

**STUDII RMN ALE 1-(2-OXOPROPIL)SPIRO[[1,3]
INDOLIN-3,2'-[1,3]DIOXOLAN-2-ONEI
CU PROPRIETĂȚI ANXIOLITICE**

**NMR STUDIES OF 1-(2-OXOPROPYL)SPIRO[[1,3]INDOLINE-3,2'-[1,3]
DIOXOLAN-2-ONE WITH ANXIOLYTIC PROPERTIES**

CZU: 543.429.23:547.233.1:615.214.22

<https://doi.org/10.59295/spd2025e.88>

Elena GORINCIOI

ORCID: 0000-0002-5087-2777

E-mail: elena.gorincioi@sti.usm.md

Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Tatiana ȘTEFANET

ORCID: 0000-0003-2060-8382

E-mail: tatiana.stefanet@usmf.md

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,
Chișinău, Republica Moldova*

Eugenia STÎNGACI

ORCID: 0000-0003-0731-3424

E-mail: eugenia.stingaci@sti.usm.md

Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Vladimir VALICA

ORCID: 0000-0002-1068-5504

E-mail: vladimir.valica@usmf.md

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,
Chișinău, Republica Moldova*

Fliur MACAEV

ORCID: 0000-0002-3094-1990

E-mail: fliur.macaev@sti.usm.md

Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary. The current communication reports on the use of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy for the NMR characterization of 1-(2-oxopropyl)spiro[[1,3]indoline-3,2'-[1,3]dioxolan-2-one, for which anxiolytic and antidepressant effects have been found in preliminary tests. The combination of 1D and 2D homo- and heterocorrelation $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR experiments provided the unambiguous set of assignments. Studies regarding the properties of the title com-

pound and its congeners are of great interest, as these compounds may be advanced for further biological testing and preclinical development, or used as possible lead compounds for the future design of Monoamine oxidase inhibitors.

Keywords: antidepressant, anxiolytic, isatine derivatives, NMR.

INTRODUCERE

Actualmente, spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (RMN) este recunoscută ca fiind unul dintre instrumentele superioare pentru controlul rapid și precis al calității principiilor active din medicamente [1, 2]. În particular, aceasta își găsește numeroase aplicații în industria farmaceutică legate de cuantificarea și aprecierea purității ingredientelor active medicamentoase, produselor medicamentoase, precum și stabilirea identității impurităților și a conținutului acestora.

Conform datelor recente disponibile cu referire la anul 2021, oferite de Institutul pentru Indicatori și Evaluare a Sănătății, aproximativ 56.3 de milioane de oameni din lume suferă de depresie [3]. În prezent sunt explorate unele abordări inovaționale, bazate pe idei creative pentru descoperirea eventualelor soluții în tratamentul depresiei, de ex., prin recapitularea efectului antidepressiv și a mecanismului de acțiune a ingredientelor active atât din alimentele funcționale, precum și din medicamente, prin combinarea efectelor terapeutice ale medicamentelor cu valoarea nutritivă a alimentelor (“medicine food homology”-eng.) [4]. De rind cu acestea, o vastă utilizare au medicamentele antidepressive, eficacitatea extremă a căror a fost probată de timp.

Flavoenzima monoaminooxidaza (MAO), cu izoformele sale MAO-A și MAO-B, este o țintă bine-cunoscută pentru medicamentele antidepressive și neuroprotectoare, prin funcțiile – cheie în catabolismul neuroaminelor din sistemul nervos central și periferic [5]. În speță, o eficiență sporită în tratamentul maladiilor neuropsihiatrice a fost demonstrată în cazurile utilizării inhibitorilor acestui ferment (IMAO) [6]. Studiul structurii monoaminooxidazei B mitocondriale umane legată cu inhibitori: ireversibil (**1**) și reversibili (**2** și **3**) pe baza analizei Roentghen a permis examinarea detaliată a centrului activ al enzimei, formând o bază moleculară solidă pentru proiectarea noilor inhibitori specifici reversibili MAO-B umani [7]. Aceste investigații au o certă relevanță, compusul **2** fiind un contaminant găsit în materialele plastice din polistiren, în timp ce 1*H*-indol-2,3-diona (isatina) **3** este un IMAO-B uman redutabil (IC_{50} 3 μ M), de natură endogenă, fiind responsabilă pentru sporirea nivelului de dopamină în creier [8]. Profilul polifarmacologic al isatinei în chimia medicinală a creat premise benefice pentru studii vizând analogii structurali isatinici, în particular, studii de relație structură-activitate (SAR), care accelerează ideile pentru proiectarea și dezvoltarea unei noi clase de inhibitori MAO pentru bolile neurodegenerative [9, 10].

