CZU: 544.142.3:547.497.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.19

METODOLOGIA CERCETĂRII COMPLECȘILOR METALELOR 3*d* CU TIOSEMICARBAZONE PENTRU OBȚINEREA PRODUSELOR INOVATIVE

Andrei CIURSIN

Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, Chisinau, MD 2009, Republic of Moldova

Rezumat

Tiosemicarbazonele și complecșii lor cu metalele de tranziție 3*d* sunt de interes sporit pentru dezvoltarea produselor inovative cu aplicații în medicină și agricultură, datorită spectrului larg de activități biologice. Valorificarea eficientă a acestui potențial este profund dependentă de metodologia de cercetare utilizată. Prezentul articol își propune o analiză critică a limitărilor, riscurilor și perspectivelor metodologice asociate studiului complecșilor metalelor 3*d* cu tiosemicarbazone. Sunt discutate aspecte legate de metodele de sinteză și caracterizare structurală, evaluarea activității biologice și dificultățile corelării structură–activitate. De asemenea, sunt evidențiate riscurile de interpretare eronată a rezultatelor și importanța standardizării protocoalelor experimentale. În final, sunt conturate direcții de optimizare metodologică, incluzând integrarea abordărilor experimentale cu metode complementare, menite să crească reproductibilitatea și relevanța aplicativă a rezultatelor obținute.

Cuvinte-cheie: compuși coordinativi, tiosemicarbazone, metodologia cercetării.

METHODOLOGY FOR THE STUDY OF 3*d* METAL COMPLEXES WITH THIOSEMICARBAZONES FOR THE INNOVATIVE PRODUCTS DEVELOPMENT

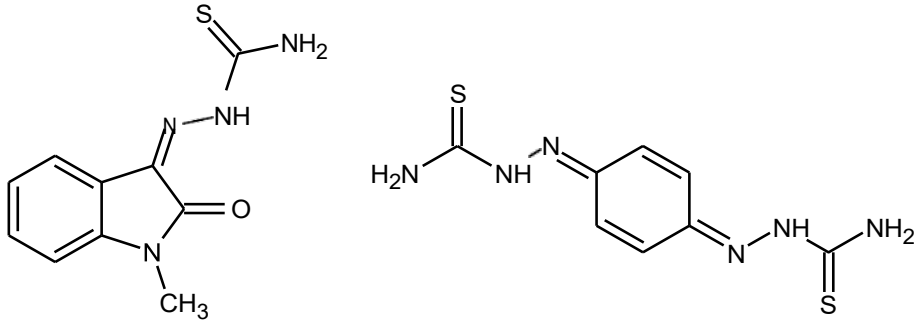
Abstract

Thiosemicarbazones and their complexes with 3*d* transition metals are of great interest for the development of innovative products with applications in medicine and agriculture, due to their wide range of biological activities. The effective exploitation of this potential is deeply dependent on the research methodology used. This article aims to critically analyse the limitations, risks, and methodological perspectives associated with the study of 3*d* metal complexes with thiosemicarbazones. Limitations related to synthesis and structural characterization methods, biological activity assessment, and the difficulties of correlating structure and activity are discussed. The risks of misinterpreting results and the importance of standardizing experimental protocols are also highlighted. Finally, directions for methodological optimization are outlined, including the integration of experimental approaches with complementary methods, aimed at increasing the reproducibility and applied relevance of the obtained results.

Keywords: coordination compounds, thiosemicarbazones, research methodology.

Introducere

Tiosemicarbazonele prezintă o clasă de compuși organici cu un interes științific și aplicativ remarcabil, datorită spectrului larg de activitățile biologice. O mulțime se studii au evidențiat potențialul acestora în calitate de agenți antitumorali [1-2], antimicrobieni [3-4], antioxidante [5-7], antifungice [8] și antivirale [9]. Unele tiosemicarbazone chiar au fost și sunt folosite în calitate de medicamente. Spre exemplu – ambazonă (figura 1). Acest compus are efect antimicrobian [10] și și-a găsit utilizare în calitate de component activ al pastilelor împotrivă durerii de gât. Un alt exemplu ar putea fi metisazona (figura 1).



Metisazona Ambazona

Figura 1. Formule de structură a Metisazonei și Ambazonei

Aceasta a fost utilizată începând cu anii 1965 în calitate agent antiviral contra variolei în țările puțin dezvoltate [11]. Însă, din cauza unor probleme logistice, nu și-a găsit o utilizare largă. Interesant că metisazona este efectivă nu doar contra virusului variolei, ci în general contra *poxviridae* deoarece inhibă sinteza mARN-ului și sinteza proteinelor virale.

