CZU: 544.142.3:547.497.1:615.281 https://doi.org/10.59295/mabt2026.03

TIOSEMICARBAZONE HETEROCICLICE: DE LA SINTEZĂ ȘI CARACTERIZARE STRUCTURALĂ LA PERSPECTIVE ÎN DEZVOLTAREA AGENȚILOR ANTIMICROBIENI

Roman RUSNAC[1,3], Greta BALAN[2], Ionuț-Iulian LUNGU[4], Aurelian GULEA[1]

[1]Laboratorul „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică”, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
[2]Departamentul Medicină Preventivă, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” Chișinău, Republica Moldova
[3]Centrul de Cercetare în Heterochimie Fundamentală și Aplicată, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică, Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, România
[4]Departamentul de Chimie Generală și Anorganică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

Rezumat

Criza globală a rezistenței antimicrobiene (RAM) a transformat tratamentul bolilor infecțioase într-o problemă de securitate sanitară, pe măsură ce numărul agenților patogeni rezistenți la multiple medicamente depășește capacitatea de inovare a industriei farmaceutice. Declinul în producția de antibiotice noi, cauzat de impedimente financiare și tehnice, survine într-un moment critic: se estimează că rata mortalității cauzate de RAM va atinge 10 milioane de victime anual până în 2050. Lucrarea de față investighează sinteza și evaluarea potențialului antimicrobian a produselor de sinteză autohtonă din Republica Moldova. Tiosemicarbazonele studiate sunt grupate în funcție de substituetul în poziția N^4 – alchil, aril și heteril. Cele mai bune rezultate cu o concetrație minimă de inhibiție sunt în cazul tiosemicarbazonelor alifatice pe baza derivaților piridinici.

Cuvinte-cheie: tiosemicarbazone heterociclice, agenți atimicrobieni, N^4–alchil, aril și heteril.

Abstract

The global antimicrobial resistance (AMR) crisis has transformed the treatment of infectious diseases into a health security issue, as the number of multidrug-resistant pathogens exceeds the innovation capacity of the pharmaceutical industry. The decline in the production of new antibiotics, driven by financial and technical challenges, coincides with a crucial moment: by 2050, it is estimated that AMR will cause 10 million deaths annually. The present work investigates the synthesis and evaluation of the antimicrobial potential of indigenously synthesized products from the Republic of Moldova. The studied thiosemicarbazones are grouped according to the substituent at the N4 position—alkyl, aryl, and heteryl. The best results with a minimum inhibition concentration are in the case of aliphatic thiosemicarbazones based on pyridine derivatives.

Keywords: heterocyclic thiosemicarbazones, antimicrobials, N^4–alkyl, aryl and heteryl.

Introducere

Tiosemicarbazonele sunt compuși rezultați prin condensarea tiosemicarbazidei cu aldehide sau cetone [1], [2], [3]. Datorită diversității lor biologice, acești compuși sunt de interes major în chimia medicinală, prezentând proprietăți anti-Alzheimer [4][5][6], antidiabetice [7][8][9], antivirale [9][10], anticancerigene [11] și antioxidante. Pentru sinteza tiosemicarbazonolor [12], [13], [14], [15](figura 1) clasic este necesar funcționlizarea structurală prin obținerea grupelor izotiocianat [12].

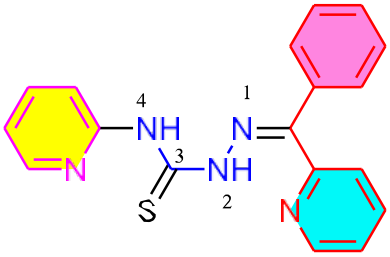


Figura 1. Formula de structură a unei tiosemicarbazone
IUPAC (Z)-2-(fenil(piridin-2-il)metilen)-N-(piridin-2-il)hidrazină-1-carbotioamidă [16]

Necesitatea dezvoltării unor noi agenți antimicrobieni a devenit o prioritate globală critică, în contextul în care rezistența bacteriilor la antibioticele actuale (RAM) amenință să transforme infecții tratabile în afecțiuni fatale. În acest peisaj complex, valorificarea resurselor autohtone din Republica Moldova reprezintă o direcție strategică fundamentală din următoarele considerente:

- Biodiversitatea unică: flora și microflora din regiunea pruto-nistreană oferă acces la compuși bioactivi specifici, neexplorați anterior, care pot servi drept precursori pentru medicamente cu mecanisme de acțiune inedite.
- Suveranitatea farmaceutică: reducerea dependenței de importurile de medicamente și stimularea industriei farmaceutice locale prin cercetarea aplicată pe materii prime indigene (plante medicinale, tulpini de microorganisme locale, produse apicole).
- Adaptarea la contextul local: microorganismele patogene circulante în regiune pot dezvolta profiluri de rezistență specifice, făcând necesară identificarea unor soluții terapeutice adaptate ecosistemului microbiologic din Moldova.

O clasă de compuși care ar putea interveni în soluționarea acestor problemei sunt tiosemicarbazonele care reprezintă una dintre cele mai promițătoare clase de compuși organici în lupta împotriva rezistenței antimicrobiene (RAM), datorită versatilității lor structurale și capacității de a interfera cu procesele vitale ale microorganismelor.

Pentru sinteza tiosemicarbazonelor este necesar obținerea „compușilor chee” care se numesc izotiocianați organici, precum R-N=C=S.

Compușii organici care conțin grupa izotiocianat (-N=C=S) sunt entități chimice extrem de versatile, fundamentale în chimia organică, biofarmaceutică și știința materialelor. Reactivitatea lor ridicată, în special față de nucleofili, îi face instrumente indispensabile în sinteza diverselor structuri moleculare. Izotiocianații reprezintă unități structurale esențiale în chimia organică, fiind utilizați frecvent ca precursori în sinteza heterociclurilor și a catalizatorilor chirali pe bază de tiouree. Dincolo de utilitatea lor sintetică, acești compuși constituie structuri fundamentale în numeroase produse naturale și molecule cu activitate biologică. Spre exemplu, izotiocianatul de alil și sulforafanul sunt compuși naturali extrași din diverse specii ale ordinului Brassicales și din legume crucifere, în timp ce derivații de fenil, benzil și fenetil prezintă proprietăți antibiotice și antitumorale notabile. Având în vedere relevanța lor vastă, optimizarea metodelor de sinteză a izotiocianaților a devenit o direcție importantă de cercetare. Cea mai utilizată strategie rămâne conversia directă a aminelor primare, datorită accesibilității ridicate a acestor precursori. În literatura de specialitate, se disting două rute principale de sinteză [3][17][18]:

1. transferul de tiocarbonil: această metodă implică utilizarea unor agenți specifici, care însă sunt adesea costisitori, toxici și greu de obținut [19].

2. desulfurarea ditiocarbamaților: aceasta presupune reacția aminelor cu disulfură de carbon, urmată de o etapă de desulfurare [20].

În ultimele studii, au fost implementate diverse abordări pentru etapa de desulfurare, utilizând oxidanți clasici (precum $Na_2S_2O_8$ sau TBHP), fotocataliză sau, mai recent, sinteză electrochimică [3]. Dezvoltarea unor protocoale de sinteză superioare, pun accent pe eficiență, reducerea timpului de reacție, utilizarea minimă a solvenților și conformitatea cu principiile „chimiei verzi”.

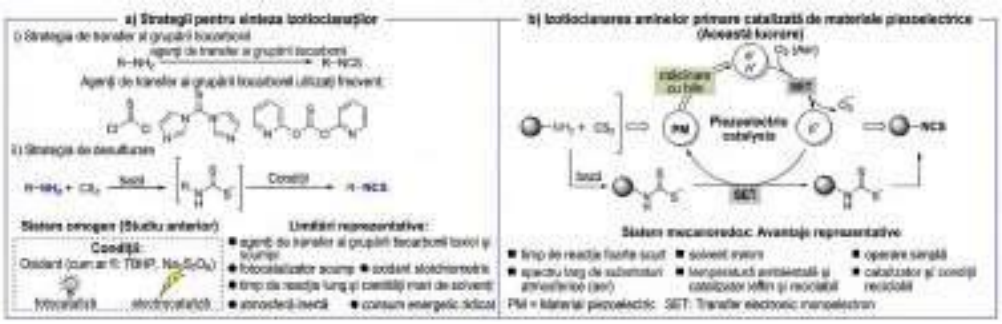


Figura 1. Cele mai noi strategii pentru sinteza izotiocianaturilor [3]

Iată principalele direcții de aplicabilitate ale acestor compuși:

1. Sinteza organică și construcția heterociclurilor

Izotiocianații sunt "blocuri de construcție" (building blocks) critice pentru obținerea unei game largi de heterocicluri cu activitate biologică demonstrată:

- sinteza tioureei: reacția dintre un izotiocianat și o amină primară sau secundară produce tiouree substituită, structură prezentă în numeroase medicamente.
- obținerea heterociclurilor azot-sulf: sunt precursori esențiali pentru sinteza tiazolilor, tiazolidinonelor, benzotiazolilor și tiadiazolilor, care constituie scheletul multor agenți farmacologici.

2. Chimia biofarmaceutică și conjugarea biomoleculelor

Datorită capacității grupării izotiocianat de a reacționa selectiv cu grupările amino ($-NH_2$) ale proteinelor sau aminoacizilor în condiții fiziologice ușoare, aceștia sunt utilizați frecvent pentru:

- marcarea proteinelor (Labeling): izotiocianatul de fluoresceină este cel mai cunoscut exemplu. Acesta permite vizualizarea și detectarea proteinelor sau anticorpilor prin tehnici de imunofluorescență.
- derivatizarea aminoacizilor: utilizarea reactivului Edman (fenilizotiocianat) pentru secvențierea proteinelor este o metodă clasică, dar încă relevantă, care demonstrează aplicabilitatea acestor compuși în analiza structurală a macromoleculelor.

3. Dezvoltarea agenților antimicrobieni și anticancerigeni

Multe molecule care încorporează fragmente de izotiocianat sau care sunt derivate din acestea prezintă proprietăți farmacologice remarcabile:

- activitate antimicrobiană: derivații de tiouree obținuți din izotiocianați interacționează cu enzimele bacteriene, inhibând proliferarea microorganismelor.
- potențial citotoxic: studiile arată că unii izotiocianați naturali (precum cei derivați din crucifere, ex: sulforafanul) induc apoptoza în celulele tumorale și modulează căile de semnalizare celulară, fiind subiecți intensi de cercetare în chimioprevenție.

4. Știința materialelor și polimeri

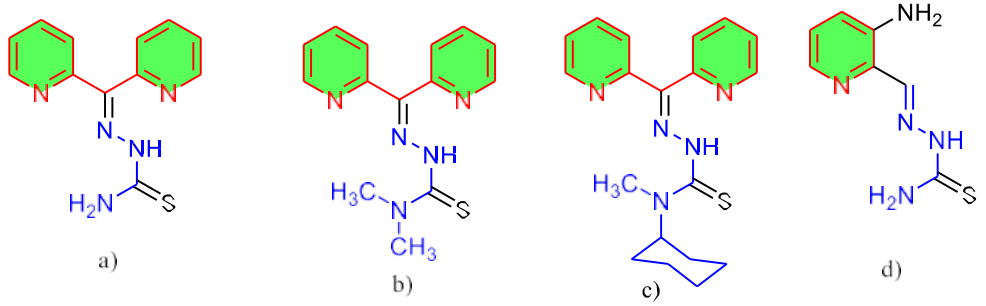
În ingineria materialelor, grupările izotiocianat sunt utilizate pentru:

- modificarea suprafețelor: introducerea acestor grupe pe suprafața polimerilor sau a nanomaterialelor pentru a crea ancoraje pentru molecule bioactive.

- sinteză de poliuretan: deși izocianații (-N=C=O) sunt standardul, analogii cu sulf sunt studiați pentru obținerea de materiale cu indici de refracție ridicați sau proprietăți optice speciale.

