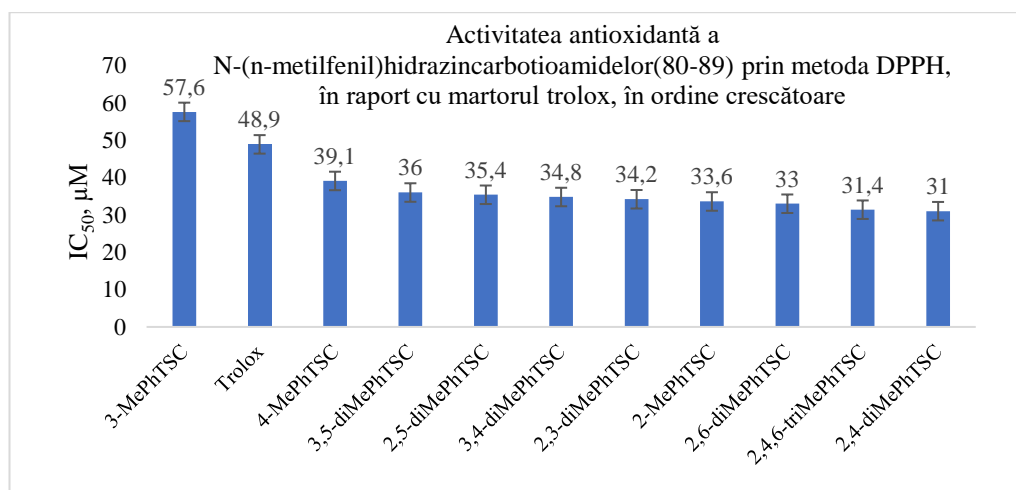


Fig. 3.20. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89), prin metoda DPPH

Rezultatele sunt date în Anexa 4, p. 157.

Studierea activității antioxidante a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor, prin metoda de inhibare a radicalilor liberi DPPH[•], a confirmat rezultatele obținute anterior. Cea mai înaltă valoare a concentrației de inhibare semimaximală IC₅₀ = 31; 31,4 și 33 μM, revine N-(2,4-dimetilfenil)-; N-(2,4,6-trimetilfenil)- și N-(2,6-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor, care au în compoziția sa grupele metil -CH₃ în pozițiile *orto*- și *para*-, din inelul benzenic.

3.4.2. Evaluarea potențialului anticancerigen a N-(n-dimetilfenil)-hidrazincarbotioamidelor prin andocare moleculară

Studiile asupra farmacoforilor și a proprietăților farmacofore ale acestora au scos în evidență legătura incontestabilă dintre farmacofor și “receptor” sau ținta biologică. O țintă biologică proeminentă în terapia cancerului este ribonucleotid reductaza (RNR). Care este o enzimă responsabilă de transformarea ribonucleotidelor în deoxiribonucleotide, direct legată de replicarea și repararea ADN-ului. De remarcat că anume activitatea RNR a fost asociată direct cu transformarea celulelor din benigne în maligne dar și proliferarea tumorală. Caracteristicile necesare evidențiate de cercetători a unui inhibitor RNR, pe care hidrazincarbotioamidele le

întrunesc perfect sunt: proprietăți antioxidante performante dar și proprietatea de complexare a ionilor de fier (Fe^{3+}).

Pentru simularea interacțiunii compușilor sintetizați cu ținta biologică, în calitate de proteină țintă a fost selectată ribonucleotid reductaza RNR, lanțul R1 (RNR_R1). N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele (83-88) sintetizate, au fost supuse studiilor teoretice de andocare moleculară. Acest studiu a permis elucidarea atât a modului de legare cât și a energiei de legare cu receptorul. În calitate de martor a fost selectată 3-AP (2-[(3-aminopiridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotioamida, Triapina) compusul cu proprietăți anticancer pronunțate și care se află la testări clinice. [130; 131]

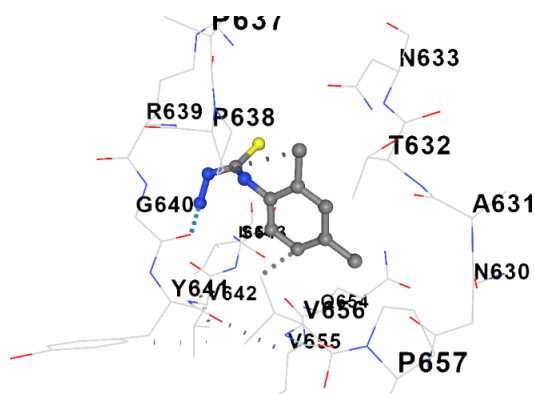


Fig. 3.21. Simularea interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidei (84) cu fragmentul activ al RNR

Studierea modului de interacțiune a scos în evidență modul de legare cu “receptor-ul” și prezintă atât legături de hidrogen dintre atomul de S și N (2) cu aminoacizii cât și interacțiuni de tipul π - π dintre inelul benzenic și fenilalanină.

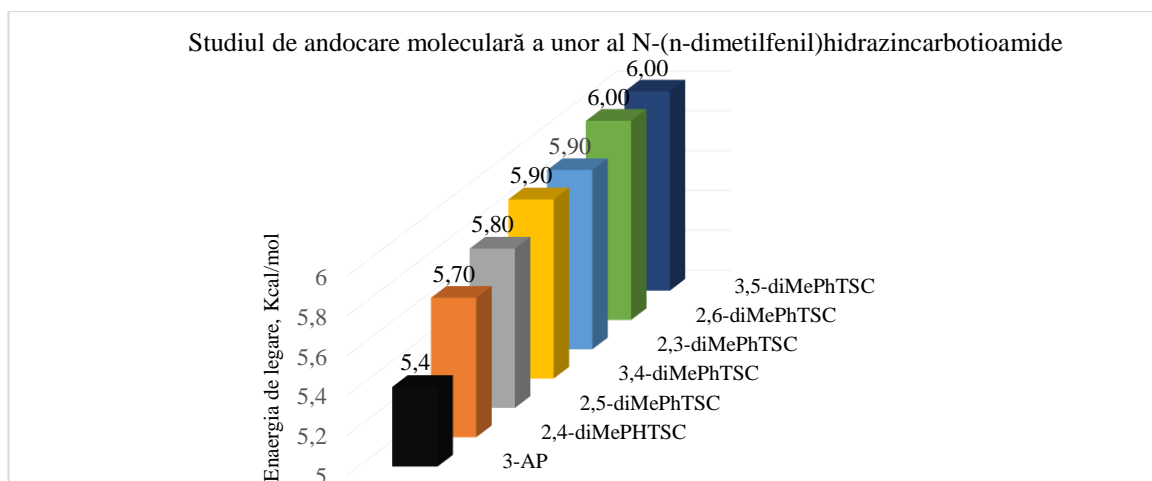


Fig. 2.22. Energia de legare de “receptor” a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor (83-88)

Rezultatele privind studiul de andocare moleculară a N-(n-dimetilfenil)-hidrazincarbotioamidelor (83-88) sintetizate și datele obținute ce țin de energia de legare cu receptorul, au permis formularea unor concluzii privind proprietățile farmacofore. Toți compușii formează legături de hidrogen cu receptorul, cu energia de legare comparabilă cu cea a compusului luat ca referință 3-AP, iar compușii sintetizați (83, 84, 85, 87) au manifestat cele mai promițătoare rezultate.

3.4.3. Activitatea anticancerigenă a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor sintetizate.

Cu scopul studierii avansate a proprietăților biologice ale N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor (83-88) sintetizate dar și în vederea stabilirii influenței pozițiilor grupelor CH₃ din inelul benzenic, asupra activității anticancerigene. N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele (83-88) sintetizate a fost evaluată pentru activitatea anticancerigenă față de liniile de celule de cancer HeLa (adenocarcinomul cervical, de col uterin), BxPc-3 (adenocarcinomul pancreatic uman) și RD (Miosarcoma țesutului muscular), (Anexa 9, p. 162). Substanța luată ca referință fiind DOX (doxorubicina) medicament folosit în chimioterapia cancerului [160].

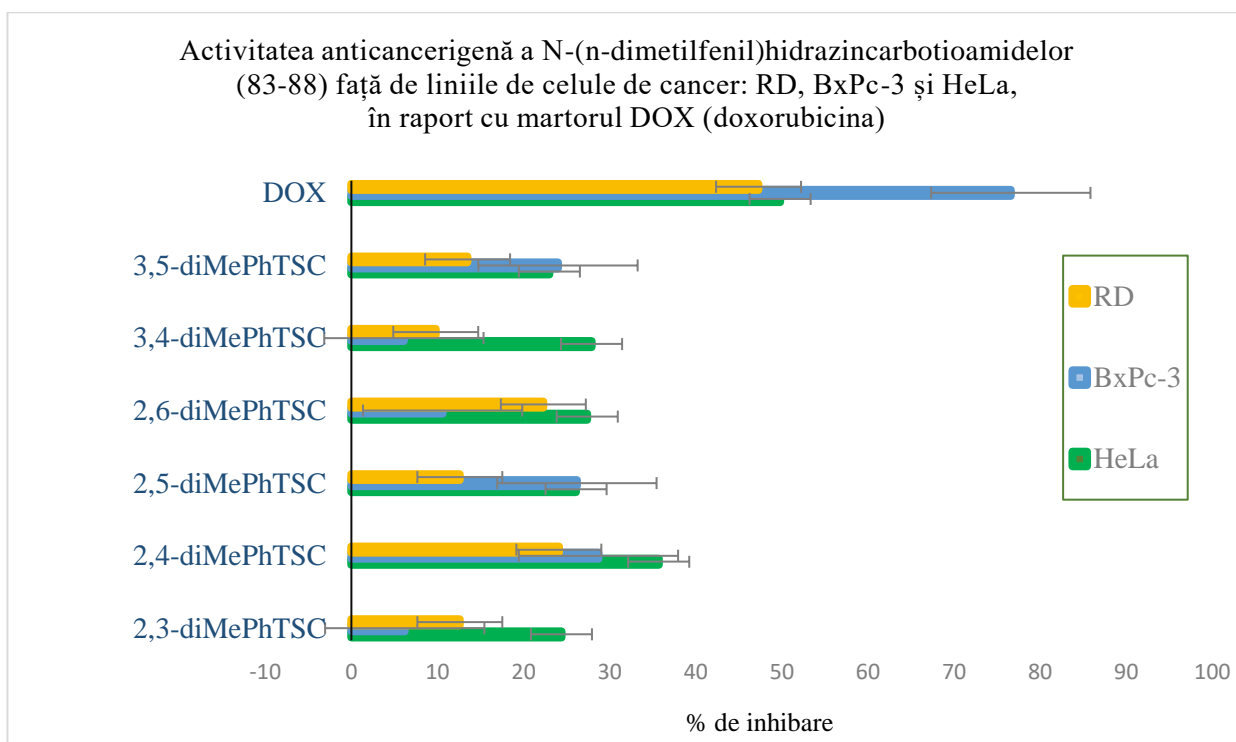


Fig. 3.23. Rezultatele testării *in vitro*, a activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor (83-88)

Notă: valorile sunt reprezentate ca medie, care au fost repetate de trei ori. Rezultatele analizelor sunt date la concentrația de 100 μM. DOX – Doxorubicina. Rezultatele sunt date în Anexa 9, p. 162.

Din diagramă (a se vedea figura 3.23.) se poate concluda că toți compușii analizați inhibă proliferarea celulelor cancerigene față de toate liniile testate. Însă pentru claritate este nevoie de analizat pentru fiecare tip de celule de cancer aparte. Rezultatele studierii activității anticancerigene față de liniile de celule HeLa, au demonstrat că toate N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele inhibă în diapazonul 23-27 %, excepție face doar N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamida care inhibă 35.7 % de celule cancerigene, la concentrația de 100 μ M. Studiarea proprietăților anticancerigene față de BxPC-3 evidențiază aceeași tendință, de creștere a activității în ordinea 3,4 < 2,3 < 2,6 < 3,5 < 2,5 < 2,4 unde N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamida (84) inhibă 28.7 % de celule canceroase, la concentrația de 100 μ M. Capacitatea de inhibare a celulelor canceroase de RD a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor, este modestă în raport cu martorul DOX (doxorubicina) luată ca substanță de referință. De menționat că cele mai promițătoare rezultate a manifestat N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamida (84), cu 24.1 % de inhibiție de celule canceroase, la concentrația de 100 μ M. Din motiv că compușii testați inhibă mai puțin decât 50 % de celulele canceroase, nu a fost posibilă calcularea concentrației semimaximale de inhibiție IC_{50} , însă drept referință poate fi considerată a fi de $IC_{50} \geq 100 \mu$ M.

Pentru evaluarea toxicității, compușii (83-88) au fost testați pentru capacitatea de inhibare a creșterii celulelor normale MDCK (Madin-Darby Canin Kidney, celule renale de câine sănătoase) Anexa 9, p. 162.

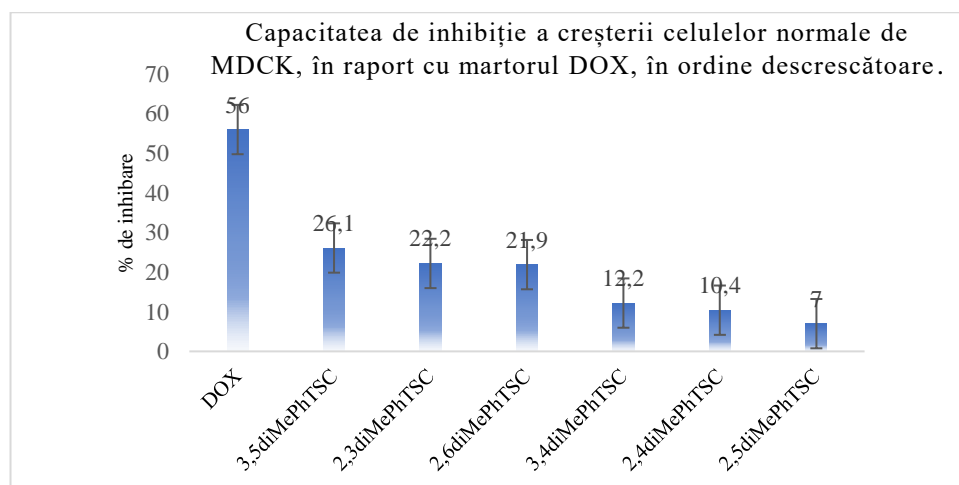


Fig. 3.24. Rezultatele testării *in vitro*, a activității de inhibare a celulelor normale de MDCK, a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor (83-88)

Notă: valorile sunt reprezentate ca medie, care au fost repetate de trei ori. Rezultatele analizelor la concentrația de 100 μ M. DOX – Doxorubicina. Rezultatele sunt date în Anexa 9, p. 162.

Rezultatele expuse în diagramă (a se vedea fig. 3.24.), indică că valorile se încadrează în diapazonul 7-26 % de inhibare a celulelor normale de MDCK, fiind de 3 ori mai scăzute față de substanță luată de referință DOX (doxorubicina), cu 56 % de inhibare. Cele mai mici valori, adică cea mai scăzută toxicitate revine compușilor N-(2,5-; (2,4- și (3,4-dimetilfenil)-hidrazincarbotoamidelor (87), care inhibă creșterea celulelor normale în proporție de 7-12 %. În raport cu activitatea anticancerigenă a acestor compuși, se poate spune că activitatea citostatică este de 2 ori mai mare decât capacitatea de inhibare a celulelor normale. Aceste rezultate clasează N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidele sintetizate în domeniul substanțelor cu toxicitate scăzută.

Deși rezultatele activității anticancerigene față de liniile de celule HeLa, BxPC-3 și RD a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor, au fost modeste față de substanța de referință DOX, de remarcat faptul că rezultatele asupra toxicității demonstrează că acești compuși manifestă toxicitate scăzută.

Prin urmare aceste rezultate sugerează că N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidele, pot servi drept punte de plecare pentru proiectarea compușilor cu activitate anticancerigenă pronunțată.

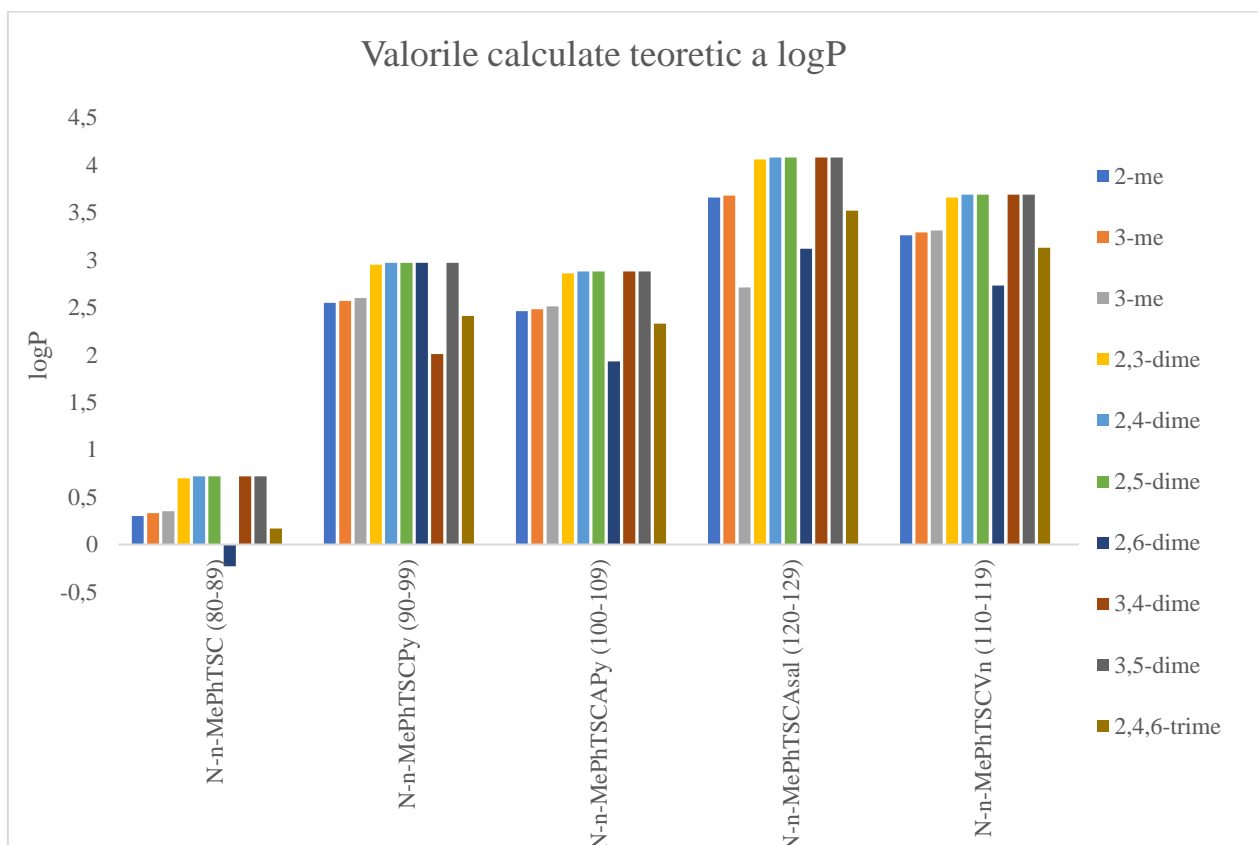
3.4. Concluzii la capitolul 3

1. A fost proiectată schema de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor (80-89) iar atât N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidele (80-89) cât și N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureele (60-69) au fost evaluate prin metoda computațională Mollinspiration, a parametrilor stipulați în "regula lui Lipinski", care a demonstrat că compușii proiectați corespund tuturor criteriilor recomandate.
2. A fost elaborată schema de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor (80-89), pornind cu tiocarbamoilarea n-metilanelinelor (50-59) cu DTMT, în propan-1-ol, reacție care se evidențiază printr-o serie de beneficii precum timp de reacție moderat, reactivi mai puțin toxici (în comparație cu tiofosgenul și disulfura de carbon), iar cel mai important ca rezultat s-au obținut N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureele (60-69) o clasă de compuși cu potențial biologic promițător.
3. Utilizând acidul clorhidric, în calitate de agent de acilare, dat fiind faptul că utilizarea acizilor minerali presupune utilizarea unor reactivi accesibili și ieftini, N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureele (60-69) au fost descompuse, cu obținerea n-metilfenilizotiocianaților (70-79) cu randamentul de reacție situat între 65-80 %.

4. Au fost stabilite condițiile optime de interacțiune a n-metilfenilizotiocianatilor cu monohidratul de hidrazină, în urma cărora cu randamentul de 80-92 % au fost obținute N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidele (80-89).
5. Veridicitatea compușilor sintetizați a fost confirmată prin metode spectrale de analiză precum: *FT-IR*, ^1H -, ^{13}C RMN, iar 9 compuși, în premieră au fost confirmați structural, prin iradiere de *raze X* pe monocristal. Studiile cu *raze X* au demonstrat că N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidele adoptă configurația *trans*, tautomerie tionică.
6. Atât N'-(n-metilfenil)-N, N -dimetiloureele (60-69) cât și N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotoamidele (80-89) au fost evaluate pentru activitatea antioxidantă, prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+} și a radicalului DPPH[•]. Rezultatele au clasat aceste substanțe în calitate de compuși cu potențial antioxidant înalt.
7. A fost testată *in vitro*, activitatea anticancerigenă față de liniile de celule de cancer: HeLa, BxPC-3 și RD, a N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor (83-88). Rezultatele obținute au demonstrat influența poziției grupelor metil din inelul benzenic, iar activitatea citostatică a crescut în ordinea 3,4 < 2,3 < 2,6 < 3,5 < 2,5 < 2,4. Aceleași rezultate au fost obținute și teoretic prin studiul de andocare moleculară, prin simularea interacțiunii compușilor (83-88) cu RNR (ribonucleotid reductaza).
8. A fost testată *in vitro*, toxicitatea N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor (83-88) prin metoda de inhibare a celulelor normale de MDCK, iar conform rezultatelor compușii (83-88) pot fi clasati în domeniul substanțelor cu toxicitate scăzută.

4.1. Metode de cercetare computațională a potențialului activității biologice

În urma efectuării calculelor teoretice a parametrilor stipulați în “regula lui Lipinski”, prin programul computațional Molinspiration (a se vedea figura 4.2.), se poate concluda că valorile calculate se încadrează în limitele recomandate pentru toți compușii propuși spre sinteză, iar valorile logP sunt cuprinse în limitele de la -0.23 până la +4.08, Anexa 2, p.153.



**Fig. 4.2. Valorile calculate teoretic ale logP
prin programul Molinspiration, pe clase de compuși**

Notă: Valorile calculate teoretic, prin programul Molinspiration, sunt date detaliat în Anexa 2, p. 153.

4.2. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor

Cercetările efectuate asupra fragmentului piridinic, încep cu anii '80, ai secolului trecut [98] și au confirmat atât potențialul biologic cât și varietatea de derivați pe care îi generează [161]. Studiile asupra poziției atomului de azot din heterociclu [162], au elucidat influența poziție 2 asupra proprietăților biologice. Printre derivații piridin-2-carbaldehidei (22) există un număr impunător de compuși cu proprietăți biologice promițătoare precum: anticancerigene [163], [164], antibacteriene [165] și antioxidante [166].

N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidele (90-99) au fost obținute prin reacția de condensare a hidrazincarbotioamidelor (80-89) cu piridin-2-carbaldehida (22), raport molar de 1:1 al reactanților, conform schemei generale de sinteză:

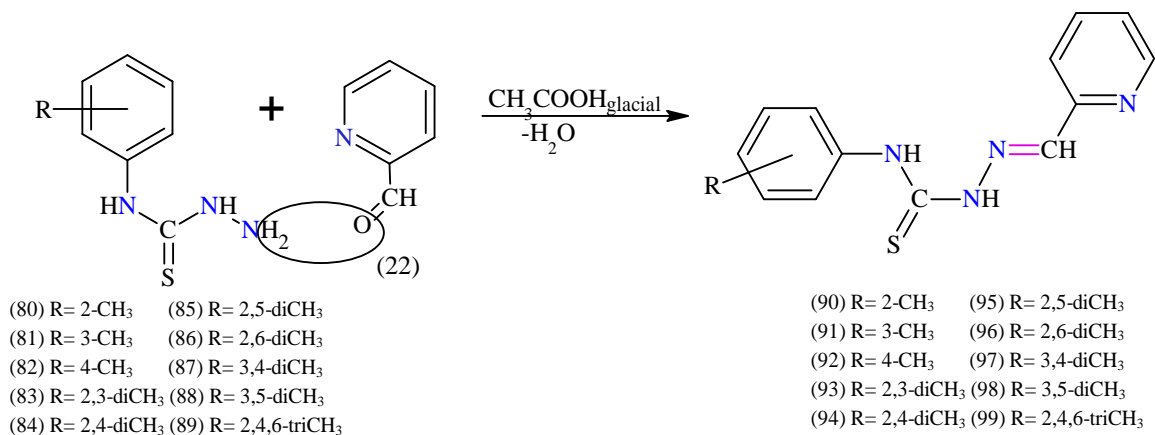


Fig. 4.3. Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor (90-99)

Într-un balon cu fund rotund ajustat cu refrigerent, plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă, au fost adăugate 0.1 mol de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidă dizolvată prealabil în 10 ml etanol și ulterior 0.1 mol de piridin-2-carbaldehida (22), prealabil dizolvată în 10 ml etanol, apoi la amestecul format s-au adăugat 3-4 picături CH₃COOH_{glacial}. Amestecul a fost refluxat timp de 2-3 ore, sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS, eluent benzen : acetonă (5:1). După răcire în baia cu gheață, sedimentul format a fost filtrat, spălat cu apă, alcool etilic rece, iar pentru obținerea unui compus de puritate mai înaltă a fost recristalizat din etanol. N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidele reprezintă substanțe cristaline de culoare gălbuie.

(90) *N*-(2-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2-MePhTSCP_y]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 170-172 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3318, m, (N²-H); 3126, s, (N^N-H); 3022 s, (C-H, CH₃, Py); 2911, s, (CH, Ar); 1605; 1581, m, (N-H); 1542, p, (C=C, Ar); 1456; 1433, m, (C=C, Py); 1403, m, (C=C, Ar); 1321, m, (C-N); 1251, m, (C=S); 1171, p; 1078, m, (N-N); 868, m; 820, m, (C=S); 619, m, (Py).

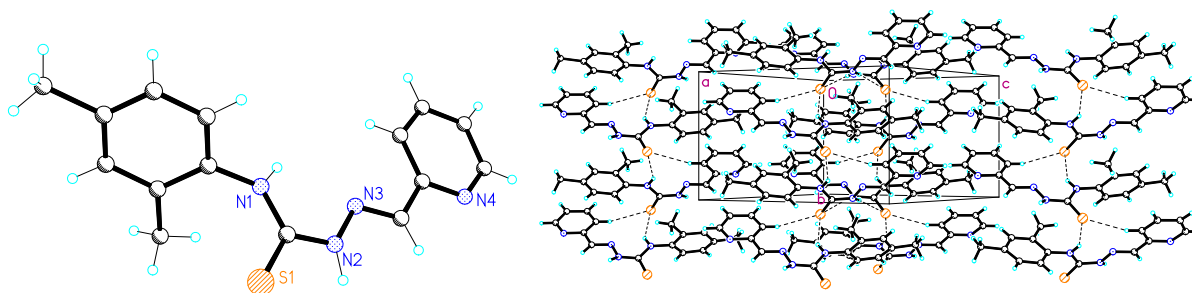
(91) *N*-(3-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [3-MePhTSCP_y]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 190-192 °C; η = 91 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3313, m,

(N²-H); 3116, s, (N^N-H); 3022 s, (C-H, CH₃, Py); 2911, s, (CH, Ar); 1606, m; 1584, m, (N-H); 1545, p, (C=C, Ar); 1464, m; 1433, m (C=C, Py); 1400, m, (C=C, Ar); 1322, m, (C-N); 1267, m, (C=S); 1165, p; 1076, m, (N-N); 858, m; 822, m, (C=S); 622, m, (Py).

(92) *N*-(4-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [4-MePhTSCP_{Py}]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 210-212 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3320, m, (N²-H); 3126, s, (N^N-H); 3043 s, (C-H, CH₃, Py); 2917, s, (CH, Ar); 1645, m, (C=N); 1602, s; 1585, m, (N-H); 1539, p, (C=C, Ar); 1466, m; 1433, m(C=C, Py); 1397, m, (C=C, Ar); 1315, m, (C-N); 1256, m, (C=S); 1185, p; 1078, m, (N-N); 858, m; 817, m, (C=S); 626, m, (Py).

(93) *N*-(2,3-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2,3-diMePhTSCP_{Py}]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 185-187 °C; η = 94 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3312, m, (N²-H); 3117, s, (N^N-H); 3043 s, (C-H, CH₃, Py); 2907, s, (CH, Ar); 1653, m, (C=N); 1583, m, (NH); 1533, p, (C=C, Ar); 1464; 1433, m, (C=C, Py); 1380, m, (C=C, Ar); 1306, m, (C-N); 1268, m, (C=S); 1162, p; 1078, m, (N-N); 876, m; 831, m, (C=S); 612, m, (Py).