În continuarea studiilor noastre axate pe compușii ce pot exprima efecte accentuate și selective de inhibare pentru MAO-B [11, 12], prezentăm aici caracterizarea completă ¹H și ¹³C RMN pentru 1-(2-oxopropil)spiro[[1,3]indolin-3,2'-[1,3]dioxolan-2-ona **4**, care a demonstrat proprietăți anxiolitice și antidepressante în testele biologice preliminare.

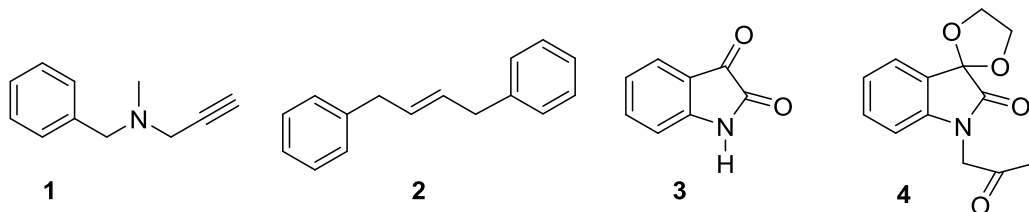


Figura 1. Inhibitori ai MAO-B: ireversibil (pargilina **1**) și reversibili (1,4-difenil-2-butenă **2** și isatina **3**) [7] și structura 1-(2-oxopropil)spiro[[1,3]indolin-3,2'-[1,3]dioxolan-2-onei **4**

Materialul propus poate oferi numeroase beneficii educaționale în predarea și învățarea chimiei, în special pentru studenții avansați de la programele de masterat în chimie organică/bioorganică, pentru care este stringentă necesitatea manipulării datelor RMN obținute în urma achiziționării spectrelor RMN 1D și 2D pe nucleele ^1H și ^{13}C ale unui compus pur.