Un aspect esențial îl reprezintă potențialul lor antimicrobian, oferind o alternativă viabilă în contextul rezistenței la antibiotice. Acestea acționează cu spectru larg, inhibând atât bacterii Gram-(+) (*S. aureus, B. cereus*), cât și Gram-(−) (*E. coli, P. aeruginosa*), și manifestă efecte antifungice (ex. împotriva *A. flavus*) prin alterarea membranelor celulare și blocarea sintezei proteice [21]. Mecanismul lor de acțiune se bazează, în principal, pe capacitatea de chelare a ionilor metalici. Prin formarea de complecși, tiosemicarbazonele pot perturba enzime critice, precum ADN giraza și topoizomeraza IV, necesare supraviețuirii microorganismelor. Eficiența acestor compuși depinde direct de structura substituenților atașați. În dezvoltarea terapiilor anticanceroase, proiectarea liganzilor hterociclici cu fragmente piridin-2-il se pune accent pe blocarea „rezervei" de fier (Fe(II)) care devine accesibilă celulei tumorale după ce transferina este procesată. O nouă strategie pentru a perturba homeostazia fierului, esențială pentru creșterea cancerului, în care autorii [22] au creat liganzi speciali care, sub formă de compușii coordinative ai Ga(III), pot „vâna" Fe(II) intracelular mult mai eficient decât abordările statice de până acum. Astfel, studiul redefinește designul medicamentelor prin trei reguli noi: (i) folosirea disocierii dinamice, (ii) utilizarea transmetalării selective prin structuri NNO și (iii) țintirea directă a fierului labil (Fe(II)) rezultat din reducerea endosomală.

Tiosemicarbazonele care conțin fragment piridinic oferă avantajul unei tunele fine a proprietăților electronice prin substituții la nucleul piridinic [22], ceea ce permite cercetătorilor să controleze cu precizie cinetica de disociere a complecșilor. Tiosemicarbazonele pe baza di-2-piridilcetone: tiosemicarbazona (DpT; Fig. 1a); di-2-piridilcetona-4,4-dimetil-3-tiosemicarbazona (Dp44mT; Fig. 1b); au demonstrata o puternică activitate antitumorală in vitro și in vivo, și analogul său biodisponibil oral, di-2-piridilcetona-4-ciclohexil-4-metil-3-tiosemicarbazona (DpC; Fig. 1c), care a avansat în studii clinice de fază I multicentrice; Triapina Triapine® (3-aminopiridin-2-carboxaldehidă tiosemicarbazonă; Fig. 1d) este o tiosemicarbazonă α-N-heterociclică mai veche, care a demonstrat activitate antitumorală și a fost examinată în peste 20 de studii clinice pe oameni. Mai recent, chelatorii cu funcție dublă, și anume hibridul Triapine®-deferasirox [23], au exemplificat potențialul terapeutic al combinației de farmacofori [22].



Mecanismul antimicrobian al tiosemicarbazonelor

Mecanismul antimicrobian al tiosemicarbazonelor este complex și se bazează în principal pe capacitatea lor de a interacționa cu mediul celular al microorganismelor. Iată principalele etape și moduri de acțiune:

1. chelarea ionilor metalici (mecanismul principal)

Tiosemicarbazonele acționează ca liganzi eficienți, formând compușii coordinativi stabili cu ioni unor biometale esențiali (importanța lor este critică, deoarece formează „inima" catalitică a enzimelor), cum ar fi $Fe^{2+/3+}$; Cu^{2+}; Zn^{2+}; etc.

- perturbarea enzimatică: multe enzime bacteriene vitale, precum ADN giraza și topoizomeraza IV (esențiale pentru replicarea ADN-ului), necesită cofactori metalici pentru a funcționa. Tiosemicarbazonele "sechestrează" acești ioni, dezactivând enzimele și blocând diviziunea celulară.
- stresul oxidativ: combinațiile coordinative cu tiosemicarbazonelor pot cataliza generarea de specii reactive de oxigen (ROS), care provoacă daune ireparabile componentelor celulare (proteine, lipide și ADN).

2. distrugerea integrității membranare

În cazul antifungicelor și al unor bacterii, acțiunea are loc la nivelul anvelopei celulare:

- perturbarea membranei: compusul interacționează cu dublul strat lipidic al membranei celulare, crescându-i permeabilitatea. Acest lucru duce la scurgerea conținutului intracelular (ioni, metaboliți), cauzând moartea celulei.

3. Inhibarea sintezei proteinelor

Unele tiosemicarbazone interferă direct cu procesele metabolice fundamentale:

- Prin blocarea unor căi enzimatice specifice, acestea opresc sinteza proteinelor necesare pentru creșterea și repararea celulei bacteriene sau fungice.

Materiale și metode

Sinteza tiosemicarbazonele (1-27) a fost efectuată conform metodelor de sinteză descrise în literatura de specialitate [24][25].

Utilizarea fragmentelor aromatice (figura 2) în structura agenților antimicrobieni, în special în cazul tiosemicarbazonelor, nu este una întâmplătoare, ci se bazează pe principii de farmacocinetică și farmacodinamică bine stabilite.

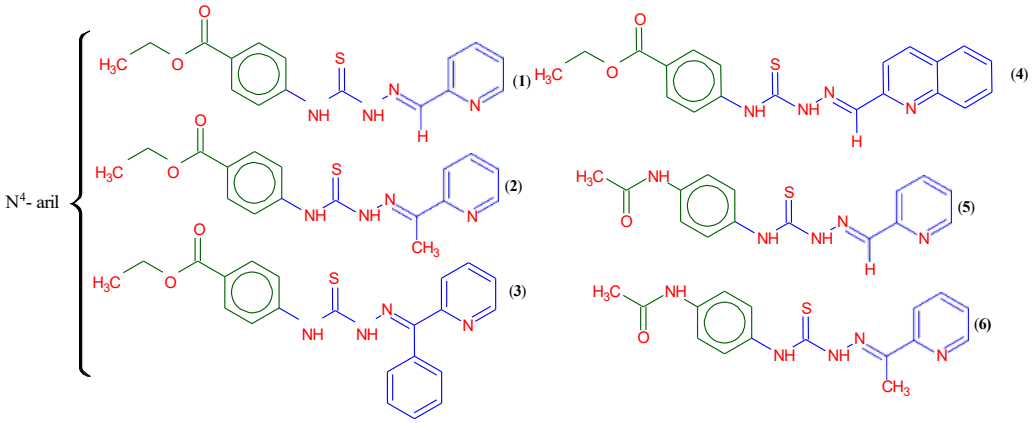


Figura 2. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 1-6, care conțin în poziția N^4 fragmentul aromatic

Argumente privind utilizarea fragmentelor aromatice

Introducerea unui nucleu aromatic în poziția N^4 a tiosemicarbazonelor piridinice aduce beneficii majore:

- Lipofilitate crescută: fragmentele aromatice (cum ar fi fenilul sau derivații săi) sporesc caracterul hidrofob al moleculei. Acest lucru este esențial pentru ca substanța să poată

penetra membranele celulare lipidice ale bacteriilor, în special în cazul bacteriilor Gram-pozitive sau al micobacteriilor (care au un perete celular bogat în acizi micolici).