(94) *N*-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2,4-diMePhTSCP_{Py}]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 198-200 °C; η = 89 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3324, m, (N²-H); 3121, s, (N^N-H); 3046 s, (C-H, CH₃, Py); 2949, s, (CH, Ar); 1673, m, (C=N); 1581, m, (NH); 1539, p, (C=C, Ar); 1464; 1433, m, (C=C, Py); 1396, m, (C=C, Ar); 1322, m, (C-N); 1264, m, (C=S); 1188, p; 1077, m, (N-N); 861, m; 818, m, (C=S); 612, m, (Py) [167].

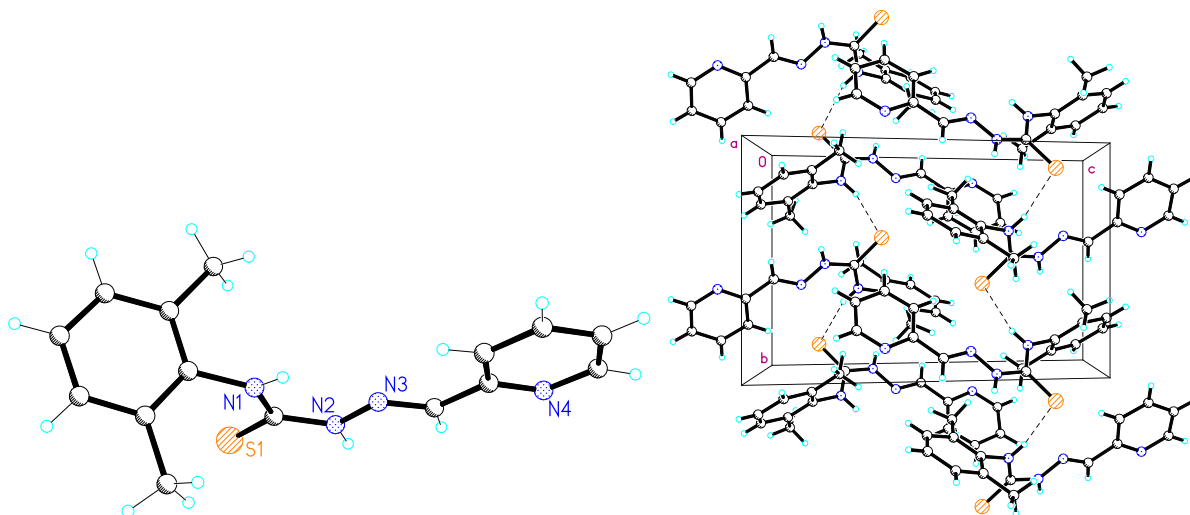


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4128, N(N)-C(S), 1.3564, **C=S, 1.6660**, C(S)-N(1), 1.3174, N(1)-N(2), 1.3816, N(2)=C, 1.3126, C-C, 1.4148, C-N(Py), 1.3269, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4936, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5180. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1, p. 152.

Fig. 4.4. Structura moleculară a *N*-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei (94) [2,4-diMePhTSCP_{Py}]

(95) *N*-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2,5-diMePhTSCPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 188-190 °C; $\eta = 91\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3324, m, (N²-H); 3121, s, (N^N-H); 3041 s, (C-H, CH₃, Py); 2975, s, (CH, Ar); 1671, m, (C=N); 1583, m, (NH); 1494, p, (C=C, Ar); 1462; 1437, m, (C=C, Py); 1374, m, (C=C, Ar); 1319, m, (C-N); 1265, m, (C=S); 1153, p; 1080, m, (N-N); 879, m; 811, m, (C=S); 618, m, (Py).

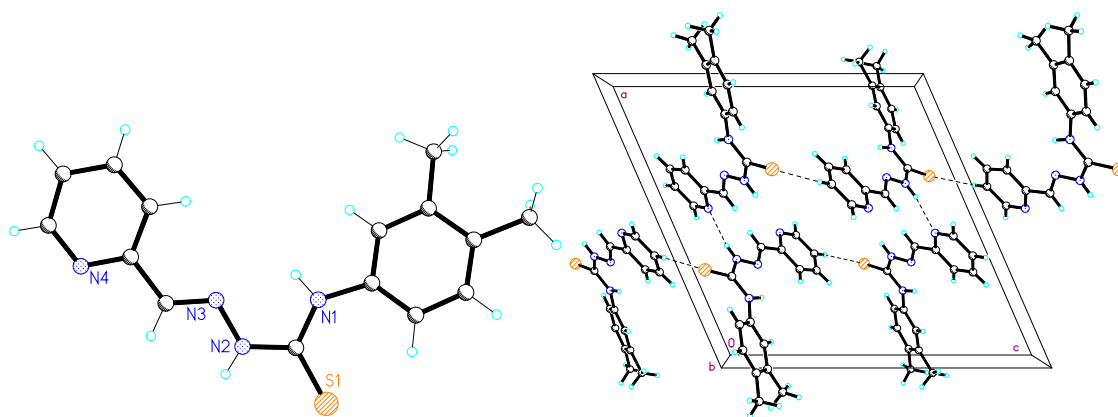
(96) *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2,6-diMePhTSCPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 215-217 °C; $\eta = 84\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3317, m, (N²-H); 3131, s, (N^N-H); 3041 s, (C-H, CH₃, Py); 2972, s, (CH, Ar); 1668, m, (C=N); 1584, m, (NH); 1487, p, (C=C, Ar); 1462; 1439, m, (C=C, Py); 1371, m, (C=C, Ar); 1316, m, (C-N); 1262, m, (C=S); 1180, p; 1091, m, (N-N); 869, m; 811, m, (C=S); 620, m, (Py).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4452, N(N)-C(S), 1.3323, C=S, **1.6671**, C(S)-N(1), 1.3633, N(1)-N(2), 1.3701, N(2)=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. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1, p. 152.

Fig. 4.5. Structura moleculară a *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei (96) [2,6-diMePhTSCPy]

(97) *N*-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [3,4-diMePhTSCPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 173-175 °C; $\eta = 82\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3312, m, (N²-H); 3239, s, (N^N-H); 3058 s, (C-H, CH₃, Py); 2963, s, (CH, Ar); 1671, m, (C=N); 1583, m, (NH); 1507, p, (C=C, Ar); 1466; 1433, m, (C=C, Py); 1396, m, (C=C, Ar); 1320, m, (C-N); 1260, m, (C=S); 1197, p; 1075, m, (N-N); 860, m; 819, m, (C=S); 618, m, (Py).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4143, N(N)-C(S), 1.3675, C=S, **1.6649**, C(S)-N(1), 1.3582, N(1)-N(2), 1.3739, N(2)=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. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.6. Structura moleculară a *N*-(3,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidei (97) [3,4-diMePhTSCPy]

(98) *N*-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [3,5-diMePhTSCPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 155-157 °C; $\eta = 86\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3315, m, (N²-H); 3153, s, (N^N-H); 3069 s, (C-H, CH₃, Py); 2955, s, (CH, Ar); 1655, m, (C=N); 1581, m, (NH); 1510, p, (C=C, Ar); 1463; 1433, m, (C=C, Py); 1399, m, (C=C, Ar); 1325, m, (C-N); 1274, m, (C=S); 1168, p; 1076, m, (N-N); 837, m; 810, m, (C=S); 620, m, (Py). *Spectrul ¹H RMN (400MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 14.40 (s); 11.96 (1H, s); 10.22 (1H, s); 8.56 (1H, dm, J=4.7); 8.32 (1H, d, J=8.0); 8.16 (1H, s); 7.84 (1H, dd, J=7.7, 1.6); 7.39 (1H, ddd, J=7.4, 1.6, 0.9); 7.15 (2H, br. S); 6.84 (1H, br, s); 2.26 (6H, s); *Spectrul ¹³C RMN (100MHz/(CD₃)₂SO)*, δ (ppm): 176.6 (C=S); (Ar): 153.2, 149.8, 142.9, 139.1, 137.7, 137.3, 127.5, 124.9, 123.9, 121.7; 21.3.3 (*m*-CH₃); *Spectrul ¹⁵N RMN 400MHz/(CD₃)₂SO)* δ (ppm): 327 N (1); 309 N (Py); 172 N (2); 127 N (N).

(99) *N*-(2,4,6-trimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida [2,4,6-trimePhTSCPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 218-220 °C; $\eta = 84\%$; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm⁻¹): 3351, m, (N²-H); 3227, s, (N^N-H); 3046 s, (C-H, CH₃, Py); 2955, s, (CH, Ar); 1654, m, (C=N); 1584, m, (NH); 1519, p, (C=C, Ar); 1489, m; 1463; 1433, m, (C=C, Py); 1368, m, (C=C, Ar); 1324, m, (C-N); 1261, m, (C=S); 1145, p; 1070, m, (N-N); 847, m; 847, m, (C=S); 623, m, (Py).

Sinteza *N*-(*n*-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor (90-99), a fost efectuată cu adăugarea cantităților catalitice de CH₃COOH_{glacial}, deoarece prezența electronilor

liberi de la atomul de azot piridinic conferă bazicitate compusului, nefavorizând autocataliza. Prin urmare pentru a mări randamentul de reacție și a micșora timpul de reacție a fost adăugat catalizator. Structura compușilor obținuți a fost confirmată prin intermediul spectroscopiei: FT-IR, ^1H -, ^{13}C -, ^{15}N RMN și difracției de raze X pe monocristal.

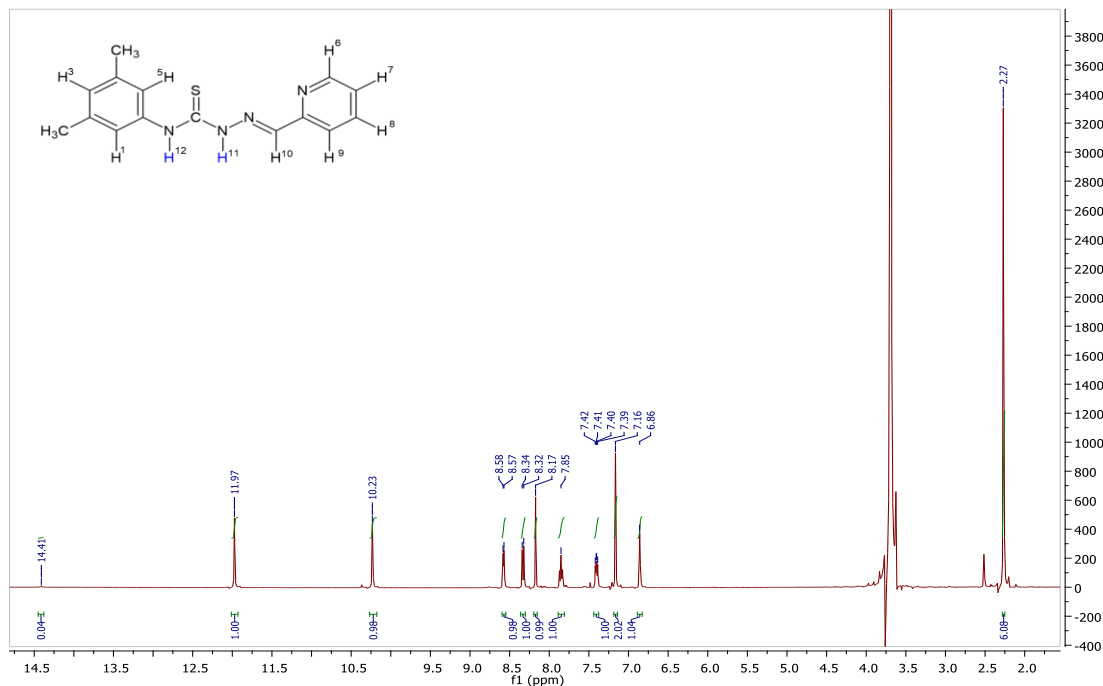


Fig. 4.7. Spectrul ^1H RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (98) [3,5-diMePhTSCPy]

În spectrele ^1H RMN (a se vedea figura 4.7.) se conțin semnalele grupelor metil din inelul benzenic în câmp puternic ecranat la 2.27 ppm (6H, s, CH_3); protonii din inelele benzenice apar în intervalul 6.85-8.56 ppm, după cum urmează 6.85 ppm (1H, br, s), (H^3); 7.16 ppm (2H, br. S), (H^1 și H^5); 7.40 ppm (1H, ddd, $J=7.4, 1.6, 0.9$), (H^7); 7.85 ppm (1H, dd, $J=7.7, 1.6$), (H^8); 8.17 ppm (1H, s), (H^{10}); 8.32 ppm (1H, d, $J=8.0$), (H^9); 8.57 ppm (1H, dm, $J=4.7$), (H^6); precum și protonul de la atomul de azot tioamidic 10.23 ppm (1H, s), (H^{12}) și 11.97 ppm (1H, s), (H^{11}).

În spectrul ^{13}C RMN (a se vedea fig. 4.8) se conține un singur semnal al atomilor de carbon a grupelor metil la 21.3 ppm ($m\text{-CH}_3$), dat fiind faptul că sunt grupe echivalente energetic. Semnalele atomilor de carbon din inelele benzenice au fost identificate în intervalul 121-149 ppm, după cum urmează: 121.7 ppm (C^{13}); 123.9 ppm (C^6 și C^2); 124.9 ppm (C^{11}); 127.5 ppm (C^4); 137.3 ppm (C^{12}); 139.1 ppm (C^1); 142.9 ppm (C^8); 149.8 (C^{10}); 153.2 ppm (C^9) și respectiv semnalul ce corespunde atomului de carbon de la $\text{C}=\text{S}$ la 176.6 ppm.

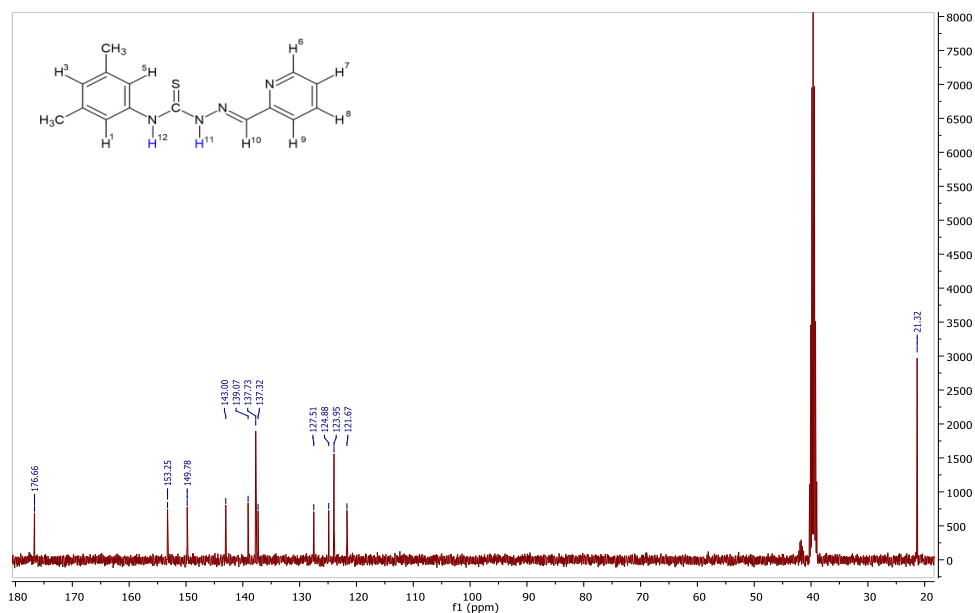


Fig. 4.8. Spectrul ^{13}C RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (98) [3,5-diMePhTSCPj]

În *spectrul ^{15}N RMN* (a se vedea figura 4.9.) se conțin semnalele atomilor de azot respectiv la: 327 ppm N (2); 309 ppm N (Py); 172 ppm N (1) și 127 ppm N (N).

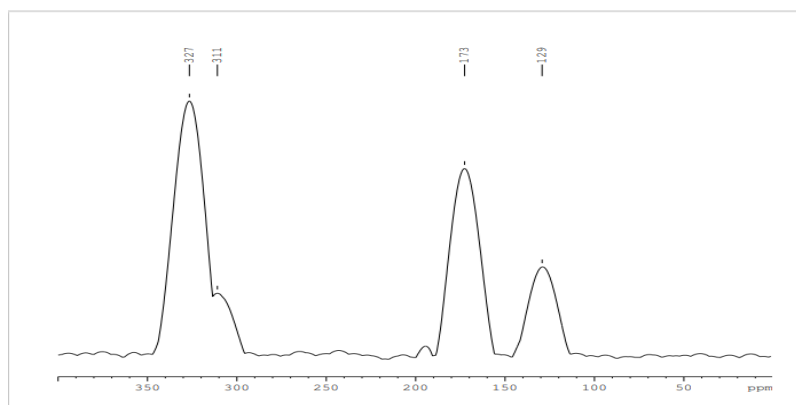


Fig. 4.9. Spectrul ^{15}N RMN a N-(3,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (98) [3,5-diMePhTSCPj]

Confirmarea obținerii N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotoamidelor (90-99) prin intermediul spectroscopiei *FT-IR*, prin identificarea prezenței grupeii $-\text{C}=\text{N}$ cu o bandă caracteristică prezentă la $1605\text{-}1625\text{ cm}^{-1}$ și a benzilor caracteristice la 3043 cm^{-1} (C-H, 2-Py) și pentru inelul piridinic a benzilor la $610\text{-}620\text{ cm}^{-1}$. Difrakția de *raze X* pe monocristal ale unor N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotoamide a confirmat veridicitatea compușilor sintetizați. Împachetarea în cristal a compusului (94) este determinată de legăturile de hidrogen intermoleculare de tipul $-\text{N}^{\text{N}}-\text{H}\cdots\text{S}\cdots\text{H}-\text{C}^6$ (Py), iar a compusului (96) este determinată de legături intermoleculare de tipul $-\text{N}^{\text{N}}-\text{H}\cdots\text{S}$, dar sunt prezente și interacțiuni de tip „ π - π

stacking” între inelele fenil - piridinic. În structura compusului (97) sunt prezente legături intermoleculare de tipul $-N^2-H \cdots N$ (Py) și de tipul $S \cdots H-C^4$ (Py). Rezultatele difracției de raze X, a confirmat că majoritatea moleculelor adoptă configurația *trans*, iar lungimea legăturii interatomice C=S este de 1.66-1.68 Å, lungime caracteristică legăturii duble (C=S), fapt care a indicat prezența N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor în formă tionică.

4.2.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotoamidelor.

Din datele studiate reiese că introducerea unui heterociclu precum piridin-2-il, poate genera compuși cu activitate antioxidantă înaltă [168; 169]. Prin urmare N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamidele sintetizate au fost testate la activitatea antioxidantă, prin intermediul metodei de inhibare a cation-radicalului ABTS⁺, (Anexa 5, p.158).

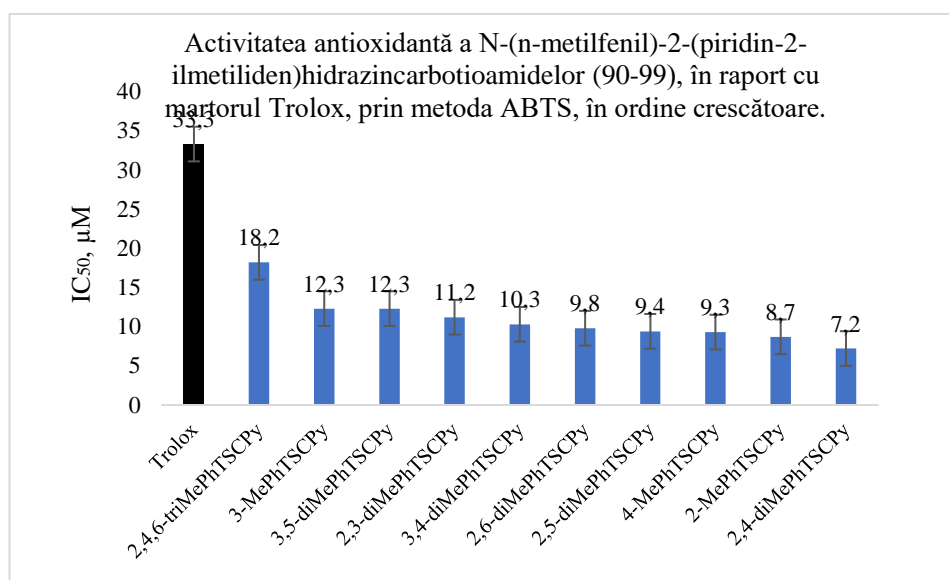


Fig. 4.10. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamidelor (90-99), prin metoda ABTS

Rezultatele sunt date în Anexa 5, p. 158.

Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamidelor (90-99) redată în diagramă (a se vedea figura 4.10), au demonstrat că toți compușii din această serie manifestă activitate de inhibare mai înaltă față de substanța luată ca referință Trolox-ul, cu valorile situate între 18.2 și 7.2 μM. Însă cele mai promițătoare rezultate revin N-(2-metilfenil)- și N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden) hidrazincarbotoamidelor, cu valorile 8.7 și 7.2 μM respectiv.

4.3. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidelor

Din studiile materialelor științifice [170; 171] se poate concluda că substituirea atomului de hidrogen H iminic, cu gruparea donora de electroni CH₃, generează compuși cu activitate biologică înaltă.

N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidele (100-109) au fost obținute prin reacția de condensare a hidrazincarbotioamidelor (80-89) cu 1-(piridin-2-il)etan-1-onă, raport molar 1:1 al reactanților. Sinteza a fost efectuată cu adăugarea cantităților catalitice de CH₃COOH_{glacial}, pentru activarea grupării carbonilice, fiind dezactivată de prezența grupării acceptoare de piridin-2-il, conform schemei generale de sinteză:

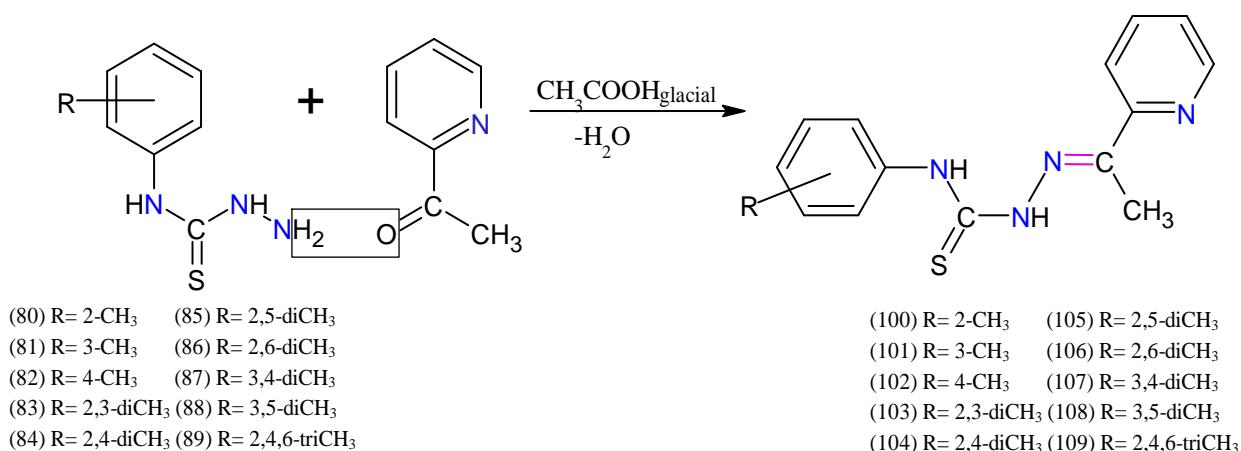
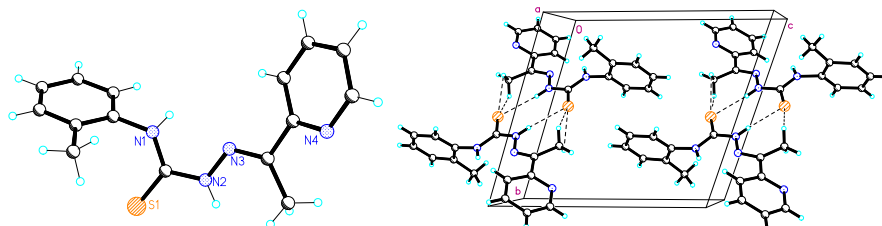


Fig. 4.11. Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidelor (100-109)

Într-un balon cu fund rotund ajustat cu refrigerent, plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă, a fost adăugat 0.1 mol de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidă dizolvat prealabil în 10 ml etanol și 0.1 mol de 1-(piridin-2-il)etan-1-onă prealabil dizolvată în 10 ml etanol, ulterior au fost adăugate 3-4 picături CH₃COOH_{glacial}. Amestecul a fost refluxat timp de 3 ore, sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS, eluent benzen: acetonă (5:1). După răcire în baia cu gheață, sedimentul format a fost filtrat, spălat cu apă, alcool etilic rece, iar pentru obținerea unui compus de puritate mai înaltă a fost recristalizat din etanol. N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidele reprezintă substanțe cristaline de culoare gălbuie.

(100) N-(2-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida [2-MePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 152-154 °C; η = 87 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3296, m, (N²-H); 3185, s, (N^N-H); 3043, s, (C-H, CH₃, Py); 3019, m; 1613, (N-H); 1580, m, (C=N);

1495, p, (C=C, Ar); 1460; 1430 (C=C, Py); 1370, m, (C=C, Ar); 1299, m, (C-N); 1251, m, (C=S); 1186, p; 1155; 1070, m, (N-N); 858, m; 819, m, (C=S); 626, (Py).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4347, N(N)-C(S), 1.3368, **C=S, 1.6709**, C(S)-N(2), 1.3580, N(2)-N(1), 1.3763, N(2)=C, 1.2879, C-C(CH₃), 1.4888, C-C, 1.4854, C-N(Py), 1.3395, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5039. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1 p. 152.

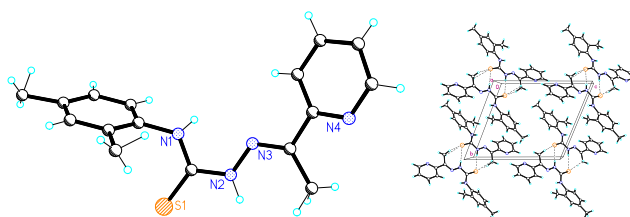
Fig. 4.12. Structura moleculară a *N*-(2-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida (100) [2-MePhTSCAPy]

(101) *N*-(3-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida [3-MePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 146-148 °C; η = 82 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3293, m, (N²-H); 3235, s, (N^N-H); 3049, s, (C-H, CH₃, Py); 2911, m; 1612, (N-H); 1581, m, (C=N); 1482, p, (C=C, Ar); 1464; 1433 (C=C, Py); 1358, m, (C=C, Ar); 1300, m, (C-N); 1260, m, (C=S); 1180, p; 1146; 1106, m, (N-N); 853, m; 795, m, (C=S); 619, (Py).

(102) *N*-(4-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida [4-MePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 158-160 °C; η = 84 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3297, m, (N¹-H); 3216, s, (N⁴-H); 3046, s, (C-H, CH₃, Py); 2919, m; 1603, (N-H); 1579, m, (C=N); 1485, p, (C=C, aril); 1464; 1432 (C=C, Py); 1355, m, (C=C, aril); 1298, m, (C-N); 1243, m, (C=S); 1166, p; 1158; 1097, m, (N-N); 841, m; 779, m, (C=S); 621, (Py).

(103) *N*-(2,3-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida [2,3-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 203-205 °C; η = 85 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3309, m, (N²-H); 3194, s, (N^N-H); 3058, s, (C-H, CH₃, Py); 2910, m; 1600, m, (C=N); 1578, p, (N-H); 1495, p, (C=C, Ar); 1458; 1432 (C=C, Py); 1366, m, (C=C, Ar); 1300 m, (C-N); 1251, m, (C=S); 1161, p; 1140; 1100, m, (N-N); 848, m; 795, m, (C=S); 623, (Py).

(104) *N*-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamida [2,4-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 154-156 °C; η = 90 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3250, m, (N²-H); 3206, s, (N^N-H); 3058, s, (C-H, CH₃, Py); 2916, m; 1609, (N-H); 1578, m, (C=N); 1488, p, (C=C, Ar); 1463; 1430 (C=C, Py); 1362, m, (C=C, Ar); 1286 m, (C-N); 1254, m, (C=S); 1186, p; 1145; 1100, m, (N-N); 862, m; 780, m, (C=S); 621, (Py).