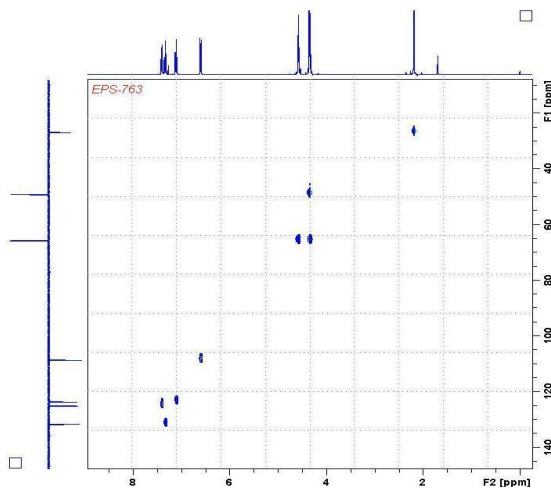
MATERIAL ȘI METODĂ

Sinteza derivatului isatinic **4** a fost realizată în conformitate cu metoda recent descrisă [13]. În lucrare este utilizat sistemul IUPAC de numerotare al atomilor [14]. Spectrele RMN au fost înregistrate pe un spectrometru Bruker Avance 400 echipat cu o sondă inversă și accesorii cu gradient z, funcționând la un câmp magnetic constant de 9.4 T. Proba a fost analizată într-un tub de 5 mm la 298 K în soluție de cloroformul deuterat (CDCl_3). Deplasările chimice (δ) sunt raportate în părți per milion (ppm) și se referă la picul solventului rezidual nedeuterat (7.26 ppm pentru ^1H și 77.0 ppm pentru ^{13}C). Experimentele RMN 1D (^1H , ^{13}C și DEPT-135) și 2D homo- ($^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY) și heteronucleare ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ gHSQC și $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC) au fost efectuate prin secvențe standard de impulsuri. Constanta de interacțiune spin-spin (J) este raportată în Hertz (Hz). Spectrele RMN au fost procesate și analizate utilizând software-ul TopSpin 4.0.7 (Bruker).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Analiza datelor spectrale ^1H și ^{13}C RMN confirmă pe deplin structura compusului **4**. Atribuirea semnalelor caracteristice pentru nucleele ^1H și ^{13}C în spectrele RMN ale compusului **4** a fost efectuată pe baza experimentelor 1D RMN (^1H , DEPT-135 și ^{13}C) și 2D RMN ($^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC și $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC). Spectrul ^1H RMN al compusului **4** conține semnalele caracteristice pentru toți cei treisprezece protoni prezenți în structura moleculară a compusului **1**. Grupa metil a fragmentului 2-oxopropilic este izolată și apare în spectrul protonic la τ^m 2.19 ppm sub formă de singlet (Figura 2). Multipletele grupelor metilen ale heterociclului dioxolanic se găsesc în spectru în câmp mai slab, la τ^m 4.33 și 4.57 ppm, respectiv.

Singletul grupei metilen aparținând unității oxopropilice la δ 4.35 ppm este suprapus pe semnalul multiplu sus-menționat la δ 4.33 ppm, ceea ce este confirmat atât de intensitatea relativă a acestui semnal, măsurată prin arie, care indică patru nuclee ^1H (Figura 2), cât și de cross-peak-urile corespunzătoare în spectrul $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC: 4.33/65.9 și 4.35/49.2 (Figura 3).



Zona aromatică a spectrului ^1H RMN conține semnalele tuturor celor patru protoni aromatici, magnetic neechivalenți, cu deplasări chimice la δ 6.59 ppm, 7.09 ppm, 7.31

ppm și 7.40 ppm (Figura 2). Protonul H-7 apare în spectru la δ 6.59 ppm ca dublet cu constanta de cuplare 7.9 Hz, datorită cuplării cu H-6; H-6 apare la δ 7.32 ppm ca triplet din cauza suprapunerii celor doi dubleți, cu constanta de cuplare 7.8 Hz, datorită cuplării cu H-7, respectiv H-5. La fel, H-5 este un triplet la δ 7.10 ppm cu constanta de cuplare 7.8 Hz, datorită cuplării egale cu H-6 și H-4, iar H-4 este dublet la δ 7.40 ppm cu constanta de cuplare 7.4 Hz, datorită cuplării cu H-6. În spectrul ^1H este atestată și scindarea suplimentară a semnalelor protonilor aromatici, aceasta datorându-se unor cuplări la distanță a protonilor *meta*-, cum ar fi H-4 și H-6, H-5 și H-7, care pot interveni în sisteme aromatice, având valori până la 3 Hz [15].

Spectrul 2D de homocorelare $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY RMN al compusului **4** conține două seturi de cross-peak-uri caracteristice, ce confirmă fără echivoc cuplarea protonilor metilenici dioxolanici și respectiv, H-4/H-5/H-6/H-7 aromatici (Figura 4).

Pentru atribuirea completă a rezonanțelor nucleelor ^{13}C au fost analizate spectrele 1D RMN (^{13}C și DEPT-135) și 2D RMN ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC și $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC). Astfel, spectrul ^{13}C RMN conține 12 semnale care identifică diferitele tipuri de nuclee ^{13}C prezente în structura moleculară a compusului **4**. Semnalul unic la δ 65.9 ppm caracterizează două nuclee ^{13}C magnetic echivalente aparținând celor două grupe metilenice ale heterociclului dioxolanc, ceea ce este demonstrat prin cross-peak-urile la δ 4.33/65.9 ppm și δ 4.57/65.9 ppm în spectrul $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC RMN (Figura 3). Examinarea comparativă a spectrelor ^{13}C și DEPT-135 RMN a permis elucidarea exactă a celor cinci rezonanțe caracteristice nucleelor ^{13}C , aparținând atomilor de carbon cuaternari, la δ 102.1, 123.8, 143.4, 173.3 și 201.7 ppm (Figurile 5 și 6). Dintre acestea, semnalul nucleului ^{13}C la δ 102.1 ppm a fost atribuit atomului C-3, valoarea dată fiind tipică pentru atomi de carbon ketalici sp^3 -hibridizați [16]. Corectitudinea acestei atribuii este demonstrată în mod suplimentar prin heterocorelările stabilite pentru acest nucleu de carbon cu protonii dioxolanici, la δ 4.33/102.1 ppm și δ 4.57/102.1 ppm în spectrul $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC (Figura 7).