- Sisteme de electroni π și delocalizare: nucleele aromatice participă la sisteme de conjugare extinse. Aceasta influențează densitatea electronică la atomii de sulf (S) și azot (N) implicați în chelatația ionilor de metale (precum Fe sau Cu), optimizând astfel activitatea biologică a compusului chelatic) format in vivo.
- Interacțiuni de tip π-π stacking: fragmentele aromatice permit moleculei să interacționeze prin forțe Van der Waals și suprapuneri de orbitali π cu țintele biologice (enzime, receptori sau baze azotate din ADN), sporind afinitatea de legare.
- Modularea toxicității și stabilității: substituenții de pe inelul aromatic (ex. grupări amide (II), metil, nitro, halogeni) pot ajusta reactivitatea moleculei, reducând degradarea metabolică rapidă.

În timp ce fragmentele aromatice sporesc conjugarea și interacțiunile de tip π-π, introducerea fragmentelor alifatice (figura 3) și cicloalifatice în poziția N^4 a tiosemicarbazonelor urmărește modularea fină a proprietăților fizico-chimice pentru a depăși barierele biologice specifice ale microorganismelor.

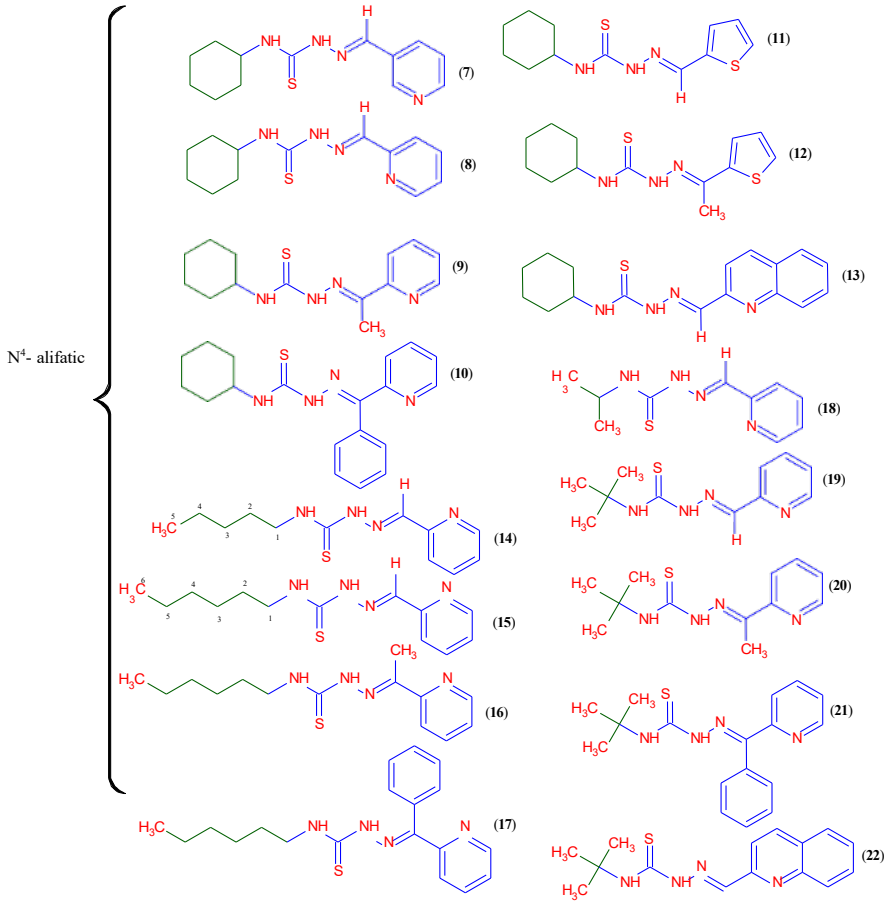


Figura 3. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 7-23, care conțin în poziția N^4 fragmentul alifatic (ciclic sau aciclic)

Argumente pentru utilizarea fragmentelor alifatice și cicloalifatice

1. Modularea solubilității și a coeficientului de partiție (log P): fragmentele alifatice (alchil) permit ajustarea hidrofobiei fără a mări rigiditatea moleculei. Un lanț alifatic flexibil poate facilita inserția moleculei în micro-domeniile hidrofobe ale membranelor celulare bacteriene.

2. Efectul stero combustibil ori voluminozitate, (Bulkiness): grupările cicloalifatice (precum ciclohexilul) ocupă un volum spațial semnificativ. Această aglomerare sterică în apropierea centrului de chelatație (tiolic -SH / tionic >C=S, azometinic >C=N-, sau Npy) poate proteja compusul coordinativ de atacul unor agenți endogeni de dezactivare, mărind stabilitatea metabolică a medicamentului.

3. Flexibilitate conformale: spre deosebire de inelele aromatice rigide, catenele alifatice sunt flexibile. Această libertate de rotație permite moleculei să adopte conformația optimă pentru a se "mula" pe situl activ al unei enzime bacteriene.

4. Absența toxicității specifice aromatice: în anumite cazuri, fragmentele alifatice sunt preferate pentru a evita formarea metaboliților reactivi (precum epoxizii aromatici) care pot induce hepatotoxicitate sau genotoxicitate în organismul gazdă.

Introducerea fragmentelor heterociclice (figura 4) în structura agenților antimicrobieni reprezintă o strategie fundamentală în designul modern de medicamente. În cazul tiosemicarbazonelor, înlocuirea fragmentului aromatic clasic de la azotul terminal (N^4) cu unul heterociclic poate schimba radical profilul farmacologic.

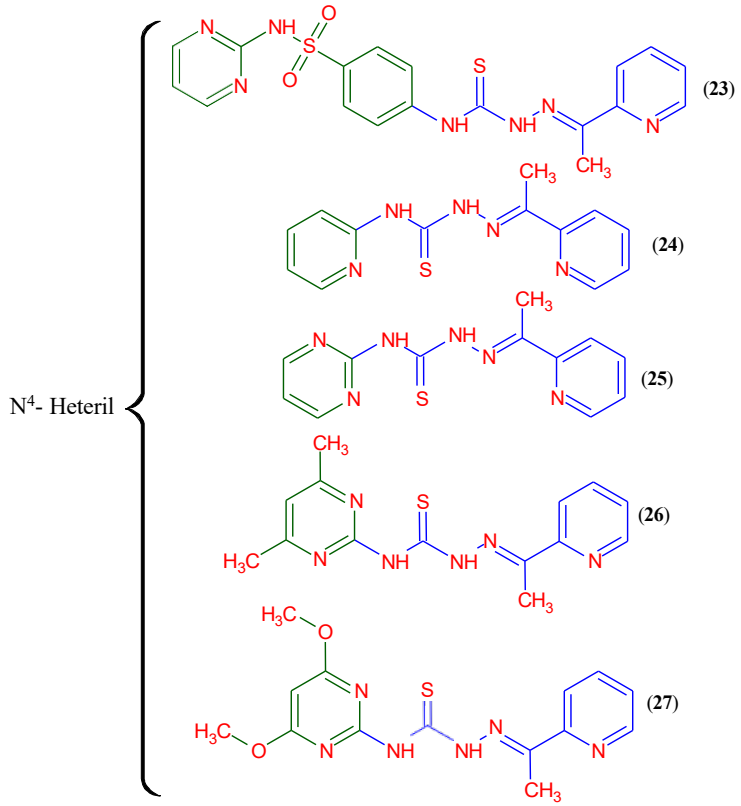


Figura 4. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 23-27, care conțin în poziția N^4 fragmentul heterociclic

Argumente privind utilizarea fragmentelor heterociclice

- Bioizosterism și recunoaștere moleculară: multe biomolecule esențiale (vitamine, baze azotate, enzime) conțin nuclee heterociclice. Introducerea acestora în medicamente permite „păcălirea" sistemelor de transport bacteriene sau o legare mult mai specifică de țintele intracelulare (cum ar fi ADN-ul sau ribozomii).
- Modularea solubilității (lipofilitate vs. hidrofilie): heterociclurile care conțin atomi de azot, oxigen sau sulf pot forma legături de hidrogen cu moleculele de apă, îmbunătățind solubilitatea în mediile biologice, menținând în același timp capacitatea de a traversa membranele celulare.
- Capacitate de coordinare suplimentară: spre deosebire de un inel benzenic inert, un heterociclu (precum piridina sau tiazolul, etc.) posedă atomi cu perechi de electroni neparticipanți. Aceștia pot servi ca centre de coordinare suplimentare pentru ionii de metale 3d, transformând ligandul din bidentat în tridentat sau polidentat, ceea ce crește stabilitatea compusului coordinativ.

Confirmarea spectrală a tiosemicarbazonele 1-27, a fost efectuată prin intermediul celor mai noi tehnici de cercetare de ultimă oră.

Metode de analiză spectrală

Spectroscopie RMN - spectrele de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ^{1}H, ^{13}C au fost înregistrate la temperatura camerei utilizând spectrometrul BRUKER DRX400, precum și tehnici RMN precum DEPT-135, în cadrul Institutului de Chimie a Universități de Stat din Moldova. Deplasările chimice au fost măsurate în ppm față de tetrametilsilan (TMS), ca solvenți utilizați: DMSO-d_6, $(CD_3)_2CO$, $CDCl_3$. Rezultatele obținute au fost procesate folosind programul MestReNova v 16.0.0-39276.

Spectroscopie FT-IR.

Spectrele FTIR au fost înregistrate la temperatura camerei utilizând un spectrometru BRUKER ALPHA, în intervalul de lungimi de undă 4000-400 cm^{-1}, în cadrul laboratorului „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnologie" Institutul de Chimie USM. Rezultatele spectrale au fost interpretate folosind programul OPUS versiunea 7.5.

Difracție de raze X pe monocristal.

Difracția de raze X pe monocristal a fost efectuată pe un difractometru Oxford Diffraction xcalibur-Gemini cu monocromator de grafit echipat cu o sursă de raze X Mo-Kα. Cristalele au fost plasate la 40 mm distanță de detectorul CCD. Analiza a fost efectuată în cadrul Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni", Iași, România.

Analiza elementară.

Pentru compușii studiați, analiza elementară a fost efectuată utilizând analizorul elementar „PERKIN ELMER 2400", un instrument pentru determinarea rapidă a conținutului de carbon, hidrogen, azot și sulf din materialele organice sau compușii de coordonare. Pe baza metodei clasice Pregl-Dumas, probele sunt arse într-un mediu de oxigen, simultan cu gazele de ardere, rezultatele fiind determinate automat. Analizele elementare au fost efectuate de laboratorul BioCIS din Chatenay-Malabry, Franța.

Determinarea punctului de topire.

Proba de substanță, uscată și pulverizată fin în prealabil prin uscarea cristalelor pe o placă de porțelan poros, este introdusă într-un capilar cu un diametru de aproximativ 1 mm, sudată la un capăt. Înălțimea stratului de substanță din capilar trebuie să fie de 4-6 mm. Substanța este introdusă în capilar prin „lovituri" repetate pe o suprafață dură. Punctul de topire este înregistrat pe aparatul Stuart® SMP10, în intervalul de temperatură ambiantă până la 300 °C, cu o rezoluție de 1 °C.

Spectroscopie de masă.

Spectrele de masă prin electropulverizare (ESI-MS) au fost colectate folosind un instrument Q-TOF furnizat de WATERS. Probele au fost solubilizate în apă și acetonitril la o concentrație de 10^{-4} M și introduse în spectrometru prin intermediul unui sistem WATERS ACQUITY UPLC. Analizele au fost efectuate de laboratorul BioCIS din Chatenay-Malabry, Franța.

Analiza prin cromatografie în strat subțire.

Cromatografia în strat subțire, numită și cromatografie de partiție, se bazează pe diferențele dintre coeficienții de partiție ai substanțelor care sunt separate. Analiza a fost efectuată utilizând plăci cromatografice (Macherey-Nagel, silicagel 60 de 0,2 mm cu indicator fluorescent UV254).

Metodica studieri activități antimicrobiene.

Proprietățile antimicrobine ale compușilor (1-27) au fost cercetate „*in vitro*" pe tulpini de laborator *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Escherichia coli* ATCC 25922. Activitatea s-a determinat în mediul nutritiv lichid Sabouroud (pH=6.8). Concentrațiile inhibitorii minime (MIC), concentrațiile bactericide (MBC), toate exprimate în μg/mL, au fost stabilite utilizând tehnica de microdiluție în bulion. Compușii au fost inițial dizolvați în DMSO pentru a crea soluții stoc de 10 mg/mL, iar diluțiile ulterioare au fost efectuate utilizând bulion peptonat 2%. Nitrofuralul, Ciprofloxacina, Netilmicina au servit ca agenți antibacterieni de referință. Datele experimentale obţinute, privind studierea proprietăţilor antimirobiene, sunt prezentate în Tabelul 1.

Rezulte și discuți

Pentru compușii noi sintetizați, din clasa tiosemicarbazonelor, determinarea CMI și CMB este esențială pentru a demonstra superioritatea față de antibioticele clasice la care s-a instalat rezistența (RAM). De exemplu, dacă un compus are o valoare CMI foarte mică împotriva tulpinii MRSA, acesta este considerat un candidat promițător pentru dezvoltarea preclinică.

Activitatea antimicrobiană

Analiza datelor (Tabelul 1) privind concentrația minimă inhibitorie (CMI) și concentrația minimă bactericidă (CMB) relevă o dependență pronunțată a activității antimicrobiene de natura substituentului grefat la atomul de azot N^4 al tiosemicarbazonelor investigate (1-27). Se observă că derivații din seria N^4-alifatică prezintă cele mai remarcabile proprietăți inhibitorii, în special împotriva bacteriei Gram-pozitive *S. aureus*. Compușii 8 și 19 s-au dovedit a fi cei mai potenți, cu valori CMI de 0,9 μg/mL și CMB de 1,9 μg/mL. În cazul bacteriei Gram-negative *E. coli*, compusul 8 își menține eficacitatea ridicată (CMI = 0,4 μg/mL), sugerând un spectru larg de acțiune. Această activitate sporită a derivaților alifatici poate fi corelată cu o lipofilitate optimă, care facilitează penetrarea peretelui celular bacterian și interacțiunea eficientă cu țintele intracelulare.

În contrast, compușii care conțin fragmente N^4-aromatice sau N^4-heterociclice au manifestat, în general, o activitate biologică (Tabelul 1) mai modestă sau chiar absentă la concentrațiile testate. În seria aromatică, doar compusul 5 a prezentat o activitate semnificativă față de *S. aureus* (CMI = 15,6 μg/mL), în timp ce ceilalți derivați (ex. 2, 6) au necesitat concentrații mult mai mari (250-500 μg/mL) pentru a induce un efect inhibitor. Similar, derivații heterociclici (23, 24) au prezentat valori ale CMI de 500 μg/mL, indicând o eficiență redusă. Raportul CMB/CMI < 2 observat pentru majoritatea compușilor activi (precum 8, 14, 15) demonstrează un mecanism de acțiune predominant bactericid, ceea ce conferă acestor substanțe un potențial valoros în dezvoltarea unor noi agenți chimioterapeutici capabili să combată rezistența antimicrobiană.

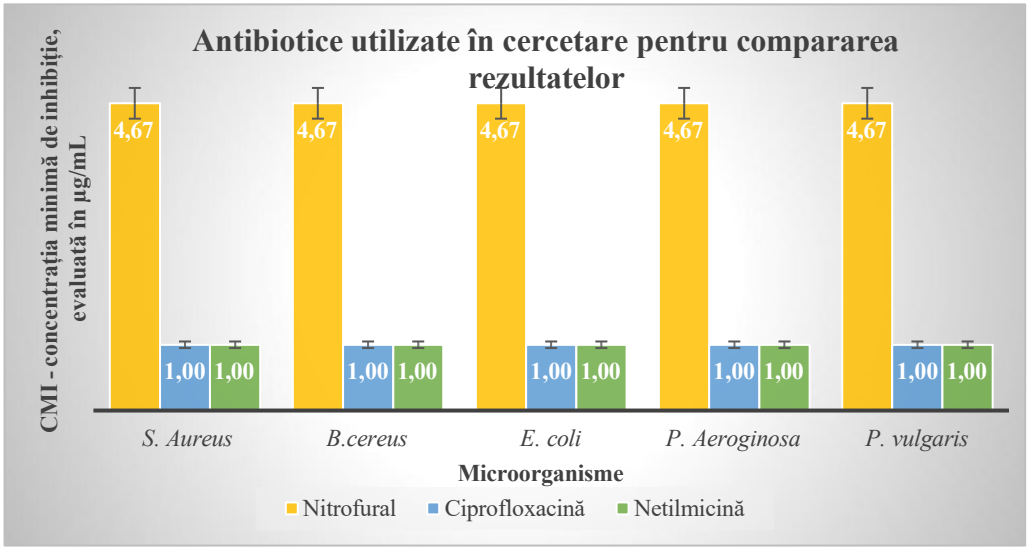
Tabelul 1. Rezultatele activității antimicrobiene ale compușilor 1-27 sintetizați

Natura substituentului la atomul de azot 4	Codul	*CMI, μg/mL*			
		S. aureus		*E. coli*	
		CMI	CMB	CMI	CMB
N^4-aromatic	1	-	-	-	-
	2	500	500	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	15.6	31.3	-	-
	6	250	500	-	-
N^4- alifatic	7	-	-	-	-
	8	0.9	1.9	0.4	0.9
	9	3.9	7.8	3.9	3.9
	10	-	-	-	-
	11	-	-	-	-
	12	-	-	-	-
	13	-	-	-	-
	14	1.9	3.9	1.9	1.9
	15	1.9	1.9	15.6	15.6
	16	3,9	3,9	62.5	125
	17	-	-	-	-
	18	7.8	15.6	7.8	7.8
	19	0.9	1.9	15.6	15.6
	20	-	-	-	-
	21	7.8	7.8	-	-
	22	-	-	-	-
N^4-hterociclic	23	500	-	-	-
	24	500	500	500	500
	25	-	-	-	-
	26	-	-	-	-
	27	-	-	-	-

Notă: S. aureus – Staphylococcus aureus ATCC 25923; E. coli - Escherichia coli ATCC 25922 CMI - (concentrația minimă inhibitorie), reprezintă cea mai mică concentrație a unui antibiotic care inhibă creșterea vizibilă a unui microorganism după o perioadă de incubare (de obicei 18-24 ore). CMB - (concentrația minimă bactericidă), reprezintă cea mai mică concentrație a unui agent antimicrobian care determină moartea a 99,9% din populația bacteriană inițială. "-" – lipsa activității substanței în concentrație de 0,5 mg/mL

Raportul CMB / CMI (≤ 4 – se observă o acțiune bactericidă - substanța omoară bacteriile la o concentrație foarte apropiată de cea la care doar le inhibă, în cazul când raportul CMB / CMI este > 4 - se observă o acțiune bacteriostatică - este necesară o doză mult mai mare pentru a omorî bacteriile decât pentru a le opri creșterea).

În studiile de cercetare a noilor compuși antimicrobieni, utilizarea substanțelor de comparație (martori (figura 5) sau controale pozitive) este obligatorie pentru a valida eficacitatea noilor molecule sintetizate. Acestea servesc drept etalon pentru a determina dacă un compus nou este mai potent, egal sau mai slab decât tratamentele standard actuale.



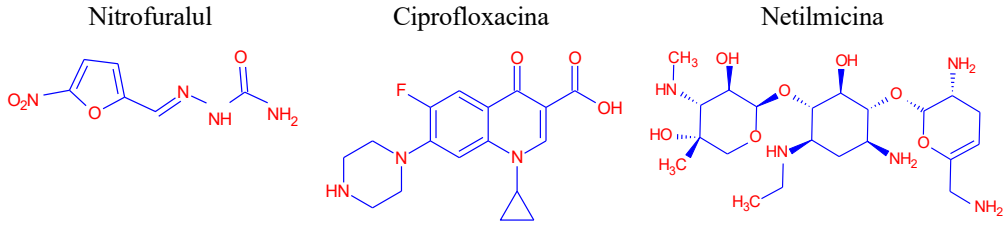


Figura 5. Substanțe de comparație utilizate la inhibarea dezvoltării sau distrugerea bacteriilor

Nitrofuralul (cunoscut și sub numele de nitrofurazonă) este un agent antibacterian topic cu spectru larg, utilizat pentru prevenirea și tratarea infecțiilor cutanate, a arsurilor și a rănilor infectate. Acționează eficient împotriva bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative. Ciprofloxacina este un antibiotic puternic din clasa fluorochinolonelor de generație nouă, utilizat pentru a trata o gamă largă de infecții bacteriene. Netilmicina este un antibiotic din clasa aminoglicozidelor, derivat de sisomicină, utilizat pentru tratarea infecțiilor bacteriene.

Concluzie

Studiul relevă o corelație directă între structura chimică a substituenților din poziția N4 (alchil, aril sau heteril) și potențialul antimicrobian, evidențiind faptul că modificarea acestui fragment este decisivă pentru eficacitatea compușilor.

Tiosemicarbazonele din seria N^4-alchil (alifatică) prezintă cele mai bune proprietăți inhibitorii, remarcându-se compusul 8 prin activitate intensă și spectru larg de acțiune atât asupra bacteriilor Gram-pozitive (*S. aureus*), cât și a celor Gram-negative (*E. coli*).

Majoritatea compușilor activi manifestă un mecanism de acțiune predominant bactericid (confirmat de raportul CMB/CMI < 2), ceea ce îi plasează ca agenți promițători în dezvoltarea unor noi strategii chimioterapeutice pentru combaterea rezistenței antimicrobiene.

Referințe:

1. E. VEG, K. HASHMI, M. I. AHMAD, S. JOSHI, A. R. KHAN, AND T. KHAN, "Some Biological Applications and Mechanistic Insights of Benzaldehyde-Substituted Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes: A Review," Nat. Sci., vol. 5, no. 1–2, 2025, doi: 10.1002/ntls.70005.

2. R. ROSSI AND M. CIOFALO, “An Updated Review on the Synthesis and Antibacterial Activity of Molecular Hybrids and Conjugates Bearing Imidazole Moiety,” Molecules, vol. 25, no. 21, 2020, doi: 10.3390/molecules25215133.
3. M. WANG ET AL., “Mechanoredox-Enabled Isothiocyanation of Primary Amines Using Piezoelectric Material as the Redox Catalyst,” J. Org. Chem., vol. 90, no. 7, pp. 2816–2821, Feb. 2025, doi: 10.1021/acs.joc.4c02526.
4. M. VARMA et al., “Novel alkyl-substituted 4-methoxy benzaldehyde thiosemicarbazones: Multi-target directed ligands for the treatment of Alzheimer’s disease,” Eur. J. Pharmacol., vol. 957, no. January, p. 176028, 2023, doi: 10.1016/j.ejphar.2023.176028.
5. G. L. SILVA SOUSA et al., “Discovery of novel thiosemicarbazone-acridine targeting butyrylcholinesterase with antioxidant, metal complexing and neuroprotector abilities as potential treatment of Alzheimer’s disease: In vitro, in vivo, and in silico studies,” Eur. J. Med. Chem., vol. 281, no. July 2024, 2025, doi: 10.1016/j.ejmech.2024.117030.
6. Y. DEMIR, H. ŞENOL, O. ULUÇAY, Ş. ATEŞOĞLU, AND F. S. TOKALI, “Morpholine-modified thiosemicarbazones and thiazolidin-4-ones against Alzheimer’s key enzymes: From synthesis to inhibition,” Comput. Biol. Chem., vol. 120, no. August 2025, 2026, doi: 10.1016/j.compbiolchem.2025.108683.
7. W. SHOUKAT et al., “Design, synthesis, characterization and biological screening of novel thiosemicarbazones and their derivatives with potent antibacterial and antidiabetic activities,” J. Mol. Struct., vol. 1320, no. August 2024, 2025, doi: 10.1016/j.molstruc.2024.139614.
8. F. JAN et al., “Thiosemicarbazone derivatives as potent antidiabetic agents: Synthesis, in vitro, molecular docking and DFT investigations,” J. Mol. Struct., vol. 1311, no. March, p. 138459, 2024, doi: 10.1016/j.molstruc.2024.138459.
9. L. V. KUMAR, S. SUNITHA, AND G. RATHIKA NATH, “Antioxidant, antidiabetic and anticancer studies of nickel complex of Vanillin-4-Methyl-4-Phenyl-3-Thiosemicarbazone,” Mater. Today Proc., vol. 41, pp. 669–675, 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2020.05.376.
10. Y. S. XU et al., “Hydroxamate and thiosemicarbazone: Two highly promising scaffolds for the development of SARS-CoV-2 antivirals,” Bioorg. Chem., vol. 124, no. March, p. 105799, 2022, doi: 10.1016/j.bioorg.2022.105799.
11. S. R. MOUJE, P. U. GAWANDE, AND M. V KHEDKAR, “Synthesis, characterization and anticancer activity studies of manganese(II) complexes derived from chitosan thiosemicarbazone vanillin Schiff base,” Carbohydr. Res., vol. 565, no. April, p. 109936, Jul. 2026, doi: 10.1016/j.carres.2026.109936.
12. Ö. SOYLU-ETER, L. PERSOONS, L. NAESENS, AND N. KARALI, “From Synthesis to Efficacy: Synthesis, Structural Analysis, and Antiviral Activity of 5-(Trifluoromethoxy)-1H-indole-2,3-dione 3-Thiosemicarbazones,” Chem. Biol. Drug Des., vol. 107, no. 2, pp. 1–10, 2026, doi: 10.1111/cbdd.70259.
13. [H. A. BALDONI et al., “Integrated In Vitro and In Silico Profiling of Piperazinyl Thiosemicarbazone Derivatives against Trypanosoma cruzi: Stage-Specific Activity and Enzyme Inhibition,” Pharmaceuticals, vol. 19, no. 1, p. 182, 2026, doi: 10.3390/ph19010182.
14. M. SCACCAGLIA et al., “Designing antibacterial Bi(III)-, Ga(III)- and Sb(III)-Thiosemicarbazone complexes to enhance lead compound development,” J. Inorg. Biochem., vol. 274, no. October 2025, p. 113092, 2026, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2025.113092.
15. M. A. M. ALWI et al., “Structural elucidation of a novel dual-substituted thiosemicarbazone scaffold as an efficient copper corrosion inhibitor: Insights from RSM, XPS, and DFT–Fukui analyses,” J. Mol. Struct., vol. 1356, no. October 2025, p. 145021, 2026, doi: 10.1016/j.molstruc.2025.145021.
16. O. GARBUZ, E. CEBAN, D. ISTRATI, N. RAILEAN, I. TODERAS, AND A. GULEA, “Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties,” Molecules, vol. 30, no. 9, 2025, doi: 10.3390/molecules30092077.
17. A. K. MUKERJEE AND R. ASHARE, “Isothiocyanates in the chemistry of heterocycles,” Chem. Rev., vol. 91, no. 1, pp. 1–24, Jan. 1991, doi: 10.1021/cr00001a001.
18. N. SUN et al., “A general and facile one-pot process of isothiocyanates from amines under aqueous conditions,” Beilstein J. Org. Chem., vol. 8, pp. 61–70, Jan. 2012, doi: 10.3762/bjoc.8.6.

19. I. GRAUR et al., “Synthesis and Characterization of Copper(II) and Nickel(II) Complexes with 3-(Morpholin-4-yl)propane-2,3-dione 4-Allylthiosemicarbazone Exploring the Antibacterial, Antifungal and Antiradical Properties,” Molecules, vol. 29, no. 16, p. 3903, Aug. 2024, doi: 10.3390/molecules29163903.
20. A. FUIOR et al., “Synthesis, Structures, and Solution Studies of a New Class of [Mo 2 O 2 S 2]-Based Thiosemicarbazone Coordination Complexes,” ACS Omega, vol. 7, no. 19, pp. 16547–16560, May 2022, doi: 10.1021/acsomega.2c00705.
21. H. T. K. VAN AND N. D. THANH, “Maltose-Conjugated Thiosemicarbazones from Substituted Benzaldehydes: Synthesis and Inhibitory Activity against Gram-(+) and Gram-(−) Bacteria,” ACS Med. Chem. Lett., vol. 17, no. 3, pp. 670–678, 2026, doi: 10.1021/acsmedchemlett.5c00700.
22. M. DHARMASIVAM et al., “Implementing the design cues of dissociation dynamics and transmetalation in gallium(III) complexes to promote the anti-proliferative activity of ligands targeting intracellular iron(II) trafficking,” Chem. Sci., vol. 17, no. 13, pp. 6546–6563, 2026, doi: 10.1039/D5SC06084B.
23. I. RODRÍGUEZ et al., “DefNEtTrp: An Iron Dual Chelator Approach for Anticancer Application,” JACS Au, vol. 4, no. 12, pp. 4799–4808, Dec. 2024, doi: 10.1021/jacsau.4c00774.
24. J.-Q. LI et al., “Diaryl-substituted thiosemicarbazone: A potent scaffold for the development of New Delhi metallo-β-lactamase-1 inhibitors,” Bioorg. Chem., vol. 107, no. December 2020, p. 104576, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104576.
25. CAI SUI XIONG; NGUYEN BAO NGOC; DREWE JOHN; REDDY P. SANJEEVA; KASIBHATLA SHAILAJA; PERVIN AZRA, “4-Substituted-1- (arylmethylidene) thiosemicarbazide, 4-substituted-1- (arylcarbonyl) thiosemicarbazide and analogs as activators of caspases and inducers of apoptosis and the use thereof,” US 2003/0045581 A1, 2003 [Online]. Available: https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/023134296/publication/US2003045581A1?q=pn%3DUS2003045581

Date despre autori:



Roman RUSNAC, doctor în ştiinţe chimice,
cercetător științific superior/lector universitar
Laboratorul Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chişinău, Republica Moldova
e-mail: roman.rusnac@usm.md
ORCID: 0000-0002-5713-5251



Greta BALAN, doctor habilitat în ştiinţe medicale, conferenţiar universitar, Șef Disciplina de microbiologie şi imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemiţanu” Chişinău, Republica Moldova
E-mail: greta.balan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-3704-3584



Ionuț-Iulian LUNGU, doctor în științe medicale, domeniul farmacie. Departamentul de Chimie Generală și Anorganică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România
e-mail: ionut-iulian.lungu@umfiasi.ro
ORCID: 0009-0005-4803-3746



Aurelian GULEA, doctor habilitat în ştiinţe chimice, profesor universitar, academician, Șef de laborator. Laboratorul Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chişinău, Republica Moldova
E-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959