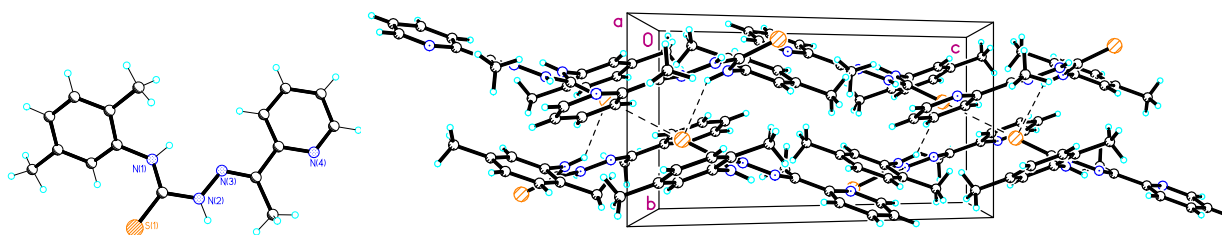


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4336, N(N)-C(S), 1.3344, **C=S, 1.6643**, C(S)-N(1), 1.3678, N(1)-N(2), 1.3694, N(2)=C, 1.2851, C-C(CH₃), 1.5020, C-C, 1.4787, C-N(Py), 1.3278, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5001, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5327. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.13. Structura moleculară a *N*-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidei (104) [2,4-diMePhTSCAPy]

(105) *N*-(2,5-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida

[2,5-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 165-167 °C; η = 87 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3248, m, (N²-H); 3203, s, (N^N-H); 3052, s, (C-H, CH₃, Py); 2914, m; 1610, (N-H); 1576, m, (C=N); 1484, p, (C=C, Ar); 1461; 1432 (C=C, Py); 1364, m, (C=C, Ar); 1288 m, (C-N); 1256, m, (C=S); 1188, p; 1145; 1101, m, (N-N); 860, m; 784, m, (C=S); 622, (Py).

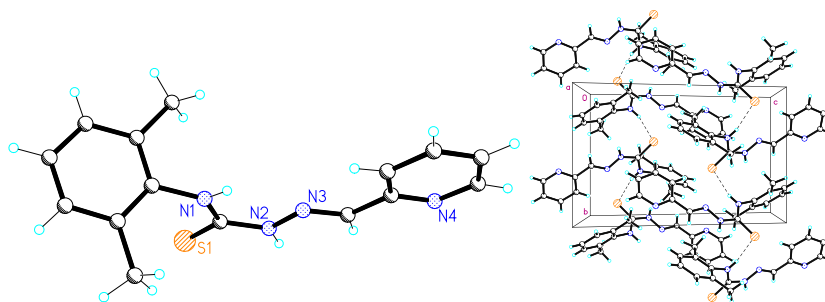


Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4247, N(N)-C(S), 1.3242, **C=S, 1.6706**, C(S)-N(1), 1.3689, N(1)-N(2), 1.3652, N(2)=C, 1.2897, C-C(CH₃), 1.5090, C-C, 1.4814, C-N(Py), 1.3381, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5061, C(ph)-C(5-CH₃), 1.5022. Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.14. Structura moleculară a *N*-(2,5-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidei (105) [2,5-diMePhTSCAPy]

(106) *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida

[2,6-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 210-212 °C; η = 81 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3303, m, (N²-H); 3154, s, (N^N-H); 3058, s, (C-H, CH₃, Py); 2911, m; 1620, (N-H); 1580, m, (C=N); 1494, p, (C=C, Ar); 1460; 1430 (C=C, Py); 1369, m, (C=C, Ar); 1265 m, (C-N); 1227, m; 1185, p, (C=S); 1142; 1099, m, (N-N); 890, m; 774, m, (C=S); 620, (Py).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4337, N(N)-C(S), 1.3311, **C=S, 1.6716**, C(S)-N(1), 1.3616, N(1)-N(1), 1.3732, N(2)=C, 1.2797, C-C(CH₃), 1.4970, C-C, 1.4813, C-N(Py), 1.3414, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4828, C(ph)-C(6-CH₃), 1.4988. Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.15. Structura moleculară a *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidei (106) [2,6-diMePhTSCAPy]

(107) *N*-(3,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida

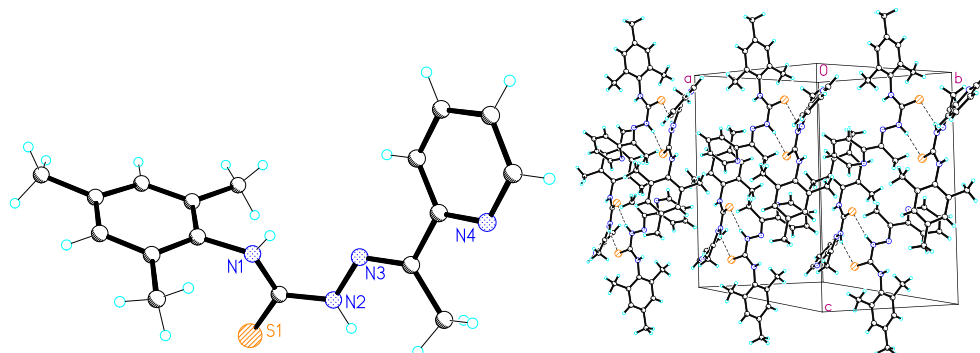
[3,4-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 160-162 °C; η = 85 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3304, m, (N²-H); 3140, s, (N^N-H); 3043, s, (C-H, CH₃, Py); 2932, m; 1609 m, (N-H); 1579, (C=N); 1517, p, (C=C, Ar); 1485; 1466; 1432 (C=C, Py); 1353, m, (C=C, aril); 1264 m, (C-N); 1214, m; 1191, p, (C=S); 1147; 1097, m, (N-N); 884, m; 778, m, (C=S); 616, (Py).

(108) *N*-(3,5-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida

[3,5-diMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 175-177 °C; η = 85 %; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3298, m, (N²-H); 3151, s, (N^N-H); 3063, s, (C-H, CH₃, Py); 2909, m; 1613; 1579, m, (C=N); 1494, p, (C=C, Ar); 1459; 1431 (C=C, Py); 1364, m, (C=C, Ar); 1279 m, (C-N); 1203, p (C=S); 1144; 1099, m, (N-N); 849, m; 787, m, (C=S); 619, (Py).

(109) *N*-(2,4,6-trimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida

[2,4,6-triMePhTSCAPy]: substanță cristalină de culoare gălbuie; p. t. = 203-205 °C; η = 82%; Spectrul FT-IR, ν_{max} (cm⁻¹): 3311, m, (N²-H); 3104, s, (N^N-H); 3058, s, (C-H, CH₃, Py); 2954, m; 1607; 1578, m, (C=N); 1497, p, (C=C, Ar); 1468; 1431 (C=C, Py); 1372, m, (C=C, Ar); 1299 m, (C-N); 1244, m; 1198, p, (C=S); 1153; 1096, m, (N-N); 855, m; 780, m, (C=S); 619, (Py).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4363, N(N)-C(S), 1.3286, **C=S, 1.6760**, C(S)-N(1), 1.3559, N(1)-N(2), 1.3830, N(2)=C, 1.2858, C-C(CH₃), 1.4909, C-C, 1.4828, C-N(Py), 1.3386, C(ph)-C(2-CH₃), 1.5034, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5119, C(ph)-C(6-CH₃), 1.5081. Datele cristalografice și unii parametri, Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.16. Structura moleculară a *N*-(2,4,6-trimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidei (109) [2,4,6-triMePhTSCAPy]

Sinteza *N*-(*n*-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidelor (100-109), a fost efectuată cu adăugarea cantităților catalitice de CH₃COOH_{glacial}, deoarece prezența electronilor liberi de la atomul de azot piridinic conferă bazicitate compusului, nefavorizând autocataliza. Prin urmare pentru a mări randamentul de reacție și a micșora timpul de reacție a fost adăugat catalizator. Veridicitatea obținerii compușilor a fost confirmată prin intermediul spectroscopiei: *FT-IR* și difracției *de raze X* pe monocristal.

În spectrele *FT-IR* au fost evidențiate prezența benzilor caracteristice în diapazonul 3043-3063 cm⁻¹ (C-H, CH₃ 2-Py), 1575-1580 cm⁻¹ a grupei -C=N și banda caracteristică pentru inelul piridinic la 619-626 cm.

Difracția *de raze X* pe monocristal ale unor *N*-(*n*-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamide demonstrează structura moleculară și confirmă veridicitatea obținerii compușilor. Împachetarea în cristal a moleculelor este determinată de interacțiuni de tip „ π - π stacking” între inelele fenil și piridinic, dar și de prezența legăturilor de hidrogen intermoleculare de tipul -N¹-H \cdots S \cdots H-C (CH₃, Py), prezente în cristalele compușilor (100, 104, 105, 109). În compusul (106) atomul de sulf formează legături de hidrogen intermoleculare de tipul -N^N-H \cdots S, cu formare de lanțuri. Datele privind lungimea legăturii interatomice C=S este egală cu 1.66-1.67 Å, caracteristică pentru legătura dublă, ceea ce indică că *N*-(*n*-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidele analizate (100, 104, 105, 106, 109) sunt în forma tionică.

4.3.1. Activitatea antioxidantă a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor sintetizate

În scopul efectuării cercetărilor ce țin de amplificarea proprietăților biologice, dar și elucidării legăturii structură chimică – activitate, N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidele (100-109) sintetizate au fost testate pentru activitatea antioxidantă, prin intermediul metodei de inhibare a cation-radicalului ABTS⁺, Anexa 6, p. 159.

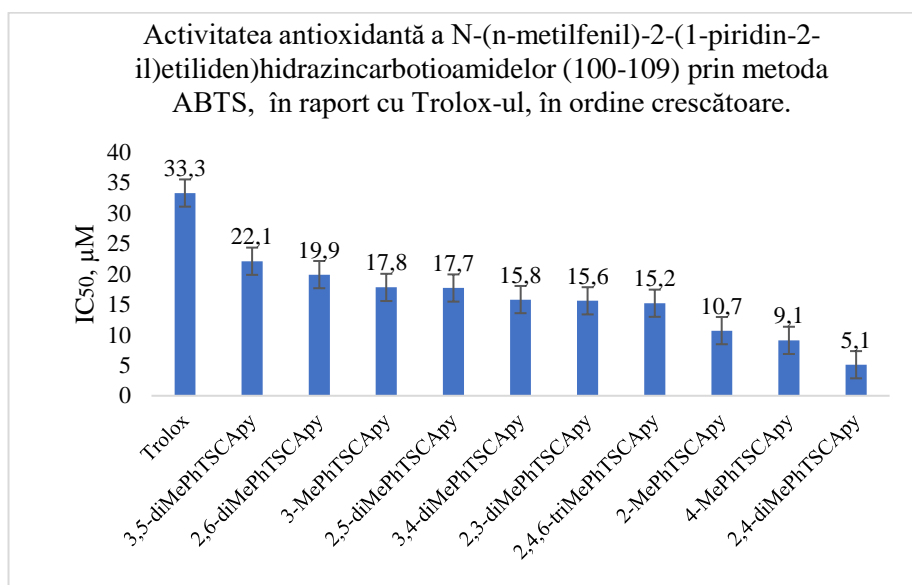


Fig. 4.17. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor (100-109), prin metoda ABTS

Rezultatele sunt redată în Anexa 6, p. 159.

Analiza rezultatelor activității antioxidante, expuse în diagrama (a se vedea fig. 4.17.), a N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor (100-109), prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS⁺, demonstrează că toți compușii manifestă activitate mai înaltă față de martorul Trolox. De remarcat că valorile cele mai promițătoare au revenit compușilor cu N-(4-metilfenil)- și N-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidele, cu IC₅₀= 9.1 și 5.1 μM respectiv.

4.3.2. Activitate anticancerigenă a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamide sintetizate

Reieșind din rezultatele obținute anterior dar și cu scopul cercetării influenței poziției grupelor metil din inelul benzenic cât și a componentei carbonilice asupra proprietăților anticancer, o serie de N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamide (103-105 și 107) (a

se vedea figura 4.18.), au fost testate pentru activitatea anticancerigenă față de linia de celule de cancer HL-60 (Leucemie umană), Anexa 10, p. 163. Compușii selectați au fost: N-(2,3-dimetilfenil)- (a se vedea figura 4.18. a); N-(2,4-dimetilfenil)- (a se vedea figura 4.18. b); N-(2,5-dimetilfenil)- (a se vedea figura 4.18. c) și N-(3,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor (a se vedea figura 4.18. d).

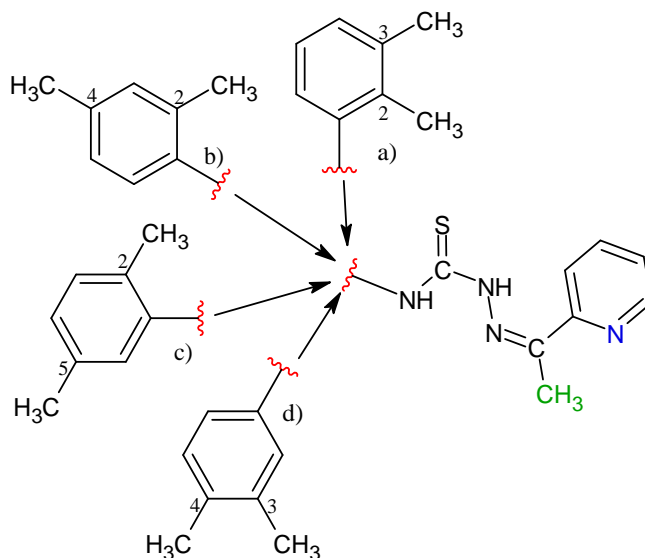


Fig. 4.18. Strategia de selectare a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotoamide pentru testarea activității anticancerigene

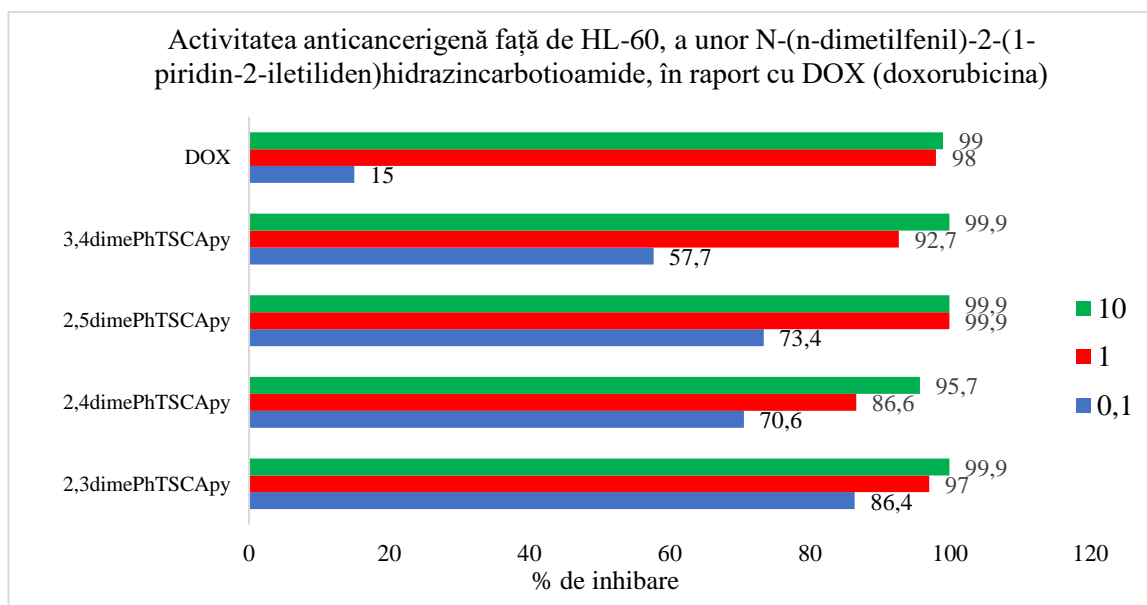


Fig. 4.19. Rezultatele testării *in vitro* a activității anticancerigene a N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamidelor (103-105 și 107), față de linia de celule de cancer HL-60 (leucemie umană)

Rezultatele sunt redată în Anexa 10, p. 163.

Reieșind din datele din diagramă (a se vedea figura 4.19.), rezultă că toate N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamidele (103-105 și 107) testate, manifestă activitate anticancerigenă înaltă, similară cu substanța luată ca referință DOX (doxorubicina), la concentrații de 10 μM. Iar ordinea descreșterii activității arată în felul următor N-(2,5-dimetifenil)- = N-(2,3-dimetifenil)- = N-(3,4-dimetifenil)- > N-(2,4-dimetifenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamida, care sugerează că poziția grupelor CH₃ în inelul benzenic, nu influențează semnificativ, în cazul dat, activitatea anticancerigenă, cel puțin la această concentrație. La concentrația de 1 μM rezultatele se schimbă însă nu atât de evident și % de inhibare a celulelor canceroase este de 99 % pentru compusul N-(2,5-dimetifenil)-cu o scădere în ordinea N-(2,3-dimetifenil)- > N-(3,4-dimetifenil)- > N-(2,4-dimetifenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamida. Însă la concentrația de 0.1 μM, rezultatele activității anticancerigene sunt evident mai înalte față de substanța luată ca referință DOX (doxorubicina) cu 15 % de inhibare a celulelor canceroase. În general toate N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamidele (103-105 și 107) testate la concentrația 0.1 μM, inhibă între 58-86 % de celule canceroase.

În continuare atât N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidele (103-105 și 107) cercetate anterior cât și N-(n-dimetilfenil)-2-(piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidele (93-95 și 97) au fost testate la activitatea anticancerigenă față de linia de celule de MCF-7 (adenocarcinom mamar) [154], Anexa 11, p. 164.

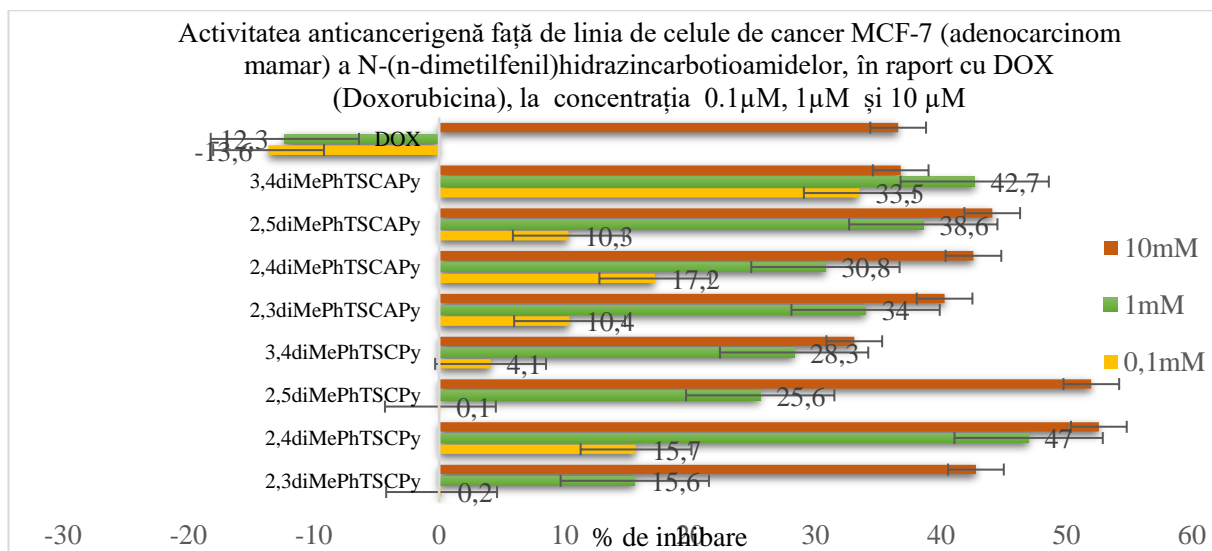


Fig. 4.20. Rezultatele testării *in vitro*, a activității anticancerigene a unor N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide față de linia de celule de cancer MCF-7 (adenocarcinom mamar)

Rezultatele sunt redată în Anexa 11, p. 164.

Activitatea anticancerigenă a compușilor studiați față de linia de celule de cancer MCF-7 (adenocarcinom mamar), (a se vedea figura 4.20.), față de substanței luate ca referință DOX (doxorubicina). Rezultatele au arătat că toate substanțele testate, inhibă proliferarea celulelor între 33 % și 52 %, rezultate similare cu DOX (doxorubicina) cu 36.6 %. La concentrația de 1 μ M toți compușii testați manifestă activitate anticancerigenă înaltă, față de DOX (doxorubicina) care nu inhibă, ci are efect invers, duce la proliferarea celulelor canceroase. În seria N-(n-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor activitatea anticancerigenă crește în ordinea N-(2,3-dimetifenil)- < N-(2,5-dimetifenil)- < N-(3,4-dimetifenil)- < N-(2,4-dimetifenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidă, cu 15.5; 25.6; 28.3 și 47 % respectiv. Iar în seria N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamidelor, ordinea creșterii activității anticancerigene se schimbă, ceea ce sugerează despre influență substituției atomului de H (hidrogen), cu cea a grupei CH₃ în gruparea azometinică -C=N-. În cazul dat valorile % de inhibare a celulelor canceroase în ordine crescătoare revin N-(2,4-dimetifenil)- < N-(2,3-dimetifenil)- < N-(2,5-dimetifenil)- < N-(3,4-dimetifenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor și sunt respectiv 30.8; 34; 38.6 și 42.7 %. Aceste rezultate prezintă interes sporit pentru studiile ulterioare.

De asemenea a fost evaluată activitatea anticancerigenă a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamide (103-105) cât și a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamide (93-95), față de linia de celule de LNCaP (adenocarcinom de prostată), Anexa 12, p. 165.

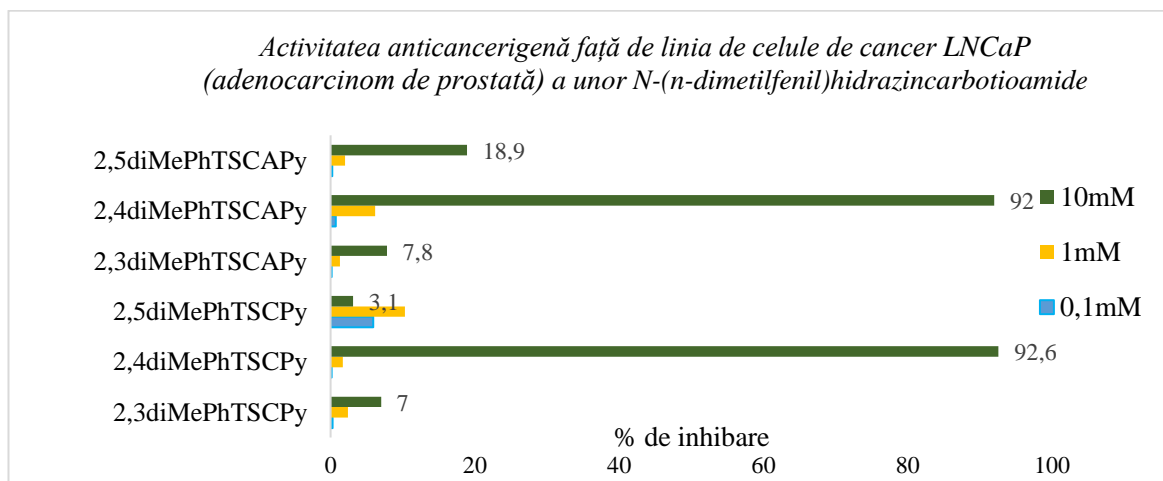


Fig. 4.21. Rezultatele testării *in vitro* a activității anticancerigene a unor N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide față de linia de celule de cancer LNCaP (adenocarcinom de prostată)

Rezultatele sunt redată în Anexa 12, p. 165.

Rezultatele testării sunt date în diagrama (a se vedea figura 4.21.) din care se confirmă rezultatele obținute în studiile anterioare. Deși, în cazul acesta sunt mai modeste, la concentrații de 0.1 μM și 1 μM , iar la concentrația de 10 μM se menține aceeași tendință. Cele mai înalte rezultate au manifestat N-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)hidrazincarbotioamida (94) și N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida (104), cu 92 % și 92.6 % de inhibare respectiv.

4.4. Sinteza N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotioamidelor

N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidele (110-119) au fost obținute prin reacția de condensare a hidrazincarbotioamidelor (80-89) cu 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida, raport molar 1:1 al reactanților. Sinteza a fost efectuată în lipsa catalizatorului, datorită prezenței grupării hidroxilice în poziția α , care sporește aciditatea și favorizează autocataliza, conform schemei generale de sinteză:

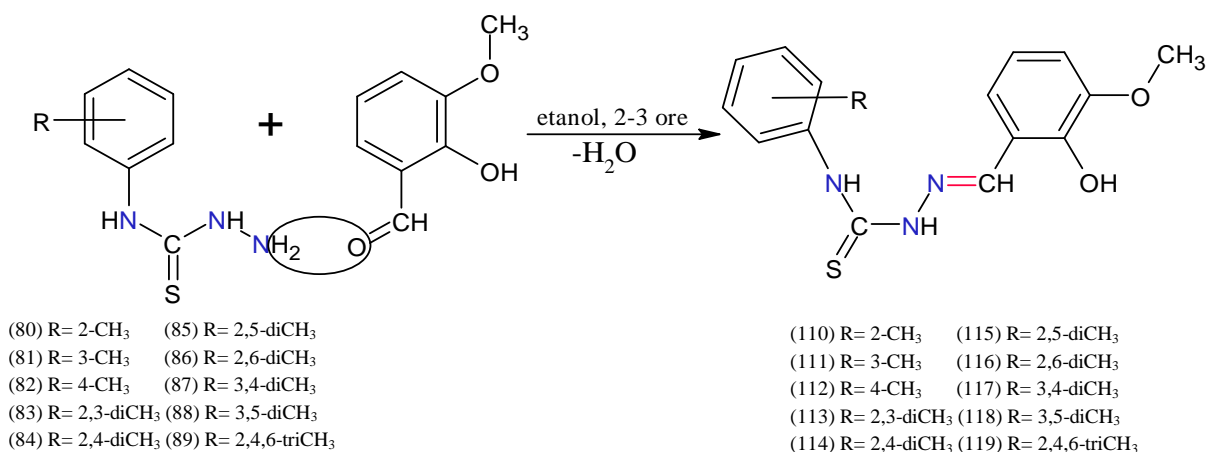


Fig. 4.22. Schema generală de sinteză a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotioamidelor (110-119)

Într-un balon cu fund rotund ajustat cu refrigerent, plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă, a fost adăugat 0.1 mol de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidă prealabil dizolvată în 10 ml etanol și 0.1 mol de 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida prealabil dizolvată în 10 ml etanol. Amestecul a fost refluxat timp de 2-3 ore, sfârșitul reacției a fost stabilit cu ajutorul CSS (cromatografiei în strat subțire), eluent benzen : acetona (5:1). După răcire, în baie cu gheață, sedimentul format a fost filtrat, spălat cu apă, alcool etilic rece, iar pentru obținerea unui compus de puritate mai înaltă a fost recristalizat din etanol.

(110) *N*-(2-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida,

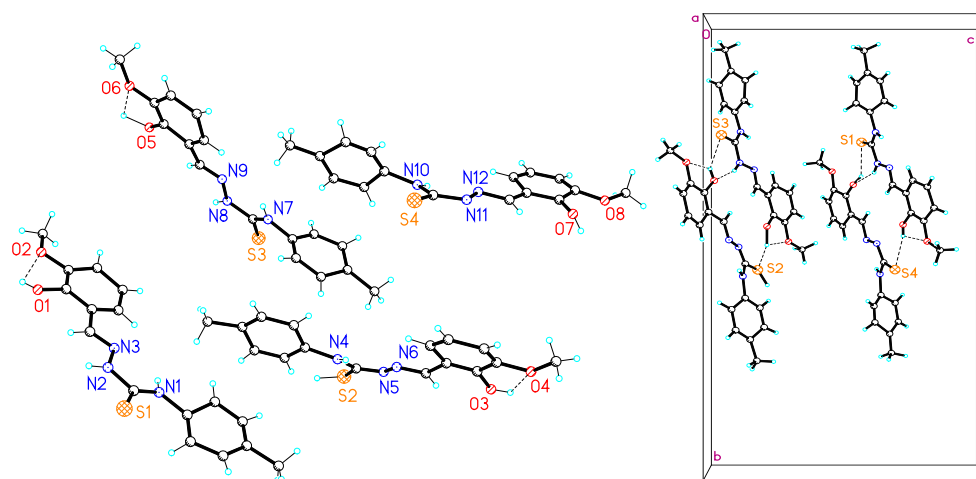
[2-MePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 208-210 °C; η = 92 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3305, p, (OH); 3054, m; 3009, m, (N²-H); 3166, p, (N^N-H); 3046, m; 2964, p, (N-N); 2934, s; 2833, s; 1609, m, (N-N); 1589, p, (C=N); 1549, p, (C=C, Ar); 1455, m; 1412, m (OH); 1356, m; 1331, m, (C=C, Ar); 1263, p, (C=S); 1213, m, (C-O); 1167, m; 1111, m; 1057, m, (N-N); 827, m; 752, m, (C=S).

(111) *N*-(3-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida,

[3-MePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 201-203 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3298, p, (OH); 3054, m; 3211, m, (N²-H); 3164, p, (N^N-H); 3046, m; 2996, p, (N-N); 2934, s; 2834, s; 1605, m, (N-N); 1579, p, (C=N); 1537, p, (C=C, Ar); 1460, m; 1420, m (OH); 1353, m; 1323, m, (C=C, Ar); 1264, p, (C=S); 1223, m, (C-O); 1161, m; 1108, m; 1062, m, (N-N); 838, m; 734, m, (C=S).