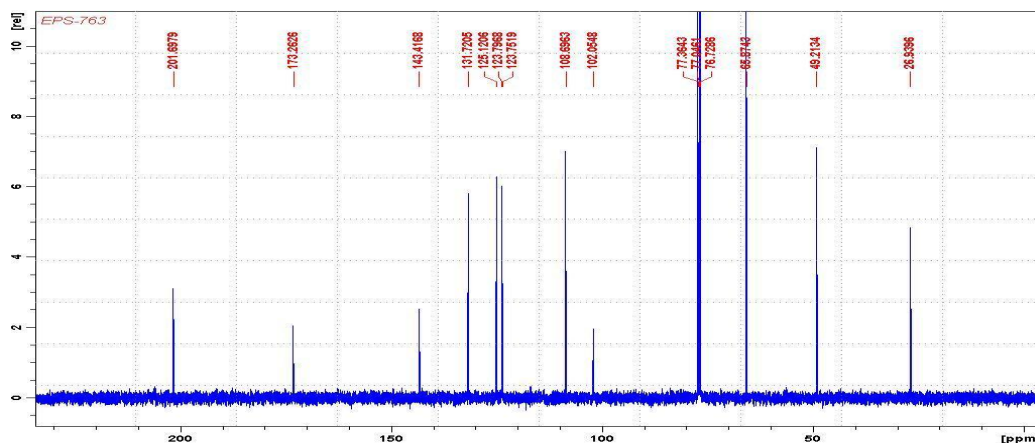


Figura 5. Spectrul ^{13}C RMN al compusului **4**

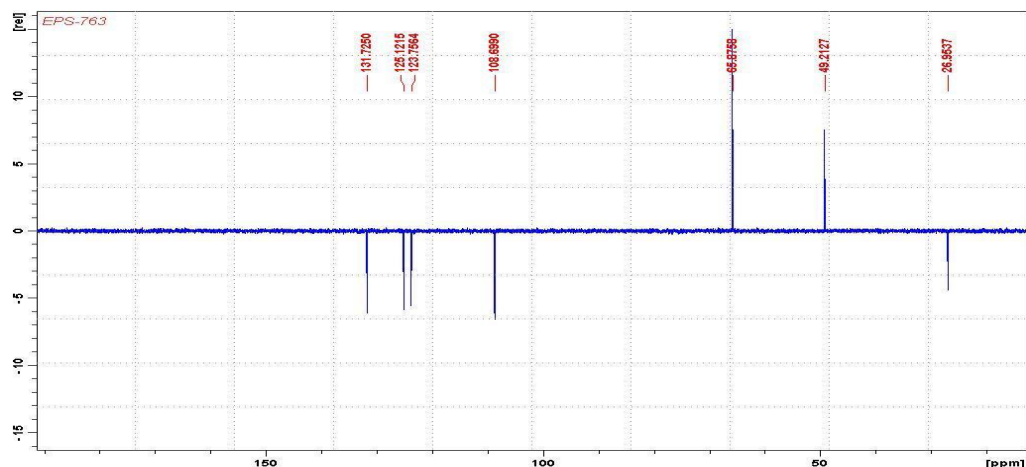


Figura 6. Spectrul DEPT-135 RMN al compusului 4

Elucidarea justă a rezonanțelor nucleelor ^{13}C pentru atomii C-5 ($^{\text{TM}}$ 123.8 ppm) și C-8 ($^{\text{TM}}$ 143.4 ppm) a fost posibilă de asemenea, doar cu utilizarea datelor spectrului $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC RMN. În particular, în calitate de dovezi elocvente privind atribuirea semnelor, au servit cross-peak-urile la $^{\text{TM}}$ 6.59/123.8 ppm și $^{\text{TM}}$ 7.40/143.4 ppm (Figura 7). Alte corelații $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC RMN în structura compusului 4, care au fost importante pentru atribuirea exactă a semnalelor nucleelor ^1H și ^{13}C , sunt prezentate în Figura 7. Rezonanța nucleului ^{13}C pentru atomul C-2 se află în spectrul ^{13}C RMN în regiunea tipică carbonilului amidic, având valoarea $^{\text{TM}}$ 173.3 ppm, iar carbonilul unității 2-oxo-propilice se găsește în regiunea tipică cetonelor, caracterizând nucleul ^{13}C din structura compusului 4, cu deplasarea chimică în campul cel mai slab, la $^{\text{TM}}$ 201.7 ppm.