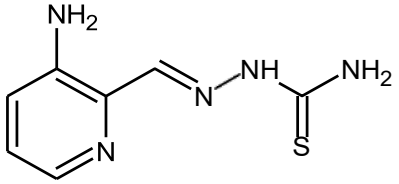
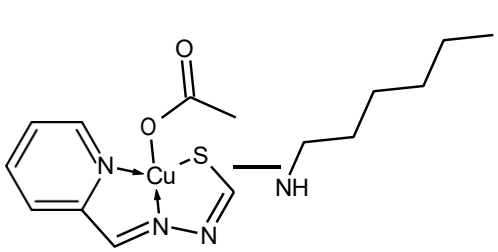


Figura 2. Formula de structură a Triapinei

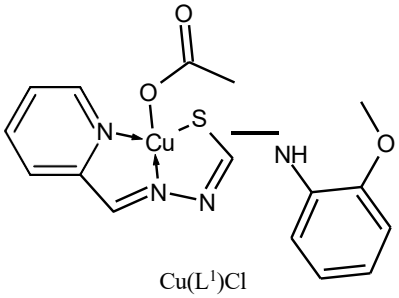
Una dintre cele mai de perspectivă tiosemicarbazone în ziua de azi este Triapina. Ea este cunoscută datorită efectului său anticancer. Ea acționează ca inhibitor al ribonucleotid reductazei și la momentul de față se află în testările clinice [12]. Fiind inhibitorul ribonucletid reductazei, activitatea acesteia se explică prin capacitatea de chelatare a ionilor de fier din situs-ul activ al acestui grup de enzime, prin setul de atomi N-N-S. Fierul este un cofactor esențial pentru funcția catalitică a acestora. Legarea fierului duce la oprirea formării deoxiribonucleotidelor, care de fapt sunt elementele de bază ale ADN-ului [13].

Pe lângă celor menționate, tiosemicarbazonele au o afinitate ridicată de formare a compușilor coordinativi cu metalele de tranziție 3*d*. Acest proces duce la modificările substanțiale ale proprietăților fizico-chimice și biologice fața de cele ale ligandului. În numeroase cazuri, activitatea biologică a complecșilor depășește semnificativ activitatea ligandului liber [14]. Acest fapt poate fi explicat prin mecanismele suplimentare induse de ionul metalului, precum generarea speciilor reactive de oxigen, interacțiuni redox sau facilitarea transportului prin membranele biologice. În general compuși coordinativi manifestă același spectru de activități biologice ca și tiosemicarbazonele libere – antitumorale, antimicrobiene, antifungice și antioxidante. Spre exemplu, autorii din sursa [15] au stabilit că compusul [Cu(L)CH_3COO] prezentat în figura 3, are CMI împotriva *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus* egal cu 2.1 μM și împotriva fungilor *candida albicans* – 17.6 μM. Iar autorii din sursa [16] au demonstrat că compusul CuL^1Cl, la fel prezentat pe figura 3, manifestă activitate anticancer contra liniei celulare BxPc-3 cu IC_{50} de 0.10 μM, având indicele de selectivitate egal cu 3.



[Cu(L)CH_3COO]

CMI impotriva *Staphylococcus aureus și Bacillus cereus* = 2.1 μM



Cu(L^1)Cl

IC_{50} contra liniei celulare BxPc-3 = 2.1 μM

Figura 3. Formulele de structura a compușilor coordinativi în baza tiosemicarbazonelor cu activitățile biologice

Cu toate acestea, rezultatele obținute în studiul acestor substanțe sunt profund dependente de metodologia de cercetare utilizată. Alegerea metodelor de sinteză, caracterizare și evaluare biologică, precum și modul de interpretare a datelor, pot influența decisiv concluziile formulate privind eficiența și aplicabilitatea compușilor studiați. Persistă astfel o lacuna de cercetare în ceea ce privește analiza critică și integrată a limitărilor și riscurilor metodologice asociate investigării tiosemicarbazonelor și a complecșilor metalelor 3*d* cu tiosemicarbazone. În acest articol vor fi descrise metodele de sinteza a tiosemicarbazonelor și complecșilor acestora cu metale 3*d*, metodele de caracterizarea lor și cele mai des întâlnite metode de analiza lor biologică (analiza antioxidantă, testarea citotoxicității și analizele antimicrobiene și antifungice), precum și limitările acestor metode și riscuri asociate la desfășurarea metodologiilor descrise și la interpretarea datelor obținute în urma lor.

Metode de sinteză și caracterizare a tiosemicarbazonelor și compușilor coordinativi în baza lor

Metode de sinteză a compușilor coordinativi ale metalelor 3d cu tiosemicarbazone

Tiosemicarbazonele sunt liganzi care conțin atomi donori N,S și în unele cazuri O. Ei au o afinitate puternică către metalele 3*d*, precum Cu, Zn, Fe, Co, Ni etc., ce le permite formarea compușilor coordinativi stabili.

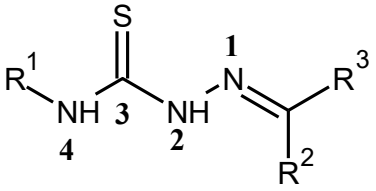
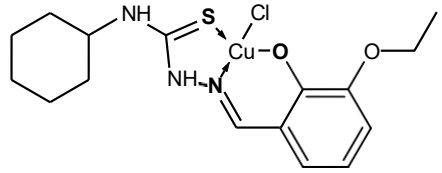
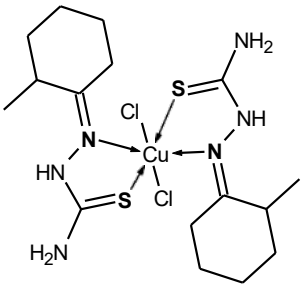


Figura 4. Schema de numerotare a tiosemicarbazonelor, cu roșu este indicat numărul de poziție a atomilor de bază

Tiosemicarbazonele în dependența de structura lor pot fi liganzi bidentați sau tridentați. În cazuri când substituenți din poziția N^1 conțin fragmentele piridinice sau fragment de aldehidă salicilică sau derivații ei sau alte configurații ce conțin atomii de azot sau oxigen capabili se participe la coordinarea – tiosemicarbazonele se comportă ca liganzi tridentați [17]. În cazuri când în poziția N^1 nu există atomi capabili se participe la proces de coordinare tiosemicarbazonele se comportă ca liganzi bidentați [18].



Compus coordinativ cu tiosemicarbazonă în calitate de ligand **tridentat** [17]



Compus coordinativ cu tiosemicarbazonă în calitate de ligand **bidentat** [18]

Figura 5. Exemple de tiosemicarbazone în calitate de liganzi bidentați și tridentați

Procedură clasică de sinteză compușilor coordinativi este relativ simplă și nu necesită condiții speciale. Pentru obținerea lor se prepară soluțiile de ligand (tiosemicarbazonă) și sare. De obicei în calitate de solvenți se folosesc alcooli inferiori, cel mai frecvent - etanol, dar pot fi utilizate și metanol și propanoli. Sinteze decurg aproximativ o oră, dar timpul de sinteză poate varia în dependență de natura regenților [17]. Raportul între metal și ligand depinde de natura metalului și dentatea ligandului. În tabelul 1sunt prezentate variante posibile a raportului molar Metal:Ligand.

Tabelul 1. Variante posibile a raportului molar metal:ligand pentru sinteza compușilor coordiantivi în baza tiosemicarbazonelor

Raportul molar între ion de metal și ligand		
Ion de metal	Tiosemicarbazonă bidentată	Tiosemicarbazonă tridentată
Cu (II)	1:2	1:1
Fe (III)	1:3	1:2
Zn (II)	1:2	1:1
Co (II) și (III)	1:3	1:2
Ni (II)	1:2	1:1
Mn (II)	1:3	1:2
Cr (III)	1:3	1:2

Proprietățile compușilor obținuți foarte tare vor depinde de natura tiosemicarbazonei. Pe lângă această, cea mai complicată parte de sinteză a unui compus coordinativ deseori este cea de sinteză a ligandului organic. Din aceste considerente vom examina aparte și procedurile de obținere a însuși tiosemicarbazonelor.

Metode de sinteză clasice a tiosemicarbazonelor

În general, cercetătorii în cea mai mare parte folosesc două metode de sinteză a tiosemicarbazonelor. Primul și cel mai des întâlnit constă într-o reacție de condensare între tiosemicarbazidele și compuși carbonilici – aldehide sau cetone [5-6]. Această sinteză decurge relativ ușor la reflux (sau în unele cazuri chiar și la temperatura camerei) și de obicei nu necesită condiții speciale sau catalizatori specifici. În calitate de solvenți foarte bine se potrivesc mono alcooli inferiori cum ar fi metanol, etanol, *n*-propanol sau *i*-propanol. Deseori compuși inițiali sunt bine solubili în solvent sau se solubilizează la încălzire, iar tiosemicarbazonele c¸aree se obțin în timpul sintezei au o solubilitate mai scăzută și în mai multe cazuri se sedimentează chiar în timpul refluxului. În calitate de catalizator de obicei este utilizat acid acetic glacial sau acid clorhidric, dar sunt întâlnite lucrările unde în calitate de catalizator este folosit acidul *p*-toluensulfonic sau deloc nu este utilizat catalizator. Timpul de sinteză poate varia de la minute

până la 24-48 de ore. Acesta în mare parte depinde de reactivitatea compușilor inițiali, dar în mediu sintezele de acest tip decurg 3-6 ore. Se poate de menționat că în cazuri când în calitate de compus carbonilic este o aldehidă sinteză decurge mai repede fața de cazul cetonelor.

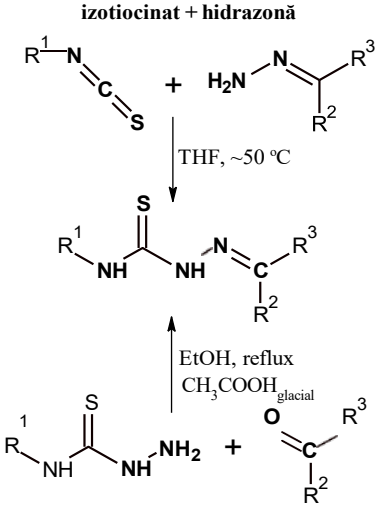


Figura 6. Schema generală de sinteză a tiosemicarbazonelor prin metodele clasice

A doua metodă este bazată pe adiția nucleofilă a hidrazonelor la izotiocianații. Această reacție de obicei decurge la o temperatură de 50 ±5°C [19]. Pentru această sinteză este rațional de folosit solvenți polari aprotici, spre exemplu THF, 1,4-dioxan sau DCM, în dependență de solubilitatea compușilor inițiali. În solvenți de acest tip izotiocianații sunt mai stabili și nu există șanse de reacții secundare posibile, cum în cazul apei sau alcoolilor.

Metode de caracterizare a tiosemicarbazonelor și compușilor coordinativi în baza lor

Tiosemicarbazonele pot fi cercetate cu orice metode standard de analiză a compușilor organice. Structura lor poate fi obținută prin difracția razelor X pe monocristal sau poate fi dedusă prin descifrarea spectrelor RMN ^{1}H și ^{13}C. În RMN ^{1}H picul care se întâlnește în orice spectru al tiosemicarbazonelor și poate fi privit ca unul caracteristic este picul hidrogenului din gruparea >N-H vecină cu gruparea azometină (de obicei aparare la o deplasare de 10-11 ppm). În spectrele RMN ^{13}C un pic caracteristic tiosemicarbazonelor este picul grupării tiocarbonil (>C=S) care este situat în jur de 178 ppm. Datele indirecte despre structura tiosemicarbazonelor pot fi obținute din spectroscopie FTIR și spectroscopie de masă. Compoziția tiosemicarbazonelor poate fi cercetată cu analiza elementală.

În cercetarea compușilor coordinativi în baza tiosemicarbazonelor un standard general acceptat este structura complexului obținută prin difracția razelor X pe monocristal. Această metodă este unică care permite stabilirea directă a structurii compusului coordinativ. Spectroscopie RMN în majoritatea cazurilor nu poate fi aplicată pentru cercetarea compușilor coordinativi cu tiosemicarbazonele (este posibilă doar în cazul complecșilor diamagnetice, care se obțin la Cu (I), Zn (II), Cd (II), Hg (II) sau Co (III) cu liganzi de câmp puternic). Însă pot fi efectuate spectroscopie de masă și analiza elementală, ce ajută la stabilirea compoziției exacte a complexului. Pe lângă această, poate fi aplicată spectroscopie FTIR pentru cercetarea grupărilor funcționale prezente în compus coordinativ. Mai mult ca atât, comparând spectrele FTIR a compusului coordinativ cu spectrul ligandului utilizat pot fi deduse informații suplimentare și poate fi confirmat faptul formării compusului coordinativ.

Spectroscopie UV-Vis oferă informații despre tranziții electronice ce au loc în compus coordinativ și sunt folosite pentru stabilirea câmpului ligandului. Pe lângă această, prin metoda spectrofotometrică Ostromisslensky-Job și metoda de saturație poate fi determinat raportul metal:ligand în soluțiile, iar prin metoda Komari poate fi determinată constanta de stabilitate a complexului și ca urmare variația energiei Gibbs în procesul de formare a complexului în soluție [20].

Metode de evaluare biologică

Activitatea antioxidantă

Testarea activității antioxidante este frecvent întâlnită în domeniu obținerii tiosemicarbazonelor cu activitățile biologice. Această demonstrează capacitatea compușilor sintetizați de a interacționa cu radicali liberi sau de a participă în procesele redox celulare. Cele mai frecvent întâlnite metode sunt DPPH și ABTS. Ambele sunt bazate pe decolorarea radicalilor DPPH• sau cation-radicalelor $ABTS^{+}$• [21-22]. Ele sunt utilizate din cauza costurilor scăzute și ușurinței în efectuare.

Testarea citotoxicității

Citotoxicitatea este efectul toxic a unei substanțe asupra celulelor, care duce la afectarea funcțiilor celulare sau la moarte celulei. În domeniul chimiei medicinale testarea citotoxicității este utilizată pentru aprecierea inițială a efectului anticancer a compușilor, inclusiv și a complecșilor. Cea mai frecvent utilizată metodă este MTT. Această este bazată pe posibilitatea celulelor vii să reducă MTT (culoarea galbenă) la formazan (violet) prin intermediu NADH și NADPH și de fapt determină activitatea metabolică a celulelor. O altă metod, mai modernă, este metoda cu resazurină, dar de fapt ea este bazată pe același principiu – celulele vii, prin NADH și NADPH pot reduce resazurină la resorufină . Diferența principială constă doar în faptul că resazurină este un compus nefluorescent, dar produsul ei de reducere resorufină este puternic fluoriscentă ce permite măsurarea rezultatelor la fluorimetru, ceea ce crește sensibilitatea analizei. În cazul metodei MTT, această nu este posibil [23].

Testarea activității antimicrobiene și antifungice

Principale metode de testare activității antimicrobiene sunt metoda Kirby-Bauer (difuzie cu disc) și metoda diluțiilor în serie. Prima metoda, difuzie cu disc ne permite un screening rapid a proprietăților compușilor testați însă nu oferă datele exacte despre puterea activității antimicrobiene. Pentru aflarea concentrațiilor minime de inhibare (CMI) sau minime bactericide (CMB) se utilizează metoda diluțiilor în serii. Pentru testarea proprietăților antifungice sunt folosite aceleași metode, dar la final se calculează concentrația minimă fungistatică și concentrația minimă fungicidă (CMF) [24].

Limitări metodologice și riscuri potențiale

Sinteza tiosemicarbazonelor

Ambele metode descrise mai sus în general sunt aplicabile fără limitări, însă ele pot apărea la sinteza precursorilor. În special această se referă la sinteza izotiocianaților, care sunt strict necesare pentru sinteza tiosemicarbazonelor. Cea mai ușoară și universală metodă de obținerea lor este bazată pe reacția tiofosgenului cu aminele primare, în mediu bazic. Limitările metodei sunt asociate cu reacțiile secundare a tiofosgenului cu unele grupări funcționale, cum ar fi grupările carboxil sau hidroxil, ce duce la imposibilitatea de obținere a produsului dorit. Mai mult ca atât, utilizarea tiofosgenului este asociată cu riscuri sporite pentru sănătate, din cauza toxicității ridicate. Din aceste considerente în unele cazuri rațional ar fi de aplicat alte metode de obținerea izotiocianaților. Cea mai frecvent întâlnită alternativă este descompunere sărurilor ditiocarbamaților, care la rândul său se obțin din aminele primare prin tratarea cu disulfură de carbon. Această metodă tolerează mai multe grupe funcționale printre care grupele carboxil și hidroxil. Metoda este limitată cu activitatea și natura aminei ce se tratează cu CS_2, spre exemplu este cunoscut că aminele aromatice substituite reacționează mult mai greu decât cele alifatice.

Timpul de conversie completă în cazul aminelor alifatice este situat între 30 min – 1 oră, și în același timp pentru cele aromatice – 18-24 de ore sau în cazul aminelor aromatice cu grupările electron-acceptoare puternice – reacția nu decurge deloc. Pe lângă aceasta, ditiocarbamatul format trebuie descompus până la izotiocianat. Pentru această poate fi utilizat un șir larg de regenți. Cele mai efective pot fi considerate clorură de para-toluensulfonil (TosCl), cloroformiat de etil, clorură de cianur (TCT) și halogenii [25]. Limitările principale a metodei constau în complexitatea față de metoda cu tiofosgen (sinteza necesită mai multe etape și separări, ce afectează negativ randamentul) și impurificarea produșilor obținute cu microcantitățile de sulf.

Caracterizarea structurală a compușilor coordiantivi obținuți

Un standard de aur în domeniul sintezei și cercetării compușilor coordinativi este structura obținută prin difracția razelor X pe monocristal. Această oferă datele directe despre structura compusului coordinativ cercetat. Cea mai mare limitare a metodei constă în necesitatea obținerii monocristalului, ce nu întotdeauna este ușor. Cu obținerea lor pot ajuta metodele de difuzie lichidă sau de vapori, dar uneori și aceste nu ajută. Pe lângă această, difracția razelor X pe monocristal oferă datele strict despre structura monocristalului cercetat și nu despre structura probei sintetizate din care a fost extras cristalul. Se întâmplă cazuri când în pulbere structura se deferă de structura monocristalului sau dintr-o sinteză se cristalizează două tipuri de cristale care la urmă au și structura diferită. Din aceste considerente, în cazuri când este necesar de dovedit faptul că structura obținută prin difracția razelor X pe monocristal și structura masei obținute în urma sintezei coincid trebuie de aplicat metodele suplimentare, cum, spre exemplu, ar fi difracția razelor X pe pulbere.

În cazul când nu este posibil de obținut monocristal, structura compusului coordinativ poate fi confirmată printr-un set de datele indirecte și anume – spectroscopie de masă (preferabil cu utilizarea tehnicii MALDI-TOF) + analiza elementară + FTIR + determinarea raportului metal:ligand prin metodele Ostromisslensky-Job și metoda de saturație + conductibilitatea electrică în soluție. Având toate aceste date împreună, cu o probabilitate destul de înaltă poate fi presupusă formula compusului coordinativ.

Activitatea antioxidantă

Cea mai mare limitare a analizelor ABTS și DPPH este faptul că ele nu modelează mediu biologic a celulei. Aceste metode descriu doar capacitatea substanțelor testați să capteze radicali liberi într-un scenariu ideal și nu dau informații despre cum substanța cercetată va afecta bilanțul speciilor reactive de oxigen într-o celulă vie. Substanțele cu rezultatele bune în aceste teste au o șansa mare ca în celulă ele vor fi capabile să participe în cicluri redox, ce va afecta viabilitatea celulei, dar aceasta nu este garantat. Mai mult ca atât studiile demonstrează că într-o mulțime de cazuri, metodologiile de efectuarea analizelor utilizate de cercetători sunt foarte rău standardizate, ce conduce la îngreunarea comparării rezultatelor diferitor cercetări și deseori concluziile eronate [26].

Testarea citotoxicității

Testările citotoxicității descrise sunt bazate pe testarea activității metabolice a celulelor și această este cea mai mare limitare a metodei. Când se calculează IC_{50} se presupune că dacă celula nu reduce indicatorul (MTT sau Resazurină) ea este moartă, ce nu întotdeauna este corect. Compusul cercetat poate suprima mitocondriile, fără a ucide celula sau afecta bilanțul redox al celulei, în așa mod, ca ele să se dividă ulterior, ce de fapt duce la un rezultat fals-pozitiv. Mai mult ca atât, diferite liniile celulare au proprietățile metabolice diferite, din aceste considerente compararea valorilor absolute a rezultatelor obținute între liniile celulare diferite este o greșeală metodologică [27].

Testarea activității antimicrobiene

Toate testările activității antimicrobiene se limitează la sistemele artificiale. Ele analizează dacă compusul este capabil să oprească sau să limiteze creșterea unui anumit tip de

microorganisme în ceașcă petri și nu simulează procesele de farmacocinetică, biodisponibilitatea compusului sau influența răspunsului imun și nu simulează procesele de formare a biofilmurilor, în care activitatea compusului poate să deferă în zeci de ori. Mai mult ca atât, în testarea prin metoda difuziei cu discuri, zona de inhibarea va depinde nu numai de însuși proprietățile antibiotice a compusului, dar și de viteză de difuzie în agara, lipofilitatea, solubilitate și grosimea stratului de agar. La fel, metoda discurilor nu permite calculare CMI, ci doar permite analiza vizuală în dependență de mărimea zonei de inhibare. Pe lângă aceasta cercetătorii deseori folosesc liniile celulare standardizate, dar în natura deseori sunt prezente speciile mutante și rezistente la anumite tipuri de preparate medicinale, ce poate afecta activitatea compusului în testările *in vivo* [28].

Perspective metodologice și direcții de optimizare

O direcție metodologică importantă în cercetarea compușilor coordinativi a metalelor 3*d* cu tiosemicarbazone este corelarea sistematică a datelor cuantificabile cu parametri chimice. Aceste cel mai bine pot fi realizate prin elaborarea studiilor SAR (structure activity relationship) și mai bine QSAR (quantitative structure activity relationship), care practic lipsesc în literatura de specialitate și în lucrările cercetătorilor. Marea majoritatea grupurilor de cercetare în acest domeniu efectuează sinteză și un tip de analiză biologică de bază sau în cele mai bune cazuri efectuează set întreg. Încercările unor autori să realizeze în acest domeniu studiile SAR sunt foarte limitate. Practic de fiecare dată autorii analizează doar compuși sintetizați în limita lucrării sale, ce practic înseamnă 6-10 compuși. Această nu este suficient pentru un studiu SAR amplu și arată doar tendințele preliminare pentru o serie concretă, care pot fi și eronate. Cum și în orice studiu statistic – mai multe date = mai bună corelare (sau stabilirea lipsei de această corelare). Din aceste considerente există o insuficiență a studiilor existente în această direcție de cercetare.

Metodele de evaluare biologică descrise mai sus trebuiască privite strict ca metodele de sreening-ul inițial pentru alegerea celor mai bune candidate pentru analizele mai scumpe și complicate. Una din direcții de optimizare ar fi standardizarea protocoalelor de analiza antioxidantă și exprimarea rezultatelor fața de câteva compuși standard, spre exemplu acid ascorbic, trolox și rutină. Aceste vor ușura procesul de comparare a rezultatelor cercetărilor efectuate. O altă direcție de optimizare ar fi utilizarea metodelor *in silico* de tip ADME pentru liganzi. Aceste sunt baza în chimie medicinală modernă și permit filtrarea inițială a compușilor cu cea mai mare perspectiva. Cu părere de rău, sunt foarte puține metode *in silico* care pot fi aplicate pentru studiul compușilor coordinativi. Spre exemplu cele mai populare resurse pentru efectuarea screeningului ADME nu suportă compuși coordinativi. Totuși, unele parametri ADME pot fi determinate empiric. Unul din cele mai importante este lipofilitatea, care este caracterizată de logaritmul (sau indicele) de partiție octanol-apă. El poate fi măsurat destul de simplu (inclusiv și pentru complecși) în schimb oferind informațiile cruciale despre posibilitatea compusului cercetat de penetrare a membranei celulare.

Încă o direcție perspectivă de cercetare este studiul mai amplu a compușilor coordinativi în baza tiosemicarbazonelor în diferite medii, cum ar fi studiile la pH-uri diferite sau în prezența unor biomolecule, ce ar permite identificarea formelor active și ar reduce riscurile de interpretare eronată activității biologice.

În ansamblu, aceste perspective metodologice subliniază faptul că optimizarea cercetării complecșilor metalelor 3*d* cu tiosemicarbazone nu depinde exclusiv de descoperirea unor noi structuri chimice, ci în egală măsură de rafinarea și adaptarea continuă a metodologiei de cercetare, orientată spre aplicabilitate și performanță.

Concluzii

Metodele de obținere a tiosemicarbazonelor și compușilor coordinativi în baza lor în general sunt bine descrise în literatura de specialitate. Pentru cercetători este important să aleagă

din aceste metode cele care sunt aplicabile domeniului lor de cercetare sau cazului concret. Metodele de caracterizare sunt standarde. Cea mai mare atenție se acordă la structura compușilor coordinativ. În cazul ideal trebuie să fie obținută structura prin difracția razelor X pe monocristal, dar în cazul când obținerea monocristalului nu este posibilă structura poate fi dedusă prin combinarea datelor obținute de la spectroscopie de masă, analiza elementală, spectroscopie FTIR, conductibilitatea electrică și analiza Ostromisslensky-Job.

Metodele ABTS și DPPH pentru determinarea activității antioxidante sunt bune pentru stabilirea capacității compusului cercetat să capteze radicali liberi și ca potențial să modifice bilanțul redox în cicluri celulare.

Metodele de determinare a citotoxicității cu MTT și cu Resazurină sunt excelente pentru screening-ul inițial pentru stabilirea proprietăților citotoxice contra liniilor diferite de cancer la compuși cercetți. Ele permit analiza mai multor linii celulare relativ ieftin și rapid. Compușii cu rezultatele bune la acest tip de testări au un anumit potențial și pot fi cercetate ulterior, mai ales dacă testările de toxicitate sau de selectivitate la fel vor fi bune. Testările activităților antimicrobiene și antifungice la fel sunt bune în calitate de un screening inițial rapid și ieftin, însă ca și restul metodelor au limitările sale.

Analiza metodologiei de cercetare a tiosemicarbazonelor și complecșilor metalelor 3*d* în baza lor evidențiază faptul că potențialul ridicat al acestor compuși este strâns condiționat de rigoarea și coerența metodologiei aplicate. Conștientizarea limitărilor crește credibilitatea cercetării și diminuează rezultatele fals-pozitive sau interpretările eronate. În concluzie, dezvoltarea produselor inovative pe baza complecșilor metalelor 3*d* cu tiosemicarbazone depinde nu doar de descoperirea unor noi structuri chimice, ci în egală măsură de optimizarea continuă a metodologiei de cercetare. O abordare metodologică critică, integrată și orientată spre aplicabilitate constituie premisa fundamentală pentru valorificarea eficientă a acestor substanțe în medicină și agricultură.

Notă: Materialul prezentat în articol a fost elaborat în cadrul subprogramului instituțional „Sinteza și studiul materialelor noi în baza combinațiilor complexe cu liganzi polifuncționali și cu proprietăți utile în medicină, biologie și tehnică”, cifru: 010602; detalii la: https://ichem.md/SSMCCLP, Republica Moldova.

Referințe:

1. SHAKYA, Bhushan și YADAV, Paras Nath. Thiosemicarbazones as a Potent Anticancer Agents and Their Modes of Action. In: Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 2019, Vol. 19. DOI https://doi.org/10.2174/1389557519666191029130310.
2. JAMERSON et al. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. In: European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, Vol. 104, p. 148–156. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.036.
3. KORKMAZ, Gürsel. A review of recent research on the antimicrobial activities of thiosemicarbazone-based compounds. In: Journal of New Results in Science, 2024, Vol. 13, nr. 1, p. 61–83. DOI https://doi.org/10.54187/jnrs.1464723.
4. MOHAMED, Nadia A., MOHAMED, Riham R. și SEOUDI, Rania S. Synthesis and characterization of some novel antimicrobial thiosemicarbazone O-carboxymethyl chitosan derivatives. In: International Journal of Biological Macromolecules, 2013, Vol. 63, p. 163–169. DOI https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.044.
5. CIURSIN, Andrei, RUSNAC, Roman, GULYA, Aurelian. Synthesis, absorption, distribution, metabolism, excretion and antioxidant assay of some N4 – substituted Thiosemicarbazones of Cinnamaldehyde. In: One Health and Risk Management, 2025, vol. 6, nr. 3, pp. 54-65. ISSN 2587-3458. DOI: https://doi.org/10.38045/ohrm.2025.3.05
6. CIURSIN, Andrei, STOICA, Iana, RUSNAC, Roman, GULYA, Aurelian. Synthesis, antioxidant activity and ADME analysis of some n4-substituted thiosemicarbazones with β–ionone fragment. In:

Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii), 2025, nr. 6(186), pp. 273-282. ISSN 1814-3237. DOI: https://doi.org/10.59295/sum6(186)2025_33.

7. GARBUZ, Olga, CEBAN, Emil, ISTRATI, Dorin, RAILYAN, Nadejda, TODERASH, Ion, GULYA, Aurelian. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. In: Molecules (Basel, Switzerland), 2025, vol. 30, pp. 1-45. ISSN -. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules30092077
8. QIN, Yukun et al. Novel thiosemicarbazone chitosan derivatives: Preparation, characterization, and antifungal activity. In: Carbohydrate Polymers, 2012, Vol. 87, nr. 4, p. 2664–2670. DOI https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.048.
9. KESEL, Andreas J. Broad-spectrum antiviral activity including human immunodeficiency and hepatitis C viruses mediated by a novel retinoid thiosemicarbazone derivative. In: European Journal of Medicinal Chemistry, 2011, Vol. 46, nr. 5, p. 1656–1664. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.02.014.
10. ZAKHAROVA, I. et al. Possibilities of using ambazone (Faringosept) in infectious and inflammatory diseases of oropharynx. A review. In: Pediatrics Consilium Medicum. Iunie 2024, nr. 1, p. 37–42. DOI https://doi.org/10.26442/26586630.2024.1.202596.
11. BAUER, D. et al. Activity of methisazone against viruses. In: Annals of the New York Academy of Sciences. Wiley, Iulie 1970, Vol. 173, nr. 1, p. 314–319. DOI https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1970.tb53421.x.
12. GILES, F. et al. Phase I and pharmacodynamic study of Triapine®, a novel ribonucleotide reductase inhibitor, in patients with advanced leukemia. In: Leukemia Research. Elsevier BV, Decembrie 2003, Vol. 27, nr. 12, p. 1077–1083. DOI https://doi.org/10.1016/s0145-2126(03)00118-8.
13. CERQUEIRA, N. et al. Overview of Ribonucleotide Reductase Inhibitors: An Appealing Target in Anti-Tumour Therapy. In: Current Medicinal Chemistry. Iunie 2005, Vol. 12, nr. 11, p. 1283–1294. DOI https://doi.org/10.2174/0929867054020981.
14. GULEA, Aurelian. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. In: Revista de Ştiinţă, Inovare, Cultură şi Artă „Akademos", 2013, nr. 1(28), pp. 102-107. ISSN 1857-0461.
15. PINTEA, Aliona, CIURSIN, Andrei, RUSNAC, Roman, GULEA, Aurelian. Combinații coordinative ale Cu(II) în baza n-hexil-2-[(piridin-2-il)metiliden]hidrazine-1-carbotioamidei: proiectare, sinteză, evaluarea proprietăților antimicrobiene și antifungice. In: Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii), 2024, nr. 1(171), pp. 168-177. ISSN 1814-3237. DOI: https://doi.org/10.59295/sum1(171)2024_21
16. RUSNAC, Roman, GARBUZ, Olga, KRAVTSOV, Victor, MELNIK, E., ISTRATI, Dorin, TSAPKOV, Victor I., POIRIER, Donald, GULYA, Aurelian. Novel Copper(II) Coordination Compounds Containing Pyridine Derivatives of N4-Methoxyphenyl-Thiosemicarbazones with Selective Anticancer Activity. In: Molecules (Basel, Switzerland), 2024, vol. 29, pp. 1-21. ISSN -. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules29246002
17. RUSNAC, Roman, CIURSIN, Andrei, ŞOVA, Sergiu, SÎRBU, Angela, GULEA, Aurelian. Sinteza și analiza fizico-chimică a compușilor coordinativi ai Cu(II) în baza 4-ciclohexil-tiosemicarbazonei 3-etoxisalicilice. In: Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii), 2023, nr. 1(171), pp. 194-205. ISSN 1814-3237. DOI: https://doi.org/10.59295/sum1(171)2023_26
18. CHANDRA, Sulekh, KUMAR, Umendra. Synthesis, Magnetic and Spectral Studies on Copper(II) Complexes with Bidentate Thiosemicarbazones. In: Synthesis and reactivity in inorganic and metal-organic chemistry. Taylor & Francis, 2004, Vol. 34, nr. 8, pp. 1417–1430. DOI https://doi.org/10.1081/sim-200026270.
19. Rusnac R. Designul şi sinteza compușilor biologic activi ai unor metale 3d cu tiosemicarbazone n(4)-substituite ale derivaților 2-formilpiridinei. Autoreferat al tezei de doctor în ştiinţe chimice. Chișinău, 2022.
20. TUTOVAN, Elena, ISAC-GUŢUL, Tatiana, RUGA, Mirela, RUSNAC, Roman, SÎRBU, Angela. Studiul formării compușilor coordinativi ai cuprului (II) cu ciclohexil-tiosemicarbazona 2-acetilpiridinei în soluție. In: Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii), 2025, nr. 6(186), pp. 283-292. ISSN 1814-3237. DOI: https://doi.org/10.59295/sum6(186)2025_34
21. SALIM, Inas, ABDULA, Ahmed M and NOORI, Mohammed, 2024. Synthesis, characterization of 3,5-disubstitutedaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide derivatives and evaluation of their

antioxidant activity. In: Journal of Kufa for Chemical Sciences. 1 December 2024. Vol. 4, no. 1, p. 175–191. DOI https://doi.org/10.36329/jkcm/2024/v4.i1.13975
22. R. Re, N. PELLEGRINI, A. PROTEGGENTE, A. PANNALA, M. YANG, and C. RICEEVANS, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," In: Free Radical Biology and Medicine, 1999, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, DOI: https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3
23. Rusnac A. Sinteza și proprietățile biologice ale combinațiilor coordinative cu unele biometale în baza tiosemicarbazonelor 4-aminobenzoatului de etil. Autoreferat al tezei de doctor în științe chimice. Chișinău, 2023.
24. JORGENSEN, James H. și TURNIDGE, John D. Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. In: Manual of Clinical Microbiology, 2015, pp. 1253–1273. ISBN 9781683672807. DOI https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch71.
25. RUSNAC, Roman, RUSNAC, Anna, GARBUZ, Olga, GULYA, Aurelian. Synthesis and Structure of COPPER (II) Coordination Compounds with 4-NSUBSTITUTE- THIOSEMICARBAZONE OF 4-BENZOIL-5-METHYL-2- PHENYL-2,4-DIHIDRO-3H-PYRAZOL-3-ONE. Antioxidant, Antimicrobial and Antitumor Properties. In: Economy Transdisciplinarity Cognition, 2019, vol. 22, pp. 5-14. ISSN 2067-5046.
26. ABRAMOVIČ, Helena et al. Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin–Ciocalteu. In: Journal of Chemistry, 2018, Vol. 2018, pp. 1–9. DOI https://doi.org/10.1155/2018/4608405.
27. GHASEMI, Mahshid et al. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. In: International Journal of Molecular Sciences, 2021, Vol. 22, nr. 23, p. 12827. DOI https://doi.org/10.3390/ijms222312827.
28. YAQUB, Muneer, BALOGUN, Abdulbasit și BALA, Gaius. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Current Methods and Challenges. In: Authorea, 2023. DOI https://doi.org/10.22541/au.170370467.72246304/v1.

Date despre autori:



Andrei CIURSIN, student-doctorand, specialitate chimie coordinativă. Laboratorul Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: ciursin.andrei@usm.md
ORCID: 0000-0002-3160-4582