(112) *N*-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida,

[4-MePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 208-210 °C; η = 93 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3298, p, (OH); 3054, m; 3211, m, (N²-H); 3164, p, (N^N-H); 3046, m; 2996, p, (N-N); 2934, s; 2834, s; 1605, m, (N-N); 1579, p, (C=N); 1537, p, (C=C, Ar); 1460, m; 1420, m (OH); 1353, m; 1323, m, (C=C, Ar); 1264, p, (C=S); 1223, m, (C-O); 1161, m; 1108, m; 1062, m, (N-N); 838, m; 734, m, (C=S).



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4200, N(N)-C(S), 1.2677, C=S, **1.6877**, C(S)-N(1), 1.4321, N(1)-N(2), 1.4867, N(2)=C, 1.2065, C-C, 1.5323, C-OH, 1.3929, C-C(OCH₃), 1.4116, C(ph)-C(4-CH₃), 1.5648. Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1 p. 152.

Fig. 4.23. Structura moleculară a *N*-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida (112) [4-MePhTSCVn]

(113) *N*-(2,3-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,

[2,3-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 208-210 °C; η = 92 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3320, p, (OH); 3217, m, (N²-H); 3169, p, (N^N-H); 3037, m; 2969, p, (N-N); 2940, s; 2843, s; 1618, m, (N-N); 1581, p, (C=N); 1539, p, (C=C, Ar); 1479, m; 1441, m (OH); 1355, m; 1330, m, (C=C, Ar); 1267, p, (C=S); 1211, m, (C-O); 1167, m; 1117, m; 1075, m, (N-N); 837, m; 726, m, (C=S).

(114) *N*-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,

[2,4-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 212-214 °C; η = 91 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3346, p, (OH); 3298, m, (N²-H); 3168, p, (N^N-H); 3010, m; 2963, p, (N-N); 2938, s; 2840, s; 1605, m, (N-N); 1578, p, (C=N); 1528, p, (C=C, Ar); 1477, m; 1443, m (OH); 1357, m; 1318, m, (C=C, Ar); 1271, p, (C=S); 1220, m, (C-O); 1164, m; 1123, m; 1062, m, (N-N); 833, m; 734, m, (C=S) [113].

(115) *N*-(2,5-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,

[2,5-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 208-210 °C; η = 89 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3325, p, (OH); 3287, m, (N²-H); 3161, p, (N^N-H); 3014, m; 2964, p, (N-N); 2940, s; 2848, s; 1615, m, (N-N); 1588, p, (C=N); 1518, p, (C=C, Ar); 1476, m; 1445, m (OH); 1350, m; 1311, m, (C=C, Ar); 1272, p, (C=S); 1224, m, (C-O); 1168, m; 1130, m; 1065, m, (N-N); 836, m; 732, m, (C=S).

(116) *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,

[2,6-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 218-220 °C; η = 85 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3336, p, (OH); 3278, m, (N²-H); 3158, p, (N^N-H); 3012, m; 2960, p, (N-N); 2930, s; 2842, s; 1602, m, (N-N); 1571, p, (C=N); 1523, p, (C=C, Ar); 1474, m; 1441, m (OH); 1355, m; 1315, m, (C=C, Ar); 1265, p, (C=S); 1224, m, (C-O); 1160, m; 1128, m; 1067, m, (N-N); 834, m; 731, m, (C=S).

(117) *N*-(3,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,

[3,4-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 191-193 °C; η = 82 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3323, p, (OH); 3217, m, (N¹-H); 3194, p, (N⁴-H); 3069, m; 2996, p, (N-N); 2934, s; 2838, s; 1613, m, (N-N); 1581, p, (C=N); 1511, p, (C=C, aril); 1473, m; 1440, m (OH); 1352, m; 1322, m, (C=C, aril); 1263, p, (C=S); 1218, m, (C-O); 1168, m; 1117, m; 1054, m, (N-N); 827, m; 731, m, (C=S).

(118) *N*-(3,5-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,
[3,5-diMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 158-160 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3233, p, (OH); 3217, m, (N²-H); 3141, p, (N^N-H); 3058, m; 2982, p, (N-N); 2943, s; 2843, s; 1599, m, (N-N); 1534, p, (C=N); 1500, p, (C=C, Ar); 1466, m; 1428, m (OH); 1373, m; 1321, m, (C=C, Ar); 1269, p, (C=S); 1224, m, (C-O); 1157, m; 1118, m; 1068, m, (N-N); 866, m; 745, m, (C=S).

(119) *N*-(2,4,6-trimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamida,
[2,4,6-triMePhTSCVn]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 223-225 °C; η = 84 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3326, p, (OH); 3222, m, (N²-H); 3194, p, (N^N-H); 3066, m; 2971, p, (N-N); 2913, s; 2837, s; 1611, m, (N-N); 1577, p, (C=N); 1512, p, (C=C, Ar); 1477, m; 1435, m (OH); 1344, m; 1315, m, (C=C, Ar); 1256, p, (C=S); 1193, m, (C-O); 1152, m; 1104, m; 1060, m, (N-N); 894, m; 733, m, (C=S).

Veridicitatea obținerii *N*-(*n*-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor (110-119) a fost confirmată prin intermediul spectroscopiei *FT-IR*. În *spectrele FT-IR* sunt prezente benzile caracteristice pentru grupa -OH în intervalul 3305-3330 cm^{-1} , iar benzile identificate la lungimile de undă 1210-1230 caracteristice legăturii -C-O. Semnalele caracteristice grupei -C=N, au fost identificate în diapazonul 1580-1610 cm^{-1} . Difrakția de *raze X* pe monocristal a *N*-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidei (112), demonstrează structura moleculară și indică că moleculele sunt neplanare, dat fiind faptul că există rotația inelului benzenic față de restul moleculei. Împachetarea în cristal a moleculelor este determinată de legăturile de hidrogen intermoleculare de tipul S \cdots H-OH și de tipul N \cdots H-(-OCH₃), dar și intramoleculare de tipul (-OCH₃) O \cdots H-OH. Datele privind lungimea legăturii interatomice C=S este egală cu 1.68 Å, caracteristică pentru legătura dublă, ceea ce indică că *N*-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidei (112) analizată este în forma tionică.

4.4.1. Activitatea antioxidantă a *N*-(*n*-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotoamidelor sintetizate.

Introducerea unei grupe acceptoare de electroni precum grupa metoxi (-OCH₃), în scheletul *N*-(*n*-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamidelor [172], poate genera compuși cu activitate antioxidantă înaltă [112].

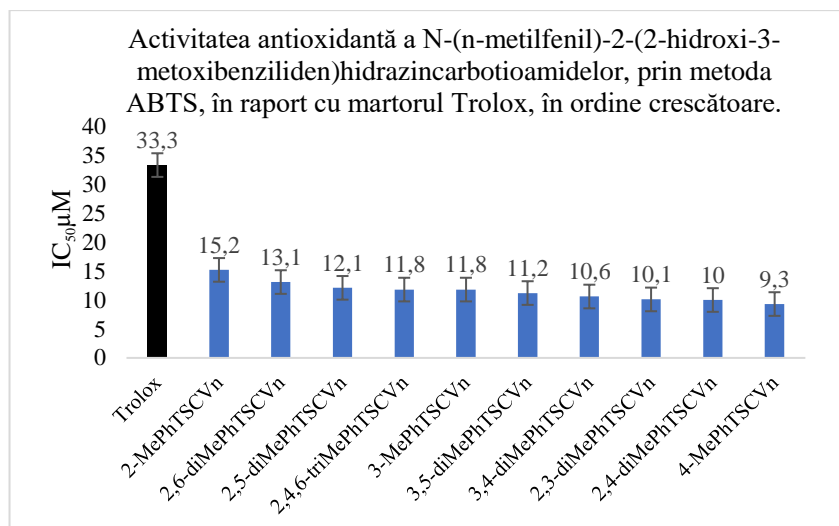


Fig. 4.24. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor (110-119), prin metoda ABTS

Rezultatele sunt redată în Anexa 8, p. 161.

În acest scop N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidele (110-119) sintetizate au fost testate la activitate antioxidantă, prin metodă ABTS, Anexa 8, p. 161. În diagramă (a se vedea fig. 4.24.) sunt expuse rezultatele asupra activității antioxidante, prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS^{•+}. Toți compușii testați manifestă activitate mai înaltă față de substanța luată ca etalon Trolox-ul, cele mai înalte valori a concentrației semimaximale cu IC₅₀ = 10 și 9.3 μM revine N-(2,4-metilfenil)- și N-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor.

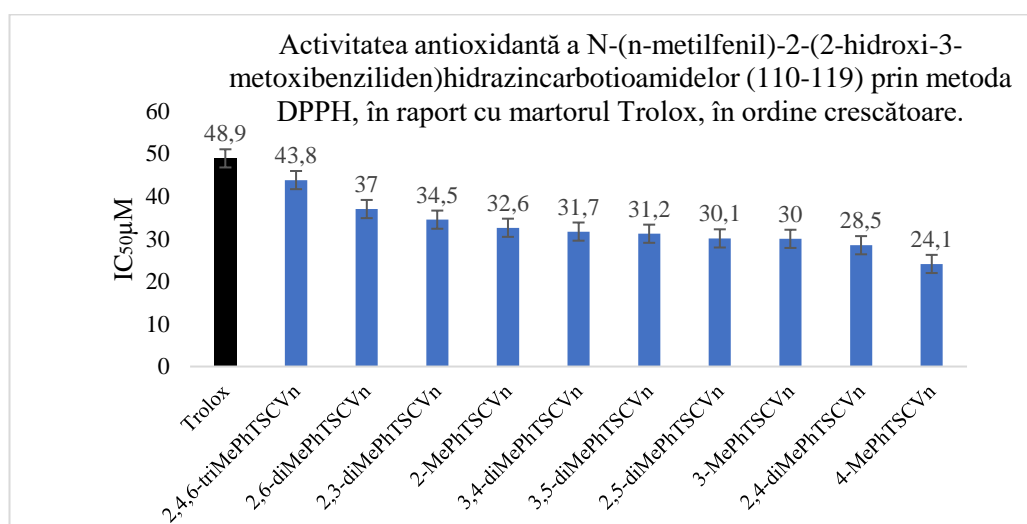


Fig. 4.25. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor (110-119), prin metoda DPPH

Rezultatele sunt redată în Anexa 8, p. 161.

Testarea activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)-hidrazincarbotioamidelor (110-119), prin metoda de inhibare a radicalilor liberi DPPH^{*}, expuse în diagrama (a se vedea figura 4.25.), a evidențiat o scădere ne semnificativă a activității. Activitatea cu valoarea concentrației de inhibiție semimaximală IC₅₀ = 28.5 și 24.1 μM revine compușilor N-(2,4-dimetilfenil)- și N-(4-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor, mai înaltă față de substanța luată ca etalon Trolox-ul.

În colaborare cu cercetătorii din cadrul Departamentului Chimie a fost obținut un compus coordinativ de Ni(II) cu N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida, care ulterior a fost testat pentru activitate antioxidantă, rezultatele au demonstrat că în urma complexării activitatea antioxidantă s-a mărit semnificativ, aceste compus a fost brevetat [113].

4.5. Sinteza N-(n-metilfenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor

N-(n-metilfenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidele au fost obținute prin reacția de condensare a hidrazincarbotioamidelor (80-89) cu 2-hidroxibenzaldehida, raport molar 1:1 al reactanților [173], conform schemei generale de sinteză:

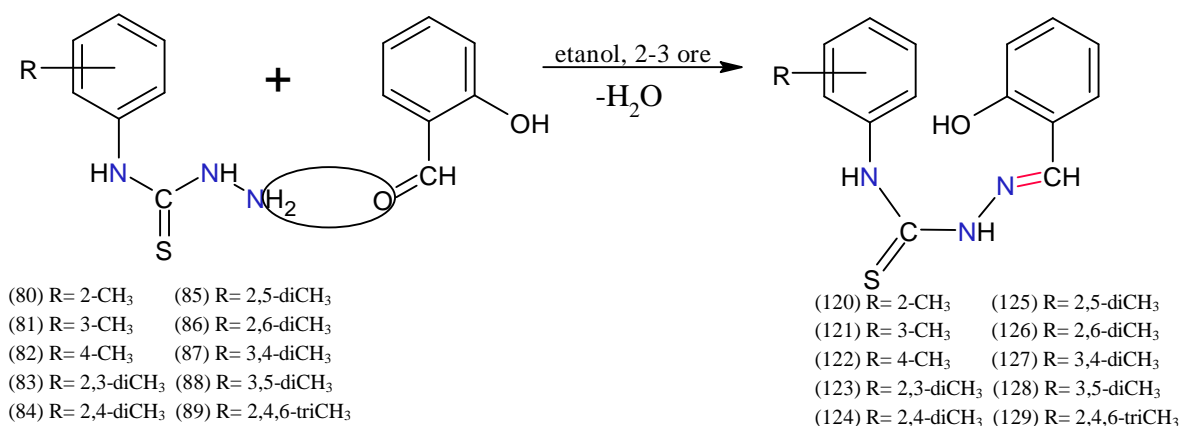


Fig. 4.26. Schema generală de sinteză generală a N-(n-metilfenil)-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129)

Într-un balon cu fund rotund ajustat cu refrigerent, plasat într-un cuib de încălzire cu temperatură reglabilă, au fost adăugate 0.1 mol de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidă prealabil dizolvată în 10 ml etanol și 0.1 mol de 2-hidroxibenzaldehida prealabil dizolvată în 10 ml etanol. Amestecul a fost refluxat timp de 2-3 ore iar 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, alcool etilic rece, iar pentru obținerea unui compus de puritate mai înaltă a fost recristalizat din etanol.

(120) *N*-(2-metilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida, [2-MePhTSCAs]:

substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 183-185 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3373, m, (OH); 3112, s, (N^N-H); 2955, m (N-N); 2852, s; 1617, m (N-N); 1536, p, (C=N); 1502, p, (C=C, Ar); 1462; 1414, s, (OH); 1387, m, (C=C, Ar); 1268, p, (C=S); 1219, m (C-O); 1153, m; 1111, m; 1080, m, (N-N); 862, m; 760, m, (C=S).

(121) *N*-(3-metilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida, [3-MePhTSCAs]:

substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 177-179 °C; η = 91 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3389, m, (OH); 3142, s, (N^N-H); 3042, m; 2981, m (N-N); 2912, s; 1602, m (N-N); 1533, p, (C=N); 1504, p, (C=C, Ar); 1467, m; 1412, s, (OH); 1388, m, (C=C, Ar); 1261, p, (C=S); 1220, m (C-O); 1152, m; 1118, m; 1080, m, (N-N); 841, m; 752, m, (C=S).

(122) *N*-(4-metilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida, [4-MePhTSCAs]:

substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 198-200 °C; η = 93 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3380, m, (OH); 3228, m, (N²-H); 3178, s, (N^N-H); 3023, m; 2984, m (N-N); 2914, s; 1602, m (N-N); 1542, p, (C=N); 1509, p, (C=C, aril); 1479, m; 1405, s, (OH); 1373, m, (C=C, aril); 1250, p, (C=S); 1213, m (C-O); 1173, m; 1111, m; 1076, m, (N-N); 849, m; 750, m, (C=S).

(123) *N*-(2,3-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida, [2,3-diMePhTSCAs]:

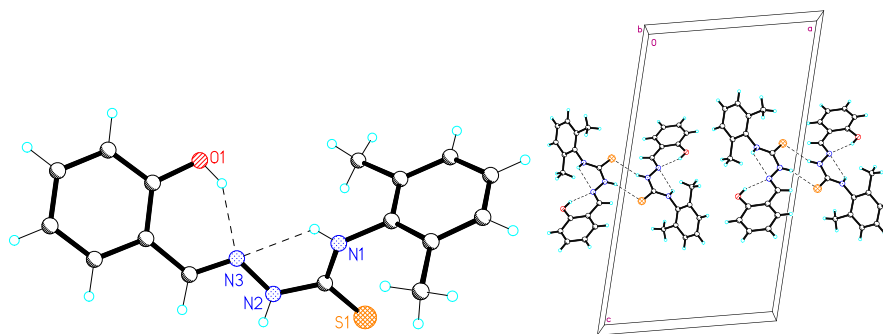
substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 191-193 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3367, m, (OH); 3263, m, (N²-H); 3159, s, (N^N-H); 3044, m; 3000, m (N-N); 2919, s; 1617, m, (N-N); 1573, p, (C=N); 1536, p, (C=C, Ar); 1468, m; 1395, s, (OH); 1395, m, (C=C, Ar); 1251, p, (C=S); 1210, m (C-O); 1162, m; 1093, m; 1076, m, (N-N); 836, m; 756, m, (C=S).

(124) *N*-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida, [2,4-diMePhTSCAs]:

substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 185-187 °C; η = 90 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3365, m, (OH); 3261, m, (N²-H); 3121, s, (N^N-H); 3052, m; 2975, m (N-N); 2916, s; 1619, m, (N-N); 1570, p, (C=N); 1536, p, (C=C, Ar); 1469, m; 1390, s, (OH); 1373, m, (C=C, Ar); 1259, p, (C=S); 1211, m, (C-O); 1152, m; 1120, m; 1085, m, (N-N); 831, m; 744, m, (C=S); *Spectrul ¹H RMN*: (400MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 11.69 (s, 1H, NH-N=); 9.95 (s, 1H, C_{Ph}-NH); 9.82 (s, 1H, OH); 8.47 (s, 1H, C=N); 8.07 (d, 1H, OH); 7.23-7.17 (m, 1H); 7.15 (d, 1H); 7.07 (s, 1H); 7.01 (d, 1H); 6.88(d, 1H); 6.82(m, 1H); 2.29 (s, 3H, *p*-CH₃); 2.18 (s, 3H, *o*-CH₃); *Spectrul ¹³C RMN* (100MHz/(CD₃)₂SO), δ (ppm): 177.31 (C=S); 156.9 (C-OH); 140.42 (C=N); (Ar): 136.0, 135.4, 133.6, 131.1, 126.8, 119.69; 21.06 (*p*-CH₃); 18.18 (*o*-CH₃) [167].

(125) *N*-(2,5-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamida, [2,5-diMePhTSCAs]:
 substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 194-196 °C; η = 89%; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3364, m, (OH); 3258, m, (N²-H); 3105, p, (N^N-H); 3031, m; 2954, p (N-N); 2916, s; 1621, m, (N-N); 1571, p, (C=N); 1538, p, (C=C, Ar); 1468, m; 1384, s, (OH); 1326, m, (C=C, Ar); 1261, p, (C=S); 1227, m, (C-O); 1152, m; 1127, m; 1086, m, (N-N); 851, m; 746, m, (C=S) [167].

(126) *N*-(2,6-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamida, [2,6-diMePhTSCAs]:
 substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 208-210 °C; η = 82 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3384, m, (OH); 3249, m, (N²-H); 3123, p, (N^N-H); 3046, m; 2972, p (N-N); 2910, s; 1616, m, (N-N); 1568, p, (C=N); 1532, p, (C=C, Ar); 1467, m; 1384, s, (OH); 1324, m, (C=C, Ar); 1264, p, (C=S); 1239, m, (C-O); 1155, m; 1117, m; 1083, m, (N-N); 860, m; 758, m, (C=S) [167].



Unele distanțe interatomice, în Å: C(fenil)-N(N), 1.4397, N(N)-C(S), 1.3344, **C=S, 1.6603**, C(S)-N(1), 1.3643, N(1)-N(2), 1.3844, N(2)=C, 1.2771, C-C, 1.4487, C-OH, 1.3501, C(ph)-C(2-CH₃), 1.4953, C(ph)-C(6-CH₃), 1.5069. Datele cristalografice și unii parametri Anexa 1, p. 153.

Fig. 4.27. Structura moleculară a *N*-(2,6-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidei (126) [2,6-diMePhTSCAs]

(127) *N*-(3,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamida, [3,4-diMePhTSCAs]:
 substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 175-177 °C; η = 88 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3387, m, (OH); 3246, m, (N²-H); 3138, p, (N^N-H); 3046, m; 2987, p (N-N); 2910, s; 1615, m, (N-N); 1570, p, (C=N); 1537, p, (C=C, Ar); 1466, m; 1390, s, (OH); 1328, m, (C=C, Ar); 1266, p, (C=S); 1222, m, (C-O); 1152, m; 1122, m; 1068, m, (N-N); 854, m; 755, m, (C=S) [167].

(128) *N*-(3,5-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamida, [3,5-diMePhTSCAs]:
 substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 190-192 °C; η = 91 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3396, m, (OH); 3234, m, (N²-H); 3140, p, (N^N-H); 3046, m; 2986, p (N-N); 2916, s; 1603, m, (N-N); 1574, p, (C=N); 1537, p, (C=C, Ar); 1456, m; 1394, s, (OH); 1329, m, (C=C, Ar); 1268, p, (C=S); 1226, m, (C-O); 1166, m; 1152, m; 1066, m, (N-N); 848, m; 750, m, (C=S).

(129) *N*-(2,4,6-trimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamida,

[2,4,6-triMePhTSCAs]: substanță cristalină de culoare albă; p. t. = 200-202 °C; η = 82 %; *Spectrul FT-IR*, ν_{max} (cm^{-1}): 3375, m, (OH); 3284, m, (N²-H); 3166, p, (N^N-H); 3046, m; 2984, p (N-N); 2904, s; 1608, m, (N-N); 1574, p, (C=N); 1528, p, (C=C, Ar); 1441, m; 1369, s, (OH); 1323, m, (C=C, Ar); 1260, p, (C=S); 1226, m, (C-O); 1198, m; 1161, m; 1071, m, (N-N); 870, m; 742, m, (C=S).

În *spectrele FT-IR* a *N*-(*n*-metilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129) a fost semnalată prezența unei benzi de absorbție în domeniul 3365-3390 cm^{-1} caracteristică grupei -OH precum și benzile caracteristice grupei -C=N la 1602-1620 cm^{-1} . În *spectrele ¹H RMN* se conțin semnale la 2.10-2.19 ppm care corespund protonilor din grupele metil din inelul benzenic, în spectru carbonic acestea au fost semnalate la 18-21 ppm. Semnalele protonilor din ambele inele benzenice apar la 6.8-7.3 ppm, iar semnalul singlet ce corespunde legăturii -OH la 8.4 ppm. În *spectrul ¹³C RMN* sunt prezente semnalele ce corespund atomilor de carbon din ambele inele benzenice în diapazonul 119-136 ppm, picul de la 140 ppm indică prezența -C=N, iar la 155 ppm a fost identificat atomul de carbon din -C-OH, pe când atomul de carbon din grupa -C=S a fost semnalat la 177 ppm.

Difracția de raze *X* de monocristal a *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidei (126), demonstrează structura moleculară și indică că moleculele sunt neplanare, dat fiind faptul că există rotația inelului benzenic față de restul moleculei. Împachetarea în cristal a moleculelor este determinată de legături de hidrogen intermoleculare de tipul S \cdots H-N¹, dar și intramoleculare de tipul O-H \cdots N \cdots H-N^N. Datele privind lungimea legăturii interatomice C=S este egală cu 1.66 Å, caracteristică pentru legătura dublă, ceea ce indică că *N*-(2,6-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamida (126) analizată este în forma tionică.

4.5.1. Activitatea antioxidantă a *N*-(*n*-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)-hidrazincarbotioamidelor sintetizate.

N-(*n*-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidele (120-129) sintetizate au fost testate pentru activitatea antioxidantă pentru a elucida influența componentei carbonilice asupra activității antioxidante.

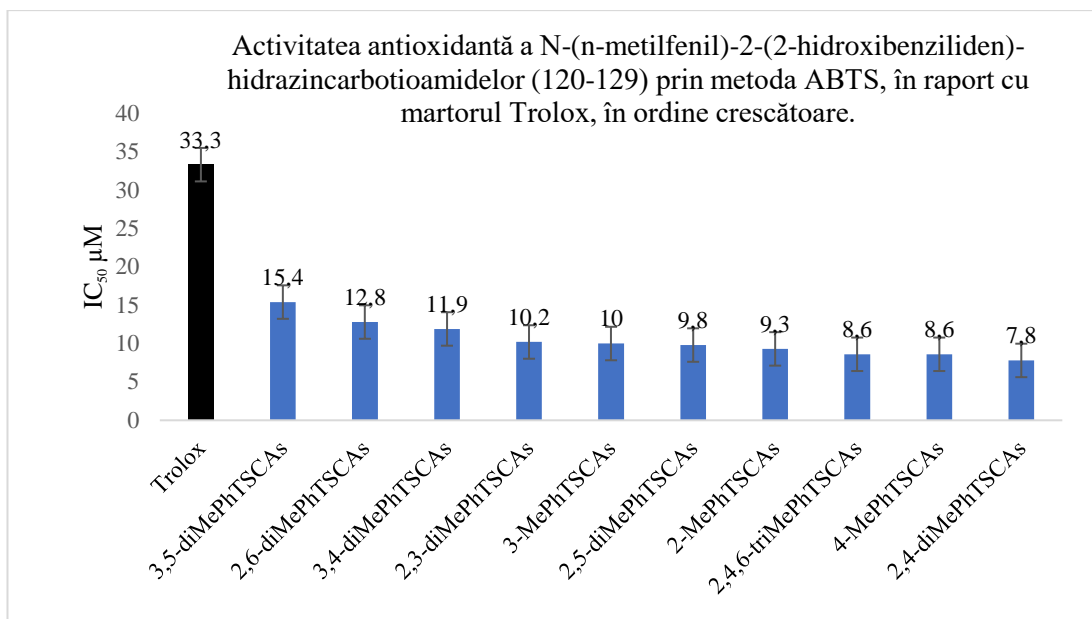


Fig. 4.28. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129), prin metoda ABTS

Rezultatele sunt redată în Anexa 7, p. 160.

Din studiile asupra activității antioxidante ale N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129) [174], prin metoda de inhibare a cation-radicalului ABTS⁺, expuse în figura 4.28., Anexa 7, p. 160, se poate concluda că introducerea fragmentului 2-hidroxi-benzilidenic, a dus la rezultate mai înalte față de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (80-89). De menționat că toți compușii vizați în figura 4.28, manifestă activitate mai înaltă față de substanța luată ca referință Trolox-ul. Se observă aceeași tendință, precum că activitatea cea mai înaltă IC₅₀ = 7.8 și 8.6 μM revine N-(4-metilfenil)- și N-(2,4-dimetilfenil)-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor [175], care conțin grupele *metil* CH₃- în inelul benzenic, în pozițiile *orto*- și *para*-.

Studierea activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129) (Anexa 7, p. 161), prin metoda de inhibare a radicalilor liberi DPPH[•], (a se vedea fig. 4.29.) a evidențiat o scădere nesemnificativă a activității. Valorile concentrației de inhibare semimaximale, IC₅₀ = 27.7 și 28.2 μM revin N-(2,4,6-trimetilfenil)- și N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor.

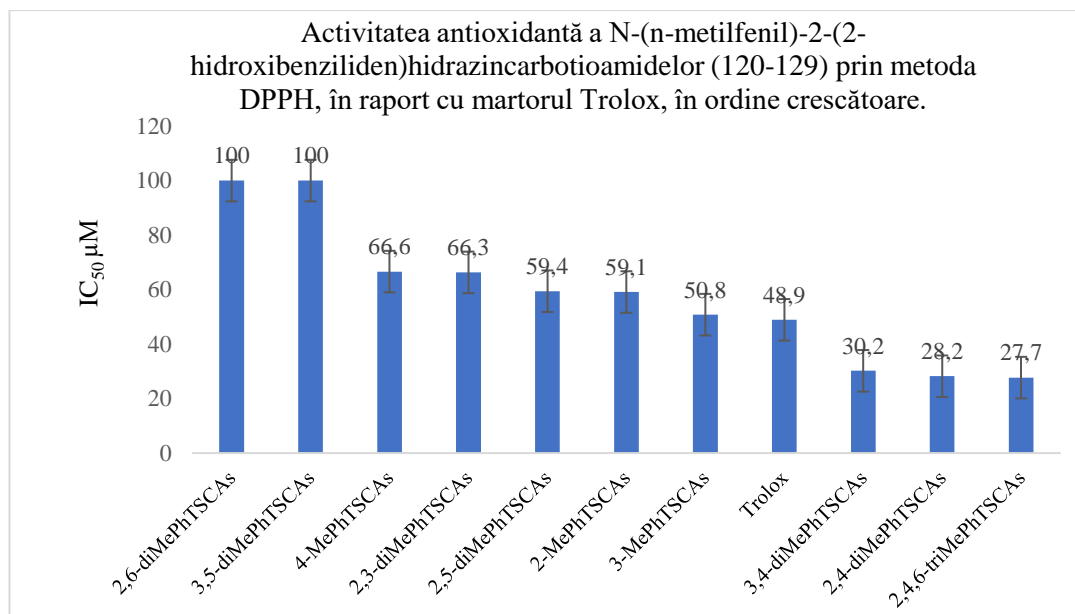


Fig. 4.29. Rezultatele testării activității antioxidante a N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor (120-129), prin metoda DPPH

Rezultatele sunt redată în Anexa 7, p. 160.

4.5.2. Activitatea anticancerigenă a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamide sintetizate

Reieșind din rezultatele obținute anterior, pentru amplificarea proprietăților anticancerigene, N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele (84, 94, 104, 124) sintetizate, au fost selectate pentru evaluarea activității anticancerigene, dar și pentru elucidarea influenței componenteii carbonilice asupra proprietăților anticancer.

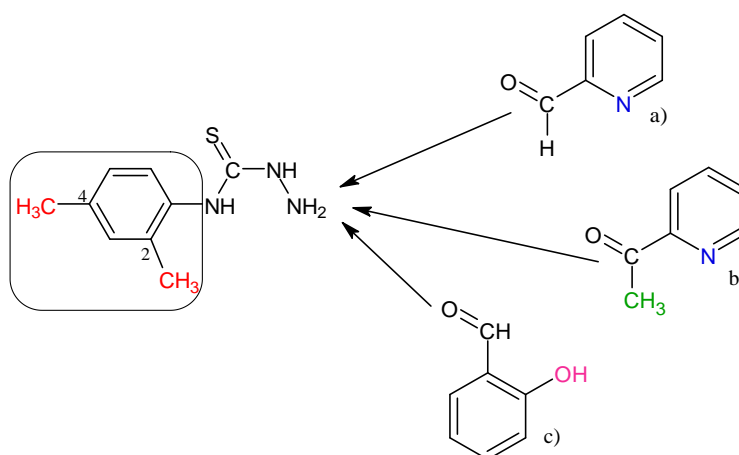


Fig. 4.30. Strategia de selectare a unor N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide (84, 94, 104, 124), pentru testarea activității anticancerigene

N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele (84, 94, 104, 124) selectate au fost testate pentru activitatea anticancerigenă pe linia de celule de cancer HL-60, [156], Anexa 10, p. 163.

Substanța luată drept referință a fost selectat DOX (doxorubicina) medicament folosit în chimioterapia cancerului [160].

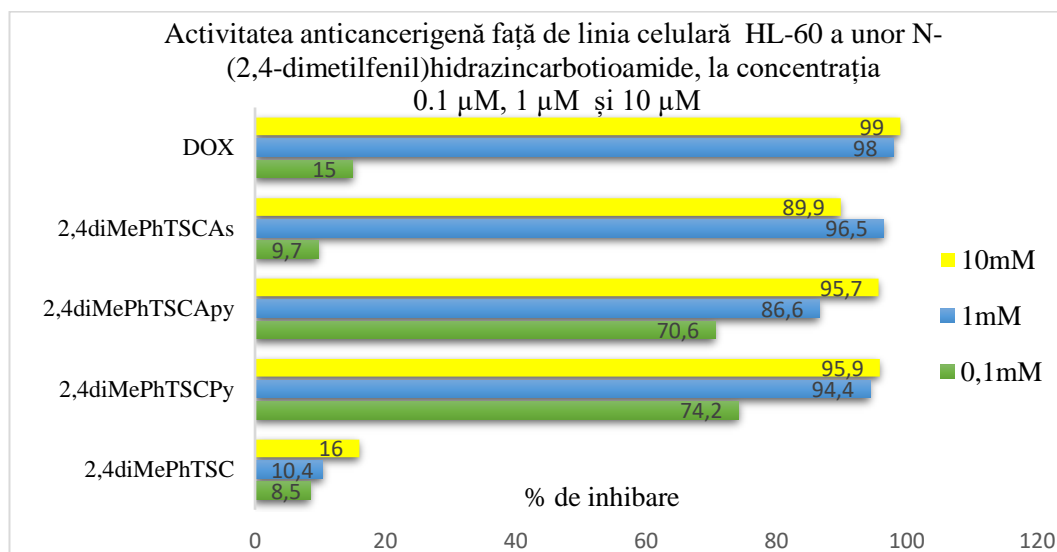


Fig. 4.31. Rezultatele testării *in vitro*, a activității anticancerigene a unor N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide, față de linia de celule de cancer HL-60 (leucemie umană)

Rezultatele sunt redată în Anexa 10, p. 163.

Rezultatele testării (a se vedea figura 4.31.), demonstrează că condensarea cu compușii carbonilici: piridin-2-carbaldehida, 1-(piridin-2-il)etan-1-ona și 2-hidroxibenzaldehida, au dus la amplificarea activității anticancerigene. De remarcă, că N-(2,4-dimetilfenil)-hidrazincarbotioamida (84) manifestă cele mai modeste rezultate, la toate concentrațiile atât în comparație cu DOX (doxorubicina) cât și cu derivații săi condensăți cu compușii carbonilici. Însă, la analiza rezultatelor celorlalți compuși testați, iese în evidență faptul că atât DOX (doxorubicina) cât și N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidele derivate de la piridin-2-carbaldehida, 1-(piridin-2-il)etan-1-ona și 2-hidroxibenzaldehida, inhibă proliferarea celulelor canceroase la concentrația de 10 μM și 1 μM, în diapazonul 90-99 % și 87-98 % respectiv. La concentrația de 0.1 μM, rezultatele se modifică esențial, iar N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamida și N-(2,4-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiliden)-hidrazincarbotioamida, inhibă proliferarea celulelor de cancer HL-60 în proporție de 74.2 % și 70.6 % respectiv, iar substanța luată ca referință, DOX (doxorubicina) doar 15 % la aceeași concentrație. Aceste rezultate demonstrează că condensarea cu compușii heterociclici și anume piridin-2-carbaldehida, 1-(piridin-2-il)etan-1-ona, generează compuși cu proprietăți anticancerigene promițătoare.

4.5.3. Activitate antimicrobiană și antifungică a unor N-(n-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden) hidrazincarbotioamide sintetizate

Utilizarea necontrolată și nejustificată a preparatelor antibacteriene, generează apariția rezistenței microorganismelor, fapt îngrijorător care accentuează importanța dezvoltării de noi compuși farmacologici alternativi [176]. O soluție viabilă oferă compușii chimici sintetici, care conform cercetărilor manifestă o serie de beneficii: structura și formula moleculară cunoscută cu exactitate, posibilitatea de dozare și posibilitate de reproducere. De remarcat și faptul că modelarea structurii spre amplificarea proprietăților reprezintă cel mai mare avantaj al substanțelor chimice sintetice.

Concentrațiile minime de inhibare (CMI), minime fungicide (CMF) sau minime bactericide (CMB), reprezintă indicatori cantitativi valoroși pentru compușii noi cu activitate antifungică și antibacteriană. La etapa inițială au fost selectate N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide din seria N-(n-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamide, N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamide, N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamide, care au arătat rezultate valoroase la testările anterioare. Compușii selectați (84, 85, 87, 94, 95, 97, 104, 105, 107, 124, 125, 127) au fost testați pentru activitatea antimicrobiană față de microorganismele Gram pozitive (+): *S. aureus* și Gram negative (-): *K. pneumoniae*, *E. coli* și *P. aeruginosa*. Activitatea antifungică a compușilor, a fost studiată față de tulpinile de *C. albicans*, Anexa 13, p. 166.

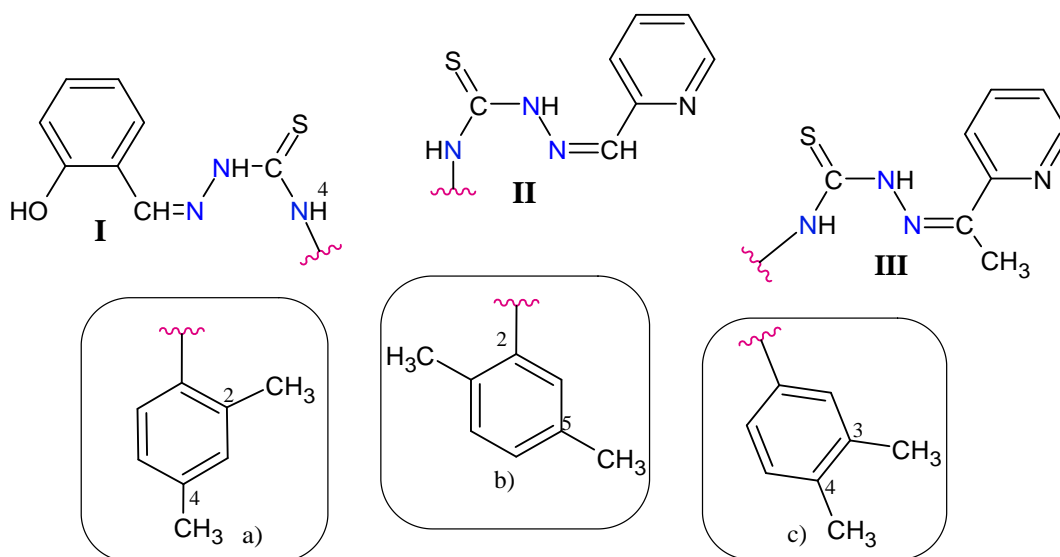


Fig. 4.32. Strategia de selectare a unor N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide pentru testarea activității antibacteriene și antifungice

N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidele (84, 85, 87) testate au manifestat activitate modestă în comparație cu derivații care conțin componenta carbonilică.

Din rezultatele obținute se poate concluda că toți compușii testați manifestă activitate modestă față de microorganismele (Gr.-) *P. aeruginosa*, cu rezultate mai promițătoare față de *K. pneumoniae* și mai înalte față de *E. coli*.

Rezultatele testărilor activității față de microorganismele Gram pozitive (+): *S. aureus*, pot fi considerate valoroase. Activitate pronunțată bactericidă similară a fost manifestată atât de N-(2,4-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (94), cât și de N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotoamida (124) [177], cu valorile CMI și CMB egale cu 1.5 μg/mL, fiind de 2 ori mai înalte față de CMI a Furacilinei și de 6 ori mai înalte față de CMB a Furacilinei. N-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)-hidrazincarbotoamida (95) manifestă activitate bacteriostatică. Compușii din seria N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletiden)hidrazincarbotoamide (104, 105, 107), au manifestat rezultate mai modeste față de ceilalți compuși.

Rezultatele activității față de tulpinile de fungi *C. albicans* ATCC 10231, sunt considerate valoroase dar și promițătoare, compusul N-(2,5-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotoamida (95), manifestă activitate fungistatică și activitate de inhibare a creșterii tulpinilor de fungi de 0.7 μg/mL, valorile fiind de 35.7 ori mai înalte decât a Ketoconazolului și de 17.8 ori mai înalte decât a Itraconazolului, efectul fungicid fiind de 4 ori mai scăzut. Pe când compusul N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotoamida (124) la aceeași concentrație de 0.7 μg/mL manifestă atât activitate de inhibare a creșterii fungilor, cât și efect fungicid. Activitatea antifungică a acestui compus (CMF) este mai înaltă decât cea a Ketoconazolului de 35.7 ori. Grație acestor rezultate acest compus a fost brevetat în calitate de fungicid [178].

4.6. Cercetarea relației structură-activitate și a proprietăților farmacofore a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor.

Elucidarea legăturii structură-activitate a fost efectuată prin compararea rezultatelor obținute la testarea compușilor sintetizați. În tabelul 4.1. sunt expuse rezultatele testării proprietăților biologice: anticancer, antioxidante, antibacteriene și antifungice a unei serii de compuși pe exemplul N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidei (84).

Din tabelul 4.1. se poate concluda că N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidele manifestă proprietăți farmacofore, însă rezultatele sunt mai modeste față de derivații săi care conțin în structura sa componenta carbonilică. Se poate concluda că condensarea cu compușii carbonilici

precum: 2-hidroxi-benzaldehida, piridin-2-carbaldehida și 1-(piridin-2-il)etan-1-ona au dus la amplificarea semnificativă a proprietăților biologice.

Tabelul 4.1. Generalizarea activității biologice a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor, pe exemplul N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotoamidelor

Cifrul/ IC ₅₀ , μM	Proprietăți								
	Antioxidante		Anticancer			Antibacteriene		Antifungice	
	ABTS	DPPH	HL-60	MCF-7	LNCaP	<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
						CMI	CMB	CMI	CMF
2,4-diMePh TSC(84)	14.5	31.0	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100
2,4-diMePh TSCP_y(94)	7.2	-	≤1.00	≥4	7.22	5.28	5.28	5.28	5.28
2,4-diMePh TSCA_{py}(104)	5.1	-	≤1.00	>10	7.52	-	-	-	-
2,4-diMePh TSCA_s(124)	7.8	28.2	<u>0.25</u>	-	-	5.0	5.0	2.34	2.34

Antioxidanți performanți, dintre toți compușii sintetizați și analizați, sunt cei din seria N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotoamide, deși toți compușii sintetizați au manifestat rezultate promițătoare, comparabile cu cele a matorului luat ca referință Trolox-ul.

Atât activitatea antibacteriană cât și cea antifungică, a fost amplificată de condensarea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor cu compușii carbonilici. Compusul N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamida (124) a manifestat proprietatea de fungicid față de tulpinile de *C. albicans* ATCC 10231, depășind de 35 ori Ketoconazolul (fungicid utilizat în medicină).

Proprietățile anticancerigene, de asemenea, s-au amplificat la condensarea cu compușii carbonilici precum: 2-hidroxi-benzaldehida, piridin-2-carbaldehida și 1-(piridin-2-il)etan-1-ona și reprezintă rezultate valoroase. Mai mult ca atât, dintre toate proprietățile biologice testate, anume pentru proprietățile anticancerigene, s-au obținut cele mai performante rezultate. În urma cercetării se poate concluda că clasa N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamide reprezintă compuși anticancerigeni de perspectivă și posedă proprietăți farmacofore pronunțate.

Studiul de andocare moleculară a permis elucidarea atât a modului de legare cât și a energiei de legare a N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotoamidei (124).

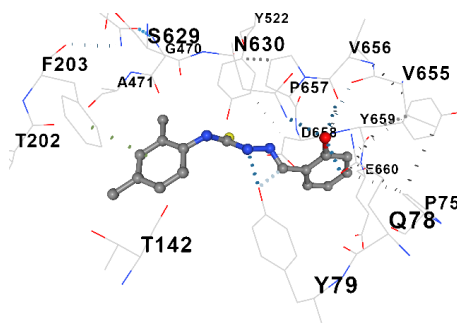


Fig. 4.33. Simularea interacțiunii N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxbenziliden)hidrazincarbotioamidei (124) cu fragmentul activ al RNR

Deci, compusul studiat (124) se leagă mai bine cu proteina țintă având energie de legare de 7.4 kcal/mol față de 5.7 kcal/mol a N-(2,4-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidei (84). Aceasta poate fi explicat prin prezența grupării OH, care duce la crearea legăturilor de hidrogen puternice cu aminoacizii din situsul activ al RR_R1. De asemenea, se observă și interacțiunea π - π între sistemul aromatic (N-fenil substituent) al N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxbenziliden)hidrazincarbotioamidei (124) cu sistemul aromatic al fenilalaninului (F203). Aceasta vine să confirme încă odată faptul că introducerea N-fenil substituenților amplifică proprietățile farmacofore.

Diferența de activitate ce ține de poziția grupelor metil (donore) din inelul benzenic, s-ar putea datora efectului de hiperconjugare, iar mărirea densității electronice în *orto*- și *para*- ar favoriza concentrarea sarcinii negative pe atomul de carbon (din C=S), în acest caz perechea de electroni de la atomul de N^N, nu ar putea fi implicată în rezonanță cu inelul benzenic și ar participa la delocalizarea doar de-a lungul lanțului hidrazincarbotioamic. În cazul când grupele metil se află în *meta*- poziție, are locul efectul invers, și prin urmare perechea de electroni de la atomul de N^N, este implicată în rezonanță cu inelul benzenic și implicit legăturile care se formează cu receptorul, sunt mai slabe.

3.7. Concluzii la capitolul 3

1. A fost proiectată schema de sinteză a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (89-129) iar toate N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidele (89-129) au fost evaluate prin metoda computațională Molinspiration, a parametrilor stipulați în “regula lui Lipinski”, care a demonstrat că toți compușii proiectați corespund tuturor criteriilor recomandate.

2. În urma reacției de interacțiune a N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor (80-89) cu compuși carbonilici heterociclici: *piridin-2-carbaldehida*, *1-(piridin-2-il)etan-1-ona* și aromatici: *2-hidroxbenzaldehida* și *2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida*, au fost obținute 40 N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide (90-129), dintre care 25 noi (conform căutărilor în SciFinder, Reaxys și Cambridge Crystallographic Data Centre).

3. Obținerea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamidelor 2-hidroxi-benzaldehidei (120-129) și 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehidei (110-119) în lipsa catalizatorului, se datorează prezenței grupării hidroxilice în poziția α , care sporește aciditatea și favorizează autocataliza, iar în cazul compușilor piridin-2-carbaldehidei (90-99) și 1-(piridin-2-il)etan-1-onei (100-109), reacția a fost efectuată cu adăugarea cantităților catalitice de $\text{CH}_3\text{COOH}_{\text{glacial}}$ pentru activarea grupării carbonilice, fiind dezactivată de prezența grupării acceptoare de piridin-2-il.
4. Veridicitatea compușilor sintetizați a fost confirmată prin metode spectrale de analiză precum: FT-IR, ^1H -, ^{13}C RMN, iar 10 compuși, în premieră au fost confirmați structural prin iradiere de raze X de monocristal. Studiile cu raze X au demonstrat că toți compușii studiați adoptă configurația *trans*, tautomerie tionică, iar împachetarea cristalină este determinată de prezența legăturilor intermoleculare.
5. Studiul activității antioxidante a 40 de compuși sintetizați (90-129), în calitate de inhibitori ai radicalilor liberi prin metoda ABTS și metoda DPPH, a demonstrat că compușii testați manifestă activitate antioxidantă promițătoare, însă cei mai performanți antioxidanți sunt din clasa N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidelor (90-99).
7. Studiul proprietăților anticancerigene a stabilit că compușii testați manifestă activitate citotoxică înaltă, iar natura componentei carbonilice are un rol decisiv în amplificarea activității anticancerigene. Compușii cu cea mai înaltă activitate anticancerigenă sunt din clasa N-(n-dimetilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamide.
8. A fost evaluată activitatea antimicrobiană pentru compușii (84, 85, 87, 94, 95, 97, 104, 105, 107, 124, 125, 127) față de microorganismele Gr. (+): *Staphylococcus aureus* și Gr. (-): *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*. Activitatea antifungică a compușilor a fost testată față de tulpinile de fungi: *Candida albicans*.
9. Rezultatele testării activității antimicrobiene a demonstrat, că compușii testați manifestă activitate înaltă față de microorganismele Gr.(+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dar și față de tulpinile de *Candida albicans*. N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)-hidrazin-carbotioamida (124) s-a evidențiat cu cele mai înalte rezultatele, depășind activitatea compusului de referință (Ketoconazol-ul) de 35 de ori, acest compus a fost brevetat în calitate de fungicid.
10. Rezultatele testării asupra activității biologice au elucidat că cele mai valoroase rezultate au fost obținute pentru activitatea anticancerigenă și au scos în evidență influența numărului și poziției grupelor metil din inelul benzenic N-substituit. Cei mai activi compuși, conțin în inelul benzenic două grupe metil, în pozițiile *orto*- și *para*-.

CONCLUZII GENERALE

1 Au fost sintetizate 50 de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide (80-129), cu substituenți la atomul de azot N^N: 2-metilfenil; 3-metilfenil și 4-metilfenil; 2,3-dimetilfenil; 2,4-dimetilfenil; 2,5-dimetilfenil; 2,6-dimetilfenil; 3,4-dimetilfenil; 3,5-dimetilfenil și 2,4,6-trimetilfenil, condensate cu *piridin-2-carbaldehida*, *1-(piridin-2-il)etan-1-ona*, *2-hidroxibenzaldehida* și *2-hidroxi-3-metoxibenzaldehida*, dintre care 25 sunt noi (conform căutărilor în SciFinder, Reaxys și Cambridge Crystallographic Data Centre).

2 Evaluarea prin metoda computațională Molinspiration, a parametrilor stipulați în “regula lui Lipinski”, a demonstrat că toți compușii proiectați corespund tuturor criteriilor recomandate.

3 Prin metodele spectrale de analiză: *FT-IR*, ¹H-, ¹³C-, ¹⁵N RMN și prin metoda difracției de *raze X* pe monocristal, în premieră a fost stabilită structura moleculară a unor compuși sintetizați. Studiile cu *raze X* au demonstrat că compușii studiați cristalizează în configurația *trans*, conformație tionică.

4 Pentru prima dată pentru 50 de N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide (80-129) și 10 N'-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltiourei (60-69) a fost studiată activitatea antioxidantă, în calitate de inhibitori ai radicalilor liberi prin metoda ABTS și metoda DPPH. Cele mai promițătoare rezultate au prezentat compușii din seria N-(n-dimetilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)-hidrazincarbotioamidelor (90-99).

5 Activitatea anticancerigenă a unor compuși a fost cercetată față de liniile de celule cancerigene: HeLa (adenocarcinomul cervical, de col uterin), BxPc-3 (adenocarcinomul pancreatic uman) și RD (miosarcoma țesutului muscular), cancer HL-60 (leucemie umană), MCF-7 (adenocarcinom mamar) și LNCaP (adenocarcinom de prostată). Toxicitatea a fost evaluată față de linia de celule normale MDCK (Madin-Darby Canin Kidney, celule sănătoase).

6 S-a stabilit, că activitatea anticancerigenă crește în funcție de factorii structurali în ordinea:

- clasa de compuși: n-MePhTSC < n-MePhTSCAS < n-MePhTSCAPy < n-MePhTSCPpy
- poziția grupelor metil: 3,4- < 2,6- < 3,5- < 2,3- < 2,5- < 2,4-dimetilfenil

7 Studiarea activității antimicrobiene, *in vitro*, față de microorganismele Gr(+), Gr(-) și tulpinile de fungi *Candida albicans* ATCC 10231, au dus la identificarea N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidei (124), compus cu proprietăți

fungicide fiind de 35 de ori mai activ decât substanța de referință (Ketoconazol), care prin urmare a fost brevetat.

8 Studiul activității biologice a scos în evidență influența numărului și poziției grupelor metil din cadrul inelului benzenic. Cei mai activi compuși conțin în inelul benzenic două grupe metil în pozițiile *orto-* și *para-*, constatare care corespunde datelor literare studiate.

9 Prin studiul de andocare moleculară au fost cercetate proprietățile farmacofore și a fost confirmat faptul că introducerea N-metilfenil substituenților amplifică activitatea biologică a compușilor sintetizați.

RECOMANDĂRI

- Utilizarea N-(n-metilfenil)hidrazincarbotoamidelor sintetizate (80-129), în calitate de liganzi pentru asamblarea de compuși coordinativi, cu scopul amplificării activității biologice.
- Implementarea rezultatelor brevetului de invenție, pentru a mări arsenalul de compuși cu proprietăți fungicide față de tulpinile de fungi *C. albicans* ATCC 10231.
- Continuarea studiilor aprofundate a activității antifungice, anticancerigene și antibacteriene, pentru elucidarea mecanismului de acțiune în sistemul biologic.
- Includerea cercetărilor efectuate dar și a rezultatelor obținute în cadrul cursurilor de specialitate pentru studenții de la specialitatea: chimie organică, chimie Biofarmaceutică cât și în medicină.

BIBLIOGRAFIE

- [1] ICHARAM, N.H., SHRIDHAR, D.A., RIKHABCHAND, S.A. Synthesis and screening of thiosemicarbazide-dithiocarbamate conjugates for antioxidant and anticancer activities. In: *Bioorganic Chemistry*. Jul. 2022, nr. 105832 (124). doi: 10.1016/j.bioorg.2022.105832.
- [2] ASHRAF, T., ALI, B., QAYYUM, H. et al. Pharmacological aspects of schiff base metal complexes: A critical review. In: *Inorganic Chemistry Commun.* Apr. 2023, nr. 110449 (150). doi: 10.1016/J.INOCHE.2023.110449.
- [3] Ph.D. GARBUZ, O., Prof. GUDUMAC, V., Acad. TODERAȘ, I., Acad. GULEA, A. *ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SYNTHETIC COMPOUNDS AND NATURAL PRODUCTS. ACTION MECANISMS*. Chișinău, 2023. 298 p. ISBN 987-9975-62-516-6.
- [4] MUĞLU, H. Synthesis, characterization, and antioxidant activity of some new N 4-arylsubstituted-5-methoxyisatin- β -thiosemicarbazone derivatives. In: *Res. Chem. Intermed.* 2020, 4 (46), pp. 2083–2098. doi: 10.1007/s11164-020-04079-x.
- [5] RESHMA. N.J., AVENASH, D.S. Antibacterial activity of thiosemicarbazide derivatives. In: *Der Pharmaceutica*. 2013, nr. 2 (5), pp. 45–49. ISSN: 0975-413x.
- [6] PITUCHA, M., KARZMARZYK, Z., FRUZINSKI, A. et al. Synthesis, *in Vitro* screening and docking studies of new thiosemicarbazide derivatives as antitubercular agents. In: *Molecules*. Jan. 2019, nr. 2 (24), pp. 251. doi: 10.3390/molecules24020251.
- [7] WERMUTH, L.A., GANELLIN, C.-G., LINDBERG, C.R., MITSCHER, P. Glossary of Terms used in medicinal chemistry (IUPAC recommendations 1998). In: *Pure and Applied Chemistry*. 1998, nr. 70, pp. 1129–1143. doi: 10.1351/pac199870051129.
- [8] LANGER, T., HOFFMANN, R. *Pharmacophores and pharmacophore searches* Wiley-VCH. 2006, 375 p. doi: 10.1002/3527609164.
- [9] BERALDO, H., GAMBINO, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. In: *Mini Review of Medical Chemistry*. 2004, nr. 4 (1), pp. 31–39. doi: 10.2174/1389557043487484.
- [10] HOGGARTH, E. and MARTIN, A. Studies in the chemotherapy of tuberculosis; antimalarial compounds. In: *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. 1948, nr. 3 (2), pp. 156–159. doi: 10.1111/j.1476-5381.1948.tb00367.x.
- [11] PAVAN, F.R., MAIA, P.I., LEITE, S.R. et al. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti - Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. In: *European Journal Medical Chemistry*. 2010, nr. 45 (5), pp. 1898–1905. doi: 10.1016/j.ejmech.2010.01.028.

- [12] SEVINÇLI, Z., DURAN, G., ÖZBİL, M. et al. Synthesis, molecular modeling and antiviral activity of novel 5-fluoro-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazones. In: *Bioorganic Chemistry*. August 2020, nr. 104202(104). doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104202.
- [13] 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: Științe ale naturii și exacte*. 2015, nr. 1 (81), pp. 210–215. ISSN: 1814-3237.
- [14] THAMARAICHELVAN, M., SEBASTIAN, A., GANAPATHI, M., HOLLA, H. Copper thiosemicarbazone modified electrode for hydrazine electrocatalytic oxidation. In: *Results Chem*. Dec. 2023, nr. 101025 (6). doi: 10.1016/j.rechem.2023.101025.
- [15] SANTOS-FIGUEROA, L.E., MORAGUES, M.E., RAPOSO, M.M. et al. Synthesis and evaluation of fluorimetric and colorimetric chemosensors for anions based on (oligo)thienyl-thiosemicarbazones. In: *Tetrahedron*. 2012, nr. 68 (35), pp. 7179–7186. doi: 10.1016/j.tet.2012.06.021.
- [16] GRAUR, V., CHUMAKOV, Y., GARBUZ, O., HUREAU, C., TSAPKOV, V., GULEA, A. Synthesis, structure and biologic activity of some copper, nickel, cobalt and zinc complexes with 2-formylpyridine N-4-allylthiosemicarbazone. In: *Bioinorganic Chemistry Applied*. May 2022, nr. 2022, pp. 1–18. doi: 10.1155/2022/2705332.
- [17] LI, M., ZHANG, L., YANG, M. Synthesis, crystal structures, *in vitro* biological evaluation of zinc(II) and bismuth(III) complexes of 2-acetylpyrazine N(4)-phenylthiosemicarbazone. In: *Bioorganic Medical Chemistry Letters*. 2012, nr. 7 (22), pp. 2418–2423. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.02.024.
- [18] BENMOHAMMED, A., REKIBA, N., SEHANINE, Y. et al. Synthesis and antimicrobial activities of new thiosemicarbazones and thiazolidinones in indole series. In: *Monatshefte für Chemie- Chemical Monthly*. 2021, nr. 8 (152), pp. 977–986. doi: 10.1007/s00706-021-02823-6.
- [19] METWALLY, M., BONDOCK, S., EL-AZAP, H., KANDEEL, E. Thiosemicarbazides: Synthesis and reactions. In: *Journal Sulfur Chemistry*. 2011, nr. 35 (5), pp. 489–519. doi: 10.1080/17415993.2011.601869.
- [20] SHIPMAN, C., SMITH, S., KLAYMAN, D. Antiviral Thiosemicarbazones. In: *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1981, nr. 4 (19), pp. 682–685. doi: 10.1128/AAC.19.4.682.
- [21] ISHIGURO, K., LIN, Z., RUTHERFORD, T. et al. Antitumor activity of the ribonucleotide reductase inhibitor Triapine alone or in combination with paclitaxel. In: *Gynecologic*

- Oncology*. 2015, nr. 137, pp. 79. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.01.193.
- [22] JANSSON, P., YAMAGISHI, T., ARVIND, A., 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, nr. 290 (15), pp. 9588–9603. doi: 10.1074/jbc.M114.631283.
- [23] GULEA, A., BARBĂ, A., CĂPĂȚÎNĂ, T. Sinteza 4-(2-piridil)tiosemicarbazidei și a unor 4-(2-piridil)tiosemicarbazone și activitatea antiproliferativă a celulelor leucemice HL-60. În: *Studia Universitatis Moldaviae: Științe ale naturii și exacte*. 2012, nr. 6 (56), pp. 77–81. ISSN 1814-3237.
- [24] GULEA, A.P., GRAUR, V.O., CHUMAKOV, Y.U., PETRENCO, P.A. et al. Synthesis, structure, and biological activity of Copper and Cobalt coordination compounds with substituted 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamides. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2019, nr. 5 (89), pp. 953–964. doi: 10.1134/S1070363219050153.
- [25] GULEA, A.P., LOZAN-TYRSHU, K.S., TSAPKOV, V.I., KORZHA, I.D., RUDIK, V. F. Coordination compounds of copper with 2-formylpyridine 4-(dimethylphenyl)thiosemicarbazones. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2012, nr. 82 (11), pp. 1869–1872. doi: 10.1134/S1070363212110242.
- [26] GULEA, A., POIRIER, D., ROY, J., STAVILA, V., 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, nr. 6 (23), pp. 806–818. doi: 10.1080/14756360701743002.
- [27] GULEA, AURELIAN. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. În: *Revista Știință, Inovare, Cultură și Artă „Akademos”*. 2013, nr. 1 (28), pp. 102–107. ISSN: 1857-0461.
- [28] TROTT, O. and OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. In: *Journal Comput. Chem.* Jan. 2010, nr. 2 (31), pp. 455–461. doi: 10.1002/jcc.21334.
- [29] PERREAULT, M., MALTAIS, R., POIRIER, D., et al. 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: *Chem Med Chemistry*. 2017, nr. 2 (12), pp. 177–182. doi: 10.1002/cmdc.201600482.
- [30] LAPLANTE, Y., POIRIER, Donald. Proliferative effect of androst-4-ene-3,17-dione and its metabolites in the androgen-sensitive LNCaP cell line. In: *Steroids*. 2008, nr. 3 (73), pp. 266–271. doi: 10.1016/j.steroids.2007.10.009.