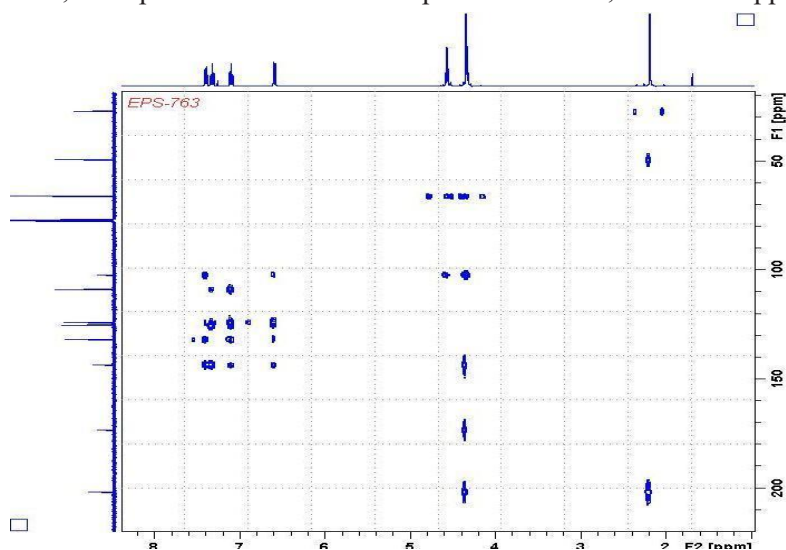


Figura 7. Spectrul $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC RMN al compusului 4

Astfel, caracteristicile spectrale RMN pentru 1-(2-oxopropil)spiro[[1,3]indolin-3,2'-[1,3]dioxolan-2-ona **4** sunt următoarele: Spectrul ^1H RMN: (400.13 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (d, $J=7,4\text{Hz}$, 1H, H-4), 7.32 (td, $J=7,8, 1,3\text{Hz}$, 1H, H-6), 7.10 (td, $J=7,7, 0,8\text{Hz}$, 1H, H-5), 6.59 (d, $J=7,9\text{Hz}$, 1H, H-7), 4.63 – 4.50 (m, 2H, CH_2CH_2), 4.35 (s, 2H, NCH_2), 4.34 – 4.30 (m, 2H, CH_2CH_2), 2.19 (s, 3H, Me).

Spectrul ^{13}C RMN: (100.61 MHz, CDCl_3) δ 201.7 (C=O), 173.2 (N-C=O), 143.4 (C-8), 131.7 (C-4), 125.1 (C-6), 123.8 (C-5), 123.7 (C-9), 108.7 (C-7), 102.0 (C-3), 65.8 ($(\text{CH}_2)_2$), 49.2 (NCH_2), 26.9 (Me).

CONCLUZII

În concluzie, au fost descrise datele analitice spectrale ^1H și ^{13}C RMN, care identifică structura 1-(2-oxopropil)spiro[[1,3]indolin-3,2'-[1,3]dioxolan-2-unei - compus obținut prin sinteză cu potențial de utilizare ca antidepresant. Combinarea tehnicilor experimentale 1D și 2D RMN $^1\text{H}/^1\text{H}$ și $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ a permis atribuirea fără echivoc a semnalelor pentru toate nucleele de ^1H și ^{13}C . Exemplul oferit aici de caracterizare structurală a unui compus bioactiv sintetic se concentrează pe utilizarea RMN ca una dintre tehnicile spectrale indispensabile pentru studenții avansați în chimie organică. Lucrarea demonstrează, că spectroscopia RMN poate rezolva cu succes diverse probleme de elucidare a structurii, inclusiv caracterizarea structurală amănunțită pe baza interpretării corecte a datelor RMN 1D și 2D. În același timp, „soluționarea puzzle-ului” structurii unei substanțe, ilustrat aici, poate fi integrat în mod avantajos într-un curs practic de chimie organică și medicinală/farmaceutică, prin combinarea, de exemplu, a lucrărilor experimentale privind sinteza compușilor cu proprietăți biologice importante și identificarea structurii acestora. Interesul pentru o abordare de acest fel ar fi susținut atât de noile implicații chimice, de ex., pentru proiectarea medicamentelor neuroprotectoare, cât și de contribuția părții de analiză spectroscopică, completându-se în mod optim programa de studiu.