- [31] LÚCIO, M., GASPAR, D., FERREIRA, H. et al. Antioxidant activity of vitamin E and Trolox: understanding of the factors that govern lipid peroxidation studies *in vitro*. In: *Food Biophysics*. Dec. 2009, nr. 4 (4), pp. 312–320. doi: 10.1007/s11483-009-9129-4.
- [32] RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: *Free Radical Biology & Medicine*. May 1999, nr. 9/10 (26), pp. 1231–1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- [33] NYQUIST, R.A. *Interpreting Infrared, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance Spectra*. Academic Press. 2001, 256 p. ISBN: 9780080535135.
- [34] KARAKÜÇÜK-İYİDOĞAN, A., AYDINÖZ, B., TAŞKIN-TOK, T., et al. Synthesis, biological evaluation and ligand based pharmacophore modeling of new aromatic thiosemicarbazones as potential anticancer agents. In: *Pharmacological Chemistry Journal*. 2019, nr. 2 (53), pp. 139–149. doi: 10.1007/s11094-019-01968-3.
- [35] DILOVIĆ, I., RUBEIC M., VRDOLJAK, V. et al. Novel thiosemicarbazone derivatives as potential antitumor agents: Synthesis, physicochemical and structural properties, DNA interactions and antiproliferative activity. In: *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2008, nr. 9 (16), pp. 5189–5198. doi: 10.1016/j.bmc.2008.03.006.
- [36] PAHONȚU, E., ILIEȘ, D.-C., SHOVA, S. et al. Synthesis, characterization, crystal structure and antimicrobial activity of copper(II) complexes with the Schiff base derived from 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde. In: *Molecules*. 2015, nr. 4 (20), pp. 5771–5792. doi: 10.3390/molecules20045771.
- [37] ALAM, M., ABSER, M., AJOY, K. et al. Synthesis, characterization, antibacterial activity of thiosemicarbazones derivatives and their computational approaches: Quantum calculation, molecular docking, molecular dynamic, ADMET, QSAR. In: *Heliyon*. Jun. 2023, nr. 6 (9). doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16222.
- [38] MOHARANA, A.K., DASH, R.N., SUBUDHI, B.B. Thiosemicarbazides: Updates on Antivirals Strategy. In: *Mini-Reviews Medicinal Chemistry*. Jan. 2021, nr. 20, pp. 2135–2152. doi: 10.2174/1389557520666200818212408.
- [39] BHARTI, N., HUSAIN, K., GARZA, M. et al. Synthesis and *in vitro* antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehydethiosemicarbazone derivatives. In: *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2002, nr. 12 (23), pp. 3475–3478. doi: 10.1016/s0960-894x(02)00703-5.
- [40] NEVAGI, R.J., DHAKE, A.S., NARKHEDE, H.I. Design, synthesis and biological evaluation of novel thiosemicarbazide analogues as potent anticonvulsant agents. In: *Bioorganic Chemistry*. Jun. 2014, nr. 54, pp. 68–72. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.04.002.

- [41] ISLAM, M., AJMAL, K., SHEHZAD, M.T. et al. Therapeutic potential of N4-substituted thiosemicarbazones as new urease inhibitors: Biochemical and in silico approach. In: *Bioorganic Chemistry*. August 2020, nr. 109, pp. 16–23. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.104691.
- [42] NASEEM, S., ASHRAF, M., RAFIQ, M. et al. Exploring biologically active hybrid pharmacophore N-substituted hydrazine-carbothioamides for urease inhibition: In vitro and in silico approach. In: *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021, nr. 182, pp. 534–544. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.036.
- [43] HAŁDYS, K., LATAJKA, R. Thiosemicarbazones with tyrosinase inhibitory activity. In: *Medchemcomm*. 2019, nr. 3 (10), pp. 378–389. doi: 10.1039/C9MD00005D.
- [44] KALINOWSKI, D.S., QUACH, P.I., RICHARDSON, D.R. Thiosemicarbazones: The new wave in cancer treatment. In: *Future Med. Chemistry*. 2009, nr.1 (6), pp. 1143–1151. doi: 10.4155/fmc.09.80.
- [45] FAVRE, H.A., POWELL, W.H. *IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013. Chapter P-6 APPLICATIONS TO SPECIFIC CLASSES OF COMPOUNDS*. Royal Societe of Chemistry. 2013, 642 p. ISBN: 978-0-85404-182-4.
- [46] LOBANA, T.S., SHARMA, R., BAWA, G., KHANNA, S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—an overview. In: *Coordination Chemistry Rev.* Apr. 2009, nr. 7/8 (253), pp. 977–1055. doi: 10.1016/j.ccr.2008.07.004.
- [47] SHAWISH, H.B., PAYDAR, M., WONG, Y.L. et al. Nickel(II) complexes of polyhydroxybenzaldehyde N4-thiosemicarbazones: synthesis, structural characterization and antimicrobial activities. In: *Transition Met. Chemistry*. Feb. 2014, nr. 1 (39), pp. 81–94. doi: 10.1007/s11243-013-9777-6.
- [48] SORDO, J., CASAS, J.S. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. In: *Coordination Chemistry Reviews*. 2000, nr. 1 (209), pp. 197–261. doi: 10.1016/S0010-8545(00)00363-5.
- [49] TENÓRIO, R.P., GÓES, A.J., DE LIMA, J.G. et al. Tiossemicarbazonas: Métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. In: *Quimica Nova*. 2005, nr. (6) 28, pp. 1030–1037. doi: 10.1590/S0100-40422005000600018.
- [50] WEST, D.X., GORDON, A.B., BUTCHER, R.J. et al. Structural studies of three isomeric forms of heterocyclic N(4)-substituted thiosemicarbazones and two nickel(II) complexes. In: *Polyhedron*. 1996, nr. 15 (4), pp. 665–674. doi: 10.1016/0277-5387(95)00298-7.
- [51] BERNHARDT, P.V., MARTÍNEZ, M., RODRÍGUEZ, C. Biologically active thiosemicarbazone Fe chelators and their reactions with ferrioxamine B and ferric EDTA;

- a kinetic study. In: *Dalton Transactions*. 2012, nr. 7 (41), pp. 2122–2130.
doi: 10.1039/c1dt11685a.
- [52] BESLEAGA, I., STEPANANKO, I., PETRASHEUSKAYA, T. et al. Triapine analogues and their copper(II) complexes: synthesis, characterization, solution speciation, redox activity, cytotoxicity and mR2 RNR Inhibition. In: *Inorganic Chemistry*. 2021, nr. 60, pp. 11297–11319. doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c01275.
- [53] KOZYRA, P., KACZOR, A., KARZMARZYK, Z., PITUCHA, M. Experimental and computational studies of tautomerism pyridine carbonyl thiosemicarbazide derivatives. In: *Structural Chemistry*. Mar. 2023, nr. 5 (34), pp. 1974-1984. doi: 10.1007/s11224-023-02152-w.
- [54] TEMPERINI, M.L.A., DOS SANTOS, M.R., PAOLI MONTEIRO, V.R. Spectroscopic study of the isomerization of Z- to E-pyridine-2-formyl thiosemicarbazone. In: *Spectrochimical Acta Part A*. 1995, nr. 9 (51), pp. 1517–1524. doi: 10.1016/0584-8539(94)01317-a.
- [55] HUSSEIN, M.A., IQBAL, M.A, UMAR, M.I. et al. Synthesis, structural elucidation and cytotoxicity of new thiosemicarbazone derivatives. In: *Arab. Journal Chemistry*. 2019, nr. 8 (12), pp. 3183–3192. doi: 10.1016/j.arabjc.2015.08.013.
- [56] SCOVILL, J.P. A facile synthesis of thiosemicarbazides and thiosemicarbazones by the transamination of 4-methyl-4-phenyl-3-thiosemicarbazide. In: *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.* 1991, nr. 1/2 (60), pp. 15–19. doi: 10.1080/10426509108233920.
- [57] KASSÉHIN, U.C., GBAGUIDI, F.A., MCCURDY, C.R., POUPAERT, J.H. Synthesis of antitrypanosomal thiosemicarbazones using anthranilic acid as an innovative Green nucleophilic catalyst. In: *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014, nr. 10 (6), pp. 607–612. ISSN: 0975-7384.
- [58] SEENA, E.B., KURUP, M.R. Synthesis, spectral and structural studies of zinc(II) complexes of salicylaldehyde N(4)-phenylthiosemicarbazone. In: *Spectrochim. Acta - Part A*. 2008, nr. 3 (69), pp. 726–732. doi: 10.1016/j.saa.2007.05.025.
- [59] GUJARATHI, J.R., PAWAR, N.S., BENDRE, R.S. Synthesis, spectral and biological study of four and five co-ordinate copper (II) complexes derived from 5-chloro-2-hydroxy acetophenone N(4)-methyl thiosemicarbazone. In: *Der Pharma Chemistry*. 2013, nr. 2 (5), pp. 111–117. ISSN: 0975-413X.
- [60] VENKATACHALAM, T.K. PIERENS, G.K. REUTENS, D.C. Synthesis, NMR structural characterization and molecular modeling of substituted thiosemicarbazones and semicarbazones using DFT calculations to prove the syn/anti isomer formation. In:

- Magnetic Resonance in Chemistry*. 2014, nr. 3 (52), pp. 98–105. doi: 10.1002/mrc.4041.
- [61] REIS DOS, C.M., PEREIRA, D.S., DE OLIVEIRA PAIVA, R., KNEIPP, L.F. Microwave-assisted synthesis of new N 1,NN 4- substituted thiosemicarbazones. In: *Molecules*. 2011, nr. 12 (16), pp. 10668–10684. doi: 10.3390/molecules161210668.
- [62] GLINMA, B., KPOVIESSI, D.S.S., GBAGUIDI, F.A. et al. Synthesis, characterization, trypanosomal activities on *Trypanosoma brucei* and toxicity against *Artemiasalina* leach of N(4)-aryl semicarbazones and thiosemicarbazones. In: *Journal Chem. Pharm. Res.* 2012, nr. 2 (4), pp. 1016–1021. ISSN: 0975-7384.
- [63] ILIEȘ, D.C., SHOVA, S., PAHONȚU, E. et al. Synthesis, characterization, crystal structure and antioxidant activity of Ni(II) and Cu(II) complexes with 2-formilpyridine N(4)-phenylthiosemicarbazone. In: *Polyhedron*. 2015, nr. 97, pp. 157–166. doi: 10.1016/j.poly.2015.05.009.
- [64] ISLAM, M., AJMAL, K., HAMEED, A. et al. Synthesis and characterization of new thiosemicarbazones, as potent urease inhibitors: In vitro and in silico studies. In: *Bioorganic Chemistry*. 2019, nr. 87, pp. 155–162. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.03.008.
- [65] **ERHAN, Tatiana.** Sinteza, structura si proprietățile biologice a N-(4)-ariltiosemicarbazidelor si a derivaților lor. În: *Studia Universitatis Moldaviae-Seria Științe Reale și ale Naturii*. 2017, nr. 1 (101), pp. 96–107. ISSN: 1814-3237. ISSNe: 1857-498X. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/52809.
- [66] LIU, W., LU, Q., CUI, K. et al. Synthesis and biological activities of novel artemisinin derivatives as cysteine protease falcipain-2 inhibitors. In: *Archives of Pharmacal Research*. 2012, nr. 9 (35), pp. 1525–1531. doi: 10.1007/s12272-012-0902-4.
- [67] LARSEN, C., HARPP, D.N. Thiocarbonyl transfer reagent chemistry. iv. the preparation of 1,1- and 1,2-disubstituted thiosemicarbazides unsubstituted in the 4-position. In: *Phosphorus and Sulfur and the Related Elements*. 1984, nr. 1 (19), pp. 91–98. doi: 10.1080/03086648408077567.
- [68] O’SULLIVAN, D.G., SADLER, P.W., WEBLEY, C. A study of the chemotherapeutic activity of isatin b-4’,4’-dialkylthiosemicarbazones against ectromelia infection. In: *Chemotherapia (Basel)*. 1963, nr. 59, pp. 17–26. doi: 10.1159/000220100.
- [69] LUKMANTARA, A.Y., KALINOWSKI, D.S., KUMAR, N., RICHARDSON, D.R. Structure-activity studies of 4-phenyl-substituted 2'-benzoylpyridine thiosemicarbazones with potent and selective anti-tumour activity. In: *Organic Biomol. Chemistry*. 2013, nr. 11 (37), pp. 6414–6425. doi: 10.1039/c3ob41109e.
- [70] SHARMA, S. Thiophosgene in organic synthesis. In: *Synthesis (Stuttg)*. 1978, nr.11 (1978),

- pp. 803–820. doi: 10.1055/s-1978-24896.
- [71] CAO, Q., WANG, L., WANG, M. et al. Facile synthesis of substituted arylthioureas in the presence of sodium hydride. In: *Journal Chemical Research*. 2017, nr. 41 (5), pp. 301–303. doi: 10.3184/174751917X14931424175476.
- [72] VAN BOI, L., KORZHA, I., BARBA, N. Thiocarbamylation of amine-containing compounds: The reaction of tetramethylthiuram disulfide with 3-amino-4-methylbenzoic acid. In: *Russian Chemical Bulletin*. 1999, nr. 4 (48), pp. 739–742. doi: 10.1007/BF02496259.
- [73] VAN BOI, L., AL-EBAISAT, H. Thiocarbamylation of amine-containing compounds. The reaction of tetramethylthiuram disulfide with 3-amino-4-methylbenzoic acid. In: *Russian Chemical Bull.* 1999, nr. 48 (12), pp. 2290–2293. doi: 10.1007/bf02498274.
- [74] GUȚU, Iacob. *Sinteza și studiul unor compuși aromatici cu grupe izotiocian sau tioamidece*: teză de doctor habilitat. Chișinău, USM, 1997. 236 p.
- [75] JOSEPH, M., KURIAKOSE, M., KURUP, R. et al. Structural, antimicrobial and spectral studies of copper (II) complexes of 2-benzoylpyridine N(4)-phenyl thiosemicarbazone. In: *Polyhedron*. 2006, nr. 1 (25), pp. 61–70. doi: 10.1016/j.poly.2005.07.006.
- [76] KLAYMAN, D.L., BARTOSEVICH, J.F., SCOVILL, J.P. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. A new class of potential antimalarial agents. In: *Journal Med*
- [77] GÜNER, O.F., BOWEN, J.P. Setting the record straight: The origin of the pharmacophore concept. In: *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2014, nr. 5 (54), pp. 1269–1283. doi: 10.1021/ci5000533.
- [78] LIPINSKI, C.A. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. In: *Drug Discovery Today: Technologis*. 2004, nr. 4 (1), pp. 337–341. doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
- [79] LIPINSKI, C.A., LOMBARDO, F., DOMINY, B.W., FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. In: *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012, nr. 64, pp. 4–17. doi: 10.1016/j.addr.2012.09.019.
- [80] SINGHAL, N., SHAILEY A., AGARWAL, A. et al. A review on potential biological activities of thiosemicarbazides. In: *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013, nr. 6 (2), pp. 4661–4681. ISSN: 2278-4357.
- [81] SINNIHAH, S.K., TAN, K.W., SEIK, W.N. et al. Thiosemicarbazone derivative induces in vitro apoptosis in metastatic PC-3 cells via activation of mitochondrial pathway. In: *Anticancer Agents Med. Chem.* Apr. 2017, nr. 5 (17), pp. 741–753. doi:

10.2174/1871520616666160926110929.

- [82] THANH, N.D., HOAI, L.T. Synthesis, structure and antioxidant activity of (tetra-*o*-acetyl- β -*d*-galactopyranosyl)thiosemicarbazones of substituted benzaldehydes. In: *Indian journal Pharm Science*. February 2015, nr. 71 (4), pp. 54-62. doi: 10.4103/0250-474X.102544.
- [83] BARBUCEANU, S., ILIES, D.C., SARAMEET, G., UIVAROSI, V. Synthesis and antioxidant activity evaluation of new compounds from hydrazinecarbothioamide and 1, 2, 4-triazole class containing diarylsulfone and 2, 4-difluorophenyl moieties. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2014, nr. 15, pp. 10908–10925. doi: 10.3390/ijms150610908.
- [84] GLINMA, B.S., KPOVIESSI, D.S., GBAGUIDI, F.A. et al. Trypanocidal and cytotoxic evaluation of synthesized thiosemicarbazones as potential drug leads against sleeping sickness. In: *Molecular Biology Reports*. 2014, nr. 41, pp. 1617–1622. doi: 10.1007/s11033-013-3008-2.
- [85] STANASEL, O., BOTA, S. 2-Amino-1,3,4-thiadiazole as a potential scaffold for promising antimicrobial agents. In: *Drug Design, Development and Therapy*. 2018, nr. 13 (22), pp. 1545–1566. doi: 10.2147/DDDT.S155958.
- [86] KANSO, F., KHALIL, A., NOUREDDINE, M. et al. Therapeutic perspective of thiosemicarbazones derivatives in inflammatory pathologies: A summary of *in vitro/in vivo* studies. In: *International Immunopharmacology*. April 2021, nr. 96 (21) / 107778. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107778.
- [87] SHARMA, N., PATHAK, D.P. Synthesis and characterisation of novel benzaldehydthiosemicarbazones, and evaluation of their antibacterial, antifungal and antioxidant activity. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017, nr. 2 (8), pp. 667–678. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(2).667-78.
- [88] AL-AMIERY, A.A., AL-MAJEDY, Y.K., IBRAHIM, H.H. et al. Antioxidant, antimicrobial, and theoretical studies of the thiosemicarbazone derivative Schiff base, 2-(2-imino-1-methylimidazolidin-4-ylidene)hydrazinecarbothioamide. In: *Organical and Medicinal Chemistry Letters*. 2012, nr. 2 (1), pp. 1–7. doi: 10.1186/2191-2858-2-4.
- [89] PAPE, V.F., TOTH, S., FIUREDI, A. 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 Medicinal Chemistry*. 2016, nr. 117, pp. 335–354. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.03.078.
- [90] CORY, J.G., CORY, A.H., RAPPA, G. et al. Inhibitors of ribonucleotide reductase. Comparative effects of amino- and hydroxy-substituted pyridine-2-

- carboxaldehydethiosemicarbazones. In: *Biochemical Pharmacology*. 1994, nr. 2 (48), pp. 335–344. doi: 10.1016/0006-2952(94)90105-8.
- [91] AHMED, M.F., ALMALKI, A.H. Design, synthesis, antiproliferative activity, and cell cycle analysis of new thiosemicarbazone derivatives targeting ribonucleotide reductase. In: *Arabian Journal Chemistry*. 2021, nr. 3 (14) /102989. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.102989.
- [92] MA, B., GOH, B.C., TAN, E.H. et al. A multicenter phase II trial of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP, Triapine®) and gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer with pharmacokinetic evaluation using peripheral blood mononuclear cells. In: *Investigational New Drugs*. 2008, nr. 2 (26), pp. 169–173. doi: 10.1007/s10637-007-9085-0.
- [93] LI, J., LI-MOU ZHENG, B., KING, I. et al. Syntheses and Antitumor Activities of Potent Inhibitors of Ribonucleotide Reductase: 3-Amino-4-Methylpyridine-2-Carboxaldehyde-Thiosemicarbazone (3-Amp), 3-Amino-Pyridine-2-Carboxaldehyde-Thiosemicarbazone (3-Ap) and its Water-Soluble Prodrugs. In: *Current Medicinal Chemistry*. 2012, nr. 2 (8), pp. 121–133. doi: 10.2174/0929867013373741.
- [94] SHAO, J., ZHOU, B., CHU, B. et al. Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design. In: *Current Cancer Drug Targets*. 2006, nr. 6 (5), pp. 409–431. doi: 10.2174/156800906777723949.
- [95] PAHONȚU, E., GULEA, A., POIRIER, D. et al. Synthesis and characterization of some new Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes with salicylidene thiosemicarbazones: antibacterial, antifungal and in vitro antileukemia activity. In: *Molecules*. 2013, nr. 8 (18), pp. 8812–8836. doi: 10.3390/molecules18088812.
- [96] SERRA, S., MOINEAUX, L., VANCRAVENEST, C. et al. Thiosemicarbazide, a fragment with promising indolamine-2,3-dioxygenase (IDO) inhibition properties. In: *European Journal Medicinal Chemistry*. 2014, nr. 82, pp. 96–105. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.05.044.
- [97] AQUINO, T.M., LIESEN, A.P., SILVA, R.E. et al. Synthesis, anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones 5-thiazolidineacetic acids. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2008, nr. 1 (16), pp. 446–456. doi: 10.1016/j.bmc.2007.09.025.
- [98] FRENCH, F.A., BLANZ, E.J., BROCKMAN, R.W. A (N)-formyl heteroaromatic thiosemicarbazones. inhibition of tumor-derived ribonucleoside diphosphate reductase and correlation with *in vivo* antitumor activity. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 1974, nr. 2 (17), pp. 172–181. doi: 10.1021/jm00248a006.

- [99] SCOVILL, J.P., KLAYMAN, D.L., FRANCHINO, C.F. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. Complexes with transition metals as antimalarial and antileukemic agents. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 1982, nr. 10 (25), pp. 1261–1264.
doi: 10.1021/jm00352a036.
- [100] MENDES, I.C., MOREIRA, J.P., MANGRICH, A.S. et al. Coordination to copper(II) strongly enhances the *in vitro* antimicrobial activity of pyridine-derived N(4)-tolyl thiosemicarbazones. In: *Polyhedron*. 2007, nr. 13 (26), pp. 3263–3270.
doi: 10.1016/j.poly.2007.03.002.
- [101] KRISHNA, P.M., SHANKARA, B.S., REDDY, N.S. Synthesis, characterization, and biological studies of binuclear copper (II) complexes of (2E)-2-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-4-N-substitutedhydrazinecarbothioamides. In: *International Journal Inorganic Chemistry*. 2013, nr. II, pp. 1–11. doi: 10.1155/2013/741269.
- [102] MALARZ, K., MROZEK-WILCZKIEWICZ, A., SERDA, M., MUSIOL, R et al. The role of oxidative stress in activity of anticancer thiosemicarbazones. In: *Oncotarget*. Apr. 2018, nr. 9 (25), pp. 17689–17710. doi: 10.18632/oncotarget.24844.
- [103] HECHT, F. ZOCCHI, M., ALIMOHAMMADI, F., HARRIS, I. S. Regulation of antioxidants in cancer. In: *Mol. Cell*. Jan. 2024, nr. 1 (84), pp. 23–33.
doi: 10.1016/j.molcel.2023.11.001.
- [104] MUNTEANU, I.G., APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. In: *Int. Journal Mol. Sci.* Mar. 2021, nr. 7 (22), pp. 3380.
doi: 10.3390/ijms22073380.
- [105] RAFIQUE, R., ARSHIA, K., KHAN, K.M. et al. Discovery of New N - hydrazinecarbothioamide Indazole Hybrids: As Potential Radical (ABTS and DPPH) Scavengers. In: *Lett. Drug Des. Discov*. Sep. 2020, nr. 9 (17), pp. 1177–1185. doi: 10.2174/1570180817999200424074455.
- [106] ARORA, M., MIR, P.A., UPPAL, J., SHARMA, B. et al. Synthesis and evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of thiosemicarbazone derivatives. In: *European Journal Pharmaceutical and Medical Research*. 2022, nr. 8 (10), pp. 552-560.
ISSN: 2394-3211.
- [107] SALAR, U., KHAN, K.M., CHIGURUPATI, S. et al. New Hybrid Hydrazinyl Thiazole Substituted Chromones: As Potential α -Amylase Inhibitors and Radical (DPPH & ABTS) Scavengers. In: *Sci. Rep.*, Dec. 2017, nr. 1 (7), pp. 16980. doi: 10.1038/s41598-017-17261-w.
- [108] PAHOLNIȚCAIA, A., BARBĂ, N., GULEA, A., LOZAN-TIRȘU, C. Sinteza și

- caracteristica hidrazonelor obținute în baza 2-hidrazinobenzotiazolului cu proprietăți antimicrobiene și antiproliferative. În: *Studia Universitatis moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii)*. 2012, nr. 6 (56), pp. 82–86. ISSN: 1814-3237.
- [109] PAHONȚU, E.-M., JULEA, F., ROȘU, T. et al. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. In: *Journal Cellular and Molecular Medicine*. 2015, nr. 4 (19), pp. 865–878. doi: 10.1111/jcmm.12508.
- [110] PADHYE, S., KAUFFMAN, G. Transition metal complexis of semicarbazones and thiosemicarbazones. In: *Coordination Chemistry Reviews*. 1985, nr. 63, pp. 127–160. doi: 10.1016/0010-8545(85)80022-9.
- [111] SARGUN, Artur. Noi agenți anticancer și antimicrobieni în bază de n-(dimetilfenil)tiosemicarbazone și compuși coordinativi. In: *Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova: Științe ale naturii și exacte*. 21 august 2013, pp. 25-28. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/103482.
- [112] GULEA, A., ȚAPCOV, V., CEBOTARI, D., GARBUZ, O. Sinteza, structura și proprietățile compușilor coordinativi ai unor metale 3d cu 4-(dimetilfenil)tiosemicarbazone ale 2-hidroxi-3-metoxibenzaldehydei. In: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria științe reale și ale naturii)*. 2020, nr. 1 (131), pp. 3-15. ISSN: 1814-3237. doi: 10.5281/zenodo.3954087.
- [113] GULEA, A., ȚAPCOV V., CEBOTARI, D., **GUȚU (ERHAN), T.**, ISTRATI, D., GUDUMAC, V. [4-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxi-benziliden)-hidrazin-carbotioamid-S][4-(2,4-dimetil-fenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)-hidrazin-carbotioamido(2-)-O,N,S]-nichel(II) monoetanolsolvat în calitate de antioxidant. Brevet de invenție MD nr. 4636(13) B1. Int. Cl.: C07F 15/04 (2006.01), C07C 337/08 (2006.01), A61K 31/175 (2006.01), A61P 39/06 (2006.01), Universitatea de Stat din Moldova, Nr. de depozit a 2017 0088, Data depozit 12. 10. 2017, Publicat 30.06.2019, În: *BOPI*. 2019, nr. 6, pp. 44-45.
- [114] SANTIAGO, M., STROBEL, S. Thin Layer Chromatography. In: *Journal of Chromatography*. 2013, pp. 303–324. doi: 10.1016/B978-0-12-420067-8.00024-6.
- [115] UDDIN, J. *Macro to Nano Spectroscopy*. Intech Open. June 2012, 460 p. ISBN: 978-953-51-0664-7. doi: 10.5772/2503.
- [116] NYQUIST, R.A. *Interpreting Infrared, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance Spectra*. Academic Press. 2001, 256 p. ISBN: 9780080535135.
- [117] BUTA, I., SHOVA, S., ILIES, C., et al. Mono- and oligonuclear complexes based on a o-vanillin derived Schiff-base ligand: Synthesis, crystal structures, luminescent and electrochemical properties. In: *Journal Molecular Structure*. 2022, nr. 131439 (1248).

- doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131439.
- [118] *Molinspiration Cheminformatics: Molinspiration*. Bratislava University. Slovensky Grob, Slovakia. © 2023. Disponibil: <https://www.molinspiration.com>.
- [119] CAI, P., XIONG, Y., YAO, Y. et al. Synthesis, screening and biological activity of potent thiosemicarbazone compounds as a tyrosinase inhibitor. In: *New J. Chem.* 2019, nr. 35 (43), pp. 14102–14111. doi: 10.1039/C9NJ02360G.
- [120] *RCSB PDB: RCSB Protein Data Bank. Nature Structural Biology*. National Institutes of Health, USA. Disponibil: www.rcsb.com.
- [121] *Dassault Systèmes: BIOVIA Discovery Studio Visualizer*. California, USA ©2002. Disponibil: <https://www.3ds.com/products/biovia/discovery-studio>.
- [122] *AutoDock Suite: AutoDock Tools*. Center for Computational Structural Biology, The Scripps Research Institute. California, USA, @2012. Disponibil: <https://autodock.scripps.edu>.
- [123] *AutoDock Suite : AutoDock Vina*. Center for Computational Structural Biology, The Scripps Research Institute. California, USA @2012. Disponibil: <https://vina.scripps.edu>.”.
- [124] ERHAN, T., GARBUZ, O., UNGUR, N., GULEA, A. Sinteza și cercetarea proprietăților farmacofore ale unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide. În: *Akademios. Științe Chimice*. 2023, nr. 2 (69), pp. 67-74. ISSN: 1857-0461. doi: 10.52673/18570461.23.2-69.07.
- [125] SALAMA, E.E., YUSSEF, M.F., NAFIE, M.S. et al. Discovery of Potent Indolyl-Hydrazones as Kinase Inhibitors for Breast Cancer: Synthesis, X-ray Single-Crystal Analysis, and In Vitro and In Vivo Anti-Cancer Activity Evaluation. In: *Pharmaceuticals*. Dec. 2023, nr. 12 (19), pp. 1724. doi: 10.3390/ph16121724.
- [126] GULIA, A., BARBA, A., POIRIER, D., SARGUN, A. et al. Synthesis and antileukaemia activity of N-(2,4-dimethylphenyl)hydrazine carbothioamide and its azomethine derivatives. In: *Bul. Acad. Științe a Mold. Științele vieții*. 2012. nr. 3(318), pp. 59–66.
- [127] ELMAS, L., SECME, M., MAMMADOV, R. FAHRIOGLU, U. et al. The determination of the potential anticancer effects of *Coriandrum sativum* in PC-3 and LNCaP prostate cancer cell lines. In: *Journal Cell. Biochem*. Mar. 2019, nr. 3 (120), pp. 3506–3513, doi: 10.1002/jcb.27625.
- [128] GARBUZ, Olga. In vitro anticancer activity of chloro(N-phenyl-N'-[(pyridin-2-yl)methylidene]carbamoimidazonothioato) (4-aminobenzene-1-sulfonamide)copper. În: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii)*. 2018, nr. 6 (116), pp. 70–76. ISSN 1814-3237.

- [129] GARBUZ, Olga. Noi inhibitori moleculari anorganici și organici ai proliferării celulelor canceroase, mecanisme de acțiune. Teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2021.
- [130] ECHEGARAY, N., PATEIRO, M., MUNECATA, P.E.S. et al. Measurement of antioxidant capacity of meat and meat products: Methods and Applications. In: *Molecules*. Jun. 2021, nr. 13 (26), pp. 3880. doi: 10.3390/molecules26133880.
- [131] GOPI, C., DHANARAJU, M.D. Synthesis and antioxidant properties of 2-(3-(hydroxyimino)methyl)-1H-indol-1-yl)acetamide derivatives. In: *Futur. J. Pharm. Sci.* Dec. 2020, nr. 1 (6), pp. 93, doi: 10.1186/s43094-020-00090-6.
- [132] YUN, J.-M., KWEON, M.-H., KWON, H., HWANG, J.-K. et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by a chalcone panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* in androgen-independent human prostate cancer cells PC3 and DU145. In: *Carcinogenesis*. Jul. 2006, nr. 7 (27), pp. 1454–1464. doi: 10.1093/carcin/bgi348.
- [133] BALAN, G., SOFRONIE, O., RUSU, I.F., BURDUNIUC, O. et al. Antimicrobial resistance mechanisms characteristic of clinically important gram-negative bacilli. In: *Akademios*. Mar. 2023, nr. 4 (67), pp. 34–42. doi: 10.52673/18570461.22.4-67.04.
- [134] PAHONȚU, E., PROCS, M., SHOVA, S. et al. Synthesis, characterization, molecular docking studies and in vitro screening of new metal complexes with Schiff base as antimicrobial and antiproliferative agents. In: *Appl. Organomet. Chem.* Nov. 2019, nr. (11) 33. doi: 10.1002/aoc.5185.
- [135] OLTU, Iulian. *Acțiunea antifungică in vitro a remediilor de origine biologică și chimică asupra unor agenți cauzali ai micozelor*: teză de doctor în științe medicale. Chișinău, 2017, p. 77.
- [136] BURGART, V.Y., ELKINA, N.A., MACHAEVA, G.F. et al. Powerful Potential of Polyfluoroalkyl-Containing 4-Arylhydrazinylidenepyrazol-3-ones for Pharmaceuticals. In: *Molecules*. Dec. 2022, nr 1 (28), pp. 59. doi: 10.3390/molecules28010059.
- [137] BINZET, G., KAVAK, G., KÜLCÜ, N. et al. Synthesis and characterization of novel thiourea derivatives and their nickel and copper complexes. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013, nr. II, doi: 10.1155/2013/536562.
- [138] SAMPATH, K., SATHIYARAJ, S., JAYABALAKRISHNAN, C. DNA interaction, antioxidant, and in vitro antitumor activity of binuclear ruthenium(III) complexes of benzothiazole-substituted ferrocenyl thiosemicarbazones. In: *Medicinal Chemical Research*. 2014, nr. 2(23), pp. 958–968. doi: 10.1007/s00044-013-0698-x.
- [139] EASMON, J., HEINISCH, G., HOLZER, J. Novel thiosemicarbazones derived from formyl- and acyldiazines: synthesis, effects on cell proliferation, and synergism with

- antiviral agentst. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 1992, nr. 35 (17), pp. 3288–3296. doi: 10.1021/jm00095a027.
- [140] KLAYMAN, D.L., LIN, A.J., MKKALL, J.W. et al. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones derivatives with antifilarial activity. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 1991, nr. 4 (34), pp. 1422–1425. doi: 10.1021/jm00108a027.
- [141] HERNÁNDEZ, W., PAZZ, J., CASCO, F. et al. Synthesis and characterization of new palladium (II) thiosemicarbazone complexes and their cytotoxic activity against various human tumor cell lines. In: *Bioinorganic Chemistry and Application*. 2013, nr. 1, pp. 20–22. doi: 10.1155/2013/524701.
- [142] SIWEK, A., STEFANSKA, J., DZITKO, K. Antifungal effect of 4-arylthiosemicarbazides against *Candida* species. Search for molecular basis of antifungal activity of thiosemicarbazide derivatives. In: *Journal Mol. Model.*, 2012, nr. 9 (18), pp. 4159–4170. doi: 10.1007/s00894-012-1420-5.
- [143] EBENSO, E.E., EKPE, U.J., ITA, B.I. et al. Effect of molecular structure on the efficiency of amides and thiosemicarbazones used for corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid. In: *Materials Chemistry and Physics*. 1999, nr. 1 (60), pp. 79–90. doi: 10.1016/S0254-0584(99)00074-7.
- [144] TSHEPELEVITSH, S., KADAM, S., DANELL, A. et al. LogP determination for highly lipophilic hydrogen-bonding anion receptor molecules. In: *Analitica Chimica Acta*. Oct. 2020, nr. 1132, pp. 123–133. doi: 10.1016/j.aca.2020.07.024.
- [145] CHEN, X., ZHU, L., LI, R. et al. Electroporation-enhanced transdermal drug delivery: Effects of logP, pKa, solubility and penetration time. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Aug. 2020, nr. 151/105410. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105410.
- [146] ERHAN, T., GARBUZ, O., GULEA, A. Sinteza si studiul unor N'-(n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiurei si N-(4)-n-dimetilfeniltiosemicarbazide. În: *Studia Universitatis Moldaviae-Seria Științe Reale și ale Naturii*. 2017, nr. 1 (101), pp. 89-95. ISSN 1814-3237. (disponibil: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/52808).
- [147] PETRENKO, P., CHUMAKOV, Yu., ERHAN, T., TSAPKOV, V., GULEA, A. Structures of 1,1-dimethyl-3-(methyl-, dimethyl-, and three-methylphenyl)thioureas. In: *Conferința International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics Ed-9*, 25-28 septembrie 2018, Chișinău. pp. 146. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/71591.
- [148] GUȚU (ERHAN), T., BARBĂ, A., PRISACARI, V. Synthesis of some N'-n-dimethylphenyl-N, N-dimethylthioureas with antiproliferative properties. In *Conferința Științifică Internațională. Physical methods in Coordination and Supramolecular*

- Chemistry*. 2015, pp. 80. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/101748.
- [149] DREHER, D., JUNOD, A. Role of oxygen free radicals in cancer development. In: *European Journal Cancer*. 1996, nr. 1(32), pp. 30–38.
doi: 10.1016/0959-8049(95)00531-5.
- [150] ZHANG, J., TAN, W., ZHAO, P. et al. Facile synthesis, characterization, antioxidant activity, and antibacterial activity of carboxymethyl inulin salt derivatives. In: *International Journal of Biological Macromolecules*. Feb. 2022, nr. 199, pp. 138–149. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.12.140.
- [151] SHAHIDI, F., ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. In: *Journal Functional Foods*. Oct. 2015, nr. 18, pp. 757–781. doi: 10.1016/j.jff.2015.01.047.
- [152] CEBOTARI, Diana. Synthesis and carcterization of complexis based on fragments $(Mo_2O_2S_2)^{2+}$ for applications in biology. În: *Conferința științifică națională cu participare internațională- Integrare prin cercetare și inovare*, 10-11 noiembrie 2020, USM, Chișinău. pp. 255–258. ISBN: 978-9975-152-48-8.
- [153] CORJA, Ion, **GUȚU (ERHAN), Tatiana**. Synthesis of potential biologic active compounds based on 2-isotiocianato-1,3,5-trimethylbenzene. În: *Interferențe universitare-integrare prin cercetare si inovare*, 2012, USM, Chișinău. pp. 93–94.
- [154] **ERHAN, T.**, GARBUZ, O., UNGUR, N., GULEA, A. Sinteza și cercetarea proprietăților farmacofore ale unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide. În: *Akademios. Științe Chimice*. 2023, nr. 2 (69), pp. 67-74. ISSN: 1857-0461.
doi: 10.52673/18570461.23.2-69.07.
- [155] PETRENKO, P., CHUMAKOV, Yu., **ERHAN, T.**, TSAPKOV, V., GULEA, A. X-ray structures of n-(dimethylphenyl)hydrazine-carbothioamidesides. În: *Conferința International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics, ed-9*, 25-28 septembrie 2018, Chișinău. pp. 147. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/71592.
- [156] **ERHAN, T.**, JALBA, S., SARGUN, A., BARBA, A., POIRER, D., GULEA, A., PAHONTU, E.M. Synthesis and antileukemia activity of N-(2,4-dimethylphenyl)-hydrazinecarbothioamide and azomethine derivatives. In *The sixth International Conference Ecological and Environmental Chemistry, AȘM*, 2-3 martie 2017, Chișinău. pp. 77. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/73505.
- [157] **GUȚU (ERHAN), Tatiana**. Synthesis of 4- [2,4,6- trimethylphenyl]-thiosemicarbazide and its derivatives. În: *Volum de rezumate -Simpozionul Internațional PRIOCHEM – ediția a IX-a*, 24-25 octombrie 2013, București. pp. 80.
<https://icechim.ro/wp-content/uploads/summary2013.pdf>.

- [158] KUNOS, C.A., IVY, S.P. Triapine Radiochemotherapy in Advanced Stage Cervical Cancer. In: *Front. Oncol.* May 2018, nr. 8, pp. 149. doi: 10.3389/fonc.2018.00149.
- [159] VALENCIA, J., RUBIO, V., PUERTO, G. et al. QSAR Studies, molecular docking, molecular dynamics, synthesis, and biological evaluation of novel quinolinone-based thiosemicarbazones against mycobacterium tuberculosis. In: *Antibiotics*. Dec. 2022, nr. 1 (12), pp. 61. doi: 10.3390/antibiotics12010061.
- [160] TACAR, O., SRIAMORNSAK, P., DASS, C. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. In: *Journal Pharm. Pharmacol.* Dec. 2012, nr. 2 (62), pp. 157–170. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x.
- [161] LIU, M.C., LIN, T.S., SARTORELLI, A.C. Chemical and biological properties of cytotoxic α -(n)-heterocyclic carboxaldehyde thiosemicarbazones. In: *Prog. Med. Chem.* 1995, nr. 32 C, pp. 1–35. doi: 10.1016/S0079-6468(08)70451-X.
- [162] RUSNAC, A., GARBUZ, O., ŞOVA, S., GULEA, A. Synthesis of new coordination compounds of some 3d metals based on N(4)-(ethyl acetate) thiosemicarbazones 2-formil and 2-acetyl pyridine. Antioxidative properties. In: *Akademios*. Martie 2023, nr. 1 (67), pp. 19–26. doi: 10.52673/18570461.22.4-67.02.
- [163] HUANG, H., CHEN, Q., KU, X. et al. A series of α -heterocyclic carboxaldehyde thiosemicarbazones inhibit topoisomerase II α catalytic activity. In: *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010, nr. 8 (53), pp. 3048–3064. doi: 10.1021/jm9014394.
- [164] PITUCHA, M., WOS, M., MIAZGA-KARSKA, M. et al. Synthesis, antibacterial and antiproliferative potential of some new 1-pyridinecarbonyl-4-substituted thiosemicarbazide derivatives. In: *Medicinal Chemistry Research*. Aug. 2016, nr. 8 (25), pp. 1666–1677. doi: 10.1007/s00044-016-1599-6.
- [165] MATESANZ, A., SOUZA, P. α -N-heterocyclic thiosemicarbazone derivatives as potential antitumor agents: a structure-activity relationships approach. In: *Mini-Reviews Medicinal Chemistry*. 2009, nr. 9 (12), pp. 1389–1396. doi: 10.2174/138955709789957422.
- [166] MRĐAN, G., TOD, A., VRANES, M. et al. Synthesis and characterization of novel 2-pyridine mono(thio)carbohydrazones as promising antioxidant and antimicrobial agents. experimental and theoretical approach. In: *Bulletin of the Chemistry Society Japan*. Jan. 2022, nr. 1 (95), pp. 185–194. doi: 10.1246/bcsj.20210326.
- [167] CORJA, Ion, **LOGHIN (ERHAN), Tatiana.** Synthesis of some dimethylphenylthiosemicarbazones. În: *Conferința științifică a masteranzilor și doctoranzilor. Cercetare și inovare- perspective de evoluție și integrare europeană, CEP*, 23 septembrie 2009, USM, Chișinău. pp. 65–66. ISBN: 978-9975-70-865-4.

- [168] BALAN, G., BURDUNIUC, O., GRAUR, V. et al. Novel 2-formylpyridine 4-allyl- S -methylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. In: *Applied Organometalic Chemistry*. Mar. 2020, nr. 3 (34). doi: 10.1002/aoc.5423.
- [169] GULEA, A., GUDUMAK, V., GARBUZ, O. et al. In vitro antiproliferative activity and antioxidant capacity of new organometallic coordination compounds, results correlation analysis. In: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2016, nr. 3(330), pp. 65–72. ISSN: 1857-064X.
- [170] GRAUR, Vasilii. Synthesis, structure and biological activity of N(4)-allyl-3-thiosemicarbazones and their coordination compounds with some 3d metals. În: *Studia Universitatis Moldaviae -Seria științe reale și ale naturii*. 2015, nr 6 (86), pp. 130–141. ISSN: 1814-3237.
- [171] LESSA, J.A., MENDES, E.C., SILVA, P.R. et al. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones: Cytotoxic activity in nanomolar doses against malignant gliomas. In: *European Journal of Medicinal Chemistry*. Dec. 2010, nr. 12 (45), pp. 5671–5677. doi: 10.1016/j.ejmech.2010.09.021.
- [172] ERHAN, T., GULEA, A., GARBUZ, O. Study of the antioxidant properties of some methylphenylthiosemicarbazones. In: *Conferința Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community*, 30 septembrie 2022, Chișinău. pp. 212. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/168279.
- [173] CORJA, I., STRATULAT, E., SIRBU, A., GUȚU (ERHAN), T., PALAMARCIUC, O. Procedee de sinteza a unor tiosemicarbazone N4-substituie. În: *Conferința Științifică națională cu participare Internațională*, USM, 10-11 noiembrie 2015, Chișinău. pp. 127-129. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/87279.
- [174] ERHAN, Tatiana. Synthesis, structure and antioxidant activity of some carbonyl compounds of N-(4)-(2,4-dimethylphenyl)-thiosemicarbazones. În: *Al 4-lea Colocviu Franco-Român de Chimie Medicinală*, 5-7 octombrie 2017, Iași, România. pp. 301. <https://www.researchgate.net/publication/320419156>.
- [175] ERHAN, Tatiana. Sinteza, structura și proprietățile antioxidative ale unor N(4)-2,4-dimetilfeniltiosemicarbazone ale compușilor carbonilici. În: *Conferința Integrare prin cercetare și inovare*, 9-10 noiembrie 2017. Chișinău. pp. 168–171. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/129887/gscholar#.
- [176] PRISACARI, V., BURACIOV, S. Substanțe antibacteriene și antifungice noi din materie primă locală. In: *Akademos. Științe medicale*. 2010, nr. 2 (17), pp. 66–75. [http://www.akademos.asm.md/files/Substante antibacteriene si antifungice noi din materie](http://www.akademos.asm.md/files/Substante%20antibacteriene%20si%20antifungice%20noi%20din%20materie%20prim%C3%A1%20local%C3%A1)

prima locala.pdf.

- [177] GULEA, A., **ERHAN, T.**, ZARICIUC, E., PETRENCO, P., CIUMACOV, Y., JALBĂ, S., ȚAPCOV, V. Synthesis, structure and antimicrobial activity of salicylaldehyde 4-(dimethylphenyl)thiosemicarbazones and bimetal coordination compounds with these ligands. In: *The 6-th International Conference Ecological and Environmental Chemistry, ASM*, 2-3 martie 2017, Chișinău. pp. 215. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/74256.
- [178] OLTU, IU., **GUȚU (ERHAN), T.**, GULEA, A., ȚAPCOV, V. Utilizarea n-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)-hidrazincarbotioamidei în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din genul *Candida albicans*. Brevet de invenție MD nr. 4452(13), B1 Int. Cl.: A61K 31/175 (2006.01), A61P 31/10 (2006.01), A61P 31/04 (2006.01), Universitatea de Stat din Moldova, Nr. de depozit a 2016 0020, Data depozit 29. 02. 2016, Publicat 31.12.2016, În: *BOPI*. 2016, nr.12, pp. 28-29.

ANEXE

Anexa nr. 1. Datele cristalografice și unii parametrii structurali

Cifrul	Formula chimică	Sistemul cristalin	Grupul spațial	Parametrii celulei elementare						
				<i>a</i> (Å)	<i>b</i> (Å)	<i>c</i> (Å)	α (grad)	β (grad)	γ (grad)	<i>V</i> (Å ³)
<i>3-MePhTio</i>	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ S	ortorombic	Pbca	22.492	9.8878	28.907	90	90	90	6428.92
<i>2,3-diMePhTio</i>	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ S	ortorombic	Pbca	7.6482	10.187	29.209	90	90	90	2275.67
<i>2,4-diMePhTio</i>	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ S	monoclinic	P2 ₁ c	8.8108	8.9577	12.3226	90	90	90	1150.92
<i>3,5-diMePhTio</i>	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ S	ortorombic	Pbca	7.799	9.774	30.548	90	90	90	2328.69
<i>2,4,6-triMePhTio</i>	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ S	monoclinic	P2 ₁ c	8.3818	8.8572	17.0664	90	95.363	90	1261.47
<i>2,3-diMePhTSC</i>	C ₉ H ₁₃ N ₃ S	triclinic	P-1	7.1519	8.1718	8.6574	89.504	82.567	88.233	501.474
<i>2,5-diMePhTSC</i>	C ₉ H ₁₃ N ₃ S	monoclinic	P c	6.4680	6.5623	24.499	90	93.008	90	1038.43
<i>3,5-diMePhTSC</i>	C ₉ H ₁₃ N ₃ S	monoclinic	P 2 ₁ /n	10.5126	7.9955	12.7154	90	109.251	90	1009.01
<i>2,4,6-triMePhTSC</i>	C ₁₀ H ₁₅ N ₃ S	monoclinic	P2 ₁ c	7.861	10.133	14.390	90	103.68	90	1113.65
<i>2,4-diMePhTSCPy</i>	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ S	monoclinic	C2	14.106	7.957	13.358	90	92.73	90	1497.63
<i>2,6-diMePhTSCPy</i>	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ S	monoclinic	P 2 ₁ /n	11.2649	9.2407	14.5862	90	105.053	90	1466.35
<i>3,4-diMePhTSCPy</i>	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ S	monoclinic	P2 ₁ c	15.472	6.496	15.901	90	113.561	90	1464.9
<i>3-MePhTSCAPy</i>	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ S	triclinic	P-1	5.9247	11.5286	12.0807	108.221	98.805	102.171	744.544
<i>2,4-diMePhTSCAPy</i>	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ S	triclinic	P-1	5.6922	11.6791	13.180	110.638	99.811	99.094	785.078
<i>2,5-diMePhTSCAPy</i>	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ S	monoclinic	P 2 ₁ /n	15.1432	7.6363	15.3467	90	117.749	90	1570.58
<i>2,6-diMePhTSCAPy</i>	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ S	monoclinic	P 2 ₁ /n	9.4077	16.9308	10.4387	90	106.065	90	1597.75
<i>2,4,6-triMePhTSCAPy</i>	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ S	monoclinic	C2/c	17.2317	11.7629	16.6905	90	94.408	90	3373.06
<i>4-MePhTSCVn</i>	C ₁₇ H ₁₆ N ₃ O ₂ S	monoclinic	P 2 ₁	6.1586	31.2454	16.1962	90	90	90	3116.6
<i>2,6-diMePhTSCAs</i>	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ OS	monoclinic	P 2 ₁ /n	13.5366	5.0054	23.5810	90	103.247	90	1555.23

**Anexa nr. 2. Valorile calculate teoretic, prin programul Molinspiration,
pe clase de compuși:**

1) N, N-dimetil-N'-(n-metilfenil)tiourei

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTio</i>	194	1.99	186.7	15.27
<i>3-MePhTio</i>	194	2.02	186.7	15.27
<i>4-MePhTio</i>	194	2.04	186.7	15.27
<i>2,3-diMePhTio</i>	208	2.40	203	15.27
<i>2,4-diMePhTio</i>	208	2.42	203	15.27
<i>2,5-diMePhTio</i>	208	2.42	203	15.27
<i>2,6-diMePhTio</i>	208	1.46	203	15.27
<i>3,4-diMePhTio</i>	208	2.42	203	15.27
<i>3,5-diMePhTio</i>	208	2.42	203	15.27
<i>2,4,6-triMePhTio</i>	222	1.86	219	15.27

2) N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTSC</i>	181	0.30	164	50
<i>3-MePhTSC</i>	181	0.33	164	50
<i>4-MePhTSC</i>	181	0.35	164	50
<i>2,3-diMePhTSC</i>	195	0.70	181	50
<i>2,4-diMePhTSC</i>	195	0.72	181	50
<i>2,5-diMePhTSC</i>	195	0.72	181	50
<i>2,6-diMePhTSC</i>	195	-0.23	181	50
<i>3,4-diMePhTSC</i>	195	0.72	181	50
<i>3,5-diMePhTSC</i>	195	0.72	181	50
<i>2,4,6-triMePhTSC</i>	209	0.17	197	50

3) N-(n-metilfenil)- 2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamide

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTSCP</i> y	270	2.55	243	49.3
<i>3-MePhTSCP</i> y	270	2.57	243	49.3
<i>4-MePhTSCP</i> y	270	2.60	243	49.3
<i>2,3-diMePhTSCP</i> y	284	2.95	260	49.3
<i>2,4-diMePhTSCP</i> y	284	2.97	260	49.3
<i>2,5-diMePhTSCP</i> y	284	2.97	260	49.3
<i>2,6-diMePhTSCP</i> y	284	2.01	260	49.3
<i>3,4-diMePhTSCP</i> y	284	2.97	260	49.3
<i>3,5-diMePhTSCP</i> y	284	2.97	260	49.3
<i>2,4,6-triMePhTSCP</i> y	298	2.41	276	49.3

4) N-(n-metilfenil)- 2-(1-piridin-2-iletiden)hidrazincarbotioamide

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTSCAP</i> y	284	2.46	260	49.31
<i>3-MePhTSCAP</i> y	284	2.48	260	49.31
<i>4-MePhTSCAP</i> y	284	2.51	260	49.31
<i>2,3-diMePhTSCAP</i> y	298	2.86	276.9	49.31
<i>2,4-diMePhTSCAP</i> y	298	2.88	276.9	49.31
<i>2,5-diMePhTSCAP</i> y	298	2.88	276.9	49.31
<i>2,6-diMePhTSCAP</i> y	298	1.93	276.9	49.31
<i>3,4-diMePhTSCAP</i> y	298	2.88	276.9	49.31
<i>3,5-diMePhTSCAP</i> y	298	2.88	276.9	49.31
<i>2,4,6-triMePhTSCAP</i> y	298	2.33	276	49.31

5) N-(n-metilfenil)- (2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamide

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTSCAs</i>	285	3.66	255.9	56.65
<i>3-MePhTSCAs</i>	285	3.68	255.9	56.65
<i>4-MePhTSCAs</i>	285	2.71	255.9	56.65
<i>2,3-diMePhTSCAs</i>	299	4.06	255.9	56.65
<i>2,4-diMePhTSCAs</i>	299	4.08	255.9	56.65
<i>2,5-diMePhTSCAs</i>	299	4.08	255.9	56.65
<i>2,6-diMePhTSCAs</i>	299	3.12	255.9	56.65
<i>3,4-diMePhTSCAs</i>	299	4.08	255.9	56.65
<i>3,5-diMePhTSCAs</i>	299	4.08	255.9	56.65
<i>2,4,6-triMePhTSCAs</i>	313	3.52	289	56.65

6) N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamide

Cifrul	Mr.	logP	Volum molar	PSA Aria moleculară a suprafeței polare
<i>2-MePhTSCVn</i>	315	3.26	281.5	65.88
<i>3-MePhTSCVn</i>	315	3.29	281.5	65.88
<i>4-MePhTSCVn</i>	315	3.31	281.5	65.88
<i>2,3-diMePhTSCVn</i>	329	3.66	298.06	65.88
<i>2,4-diMePhTSCVn</i>	329	3.69	298.06	65.88
<i>2,5-diMePhTSCVn</i>	329	3.69	298.06	65.88
<i>2,6-diMePhTSCVn</i>	329	2.73	298.06	65.88
<i>3,4-diMePhTSCVn</i>	329	3.69	298.06	65.88
<i>3,5-diMePhTSCVn</i>	329	3.69	298.06	65.88
<i>2,4,6-triMePhTSCVn</i>	343	3.13	314	65.88

**Anexa nr. 3. Rezultatele testării activității antioxidante a
N-(n-metilfenil)-N,N-dimetiltioureelor**

Cifrul	Concentrația μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ±
<i>2-MePhTio</i>	100	92.7 ± 1.0	15.0	0.1
	10	36.4 ± 0.8		
	1	3.3 ± 0.4		
	0.1	0.2 ± 0.6		
<i>3-MePhTio</i>	100	91.8 ± 0.9	21.8	0.8
	10	22.3 ± 1.0		
	1	4.8 ± 1.0		
	0.1	3.5 ± 0.8		
<i>4-MePhTio</i>	100	94.5 ± 0.1	17.3	0.5
	10	29.4 ± 1.0		
	1	2.9 ± 0.5		
	0.1	2.4 ± 0.4		
<i>2,3-diMePhTio</i>	100	93.8 ± 0.3	17.1	0.1
	10	31.1 ± 0.3		
	1	11.1 ± 0.2		
	0.1	7.7 ± 0.2		
<i>2,4-diMePhTio</i>	100	93.6 ± 0.7	19.0	0.3
	10	26.5 ± 0.2		
	1	3.4 ± 0.5		
	0.1	2.2 ± 0.5		
<i>2,5-diMePhTio</i>	100	89.6 ± 0.1	20.3	0.1
	10	15.7 ± 0.1		
	1	6.9 ± 0.1		
	0.1	5.9 ± 0.1		
<i>2,6-diMePhTio</i>	100	91.9 ± 0.9	17.8	0.4
	10	31.4 ± 0.8		
	1	5.7 ± 0.5		
	0.1	2.9 ± 0.4		
<i>3,4-diMePhTio</i>	100	93.5 ± 0.7	19.3	1.0
	10	25.8 ± 1.2		
	1	5.5 ± 0.7		
	0.1	1.9 ± 0.2		
<i>3,5-diMePhTio</i>	100	91.7 ± 0.4	26.9	0.1
	10	26.0 ± 0.1		
	1	4.3 ± 0.4		
	0.1	2.4 ± 0.5		
<i>2,4,6-triMePhTio</i>	100	94.3 ± 0.3	12.2	0.2
	10	42.3 ± 0.6		
	1	9.4 ± 0.9		
	0.1	7.2 ± 0.3		

**Anexa nr. 4. Rezultatele testării activității antioxidante a
N-(n-metilfenil)-hidrazincarbotioamidelor**

Cifrul	Conc. μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %	DPPH % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %
<i>2-MePhTSC</i>	100	94.8 ± 0.1	16.2	0.1	87.1 ± 0.1	33.6	0.1
	10	32.1 ± 0.4			10.7 ± 0.1		
	1	5.5 ± 0.1			0.1 ± 0.1		
	0.1	2.3 ± 0.3			0.3 ± 0.9		
<i>3-MePhTSC</i>	100	93.7 ± 0.03	15.5	0.2	87.3 ± 0.1	57.6	0.7
	10	40.7 ± 0.5			12.0 ± 0.7		
	1	7.0 ± 0.1			0.5 ± 0.3		
	0.1	2.8 ± 0.1			1.0 ± 0.1		
<i>4-MePhTSC</i>	100	94.5 ± 0.2	18.1	0.6	86.8 ± 0.9	39.1	0.8
	10	27.6 ± 0.6			6.2 ± 0.2		
	1	3.3 ± 0.1			0.5 ± 0.3		
	0.1	0.9 ± 0.1			0.4 ± 0.2		
<i>2,3-diMePhTSC</i>	100	93.5 ± 0.8	15.3	0.1	86.7 ± 0.1	34.2	0.7
	10	37.6 ± 0.5			14.4 ± 0.4		
	1	4.9 ± 0.7			0.5 ± 0.2		
	0.1	1.6 ± 0.1			0.2 ± 0.1		
<i>2,4-diMePhTSC</i>	100	94.6 ± 0.3	14.5	0.8	87.1 ± 0.7	31.0	0.5
	10	34.6 ± 0.1			10.2 ± 0.1		
	1	6.0 ± 0.3			0.8 ± 0.2		
	0.1	5.1 ± 0.3			0.2 ± 0.1		
<i>2,5-diMePhTSC</i>	100	94.3 ± 0.8	14.2	0.5	86.7 ± 0.6	35.8	0.8
	10	30.2 ± 0.1			9.2 ± 0.2		
	1	3.6 ± 0.03			0.8 ± 0.1		
	0.1	54.2 ± 0.2			2.6 ± 0.7		
<i>2,6-diMePhTSC</i>	100	94.9 ± 0.4	13.2	0.2	66.1 ± 1.0	33.0	0.6
	10	33.4 ± 0.2			11.0 ± 0.9		
	1	3.1 ± 0.03			0.8 ± 0.2		
	0.1	0.5 ± 0.1			0.1 ± 0.05		
<i>3,4-diMePhTSC</i>	100	94.0 ± 1.0	13.6	0.5	87.1 ± 1.0	34.8	0.2
	10	39.1 ± 0.2			9.5 ± 0.9		
	1	5.9 ± 0.04			0.7 ± 0.1		
	0.1	1.8 ± 0.2			0.1 ± 0.05		
<i>3,5-diMePhTSC</i>	100	94.8 ± 0.1	14.2	0.2	84.7 ± 0.3	36.0	1.0
	10	37.6 ± 0.3			10.6 ± 0.2		
	1	4.4 ± 0.7			0.8 ± 0.1		
	0.1	1.9 ± 0.02			0.5 ± 0.2		
<i>2,4,6-triMePhTSC</i>	100	94.3 ± 0.2	14.4	1.0	87.1 ± 1.0	31.4	0.8
	10	37.3 ± 1.0			13.3 ± 0.2		
	1	6.0 ± 0.9			0.8 ± 0.2		
	0.1	0.5 ± 0.2			0.2 ± 0.03		

Anexa nr. 5. Rezultatele testării activității antioxidante N-(n-metilfenil)-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazincarbotioamidelor

Cifrul	Concentrația μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %
<i>2-MePhTSCP</i>	100	92.7 ± 1.0	8.7	0.1
	10	46.6 ± 0.4		
	1	6.3 ± 0.2		
	0.1	0.9 ± 0.1		
<i>3-MePhTSCP</i>	100	93.3 ± 0.5	12.3	0.8
	10	43.5 ± 1.0		
	1	5.9 ± 0.7		
	0.1	1.7 ± 0.5		
<i>4-MePhTSCP</i>	100	94.0 ± 0.01	9.3	0.1
	10	52.0 ± 0.9		
	1	6.9 ± 0.2		
	0.1	2.4 ± 0.1		
<i>2,3-diMePhTSCP</i>	100	94.2 ± 0.5	11.2	0.1
	10	55.1 ± 1.0		
	1	4.0 ± 0.2		
	0.1	0.9 ± 0.1		
<i>2,4-diMePhTSCP</i>	100	94.4 ± 0.1	7.2	0.2
	10	62.6 ± 0.4		
	1	3.9 ± 0.9		
	0.1	0.9 ± 0.1		
<i>2,5-diMePhTSCP</i>	100	93.6 ± 1.0	9.4	0.5
	10	50.8 ± 1.4		
	1	10.1 ± 0.8		
	0.1	0.6 ± 0.1		
<i>2,6-diMePhTSCP</i>	100	93.8 ± 1.0	9.8	0.4
	10	50.1 ± 1.0		
	1	7.0 ± 0.2		
	0.1	0.2 ± 0.05		
<i>3,4-diMePhTSCP</i>	100	93.9 ± 0.8	10.3	0.3
	10	49.1 ± 0.8		
	1	2.6 ± 0.1		
	0.1	0.9 ± 0.1		
<i>3,5-diMePhTSCP</i>	100	91.6 ± 0.1	12.3	0.9
	10	44.6 ± 1.0		
	1	2.5 ± 0.1		
	0.1	0.7 ± 0.2		
<i>2,4,6-triMePhTSCP</i>	100	93.8 ± 0.2	18.2	0.2
	10	27.9 ± 0.5		
	1	0.3 ± 0.1		
	0.1	0.1 ± 0.01		

**Anexa nr. 6. Rezultatele testării activității antioxidante a
N-(n-metilfenil)-2-(1-piridin-2-iletilden)hidrazincarbotioamidelor**

Cifrul	Concentrația μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %
<i>2-MePhTSCAPy</i>	100	94.0 ± 0.9	10.7	1.0
	10	47.0 ± 0.3		
	1	8.9 ± 0.1		
	0.1	4.9 ± 0.6		
<i>3-MePhTSCAPy</i>	100	91.9 ± 0.4	17.8	1.0
	10	68.8 ± 0.5		
	1	14.0 ± 0.2		
	0.1	2.7 ± 0.1		
<i>4-MePhTSCAPy</i>	100	92.7 ± 1.0	5.1	0.5
	10	30.0 ± 0.5		
	1	4.7 ± 0.1		
	0.1	2.2 ± 0.1		
<i>2,3-diMePhTSCAPy</i>	100	93.9 ± 0.3	15.6	0.2
	10	34.3 ± 0.8		
	1	5.0 ± 0.4		
	0.1	1.4 ± 0.1		
<i>2,4-diMePhTSCAPy</i>	100	94.6 ± 0.1	9.1	0.2
	10	51.3 ± 0.6		
	1	9.6 ± 0.1		
	0.1	1.6 ± 0.01		
<i>2,5-diMePhTSCAPy</i>	100	9.7 ± 0.2	17.7	1.0
	10	27.7 ± 0.2		
	1	4.8 ± 0.1		
	0.1	2.2 ± 0.01		
<i>2,6-diMePhTSCAPy</i>	100	93.0 ± 0.1	19.9	0.6
	10	25.2 ± 0.1		
	1	2.3 ± 0.2		
	0.1	0.4 ± 0.01		
<i>3,4-diMePhTSCAPy</i>	100	92.4 ± 2.3	15.8	1.0
	10	35.3 ± 0.5		
	1	5.0 ± 0.4		
	0.1	0.8 ± 0.01		
<i>3,5-diMePhTSCAPy</i>	100	92.7 ± 1.4	22.1	0.5
	10	20.6 ± 0.7		
	1	4.7 ± 0.05		
	0.1	1.6 ± 0.05		
<i>2,4,6-triMePhTSCAPy</i>	100	92.7 ± 1.2	15.2	1.0
	10	34.8 ± 0.7		
	1	4.8 ± 0.1		
	0.1	2.8 ± 0.01		

**Anexa nr. 7. Rezultatele testării activității antioxidante a
N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-benziliden)hidrazincarbotioamidelor**

Cifrul	Conc. μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %	DPPH % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %
<i>2-MePhTSCAs</i>	100	94.4 ± 0.05	9.3	1.0	61.5 ± 1.0	59.1	0.5
	10	52.8 ± 1.0			17.6 ± 1.0		
	1	6.8 ± 0.2			0.6 ± 0.02		
	0.1	0.6 ± 0.01			0.1 ± 0.01		
<i>3-MePhTSCAs</i>	100	93.8 ± 0.6	10.0	1.0	64.0 ± 1.0	50.8	0.6
	10	50.0 ± 0.1			20.8 ± 0.5		
	1	5.4 ± 0.3			1.9 ± 0.3		
	0.1	0.9 ± 0.02			0.1 ± 0.01		
<i>4-MePhTSCAs</i>	100	93.9 ± 0.2	8.6	0.2	62.6 ± 1.0	66.6	0.4
	10	41.0 ± 0.2			7.9 ± 0.5		
	1	23.7 ± 0.3			5.5 ± 0.3		
	0.1	18.5 ± 0.2			3.0 ± 0.09		
<i>2,3-diMePhTSCAs</i>	100	94.3 ± 0.05	10.2	0.5	61.9 ± 1.0	66.3	0.9
	10	58.4 ± 0.9			9.8 ± 0.3		
	1	5.8 ± 0.3			0.9 ± 0.1		
	0.1	2.1 ± 0.1			0.1 ± 0.01		
<i>2,4-diMePhTSCAs</i>	100	93.2 ± 1.0	7.8	0.4	89.6 ± 1.0	28.2	0.6
	10	46.6 ± 1.0			32.3 ± 1.0		
	1	12.4 ± 0.2			0.9 ± 0.1		
	0.1	7.2 ± 0.1			0.1 ± 0.01		
<i>2,5-diMePhTSCAs</i>	100	94.4 ± 0.05	9.8	0.9	62.1 ± 1.0	59.4	0.2
	10	50.6 ± 0.2			15.5 ± 0.8		
	1	4.4 ± 0.2			7.7 ± 0.6		
	0.1	0.4 ± 0.02			4.2 ± 0.4		
<i>2,6-diMePhTSCAs</i>	100	93.4 ± 0.3	12.8	1.0	41.5 ± 1.0	≥100	-
	10	42.2 ± 1.0			4.9 ± 0.3		
	1	4.0 ± 0.2			4.1 ± 0.3		
	0.1	0.9 ± 0.1			1.1 ± 0.3		
<i>3,4-diMePhTSCAs</i>	100	92.2 ± 1.0	11.9	0.8	45.2 ± 1.0	30.2	0.5
	10	55.6 ± 1.0			16.4 ± 0.1		
	1	4.6 ± 0.2			15.5 ± 0.2		
	0.1	1.7 ± 0.2			0.9 ± 0.01		
<i>3,5-diMePhTSCAs</i>	100	93.4 ± 1.0	15.4	0.6	43.8 ± 0.5	≥100	-
	10	34.9 ± 1.0			21.3 ± 1.0		
	1	1.6 ± 0.3			3.3 ± 0.1		
	0.1	0.8 ± 0.03			2.8 ± 0.1		
<i>2,4,6-triMePhTSCAs</i>	100	93.0 ± 0.3	8.6	1.0	82.7 ± 0.5	27.7	0.9
	10	44.6 ± 1.0			7.7 ± 0.1		
	1	6.4 ± 0.1			4.5 ± 0.1		
	0.1	0.7 ± 0.02			2.9 ± 0.02		

**Anexa nr. 8. Rezultatele testării activității antioxidante a
N-(n-metilfenil)-2-(2-hidroxi-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotioamidelor**

Cifrul	Conc. μM	ABTS % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %	DPPH % inh.	IC₅₀ μM	SD ± %
<i>2-MePhTSCVn</i>	100	90.3 ± 0.1	15.2	1.0	84.7 ± 1.0	32.6	0.5
	10	38.1 ± 0.4			14.1 ± 1.0		
	1	3.3 ± 0.2			8.3 ± 0.9		
	0.1	0.6 ± 0.01			0.8 ± 0.01		
<i>3-MePhTSCVn</i>	100	88.4 ± 0.1	10.0	1.0	84.8 ± 0.9	30.0	0.4
	10	51.8 ± 0.5			17.3 ± 0.8		
	1	6.8 ± 0.1			2.3 ± 1.0		
	0.1	7.6 ± 0.1			2.1 ± 0.06		
<i>4-MePhTSCVn</i>	100	93.2 ± 1.1	9.3	0.2	16.3 ± 0.2	31.2	0.7
	10	51.9 ± 1.3			3.1 ± 0.3		
	1	7.3 ± 0.1			1.0 ± 0.02		
	0.1	4.5 ± 0.03			0.5 ± 0.01		
<i>2,3-diMePhTSCVn</i>	100	86.9 ± 0.8	10.1	1.0	80.2 ± 0.5	34.5	0.5
	10	52.3 ± 1.0			16.0 ± 0.7		
	1	6.4 ± 0.7			2.1 ± 0.09		
	0.1	0.4 ± 0.01			4.2 ± 0.01		
<i>2,4-diMePhTSCVn</i>	100	89.0 ± 0.4	11.2	1.0	81.9 ± 1.0	28.5	1.0
	10	48.1 ± 1.0			22.0 ± 0.2		
	1	6.6 ± 0.4			2.9 ± 0.01		
	0.1	0.4 ± 0.01			0.9 ± 0.01		
<i>2,5-diMePhTSCVn</i>	100	83.1 ± 1.0	12.1	1.0	75.1 ± 1.0	30.1	1.0
	10	40.2 ± 0.7			20.6 ± 0.4		
	1	4.5 ± 0.1			2.0 ± 0.05		
	0.1	0.8 ± 0.01			0.6 ± 0.01		
<i>2,6-diMePhTSCVn</i>	100	90.7 ± 0.3	13.1	0.8	72.8 ± 1.0	37.0	1.0
	10	42.6 ± 1.0			21.5 ± 0.3		
	1	4.8 ± 0.3			4.4 ± 0.1		
	0.1	2.2 ± 0.01			2.4 ± 0.01		
<i>3,4-diMePhTSCVn</i>	100	90.9 ± 1.0	10.6	1.0	83.5 ± 0.2	31.7	0.8
	10	48.1 ± 1.0			15.8 ± 1.0		
	1	9.0 ± 0.6			7.5 ± 0.4		
	0.1	1.1 ± 0.2			0.9 ± 0.01		
<i>3,5-diMePhTSCVn</i>	100	92.9 ± 1.0	11.2	1.0	86.5 ± 0.5	24.1	1.0
	10	44.5 ± 0.3			23.8 ± 0.3		
	1	11.9 ± 0.4			4.3 ± 0.02		
	0.1	5.6 ± 0.1			1.6 ± 0.01		
<i>2,4,-6triMePhTSCVn</i>	100	91.4 ± 0.6	11.8	1.0	68.7 ± 0.8	43.8	1.0
	10	43.2 ± 0.9			20.4 ± 0.5		
	1	11.3 ± 0.4			3.0 ± 0.1		
	0.1	4.9 ± 0.3			1.2 ± 0.01		

**Anexa nr. 9. Rezultatele testării, *in vitro*, a activității anticancerigene a
N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamidelor**

Cifrul	Concentrația μM	HeLa % inh. ± SD	BxPc-3 % inh. ± SD	RD % inh. ± SD	MDCK % inh. ± SD
<i>2,3-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>24.4 ± 0.7</u>	<u>6.2 ± 0.1</u>	<u>12.6 ± 0.3</u>	<u>22.2 ± 0.6</u>
	10	10.2 ± 0.3	10.6 ± 0.3	11.0 ± 0.3	12.4 ± 0.3
	1	10.9 ± 0.3	10.0 ± 0.3	0.8 ± 0.01	13.3 ± 0.4
<i>2,4-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>35.7 ± 1.0</u>	<u>28.7 ± 0.8</u>	<u>24.1 ± 0.7</u>	<u>10.4 ± 0.3</u>
	10	14.4 ± 0.4	28.1 ± 0.8	10.1 ± 0.3	19.9 ± 0.5
	1	4.3 ± 0.1	44.1 ± 1.3	8.1 ± 0.2	10.4 ± 0.3
<i>2,5-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>26.1 ± 0.7</u>	<u>26.2 ± 0.7</u>	<u>12.6 ± 0.3</u>	<u>7.0 ± 0.2</u>
	10	8.6 ± 0.2	10.0 ± 0.3	7.2 ± 0.2	3.7 ± 0.1
	1	5.0 ± 0.1	3.2 ± 0.01	5.3 ± 0.1	-5.6 ± 0.1
<i>2,6-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>27.4 ± 0.8</u>	<u>10.6 ± 0.3</u>	<u>22.3 ± 0.6</u>	<u>21.9 ± 0.6</u>
	10	22.8 ± 0.6	5.8 ± 0.1	8.5 ± 0.2	22.8 ± 0.6
	1	6.1 ± 0.1	14.4 ± 0.4	6.2 ± 0.1	6.1 ± 0.2
<i>3,4-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>27.9 ± 0.8</u>	<u>6.1 ± 0.1</u>	<u>9.8 ± 0.2</u>	<u>12.2 ± 0.3</u>
	10	10.4 ± 0.3	0.1 ± 0.01	5.6 ± 0.1	6.1 ± 0.2
	1	0.1 ± 0.01	4.0 ± 0.1	6.1 ± 0.1	5.1 ± 0.1
<i>3,5-diMePhTSC</i>	<u>100</u>	<u>23.0 ± 0.7</u>	<u>24.0 ± 0.7</u>	<u>13.5 ± 0.4</u>	<u>26.1 ± 0.6</u>
	10	26.5 ± 0.8	16.4 ± 0.4	5.8 ± 0.1	18.9 ± 0.5
	1	0.1 ± 0.01	10.0 ± 0.3	0.1 ± 0.01	4.5 ± 0.1
Doxorubicina(DOX)	<u>100</u>	<u>49.8 ± 6.6</u>	<u>76.6 ± 0.9</u>	<u>47.3 ± 1.6</u>	<u>56.0 ± 2.6</u>

Notă IC₅₀ ≥ 100 μM

**Anexa nr. 10. Rezultatele testării, *in vitro*, a activității anticancerigene a unor
N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide, față de linia de celule HL-60**

Cifrul	Concentrația μM	HL-60 % inh. ± SD	IC ₅₀ μM
<i>2,4-diMePhTSC</i>	0.1	8.5 ± 0.2	≥100
	1	10.4 ± 0.3	
	10	16.0 ± 0.4	
<i>2,4-diMePhTSCP_y</i>	0.1	74.2 ± 2.2	≤1.00
	1	94.4 ± 2.8	
	10	95.9 ± 2.8	
<i>2,4-diMePhTSCAP_y</i>	0.1	70.6 ± 2.1	≤1.00
	1	86.6 ± 2.5	
	10	95.7 ± 2.8	
<i>2,4-diMePhTSCAs</i>	0.1	9.7 ± 0.2	0.25
	1	96.5 ± 2.8	
	10	89.9 ± 2.6	
<i>2,3-diMePhTSCP_y</i>	0.1	66.0 ± 1.9	≤1.00
	1	96.1 ± 2.8	
	10	96.0 ± 2.8	
<i>2,3-diMePhTSCAP_y</i>	0.1	86.4 ± 2.5	≤1.00
	1	97.0 ± 2.9	
	10	99.9 ± 2.9	
<i>2,5-diMePhTSCAP_y</i>	0.1	73.4 ± 2.1	≤1.00
	1	99.9 ± 2.9	
	10	99.9 ± 2.9	
<i>3,4-diMePhTSCAP_y</i>	0.1	57.7 ± 1.7	≤1.00
	1	92.7 ± 2.7	
	10	99.9 ± 2.9	
Doxorubicina(DOX)	0.1	15	≤1.00
	1	98	
	10	99	

Anexa 11. Rezultatele testării, *in vitro*, a activității anticancerigene a unor N-(n-metilfenil)hidrazincarbotioamide, față de linia de celule de cancer MCF-7

Cifrul	Concentrația. μM	MCF-7 % inh. ± SD	IC₅₀ μM
Doxorubicina, (DOX)	0.1	-13.6 ± 7.0	≥100
	1	-12.3 ± 8.0	
	10	36.6 ± 1.0	
2,3- <i>diMePhTSCP</i> y	0.1	0.2 ± 0.01	>10
	1	15.6 ± 0.1	
	10	42.8 ± 0.3	
2,4- <i>diMePhTSCP</i> y	0.1	15.7 ± 5.0	4±0.3
	1	47.0 ± 0.5	
	10	52.6 ± 1.0	
2,5- <i>diMePhTSCP</i> y	0.1	0.1 ± 0.01	0.8±0.02
	1	25.6 ± 0.3	
	10	52.0 ± 1.4	
3,4- <i>diMePhTSCP</i> y	0.1	4.1 ± 0.8	≥100
	1	28.3 ± 0.4	
	10	33.1 ± 2.2	
2,3- <i>diMePhTSCAP</i> y	0.1	10.4 ± 0.1	>10
	1	34.0 ± 2.1	
	10	40.3 ± 2.4	
2,4- <i>diMePhTSCAP</i> y	0.1	17.2 ± 2.0	>10
	1	30.8 ± 2.1	
	10	42.6±1.7	
2,5- <i>diMePhTSCAP</i> y	0.1	10.3 ± 2.0	>10
	1	38.6 ± 1.4	
	10	44.1 ± 1.8	
3,4- <i>diMePhTSCAP</i> y	0.1	33.5 ± 1.0	≥100
	1	42.7 ± 4.0	
	10	36.8 ± 1.0	

**Anexa 12. Rezultatele testării, *in vitro*, a activității anticancerigene a unor
N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide,
față de linia de celule de cancer LNCaP (adenocarcinomul de prostată)**

Cifrul	Concentrația μM	LNCaP % inh. ± SD	IC₅₀ μM
<i>2,3-diMePhTSCP</i> y	0.1	0.28 ± 0.01	≥100
	1	2.4 ± 0.1	
	10	7.0 ± 0.2	
<i>2,4-diMePhTSCP</i> y	0.1	0.13 ± 0.01	7.22
	1	1.7 ± 0.01	
	10	92.6 ± 0.9	
<i>2,5-diMePhTSCP</i> y	0.1	5.9 ± 0.2	≥100
	1	10.3 ± 0.3	
	10	3.1 ± 0.01	
<i>2,3-diMePhTSCAP</i> y	0.1	0.13 ± 0.01	>10
	1	0.32 ± 0.01	
	10	7.8 ± 0.1	
<i>2,4-diMePhTSCAP</i> y	0.1	0.74 ± 0.1	7.52
	1	6.2 ± 0.2	
	10	92.0 ± 0.9	
<i>2,5-diMePhTSCAP</i> y	0.1	0.24 ± 0.01	>10
	1	2.0 ± 0.01	
	10	18.9 ± 0.3	

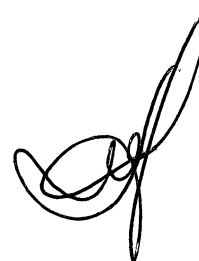
**Anexa 13. Rezultatele testării , *in vitro*, a activității antimicrobiene și antifungice, a unor
N-(n-dimetilfenil)hidrazincarbotioamide**

Cifrul	(Gr-)						(Gr+)		Fungi	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>C. Albicans</i> ATCC 10231	
	CMI μg/mL	CMB μg/mL	CMI μg/mL	CMB μg/mL	CMI μg/mL	CMB μg/mL	CMI μg/mL (μM)	CMB μg/mL (μM)	CMI μg/mL (μM)	CMF μg/mL (μM)
2,4- <i>diMePh</i> TSC	500.0	500.0	500.0	1000	500.0	1000	250.0	500.0	250.0	500.0
2,5- <i>diMePh</i> TSC	500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	500.0	250.0	500.0	250.0	500.0
3,4- <i>diMePh</i> TSC	500.0	500.0	500.0	1000	500.0	1000	250.0	500.0	250.0	500.0
2,4- <i>diMePh</i> TSCPy	30.0	30.0	60.0	60.0	1000	1000	1.5 (5.28)	1.5 (5.28)	1.5 (5.28)	1.5 (5.28)
2,5- <i>diMePh</i> TSCPy	500.0	1000	50.0	1000	1000	1000	1.5 (5.28)	3.0 (10.56)	0.7 (2.46)	3.0 (10.56)
3,4- <i>diMePh</i> TSCPy	250.0	500.0	30.0	60.0	1000	1000	7.0 (24.6)	7.0 (24.6)	15.0 (50.1)	15.0 (50.1)
2,4- <i>diMePh</i> TSCAPy	30.0	30.0	60.0	60.0	1000	1000	3.0 (10.1)	7.0 (23.4)	15.0 (50.1)	15.0 (50.3)
2,5- <i>diMePh</i> TSCAPy	30.0	30.0	60.0	250.0	500.0	500.0	7.0 (23.4)	7.0 (23.4)	7.0 (23.4)	7.0 (23.4)
3,4- <i>diMePh</i> TSCAPy	60.0	60.0	250.0	250.0	500.0	500.0	7.0 (23.4)	15.0 (50.1)	15.0 (50.1)	15.0 (50.1)
2,4- <i>diMePh</i> TSCAs	1000	1000	30.0	30.0	500.0	500.0	1.5 (5.0)	1.5 (5.0)	0.7* (2.34)	0.7* (2.34)
2,5- <i>diMePh</i> TSCAs	1000	250.0	1000	1000	1000	1000	30.0 (100.2)	30.0 (100.2)	15.0 (50.1)	15.0 (50.1)
3,4- <i>diMePh</i> TSCAs	1000	1000	1000	1000	1000	1000	30.0 (100.2)	30.0 (100.2)	60.0	60.0
<i>Furacilina</i>	2.34	9.37	4.68	4.68	4.68	9.37	2.34	9.37	-	-
<i>Itraconazol</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,78	6,25
<i>Ketaconazol</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	12.5	50.0

Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnata, ERHAN Tatiana, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

ERHAN Tatiana



18.08.2023

CURRICULUM VITAE

Nume Prenume Tatiana ERHAN
Data nașterii 28.02.1987
Cetățenia MDA, ROU
E-mail taerhan28@gmail.com
GSM +373-68-029-837



Studii:

01.11.2011-01.11.2014 Studii superioare de doctorat, ciclul, III, specialitatea: 143.01 - Chimie organică, USM.
01.09.2008-30.06.2010 Studii superioare de masterat, ciclul II, specialitatea: Chimie coordinativă, USM.
01.09.2004-30.06.2008 Studii superioare de licență, ciclul I, specialitatea: Chimie, USM.

Stagii:

01.07.2014-prezent Cercetător științific, Laboratorul “Protecția Integrată”, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM.
01.09.2021-01.06.2022 Profesor de chimie, Colegiul ULIM.
19.12.2013-01.06.2016 Lector, USMF „Nicolae Testemițanu”, Secția pregătire preuniversitară.
01.09.2008-04.01.2015 Laborant, Secția Chimie Organică, Departamentul Chimie, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM.

Domenii de interes științific:

Chimie, sinteză organică, sinteza compușilor biologic activi, sinteza compușilor identici naturali

Cunoașterea limbilor

Româna-maternă, Rusa-C2, Engleza-B1.

Participări în proiecte științifice naționale și internaționale:

20.80009.5107.19 Consolidarea capacităților de prognoză și combatere a organismelor dăunătoare și analiză a riscurilor fitosanitar în protecția integrată a Plantelor.
15.817.04.07A Elaborarea tehnologiilor inofensive de protecție integrată a plantelor prin utilizarea substanțelor biologice active în controlul impactului insectelor dăunătoare și a agenților patogeni.

Lucrări științifice și articole, materiale ale comunicărilor științifice, brevete de invenții etc.

27 lucrări științifice, dintre care:
✓ 3 articole în reviste naționale
✓ 10 articole în culegeri științifice
✓ 14 rezumate la conferințe naționale și internaționale
✓ 2 brevete de invenție

Premii, mențiuni, distincții etc.

- Medalie de aur la Salon de Invenție - 1
- Medalie de argint la Salon de Invenție - 1