REFERINȚE:

1. KHALIL, A. et al. *Nuclear magnetic resonance spectroscopy for quantitative analysis: A review for its application in the chemical, pharmaceutical and medicinal domains*. Crit. Rev. Anal. Chem., 2023, vol. 53, p. 997-1011.
2. HOLZGRABE, U. et al. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 2008, 528 p.
3. Institute for Health Metrics and Evaluation. Depressive disorders. Disponibil: <https://www.healthdata.org/research-analysis/diseases-injuries-risks/factsheets/2021-depressive-disorders-level-3-disease> [Accesat 21.06.2025].
4. LV, Zh. et. al. *Development, basic information, classifications, pharmacological activities, and underlying mechanisms of medicine food homology: a review*. J. Funct. Foods, 2024, vol. 122, p. 106552.

5. NAOI, M. et al. *Type A and B monoamine oxidase in age-related neurodegenerative disorders: their distinct roles in neuronal death and survival*. Curr. Top. Med. Chem., 2012, vol. 12, p. 2177-2188.
6. TIPTON, K. F. et al. *Monoamine oxidases: certainties and uncertainties*. Curr. Med. Chem. 2004, vol. 11, p. 1965–1982.
7. BINDA, C. et al. *Structure of the human mitochondrial monoamine oxidase B: new chemical implications for neuroprotectant drug design*. Neurology, 2006, vol. 67 (7_Suppl_2), p. S5-7.
8. GLOVER, V. et al. *Isatin: Identity with the purified endogenous monoamine oxidase inhibitor*. J. Neurochem., 1988, vol. 51, p. 656-659.
9. PRINSLOO, I. F. et al. *The evaluation of isatin analogues as inhibitors of monoamine oxidase*. Chem. Biol. Drug Des, 2023, vol.102, p. 1067–1074.
10. KUMAR, S. et al. *Exploration of the Detailed Structure–Activity Relationships of Isatin and Their Isomers As Monoamine Oxidase Inhibitors*. ACS Omega, 2022, vol. 7, p. 16244–16259.
11. GERONIKAKI, A. et al. *Design, synthesis, computational and biological evaluation of new anxiolytics*. Bioorg. Med. Chem., 2004, vol. 12, p. 6559–6568.
12. ȘTEFANEȚ, T. et al. *Elaborarea metodelor fizice și chimice noi de analiză a dioxoindolinonei - un potențial produs antidepresiv autohton*. Akademos, 2019, vol. 55, p. 52-56.
13. UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, *Procedeu de sinteză monotopă secvențială a β -etilenacetalilor 1-(fenacil-, acetoni)izatinelor*: Brevet MD, Inventatori: MACAEV F., STÂNGACI E., SUCMAN N., BILAN D., GORINCIOI E. Nr. depozit: a 2025 0008, data deposit: 2025.02.11.
14. IUPAC Recommendations 1988, Fused Ring and Bridged Fused Ring Nomenclature. Disponibil: <https://iupac.qmul.ac.uk/fusedring/FR53.html#551> [Accesat 24.06.2025].
15. Hans Reich collection, ¹H coupling. Disponibil: https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/nmr/?index=nmr_index%2F1H_coupling#h-coupling17 [Accesat 24.06.2025].
16. Hans Reich collection, ¹³C shift. Disponibil: https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/nmr/?index=nmr_index%2F13C_shift#data01 [Accesat 25.06.2025].

N.B. Cercetarea a fost susținută de subprogramele 010601 și 080301 finanțate de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova.