Academician AURELIAN GULEA 80 de ani de la naștere

Academician AURELIAN GULEA



CONFERINȚA NAȚIONALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ

MATERIALE AVANSATE ÎN BIOFARMACEUTICĂ ȘI TEHNICĂ

MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA
INSTITUTUL DE CHIMIE ȘI FACULTATEA DE CHIMIE ȘI TEHNOLOGIE CHIMICĂ
ACADEMIA DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI

CONFERINȚA ȘTIINȚIFICĂ NAȚIONALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ

MATERIALE AVANSATE ÎN BIOFARMACEUTICĂ ȘI TEHNICĂ

Dedicată aniversării a 80 de ani de la nașterea ilustrului savant chimist,
Academicianul AURELIAN GULEA și aniversării a 80 de ani de la fondarea
Universității de Stat din Moldova

CULEGERE DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE

29 mai 2026
Chișinău

Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică.
Culegere de lucrări științifice – dedicate aniversării a 80 de ani de la nașterea ilustrului savant chimist, Academicianul Aurelian Gulea și aniversării a 80 de ani de la fondarea Universității de Stat din Moldova

Volumul conține materialele Conferinței științifice Naționale cu participare Internațională sub formă de articole integrale, dedicate aniversării a 80 de ani de la nașterea ilustrului savant chimist, Academicianul Aurelian Gulea și aniversării a 80 de ani de la fondarea Universității de Stat din Moldova. Autorii sunt personalități marcante de la Universitățile și instituțiile de cercetare științifică din Republica Moldova, România, Franța, Polonia, Canada, Azerbaidjan. Fiecare articol este urmat de fotografiile autorilor și descrierea succintă a personalității acestora.

CULEGERE DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE
Recomandată pentru editare de către Consiliul Științific al USM.
Editată cu suportul financiar al subprogramului de cercetare 010602, finanțat de MEC.

Responsabil de redacție: Aurelian GULEA
Se editează sub răspunderea autorilor. Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.
Tehnoredactarea: Irina KRAVCHUK, Vasilii GRAUR, Roman RUSNAC

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA

"Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică", conferință științifică națională (2026; Chișinău). Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică = Advanced materials in biofarmaceuticals and technics : Conferința științifică națională cu participare internațională, 29 mai 2026 : Dedicată aniversării a 80-a de la nașterea ilustrului savant chimist, academicianul Aurelian Gulea și aniversării a 80 de ani de la fondarea Universității de Stat din Moldova : Culegere de lucrări științifice / responsabil de redacție: Aurelian Gulea. – Chișinău : Editura USM, 2026. – 429 p. : fig., fot. color, scheme, tab.
Antetit.: Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova, Universitatea de Stat din Moldova, Institutul de Chimie și Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, Academia de Științe a Moldovei. – Texte, rez.: lb. rom., engl. – Ref. bibliogr. la sfârșitul art. – 50 ex.

ISBN 978-9975-77-515-1.
Text : nemediat.
54+615.011(082)=135.1=111
M 47

© Editura USM, 2026

MINISTRY OF EDUCATION AND RESEARCH
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MOLDOVA STATE UNIVERSITY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND FACULTY OF CHEMISTRY AND CHEMICAL TECHNOLOGY

ACADEMY OF SCIENCES OF MOLDOVA

NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION

ADVANCED MATERIALS IN BIOFARMACEUTICALS AND TECHNICS

Dedicated to the 80th anniversary of the
academician AURELIAN GULEA and foundation of Moldova State University

COLLECTION OF SCIENTIFIC WORKS

Mai 29, 2026
Chișinău

COMITETUL ONORIFIC

Otilia Dandara – președinte, Universitatea de Stat din Moldova (R.Moldova)
Tighineanu Ion – co-președinte, Academia de Științe a Moldovei (R.Moldova)
Andruh Marius, Academia Română, București (România)
Floquet Sebastien, Universitatea Paris-Saclay, Versaille (Franța)
Ceban Emil, Universitatea de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu(R.Moldova)
Duca Gheorghe, Institutul de Chimie, USM, Chișinău (R.Moldova)
Groppa Stanislav, Universitatea de Medicină și Farmacie ”N. Testemițeanu” (R.Moldova)
Lipkowski Yanosh, Institutul de Chimie Fizică, Academia Polonă, Varșovia (Polonia)
Pahonțu Elena, Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București (România)
Poirier Donald, Universitatea Laval, Quebec (Canada)
Rudic Valeriu, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, UTM, Chișinău (R.Moldova)
Timco Grigore, Universitatea din Mancester, Mancester (Regatul Unit)
Toderaș Ion, Institutul de Zoologie, USM, Chișinău (R. Moldova)
Ungureanu Laurenția, Universitatea de Stat din Moldova(R.Moldova)

COMITETUL DE ORGANIZARE

Aculina Arîcu – Președinte, Institutul de Chimie, USM, Chișinău
Gladchi Viorica – co-președinte, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Cocu Maria, Institutul de Chimie, USM, Chișinău
Rusnac Roman, LCȘ Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, USM
Bîrcă Maria, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Bulimestru Ion, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Cotovaia Aliona, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Garbuz Olga, Institutul de Zoologie, USM, Chișinău
Graur Vasilii, LCȘ Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, USM
Kravchuk Irina, LCȘ Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, USM
Lozan Vasile, Institutul de Chimie, USM, Chișinău
Popa Nelea, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Sîrbu Angela, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Șova Sergiu, Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, Academia Română, Iași, România
Țapcov Victor, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, USM
Danilescu Olga, Institutul de Chimie, USM, Chișinău
Gorincioi Viorina, Institutul de Chimie, USM, Chișinău
Ionuț-Iulian Lungu, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

CUPRINS

Diana CEBOTARI, Olga GARBUZ, Victor TSAPKOV, Aurelian GULEA, Sébastien FLOQUET
STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP IN THIOSEMICARBAZONE LIGANDS: EFFECT OF ARM NUMBER AND STRUCTURAL FLEXIBILITY 10

Vasilii GRAUR
BIOLOGICALLY ACTIVE COORDINATION COMPOUNDS BASED ON 4-ALLYLTHIOSEMICARBAZONES AND THEIR DERIVATIVES: SYNTHESIS, STRUCTURE, AND PROPERTIES 18

Roman RUSNAC, Greta BALAN, Ionuț-Iulian LUNGU, Aurelian GULEA
TIOSEMICARBAZONE HETEROCICLICE: DE LA SINTEZĂ ȘI CARACTERIZARE STRUCTURALĂ LA PERSPECTIVE ÎN DEZVOLTAREA AGENȚILOR ANTIMICROBIENI 23

Olga GARBUZ
SOME MEDICAL PROPERTIES OF SYNTHETIC AND NATURAL BIOACTIVE SUBSTANCES 37

Natalia SUCMAN, Serjiu COJOCARI, Dmitri BILAN, Fliur MACAEV
SINTEZA DERIVAȚILOR TRIAZOLICI PE BAZA ARTEMIZININEI ȘI AZIDELOR CARANICE ȘI STEROIDICE 53

Dorin ISTRATI
MEDICAȚIA ENDODONTICĂ COMPLEXĂ DE VIITOR A PATOLOGIEI APICALE CRONICE OSTEO-DISTRUCTIVE 62

Lidia LUNGU, Alexandru CIOCÂRLAN, Aculina ARÎCU, Maria DUCA
SINTEZA UNOR DERIVAȚI POLIFUNCȚIONALI ÎN BAZA ACIDULUI ENT-KAUR-16-EN-19-OIC 68

Ecaterina BELEAEV, Victor Ch. KRAVTSOV, Svetlana G. BACA
A LADDER-LIKE COBALT(II) COORDINATION POLYMER INCORPARATING PIVALATE AND 4,4′-BIPYRIDINE LIGANDS 76

Greta BALAN, Dmitri IUNAC, Valeriu RUDIC, Olga BURDUNIUC, Roman RUSNAC, Aurelian GULEA
EFFECTS OF CHEMICAL AND NATURAL COMPOUNDS ON THE BIOCHEMICAL ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* 85

Dionisie CEBOTARI, Evgheni GRUSAC, Cristea DANIEL, Olga GARBUZ, Silvia STRATULAT, Olga TAGADIUC, Veronica SARDARI
IMPLICAȚIILE BIOCHIMICE ALE OXIDĂRII PEROXIDICE ÎN CANCER 96

Aliona PÎNTEA, Roman RUSNAC, Viorica RAILEAN, Olga Garbuz, Aurelian GULEA
SYNTHESIS OF COORDINATION COMPOUNDS OF SELECTED BIOMETALS WITH PYRIDINE-DERIVED N-METHOXYPHENYLTHIOSEMICARBAZONES EXHIBITING BIOLOGICAL ACTIVITY 109

Valeriana PANTEA, Ecaterina PAVLOVSCHI, Olga TAGADIUC
IN VITRO MODULATION OF THE THIOL SYSTEM BY Cu–THIOSEMICARBAZONE COMPOUNDS: IMPLICATIONS FOR CELLULAR REDOX HOMEOSTASIS 125

Viorina GORINCIOI, Boris PUȘCAȘU, Vasile LOZAN
SINTEZA NANOPARTICULELOR OXIZILOR DE FIER OBȚINUTE DIN SALICILAȚII FIERULUI(III) 136

Sergiu COJOCARI, Fliur MACAEV
SINTEZA ȘI STUDIUL PROPRIETĂȚILOR CATALITICE ALE DIOXA-AZAHIDROFOSFIȚILOR DIN (+)-3-CARENA 146

Iulia GRIBANOVA, Andrei CIURSIN, Roman RUSNAC, Aurelian GULEA
SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COORDINATION COMPOUNDS OF Cu(II) BASED ON N^4-CYCLOHEXYLTHIOSEMICARBAZONE 2-ACETYLPYRIDINE 151

Maria BÎRCĂ, Aliona COTOVAIA, Victor ȚAPCOV, Olga GARBUZ, Alexandra RANEȚCHI, Aurelian GULEA
COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CU TIOSEMICARBAZONA ȘI 4-FENILTIOSEMICARBAZONA 2,4-DIHIDROXIBENZALDEHIDEI ȘI SULFANILAMIDE 159

Anastasia GOROBET, Marina S. FONARI, Lilia CROITOR
4-AMINOSALICYLIC ACID – 4-ACETYLPYRIDINE COCRYSTAL: SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS 168

Aliona VITIU, Paulina BOUROȘ
RODANINA ȘI DERIVAȚI EI: INVESTIGAȚII STRUCTURALE 176

Andrei CIURSIN
METODOLOGIA CERCETĂRII COMPLECȘILOR METALELOR 3d CU TIOSEMICARBAZONE PENTRU OBȚINEREA PRODUSELOR INOVATIVE 186

Cristea DANIEL, Veronica SARDARI, Dionisie CEBOTARI, Evgheni GRUSAC, Olga GARBUZ, Lilia TACU, Aurelian GULEA
ROLUL MICRO-ARN ÎN RECONFIGURAREA HOMEOSTAZIEI ACIDO-BAZICE ȘI A REPROGRAMĂRII METABOLICE ÎN CANCER 197

Danil FELDMAN, Elena GORINCIOI, Maria SUCIU, Dmitri BILAN, Jalba ANGELA, Natalia SUCMAN, Gheorghe DUCA, Nicoleta-Elena DINA, Fliur MACAEV
EXPLORAREA REACȚIEI MANNICH PENTRU SINTEZA MONOTOPĂ A UNOR DERIVAȚI AI 2-HIDROXI-1,4-NAFTOCHINONEI NATURALE CU PROPRIETĂȚI ANTICANCER 211

Diana ȘEPELI
STUDIU AL COMPOZIȚIEI ULEIURILOR ESENȚIALE A DOUĂ SPECII DE CIMBRU: SATUREJA SUBSPICATA BARTL. EX. VIS. ȘI SATUREJA MONTANA L. PRIN SPECTROSCOPIE ÎN INFRAROȘU 223

Evgheni GRUSAC, Veronica SARDARI, Dionisie CEBOTARI, Nadejda RAILEAN, Olga GARBUZ, Olga TAGADIUC, Aurelian GULEA
METABOLISMUL GLUTATIONULUI ÎN CANCER 229

Ianina GRAUR
SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTICANCER PROPERTIES OF PYRUVAMIDE 4-ALLYLTHIOSEMICARBAZONES AND THEIR COPPER(II) CHLORIDE COMPLEXES 239

Mariana DÎRU, Tamara POTLOG, Ion LUNGU, Andreea BEJENARI
STUDIUL FTALOCIANINELOR DE ZINC ÎN CALITATE DE MATERIALE ELECTROACTIVE PENTRU ELECTROZI Zn^{2+}-SELECTIVI 249

Olga GARBUZ, Vasilii GRAUR, Nadejda RAILEAN, Victor TSAPKOV, Veronica SARDARI, Donald POIRIER, Jenny ROY, Ion TODERAS, Aurelian GULEA
BIOLOGICAL ACTIVITY OF TRIS[N-(PROP-2-EN-1-YL)HYDRAZINE-CARBOTHIOAMIDE]COBALT(III) CHLORIDE 255

Vasile GUȚANU
COMPOZITE POLIMER-COMPUȘI COORDINATIVI CA PRECURSORI PENTRU OBȚINEREA SORBENȚILOR ȘI CATALIZATORILOR NOI 268

Irina KRAVCHUK
THE EFFECT OF S-ALKYLATION OF THE THIOSEMICARBAZONE FRAGMENT ON THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF SOME 3d METAL COMPLEXES 276

Lucian LUPAȘCU, Eugenia STÎNGACI, Marina CEABANOVA (ZVEAGHINȚEVA), Natalia SUCMAN, Fliur MACAEV, Galina LUPAȘCU, Nicolae CRISTEA
DERIVAȚI VINIL-TRIAZOLICI CU PROPRIETĂȚI ANTIFUNGICE CĂTRE NIGROSPORA MAYDIS 289

Marina CEABANOVA, Eugenia STÎNGACI, Natalia SUCMAN, Serghei POGREBNOI, Lucian LUPAȘCU, Fliur Zainutdin MACAEV
1-(ALKYL/ARYL)-2-(1H-1,2,4-TRIAZOL-1-YL)ETHANONES IN THE SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE N-VINYL TRIAZOLES 297

Cristea DANIEL, Veronica SARDARI, Dionisie CEBOTARI, Nadejda RAILEAN, Silvia STRATULAT, Lilia TACU, Aurelian GULEA
ANALIZA BIOCHIMICĂ A DEZECHILIBRELOR ACIDO-BAZICE ȘI A PROCESELOR DE LACTILARE ÎN CANCER 303

Larisa MOCANU, Maria GONȚA, Rafaela PLEȘCA
PROCESE DE OXIDARE AVANSATĂ A COLORANTULUI ROȘU DIRECT 81. OPTIMIZAREA PARAMETRILOR FIZICO-CHIMICI ȘI MECANISME COMPETITIVE ÎN PREZENȚA UNUI FENOLUL 316

Elena NEGUȚA, Nelea POPA, Ion BULIMESTRU
SINTEZA, STRUCTURA ȘI EVALUAREA BIOLOGICĂ A NOILOR COMPUȘI COORDINATIVI AI Cu(II) ȘI Bi(III) CU LIGANZI MICȘTI: TIOSEMICARBAZONE – AMINOPOLICARBOXILAȚI. O RETROSPECTIVĂ A CERCETĂRILOR RECENTE 325

Ramil RZAYEV, Natalia SUCMAN, Mammadov BAKHTİYAR, Fliur MACAEV
SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA OLIGO-(m-FENILENDIAMINĂ-CO-1,3-BENZENDIOLULUI) PENTRU MATERIALE FUNCȚIONALE AVANSATE.....333

Ștefan ROBU, Ion LUNGU, Tamara POTLOG, Roman RUSNAC, Vasile STEGARIOV
DERIVAȚI MONOSUBSTITUIȚI AI FTALOCIANINELOR DE ZINC ȘI COBALT PENTRU TERAPIA FOTODINAMICĂ 338

Sergiu COJOCARI, Serghei CURLAT, Fliur MACAEV
REACȚIA DE CICLOADDIȚIE [3+2] AZIDĂ–ALCHINĂ ȘI CITOTOXICITATEA DERIVAȚILOR DE (+)-3-CARENĂ 346

Tudor JOVMIR, Sergiu SHOVA, Lucian LUPAȘCU, Greta BALAN, Olga BURDUNIUC, Nicolae GAIU, Ion GERU, Aurelian GULEA, Vasile LOZAN
INVESTIGATION OF SOME WATER-SOLUBLE BINUCLEAR COMPLEXES OF COPPER(II) BASED ONBIS-ISOTHIOSEMICARBAZONES.....353

Elena TUTOVAN, Tatiana ISAC-GUȚUL
DEGRADAREA CIPROFLOXACINEI ÎN SOLUȚIE APOASĂ PRIN UNELE PROCESE DE OXIDARE AVANSATĂ.....369

Vladislav BLONSCHI, Viorica GLADCHI, Elena BUNDUCHI, Angela LIS
METODE AVANSATE DE EVALUARE A POLUĂRII ȘI DEPOLUĂRII DE SUBSTANȚE EMERGENTE A SISTEMELOR ACVATICE NATURALE.....381

Victor ȚAPCOV, Olga GARBUZ, Roman RUSNAC, Aliona COTOVAIA, Aurelian GULEA
COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CARE CONȚIN SULFANILAMIDE ȘI 4-HEXILTIOSEMICARBAZONE ALE ALDEHIDEI SALICILICE 392

Andrei NEGUȚA
PIRAZOLONELE: DE LA FARMACOLOGIA CLASICĂ LA SISTEME COORDINATIVE CU ACTIVITATE BIOLOGICĂ REMARCABILĂ 404

Ala FULGA
EFFECTS OF TARAXACUM OFFICINALE ON OXIDATIVE STRESS MARKERS IN HUMAN ERYTHROCYTES.....412

Vasilii GRAUR, Ianina GRAUR, Irina KRAVCHUK, Greta BALAN, Carolina LOZAN TÎRȘU, Aurelian GULEA
ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL AGENTS BASED ON 3d METAL COORDINATION COMPOUNDS WITH 2-BENZOYLPYRIDINE 4-ALLYL/NORBORNYLTHIOSEMICARBAZONES.....419

ARTICOLE ȘTIINȚIFICE

CZU: 544.142.3 https://doi.org/10.59295/mabt2026.01

STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP IN THIOSEMICARBAZONE LIGANDS: EFFECT OF ARM NUMBER AND STRUCTURAL FLEXIBILITY

Diana CEBOTARI[1,2], Olga GARBUZ[2,3], Victor TSAPKOV[2],
Aurelian GULEA[2], Sébastien FLOQUET[1]

[1]Institut Lavoisier de Versailles, CNRS UMR 8180, Univ. Versailles Saint Quentin en Yvelines, Université Paris-Saclay, 45 av. des Etats-Unis, 78035 Versailles cedex (France)
[2]State University of Moldova, 60 Alexei Mateevici str., MD-2009 Chisinau, Republic of Moldova.
[3]Institute of Zoology, 1 Academiei str., MD-2028 Chisinau, Republic of Moldova.

Abstract

A series of 18 thiosemicarbazone-type ligands divided into several ligand families depending on whether they are monothiosemicarbazones (HL^1 to HL^5), bis-thiosemicarbazones with flexible linkers (H_2L^6 to H_3L^{10}) or rigid linkers (H_2L^{11} to H_2L^{14}), and phenol-bis-thiosemicarbazones (H_3L^{15} to H_3L^{18}) was synthesised and subsequently investigated with regard to their antioxidant properties.

The antioxidant activity of these ligands was evaluated using the ABTS radical scavenging assay. The obtained IC_{50} values revealed a wide range of antioxidant capacities among the investigated compounds. Several ligands exhibited significant radical scavenging activity compared to the reference antioxidants Trolox and Rutin. In particular, compound H_3L^{16} demonstrated the strongest antioxidant effect with an IC_{50} value of 4.83 μM, followed by HL^3 (7.74 μM), H_2L^{11} (8.60 μM), and H_2L^{12} (9.10 μM). The enhanced antioxidant activity was found to correlate with the presence of phenolic hydroxyl groups, aromatic conjugation, and increased structural rigidity, which facilitate electron or hydrogen transfer processes involved in radical neutralization.

Keywords: mono-thiosemicarbazone, bis-thiosemicarbazone, phenol-bis-thiosemicarbazone, antioxidant activity, ABTS method.

RELAȚIA STRUCTURĂ-ACTIVITATE A TIOSEMICARBAZONELOR: EFECTUL NUMĂRULUI DE BRAȚE ȘI AL FLEXIBILITĂȚII STRUCTURALE

Resumat

A fost sintetizată o serie de 18 tiosemicarbazone, clasificată în mai multe familii de liganzi în funcție de tipul structural: mono-tiosemicarbazone (HL^1 până la HL^5), bis-tiosemicarbazone cu legături flexibile (H_2L^6 până la H_3L^{10}), bis-tiosemicarbazone cu legături rigide (H_2L^{11} până la H_2L^{14}) și fenol-bis-tiosemicarbazone (H_3L^{15} până la H_3L^{18}), iar ulterior au fost investigate proprietățile lor antioxidante. Activitatea antioxidantă a tiosemicarbazonelor sintetizate a fost evaluată prin testul de captare a radicalilor ABTS. Valorile IC_{50} obținute au evidențiat o gamă largă de capacități antioxidante în rândul compușilor studiați. Mai mulți compuși au prezentat o activitate semnificativă de eliminare a radicalilor în comparație cu antioxidanții de referință: Trolox și Rutin. În special, compusul H_3L^{16} a demonstrat cel mai puternic efect antioxidant, cu o valoare IC_{50} de 4,83 μM, urmat de HL^3 (7,74 μM), H_2L^{11} (8,60 μM) și H_2L^{12} (9,10 μM). S-a constatat că activitatea antioxidantă sporită este corelată cu prezența grupărilor hidroxil fenolice, conjugarea aromatică și rigiditatea structurală crescută, care facilitează procesele de transfer de electroni sau hidrogen implicate în neutralizarea radicalilor.

Cuvinte-cheie: mono-tiosemicarbazonă, bis-tiosemicarbazonă, fenol-bis-tiosemicarbazonă, activitate antioxidantă, metoda ABTS.

Introduction

Reactive oxygen species (ROS), such as the superoxide anion, hydroxyl radicals, and hydrogen peroxide, are continuously generated in biological systems as byproducts of normal metabolic processes.[1] Although ROS play an essential role in cellular signaling and physiological regulation, their excessive accumulation can lead to oxidative stress, a condition

associated with the damage of biomolecules such as lipids, proteins, and nucleic acids.[2] It is well known that oxidative stress is implicated in the development of numerous pathological conditions, including cancer, neurodegenerative diseases, inflammation, and cardiovascular disorders.[3] Consequently, the identification and development of molecules capable of neutralizing reactive oxygen species have become an important objective in medicinal and bioinorganic chemistry.

Biologically active molecules such as thiosemicarbazones have attracted considerable attention due to their versatile coordination chemistry and broad spectrum of pharmacological activities.[4–6] These compounds are typically formed through condensation reactions between thiosemicarbazides and aldehydes or ketones, resulting in molecules containing nitrogen and sulfur donor atoms capable of interacting with metal ions and reactive species. Due to these structural characteristics, thiosemicarbazone derivatives have been extensively studied for their antimicrobial, antiviral, antitumor, and antioxidant properties.[7–12] In particular, Academician Aurelian Gulea has played a major role in the development of this field throughout his career, making highly significant contributions evidenced by hundreds of publications and patents.

The biological activity of thiosemicarbazone derivatives is strongly influenced by their molecular structure, electronic properties, and ability to stabilize radical intermediates. Previous studies have demonstrated that modifications to the ligand structure, such as the introduction of electron-donating or electron-accepting substituents, changes in conjugation, or the incorporation of additional donor groups, can significantly affect their redox behavior and radical-neutralizing capacity.[13] Another important structural factor that can influence the antioxidant properties of these ligands is the flexibility or rigidity of the molecular backbone. Flexible ligands can adopt different conformations that facilitate interactions with reactive species, while rigid backbones can promote electronic delocalization and the stabilization of radical intermediates.[13, 14] Furthermore, the number of thiosemicarbazone arms in a molecule—such as mono- or bis-substituted derivatives—can influence the accessibility of active functional groups and, consequently, alter their antioxidant efficacy.[15, 16]

In this study, particular attention is paid to the antioxidant capacity of three families of thiosemicarbazones: mono-, bis-, and phenol-bis-thiosemicarbazones (Figure 1). The influence of variations in the R1 substituent (R^2–CH=N–NH–C(=S)–NHR^1), as well as the number of thiosemicarbazone arms, on antioxidant activity was investigated to gain a better understanding of the structure–activity relationship.

Methods and materials

Chemicals and syntheses

All chemicals and reagents used were of analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich: 2,2′-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS); 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), potassium persulfate ($K_2S_2O_8$), and ascorbic acid. DMSO (dimethyl sulfoxide), methanol, and other reagents (sodium acetate buffer solution, pH 6.5) were obtained from local suppliers. Deionized water was produced using an Adrona Crystal E HPLC water purification system. The ligands were synthesized via a condensation reaction between aldehydes and thiosemicarbazides in an alcoholic medium under reflux, in the presence of a few drops of glacial acetic acid used as a catalyst.[9, 17–19] As a result, a total of 18 thiosemicarbazone derivatives were obtained and classified into three families: mono-thiosemicarbazones, bis-thiosemicarbazones, and phenol-bis-thiosemicarbazones.[20]

Antioxidant activity

The $ABTS^{\bullet+}$ antioxidant activity was determined according to the method described by Re et al., with modifications.[21] The ABTS radical was generated by reacting a 7 mM ABTS solution with 140 mM potassium persulfate, incubated at 25°C in the dark for 12–16 hours. The

resulting radical solution was then diluted with 0.02 M sodium acetate buffer (pH 6.5). Dilutions of the eighteen experimental compounds were prepared in DMSO. Then, 20 µL of each dilution was transferred into a 96-well microtiter plate, and 180 µL of $ABTS^{\bullet+}$ working solution was added using the dispensing module of the hybrid reader (Synergy H1, Biotek). The mixture was shaken for 15 s. The change in absorbance was measured at 734 nm after 30 minutes of incubation at 25°C. All experiments were performed in triplicate. DMSO was used as the blank. Rutin, Trolox, and ascorbic acid were used as standards. Ascorbic acid (10 mM) was prepared in distilled water as a stock solution and used at concentrations ranging from 6.25 to 50 µM. Trolox (2 mM in methanol) was used as a reference at dilution concentrations ranging from 0.1 to 100 µM.

The percentage inhibition was calculated using the formula:

$$\%\text{Inhibition}=\frac{A0-A1}{A_0}*100$$

where A_0 is the absorbance of the control and A_1 is the absorbance of the sample.

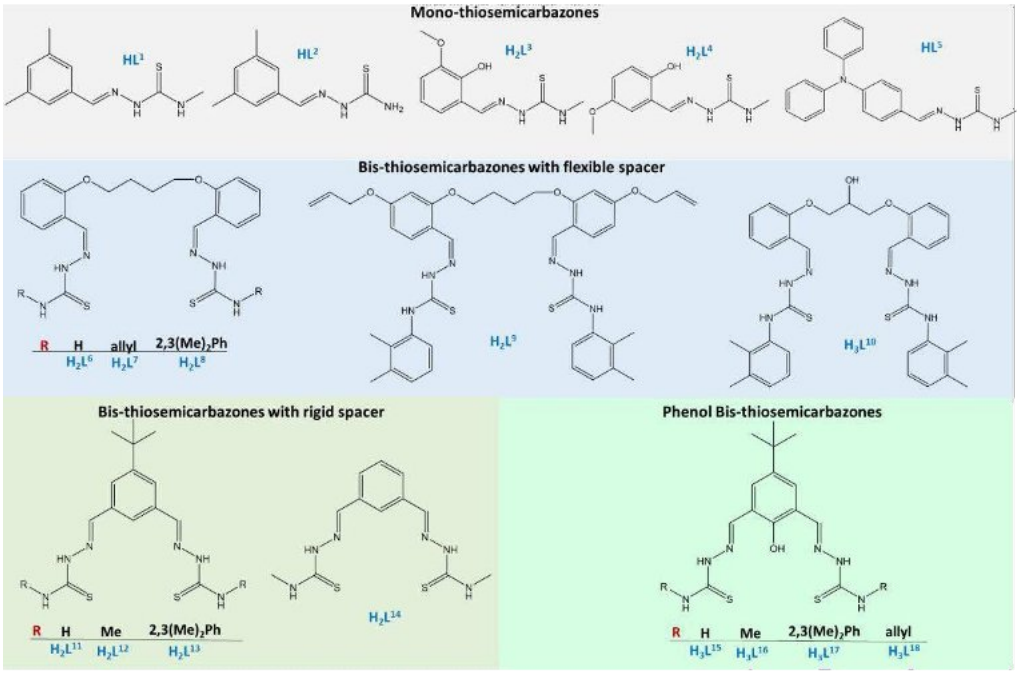


Figure 1. Representation of thiosemicarbazones used in this study

Results and discussion

Antioxidant activity of the thiosemicarbazones

The antioxidant properties of the synthesized thiosemicarbazone ligands were evaluated using the ABTS radical cation decolorization assay. The activity was expressed as IC_{50} values (µM), representing the concentration required to scavenge 50% of the $ABTS^{\bullet+}$ radicals. Lower IC_{50} values indicate stronger antioxidant activity.

For comparison, the well-known antioxidants Trolox and Rutin were used as reference compounds, presenting IC_{50} values of 26.30 µM and 20.70 µM, respectively (Figure 2, Table 1).

Mono-thiosemicarbazones

The mono-thiosemicarbazone ligands (HL^1–HL^5) showed moderate to good antioxidant activity.

IC_{50} values ranged between 7.74 and 27.88 μM:
HL^1 – 27.88 μM
HL^2 – 21.62 μM
H_2L^3 – 7.74 μM
H_2L^4 – 9.81 μM
HL^5 – 21.17 μM

Among this group, H_2L^3 and H_2L^4 exhibited the strongest radical scavenging ability, displaying significantly lower IC_{50} values than both Trolox and Rutin. The enhanced activity may be attributed to the presence of phenolic hydroxyl groups and conjugated aromatic systems, which facilitate electron or hydrogen donation to neutralize the ABTS radical cation.

Table 1. Antioxidant activity of the ligands

Ligand	IC_{50} (μM)
HL^1	27.88
HL^2	21.62
H_2L^3	7.74
H_2L^4	9.81
HL^5	21.17
H_2L^6	13.00
H_2L^7	66.60
H_2L^8	≥100
H_2L^9	≥100
H_3L^{10}	57.20
H_2L^{11}	8.60
H_2L^{12}	9.10
H_2L^{13}	28.80
H_2L^{14}	11.20
H_3L^{15}	20.31
H_3L^{16}	4.83
H_3L^{17}	24.27
H_3L^{18}	51.13

Bis-thiosemicarbazones with flexible spacer

The bis-thiosemicarbazones containing a flexible spacer (H_2L^6–H_3L^{10}) displayed a wider variation in antioxidant activity. Only H_2L^6 demonstrated relatively good antioxidant activity, while the remaining compounds exhibited moderate to weak radical scavenging ability. The lower activity observed for most ligands in this series may be explained by the flexible linker, which reduces electronic delocalization between the two thiosemicarbazone moieties.

Bis-thiosemicarbazones with rigid spacer

The bis-thiosemicarbazones containing a rigid aromatic spacer (H_2L^{11}–H_2L^{14}, Figure 2 and Table 1) generally exhibited improved antioxidant properties.

The compounds H_2L^{11} and H_2L^{12} showed particularly strong activity, suggesting that the rigid aromatic core promotes electron delocalization and stabilization of the radical species generated during the scavenging process.

Phenol bis-thiosemicarbazones

The phenolic bis-thiosemicarbazones (H_3L^{15}–H_3L^{18}) displayed diverse antioxidant activities. Among all investigated compounds, H_3L^{16} exhibited the strongest antioxidant activity (IC_{50} = 4.83 μM). This remarkable efficiency can be attributed to the presence of phenolic

hydroxyl groups, which act as hydrogen donors and stabilize the resulting radical species through resonance.

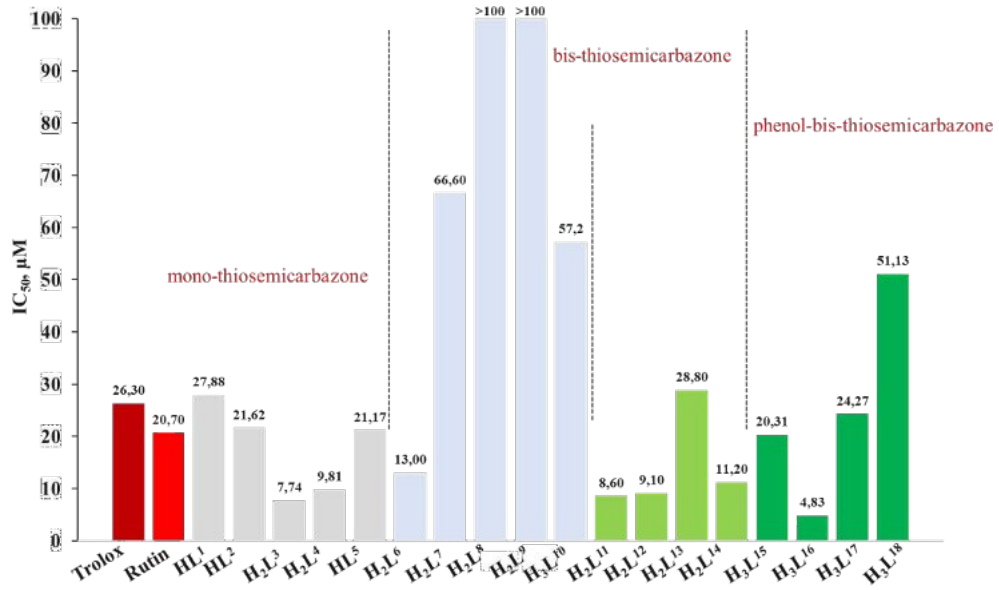


Figure 2. Antioxidant activity of three families of thiosemicarbazones: mono-thiosemicarbazones (gray); flexible bis-thiosemicarbazones (light blue), rigid bis-thiosemicarbazones (light green), and phenol-bis-thiosemicarbazones (dark green)

Structure–activity relationship

A comparative analysis of the obtained results suggests several structural factors influencing antioxidant activity:

a. Presence of phenolic OH groups: Phenolic moieties significantly enhance radical scavenging ability due to their hydrogen-donating capacity.

b. Aromatic conjugation: Extended π-conjugation facilitates stabilization of the radical species formed during the reaction with ABTS•$^{+}$.

c. Molecular rigidity: Ligands containing rigid aromatic spacers exhibit stronger activity than those with flexible linkers, likely due to improved electronic delocalization.

d. Electron-donating substituents: Substituents such as methyl groups may increase electron density and enhance antioxidant capacity.

Proposed ABTS scavenging mechanism

The antioxidant activity observed for the thiosemicarbazone ligands can be explained by two possible mechanisms:

Hydrogen atom transfer: thiosemicarbazone donates a hydrogen atom to the ABTS radical:

Thiosemicarbazone–OH + ABTS•$^{+}$ → Thiosemicarbazone–O• + ABTS

The resulting phenoxyl radical is stabilized through resonance within the aromatic system.

Single electron transfer: thiosemicarbazone transfers an electron to the radical cation:

Thiosemicarbazone + ABTS•$^{+}$ → Thiosemicarbazone•$^{+}$ + ABTS

The formed radical cation is stabilized by the conjugated structure of the thiosemicarbazone.

Conclusions

The ABTS assay revealed that several synthesized thiosemicarbazone ligands possess significant antioxidant activity, in some cases surpassing the reference antioxidants Trolox and Rutin.

The most potent compounds identified were:

H_3L^{16} (IC_{50} = 4.83 μM)

H_2L^{3} (IC_{50} = 7.74 μM)

H_2L^{11} (IC_{50} = 8.60 μM)

H_2L^{12} (IC_{50} = 9.10 μM)

These findings highlight the importance of phenolic groups, aromatic conjugation, and structural rigidity in enhancing the antioxidant properties of thiosemicarbazone derivatives.

Acknowledgments

This work is supported by the "ADI 2019" project funded by the IDEX Paris-Saclay, ANR-11-IDEX-0003-02. DC gratefully acknowledges Campus France for Excellence Eiffel grant as well as University State of Moldova for funding her PhD thesis.

References:

1. Snezhkina, A. V., Kudryavtseva, A. V., Kardymon, O. L., Savvateeva, M. V., Melnikova, N. V., Krasnov, G. S., Dmitriev, A. A. ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells. Oxid. Med. Cell. Longev., 2019, 2019, 6175804. DOI: 10.1155/2019/6175804.
2. Schieber, M., Chandel, N. S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr. Biol.*, 2014, 24(10), R453–R462. DOI: 10.1016/j.cub.2014.03.034.
3. Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Yongvanit, P., Kawanishi, S., Murata, M. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, 16(1), 193–217. DOI: 10.3390/ijms16010193.
4. Casas, J. S., García-Tasende, M. S., Sordo, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. *Coord. Chem. Rev.*, 2000, 209(1), 197–261. DOI: 10.1016/S0010-8545(00)00363-5.
5. Pantea, V., Pavlovschi, E., Stratulat, S., Gulea, A., Tagadiuc, O., Gudumac, V. Targeting redox balance: antioxidant effects of thiosemicarbazones on human peripheral blood. *Moldovan Journal of Health Sciences*, 2025, 12(3), 101–109. DOI: 10.52645/MJHS.2025.3.16.
6. Richardson, D. R., Kalinowski, D. S., Richardson, V., Sharpe, P. C., Lovejoy, D. B., Islam, M., Bernhardt, P. V. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones are Potent Iron Chelators and Antiproliferative Agents: Redox Activity, Iron Complexation and Characterization of their Antitumor Activity. *J. Med. Chem.*, 2009, 52(5), 1459–1470. DOI: 10.1021/jm801585u.
7. Fuior, A. *Synthesis and characterization of coordination compounds based on [Mo2O2E2]2+ (E = O or S) fragments for applications in biology*. Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay, 2019. Available at: http://www.theses.fr/2019SACLV094.
8. Fuior, A., Hijazi, A., Garbuz, O., Bulimaga, V., Zosim, L., Cebotari, D., Haouas, M., Toderaş, I., Gulea, A., Floquet, S. Screening of biological properties of MoV2O2S2- and MoV2O4-based coordination complexes: Investigation of antibacterial, antifungal, antioxidative and antitumoral activities versus growing of Spirulina platensis biomass. *J. Inorg. Biochem.*, 2022, 226, 111627. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111627.
9. [9Cebotari, D., Calancea, S., Garbuz, O., Balan, G., Marrot, J., Shova, S., Guérineau, V., Touboul, D., Tsapkov, V., Gulea, A., Floquet, S. Synthesis, structure and biological properties of a series of dicopper(bis-thiosemicarbazone) complexes. *New J. Chem.*, 2024, 48(26), 12043–12053. DOI: 10.1039/D4NJ00342J.
10. [10] Pahontu, E., Julea, F., Rosu, T., Purcarea, V., Chumakov, Y., Petrenco, P., Gulea, A. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. *J. Cell. Mol. Med.*, 2015, 19(4), 865–878. DOI: 10.1111/jcmm.12508.
11. Anitha, P., Chitrapriya, N., Jang, Y. J., Viswanathamurthi, P. Synthesis, characterization, DNA interaction, antioxidant and anticancer activity of new ruthenium(II) complexes of

thiosemicarbazone/semicarbazone bearing 9,10-phenanthrenequinone. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2013, 129, 17–26. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.09.005.
12. Balan, G., Burduniuc, O., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A., Pahontu, E. Novel 2-formylpyridine 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2020, 34(3), e5423. DOI: 10.1002/aoc.5423.
13. Yang, L., Liu, H., Xia, D., Wang, S. Antioxidant Properties of Camphene-Based Thiosemicarbazones: Experimental and Theoretical Evaluation. *Molecules*, 2020, 25(5), 1192. DOI: 10.3390/molecules25051192.
14. Garbuz, O., Ceban, E., Istrati, D., Railean, N., Toderas, I., Gulea, A. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. *Molecules*, 2025, 30(9), 2077. DOI: 10.3390/molecules30092077.
15. Padhyé, S., Kauffman, G. B. Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. *Coord. Chem. Rev.*, 1985, 63, 127–160. DOI: 10.1016/0010-8545(85)80022-9.
16. Beraldo, H., Gambino, D. The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2004, 4(1), 31–39. DOI: 10.2174/1389557043487484.
17. Cebotari, D., Haouas, M., Floquet, S., Gulea, A. Synthesis and characterisations of six new bis-thiosemicarbazone ligands. *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii)*, 2021, 136(6), 101–112. DOI: 10.5281/ZENODO.4431691.
18. Cebotari, D., Builș, J., Garbuz, O., Balan, G., Marrot, J., Guérineau, V., Touboul, D., Haouas, M., Segado-Centelles, M., Bo, C., Gulea, A., Floquet, S. A new series of bioactive Mo(V)2O2S2-based thiosemicarbazone complexes: Solution and DFT studies, and antifungal and antioxidant activities. *J. Inorg. Biochem.*, 2023, 245, 112258. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2023.112258.
19. Cebotari, D., Calancea, S., Marrot, J., Guillot, R., Falaise, C., Guérineau, V., Touboul, D., Haouas, M., Gulea, A., Floquet, S. Tuning the nuclearity of [Mo2O2S2]2+-based assemblies by playing with the degree of flexibility of bis-thiosemicarbazone ligands. *Dalton Trans.*, 2023, 52(10), 3059–3071. DOI: 10.1039/D2DT03760B.
20. Cebotari, D. *Synthèses et caractérisations de complexes à base du fragment [Mo2O2S2]2+ pour des applications en biologie*. Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay; Universitatea de Stat din Moldova, 2022. Available at: https://theses.hal.science/tel-04301336.
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26(9), 1231–1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

Authors:



Diana CEBOTARI, Ph.D. in Chemistry, scientific researcher, State University of Moldova, Institut Lavoisier de Versailles, Univ. Versailles Saint Quentin en Yvelines, Université Paris-Saclay, France.
e-mail: cebotaridiana1995@gmail.com
ORCID: 0000-0002-0305-9548



Olga Garbuz, Dr., Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Victor TSAPKOV, Ph.D. in Chemical Sciences, Associate Professor, Moldova State University.
e-mail: victor.tapcov@usm.md; vtsapkov@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1732-3116



Aurelian GULEA, doctor habilitate, university professor, academician; head of LCȘ Advanced Materials in Biopharmaceuticals and Technology, Moldova State University.
e-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959



Sébastien FLOQUET, professor- researcher, Institut Lavoisier de Versailles, Univ. Versailles Saint Quentin en Yvelines, Université Paris-Saclay, France.
e-mail: sebastien.floquet@uvsq.fr
ORCID: 0000-0003-2433-1771

CZU: 544.142.3:547.497.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.02

BIOLOGICALLY ACTIVE COORDINATION COMPOUNDS BASED ON 4-ALLYLTHIOSEMICARBAZONES AND THEIR DERIVATIVES: SYNTHESIS, STRUCTURE, AND PROPERTIES

Vasilii GRAUR

Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova

Abstract

This report presents the synthesis, structural characterization, and biological evaluation of 4-allylthiosemicarbazide derivatives, including thiosemicarbazones, isothiosemicarbazones, and their transition metal complexes (Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(III), and Fe(III)). The ligands were obtained from 4-allylthiosemicarbazide, a derivative of allyl isothiocyanate. The resulting coordination compounds show diverse structures, including mono-, bi-, and polynuclear systems with square-planar, pyramidal, and octahedral geometries. Biological studies revealed significant antiproliferative, antibacterial, antifungal, and antiradical activities. Cu(II) complexes exhibit the highest antibacterial and antiproliferative effects, while Ni(II), Fe(III), and Co(III) complexes demonstrate improved selectivity toward cancer cells. Structural modifications and metal ion choice strongly influence biological activity.

Keywords: 4-allylthiosemicarbazide, 4-allylthiosemicarbazones, *S*-substituted 4-allylisothiosemicarbazones, antiproliferative activity, antibacterial activity, antiradical activity.

COMPUȘI COORDINATIVI BIOLOGIC ACTIVI PE BAZĂ DE 4-ALILTIOSEMICARBAZONE ȘI DERIVAȚII ACESTORA: SINTEZĂ, STRUCTURĂ ȘI PROPRIETĂȚI

Rezumat

Acest raport prezintă sinteza, caracterizarea structurală și evaluarea biologică a derivaților 4-aliltiosemicarbazidei, inclusiv tiosemicarbazone, izotiosemicarbazone și complecșii lor cu metale de tranziție (Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(III) și Fe(III)). Liganzii au fost obținuți din 4-aliltiosemicarbazidă, un derivat al izotiocianatului de alil. Compușii coordinativi obținuți prezintă o diversitate structurală, incluzând sisteme mono-, bi- și polinucleare, cu geometrii plan-pătrate, piramidale și octaedrice. Studiile biologice au evidențiat activitate antiproliferativă, antibacteriană, antifungică și antiradicalică semnificativă. Complecșii de Cu(II) prezintă cea mai ridicată activitate antibacteriană și antiproliferativă, în timp ce complecșii de Ni(II), Fe(III) și Co(III) demonstrează o selectivitate îmbunătățită față de celulele canceroase. Modificările structurale și natura ionului metalic influențează puternic activitatea biologică.

Cuvinte-cheie: 4-aliltiosemicarbazidă, 4-aliltiosemicarbazone, 4-alilizotiosemicarbazone *S*-substituite, activitatea antiproliferativă, activitatea antibacteriană, activitatea antiradicalică.

Introduction

Thiosemicarbazides, thiosemicarbazones, and their derivatives, as well as coordination compounds with this type of ligands attract a continuous interest of the scientists for their potential use as analytical reagents and biological properties [1]. As it was shown in many research articles, the substituents in the thiosemicarbazide moiety have a huge influence on the properties of the resultant thiosemicarbazide, its derivatives, and corresponding coordination compounds [2]. 4-Allylthiosemicarbazide and its derivatives are selected as the theme of this report.

4-Allylthiosemicarbazide (Figure 1) is a derivative of a natural product allyl isothiocyanate (Figure 2) [3]. This compound can be readily converted into 4-allylthiosemicarbazide and, upon condensation, into various thiosemicarbazones.

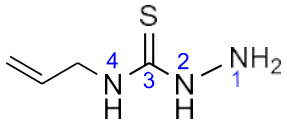


Figure 1. Structural formula of HL1 and atom numbering in thiosemicarbazide fragment.

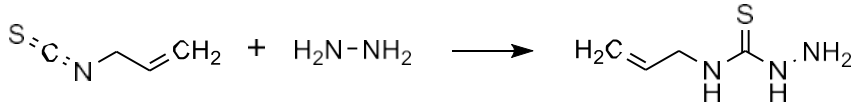


Figure 2. Reaction of 4-allylthiosemicarbazide formation form allyl isothiocyanate.

Materials and methods

The general scheme for the synthesis of 4-allylthiosemicarbazones is presented in Figure 3.

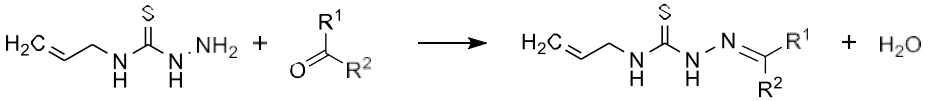


Figure 3. Synthesis of thiosemicarbazones

In the case of some ketones, a two-step reaction was employed (Figure 4) [4].

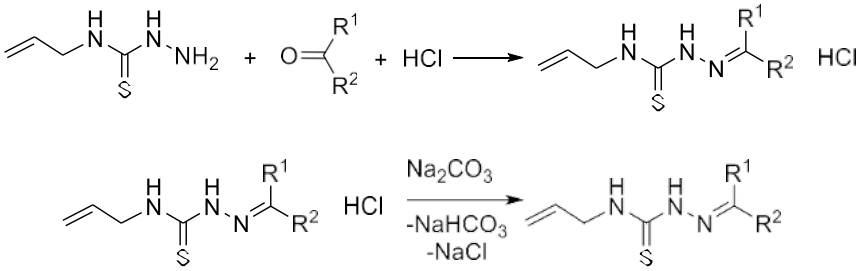


Figure 4. Two-step synthesis of thiosemicarbazones

The general scheme for the synthesis of *S*-substituted isothiosemicarbazones is presented in Figure 5.

Key findings and conclusions

A series of 4-allylthiosemicarbazide derivatives, including thiosemicarbazones and isothiosemicarbazones as well as their coordination compounds with transition metals (Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(III), and Fe(III)) were synthesized and structurally characterized [6-12]. The obtained complexes display a wide structural diversity, ranging from mono- and binuclear to polynuclear systems, with square-planar, pyramidal and octahedral coordination geometries.

The studied compounds exhibit pronounced biological activity, including antiproliferative, antibacterial, antifungal, and antiradical effects. Cu(II) complexes generally show the highest antiproliferative and antibacterial activity, although their selectivity toward cancer cells is moderate. In contrast, some Ni(II), Fe(III), and Co(III) complexes demonstrate improved selectivity, despite slightly lower overall cytotoxicity.

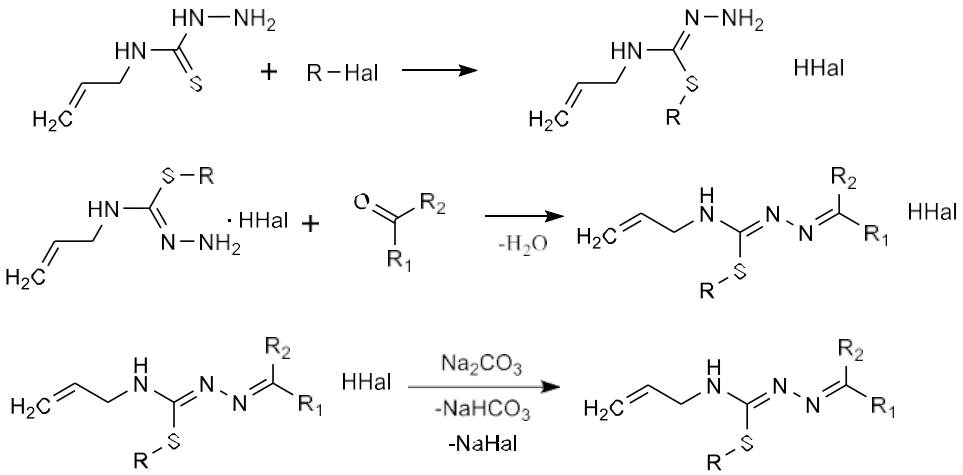


Figure 5. Synthesis of *S*-substituted isothiosemicarbazones [5]

Among the investigated systems, Cu(II) complexes with 4-allylthiosemicarbazones of 2-formylpyridine derivatives show the most promising antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Modification of the coordination sphere, including the introduction of *N*-heteroaromatic co-ligands, significantly influences biological properties.

The transformation of thiosemicarbazones into *S*-substituted isothiosemicarbazones can enhance antifungal activity, indicating an important direction for structural modification. Additionally, both ligands and their metal complexes demonstrate notable antiradical properties, with Ni(II) complexes often showing higher activity than their Cu(II) analogues.

Overall, the results confirm that both metal ion nature and ligand modification play a crucial role in tuning biological activity and selectivity, making these systems promising candidates for the development of new antimicrobial, anticancer, and antioxidant agents.

Acknowledgment

This work was fulfilled with the financial support of the subprogram 010602 of the institutional project.

This report is mainly based on the original results that were obtained in the Scientific Research Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University under the supervision of Academician Aurelian Gulea. The synthesis and investigation of the properties of *S*-substituted 4-allylisothiosemicarbazones were mainly carried out by PhD Irina Kravchuk. The synthesis of mixed-ligand complexes with *N*-heteroaromatic bases, as well as the synthesis of thiosemicarbazones of pyruvamides, were performed by PhD Ianina Graur. If not otherwise mentioned, antibacterial and antifungal activities of the studied substances (in form of MICs, MBCs) were obtained by Greta Balan, Carolina Lozan-Tirsu and Olga Burduniuc from the State University of Medicine and Pharmacy; antiradical activity was determined by Olga Garbuz, antiproliferative activity were performed by Prof. Donald Poirier et al. and Olga Garbuz, crystal structures were determined by Peter Petrenko, Yurii Chumakov, Pavlina Bourosh and Elena Melnic from the Institute of Applied Physics, Moldova State University.

References:

1. Beraldo, H., Gambino, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. Mini Rev. Med. Chem., 2004, 4(1), 31–39. DOI: 10.2174/1389557043487484.
2. Kalinowski, D. S., Quach, P., Richardson, D. R. Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment. Future medicinal chemistry, 2009, 1 (6), 1143-1151. DOI: 10.4155/fmc.09.80
3. Chumakov, Yu. M., Petrenko, P. A., Graur, V. O., Tsapkov, V. I., Gulea A. P. Crystal structure of nitrate tris (4-allylthiosemicarbazide)-chromium(III) hydrate. Journal of Structural Chemistry, 2016, 57 (1), 202-205. DOI: 10.1134/S0022476616010261
4. Graur, V., Graur, I., Gulea, A., Teleucă, I., Lozan-Tîrșu, C., Bălan, G. Copper(II) coordination compounds with 2-acetylpyridine N4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl) thiosemicarbazone as potential antibacterial agents. *Stud. Univ. Mold. Ser. Științe Reale ale Nat.*, 2023, 171(1), 206–213. DOI: 10.59295/sum1(171)2023_27.
5. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32(12), e4544. DOI: 10.1002/aoc.4544.
6. Gulea, A. P., Usataia, I. S., Graur, V. O., Chumakov, Y. M., Petrenko, P. A., Balan, G. G., Burduniuc, O. S., Tsapkov, V. I., Rudic, V. F. Synthesis, Structure and Biological Activity of Coordination Compounds of Copper, Nickel, Cobalt, and Iron with Ethyl N'-(2-Hydroxybenzylidene)-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate. *Russian Journal of General Chemistry*, 2020, 90 (4), 630–639. DOI: 10.1134/S107036322004012X
7. Balan, G., Burduniuc, O., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Yu., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A., Pahontu, E. Novel 2-formylpyridine 4-allyl-Smethylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 2020, 34 (3), e5423 DOI: 10.1002/aoc.5423
8. Graur, V., Usataia, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Garbuz, O., Hureau, C., Gulea, A. Synthesis, characterization, and biological activity of novel 3d metal coordination compounds with 2-acetylpyridine N4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. *Applied Organometallic Chemistry*, 2021, 35 (4), p. e6172 DOI: 10.1002/aoc.6172
9. Graur, V., Chumakov, Y., Garbuz, O., Hureau, C., Tsapkov, V., Gulea, A. Synthesis, Structure, and Biologic Activity of Some Copper, Nickel, Cobalt, and Zinc Complexes with 2-Formylpyridine N^4-Allylthiosemicarbazone. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2022, vol. 2022, Article ID 2705332 DOI: 10.1155/2022/2705332
10. Graur, V., Usataia, I., Graur, I., Garbuz, O., Bourosh, P., Kravtsov, V., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Fala, V., Gulea, A. Novel Copper(II) Complexes with N4,S-Diallylisothiosemicarbazones as Potential Antibacterial/Anticancer Drugs. *Inorganics*, 2023, vol. 11, 195. DOI: 10.3390/inorganics11050195
11. Graur, I., Graur, V., Cadin, M., Garbuz, O., Bourosh, P., Melnic, E., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Tsapkov, V., Fala, V., Gulea, A. 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*, 2024, 29, 3903. DOI: 10.3390/molecules29163903
12. Graur, V. O., Graur, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Lozan-Tirsu, K., Balan, G., Garbuz, O., Tsapkov, V. I., Gulea, A. Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation of Some 3d Metal Complexes with 2-Benzoylpyridine 4-Allylthiosemicarbazone. *Inorganics*, 2025, 13 (7), 249. DOI: 10.3390/inorganics13070249

Authors:



Vasilii GRAUR, PhD, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: vasilii.graur@usm.md
ORCID: 0000-0001-8153-2153

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].

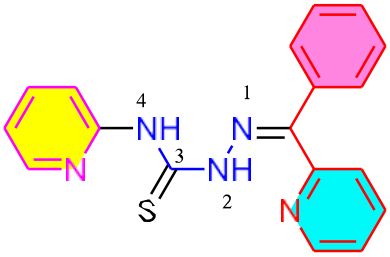


Figura 1. Formula de structură a unei tiosemicarbazone
IUPAC (Z)-2-(fenil(piridin-2-il)metilen)-N-(piridin-2-il)hidrazină-1-carbotioamidă [16]

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”.

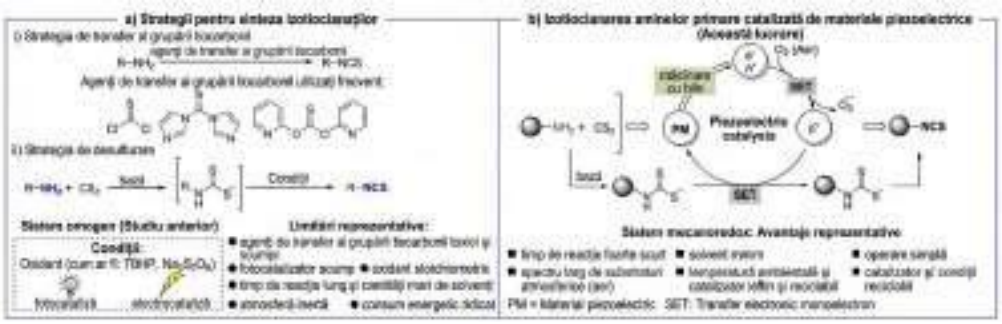


Figura 1. Cele mai noi strategii pentru sinteza izotiocianaturilor [3]

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

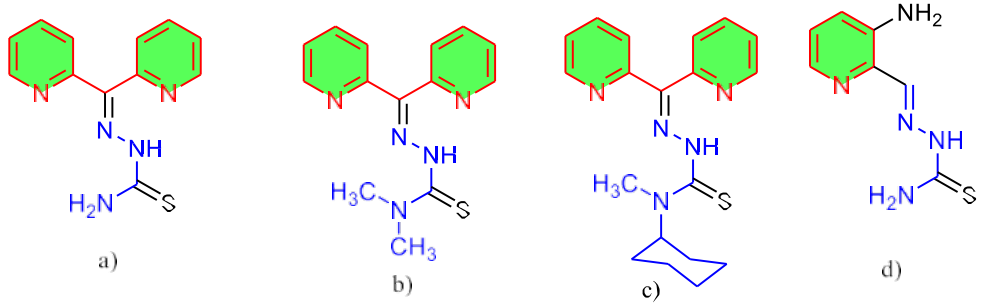
În ingineria materialelor, grupările izotiocianat sunt utilizate pentru:

- 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.

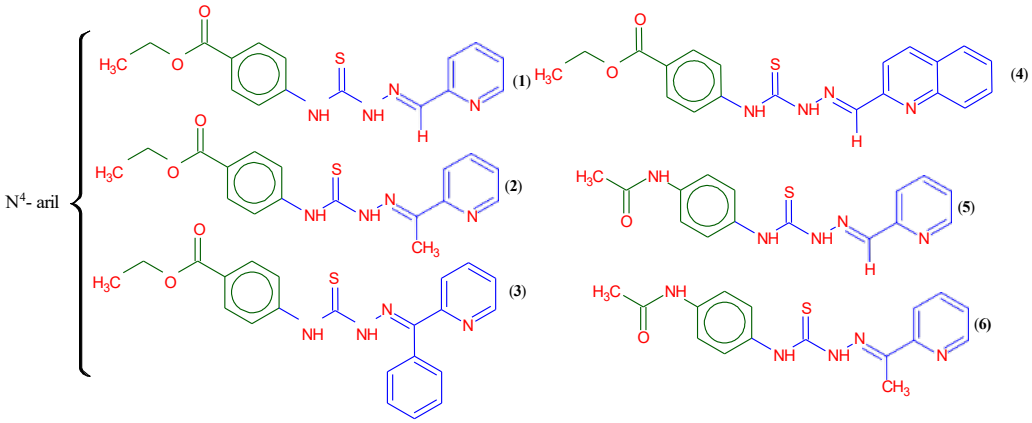


Figura 2. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 1-6, care conțin în poziția N^4 fragmentul aromatic

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.

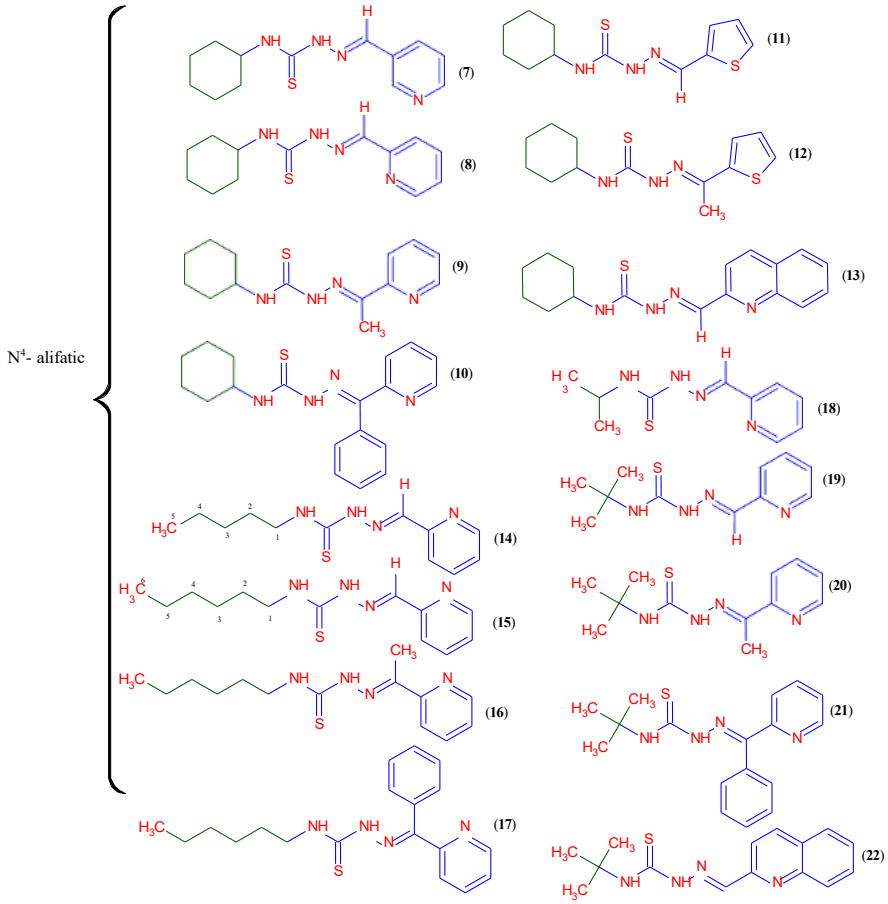


Figura 3. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 7-23, care conțin în poziția N^4 fragmentul alifatic (ciclic sau aciclic)

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.

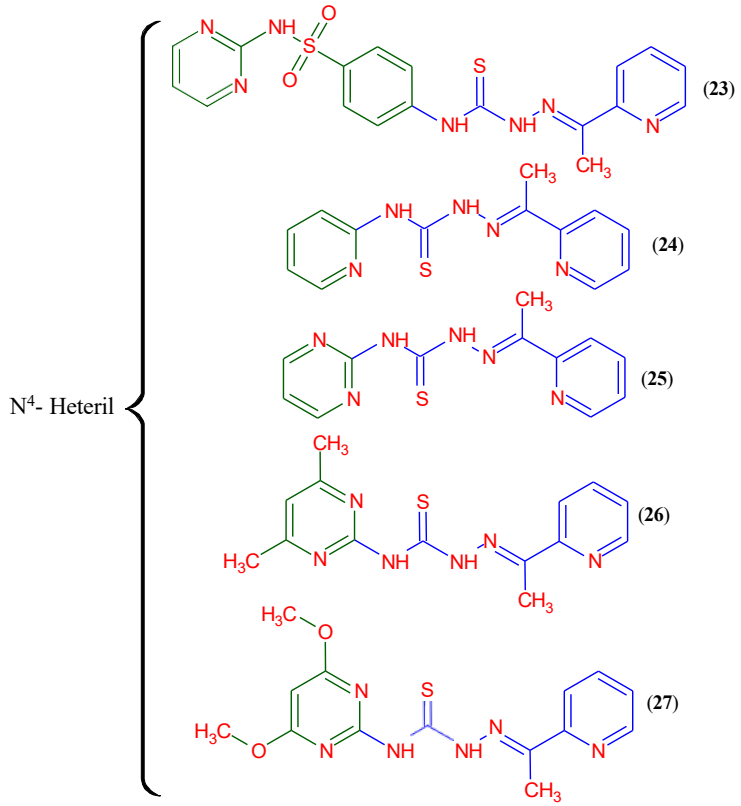


Figura 4. Formule de structură pentru tiosemicarbazonele 23-27, care conțin în poziția N^4 fragmentul heterociclic

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.

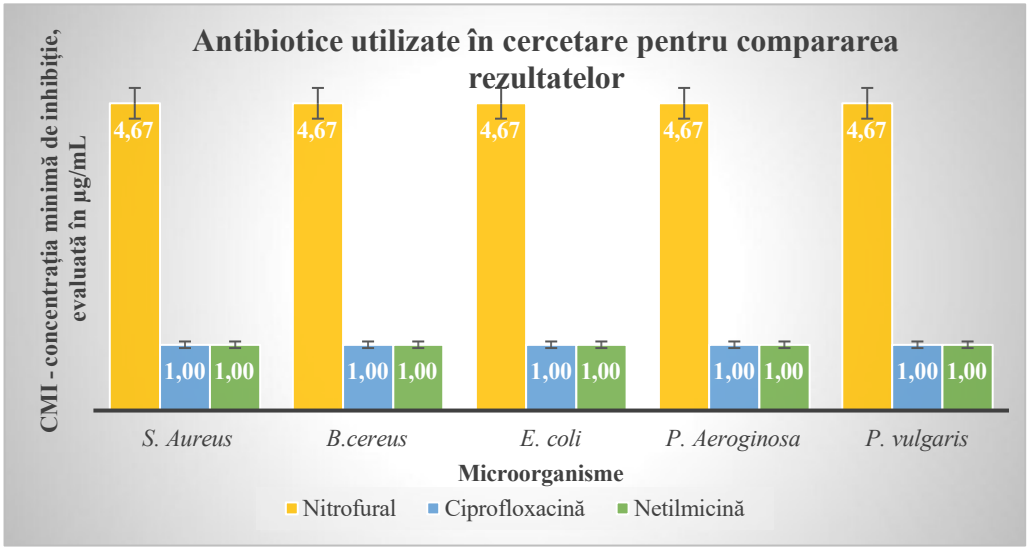
Tabelul 1. Rezultatele activității antimicrobiene ale compușilor 1-27 sintetizați

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.



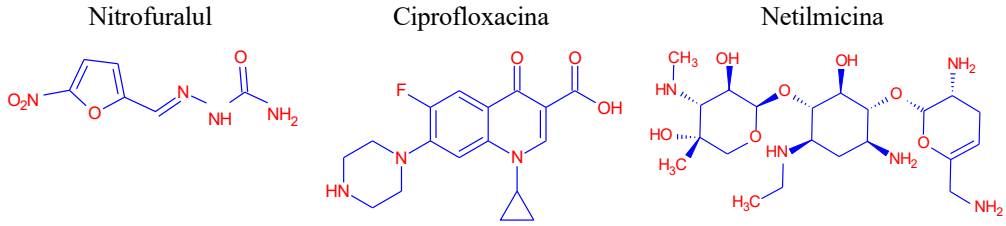


Figura 5. Substanțe de comparație utilizate la inhibarea dezvoltării sau distrugerea bacteriilor

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

CZU: 547.497.1:615.32 https://doi.org/10.59295/mabt2026.04

SOME MEDICAL PROPERTIES OF SYNTHETIC AND NATURAL BIOACTIVE SUBSTANCES

Olga GARBUZ

Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova

Abstract

Thiosemicarbazone-based compounds have garnered significant interest due to their dual antiproliferative (APA) and antioxidant (AOA) properties, crucial for combating cancer progression and associated oxidative stress. Copper(II) coordination complexes demonstrate superior APA (IC_{50} ≤0.1 μM), often surpassing doxorubicin/cisplatin. Ni(II), Zn(II), Co(III), and Fe(III) derivatives offer improved selectivity indices, with N-heteroaromatic modifications further enhancing Cu(II) potency.

Iodinated isothiosemicarbazones (L^9·HI, L^{11}·HI, L^{13}·HI) exhibited exceptional activity (IC_{50} 0.01–1.5 μM), attributed to halogen bonding, increased lipophilicity, and covalent protein adduction. While metal coordination amplifies APA (Cu(II) > Ni(II) > Zn(II)), it often reduces AOA (Cr(III) > Mn(II)).

Bee products provide complementary natural antioxidants. Propolis proved most potent (IC_{50} ABTS = 0.08 mg/mL; DPPH = 0.13 mg/mL), ~2000× superior to honey (543 mg/mL), followed by bee bread (1.45 mg/mL), royal jelly (6.65 mg/mL), beeswax (9 mg/mL).

Keywords: anticancer activity; antioxidant activity; selectivity; synthetic compound; honey bee products; natural bioactive substance.

UNIILE PROPRIETĂȚI MEDICALE ALE SUBSTANȚELOR BIOACTIVE SINTETICE ȘI NATURALE

Rezumat

Compușii pe bază de tiosemicarbazonă au suscitat un interes deosebit datorită proprietăților lor duale antiproliferative (APA) și antioxidante (AOA), esențiale în combaterea progresiei cancerului și a stresului oxidativ asociat. Complexele de coordonare ale cuprului(II) manifestă o activitate antiproliferativă superioară (IC_{50} ≤0,1 μM), depășind frecvent eficacitatea doxorubicinei și cisplatinei. Derivații metalici de Ni(II), Zn(II), Co(III) și Fe(III) indică un profil selectiv îmbunătățit, iar modificările N-heteroaromatice sporesc suplimentar potența complexelor Cu(II).

Izotiosemicarbazonele iodate (L^9·HI, L^{11}·HI, L^{13}·HI) au evidențiat o activitate remarcabilă (IC_{50} între 0,01 și 1,5 μM), atribuibilă interacțiunilor halogenice, lipofilicității crescute și posibilei adducii covalente cu proteinele. În timp ce coordonarea metalelor amplifică efectul antiproliferativ în ordinea Cu(II) > Ni(II) > Zn(II), aceasta poate conduce adesea la o reducere a activității antioxidante, conform secvenței Cr(III) > Mn(II).

Produsele apicole constituie surse naturale complementare de antioxidanți. Dintre acestea, propolisul s-a dovedit cel mai activ (IC_{50} ABTS = 0,08 mg/mL; DPPH = 0,13 mg/mL), fiind de aproximativ 2000 ori mai eficient decât mierea (543 mg/mL), urmat de pâinea de albine (1,45 mg/mL), lăptișorul de matcă (6,65 mg/mL) și ceara de albine (9 mg/mL).

Cuvinte-cheie: activitate anticancerigenă, activitate antioxidantă, selectivitate, compus sintetic, produse apicole, substanță bioactivă naturală.

Introduction

Cancer remains one of the leading causes of death globally, with incidence rates rising across populations due to uncontrolled cell proliferation and metastasis. Conventional chemotherapeutics like doxorubicin and cisplatin demonstrate potent antiproliferative activity but suffer from severe toxicity (selectivity index 0.05–1.8), multi-organ damage, and resistance, necessitating novel selective agents [1-3].

Recent literature highlights metal coordination compounds as promising anticancer candidates. Thiosemicarbazones and isothiosemicarbazones, with their versatile S,N-donor atoms, form stable complexes with 3*d* transition metals (Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II)). These exhibit dual antiproliferative (APA) and antioxidant (AOA) properties through DNA intercalation, apoptosis induction, ROS modulation, and cell cycle arrest [4-9]. Copper(II) complexes show particular promise due to elevated tumor copper levels and angiogenesis inhibition.

Bee products represent a complementary natural antioxidant source. Propolis (50% phenolics) exhibits superior radical scavenging (ABTS / DPPH), followed by bee bread, royal jelly, beeswax, and honey. These mitigate oxidative stress—a carcinogenesis driver—while providing antimicrobial protection.

This article aims to analyze APA/AOA of isothiosemicarbazone 3*d* metal complexes, elucidate structure-activity relationships, antioxidant capacity of bee products.

Materials and methods

Cell Lines and Culture Conditions

Cancer cell lines HeLa (cervical adenocarcinoma), RD (rhabdomyosarcoma), BxPC-3 (pancreatic adenocarcinoma), and normal MDCK (Madin-Darby canine kidney) cells were obtained from ATCC. Cells were maintained in DMEM supplemented with 10% FBS, 2 mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, and 100 µg/mL streptomycin at 37°C in 5% CO_2. Exponential growth phase cells were used for assays.

Antiproliferative Activity (APA) Assays

MTT assay: Cells seeded at 5×10^3 cells/well (96-well plates) were incubated 24 h, then treated with compounds (0.001–100 µM, 24 h). MTT (0.5 mg/mL) added for 4 h; formazan dissolved in DMSO. Absorbance measured at 570 nm (BioTek Synergy H1). IC_{50} calculated via nonlinear regression.

Resazurin assay: Post-24 h treatment, resazurin (10 µM) added for 2–4 h. Fluorescence measured (λ_ex=530 nm, λ_em=590 nm). Cell viability expressed as % control. Selectivity index (SI) = IC_{50} MDCK/IC_{50} cancer line. Doxorubicin (DOXO), cisplatin (CDDP) as standards.

Antioxidant Activity (AOA) Assays

DPPH assay: DPPH (100 µM in MeOH) mixed with samples (0.01–100 mg/mL, 30 min dark, RT). Absorbance measured at 517 nm.

ABTS assay: ABTS generated (7 mM $ABTS^+$ 2.45 mM $K_2S_2O_8$, 12–16 h dark). Diluted to 0.70 ± 0.02 Abs (734 nm). Samples added (30 min, RT). % Inhibition calculated. Trolox as standard.

Sample Preparation

Synthetic compounds: Stock solutions (10 mM) in DMSO. Final DMSO ≤0.1%.

Bee products: Collected May 2025, Institute of Zoology apiary (Moldova). Honey: water-ethanol (1:1 v/v); others: 96% ethanol extracts. Incubated 25°C, 48 h. Filtered (0.22 µm). Tested 0.01–100 mg/mL.

Results and discussion

Anticancer and antioxidant properties of the synthetic compounds and the influence of structure on their activity

Antiproliferative and antioxidant activities in drug development

Antiproliferative activity (APA) and antioxidant activity (AOA) are two important parameters frequently used to evaluate the biological activity of compounds, particularly in drug development.

Oxidative DNA damage is a significant factor in carcinogenesis, aging, and neurodegeneration. Studies show it accumulates in cancerous tissues, with higher levels of oxidative base damage in lung cancer tissues compared to normal tissues. Markers such as 8-oxoG, 8-hydroxyadenine, and 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine are significantly elevated in breast cancer tissues versus normal tissues. This accumulation correlates with increased cancer risk with age, suggesting cancer as a degenerative disease linked to aging. Evidence confirms oxidative DNA damage buildup with age, mainly via elevated 8-oxoG levels.

Antioxidant activity is the ability of compounds to neutralize free radicals and prevent oxidative cell damage. By donating electrons or hydrogen atoms, antioxidants reduce free radical reactivity, aiding cellular defense against oxidative stress. AOA is typically assessed using ABTS and DPPH methods, with Trolox as the standard (Table 1).

Anticancer activity is defined by the ability to inhibit cancer cell proliferation. Compounds with APA may induce cell cycle arrest, promote apoptosis, or alter growth-regulating signaling pathways. Some antioxidants indirectly influence APA by preventing DNA damage and reducing inflammation that promotes tumor growth. APA is evaluated via MTT and resazurin assays, using doxorubicin and cisplatin as standards (Table 1).

Studies indicate substances with high AOA may also possess anticancer properties, as antioxidants scavenge free radicals and mitigate oxidative stress—a cancer development factor. However, high AOA does not guarantee significant APA; some compounds neutralize radicals effectively but lack direct cellular impact or efficacy at high concentrations.

Comparing AOA and APA is essential for understanding therapeutic potential. Deeper analysis of their relationship could lead to drugs that protect against oxidative stress while inhibiting cancer cell growth. Development requires thorough property analysis, mechanism studies, and experimental validation.

High systemic toxicity and drug resistance remain major challenges in cancer treatment despite advances. Chemotherapy causes severe side effects by targeting normal cells, necessitating dose reduction or treatment cessation. Anticancer drugs must exhibit APA and cytotoxicity selectively in tumor cells without affecting normal tissues; the key need is discovering effective, safe agents.

Doxorubicin is a potent FDA-approved frontline chemotherapeutic but causes multi-organ toxicity, especially cardiotoxicity via mitochondrial damage in cardiomyocytes and induced oxidative stress.

Platinum-based drugs are key in treating malignancies but limited by nephrotoxicity, neurotoxicity, and resistance. This spurred research into endogenous metals; copper(II) coordination compounds are promising alternatives to platinum agents due to copper's biocompatibility and biological roles. Copper metabolism is altered in cancer cells, with higher levels in tumors than normal tissues; copper sequestration inhibits angiogenesis. Thus, cancer cells are selective targets for copper-based agents.

Recent reports highlight numerous synthetic copper(II) thiosemicarbazone complexes as pharmacological, anticancer agents active *in vitro* and *in vivo* [10-14].

Thiosemicarbazones are organic compounds with broad biological and medical properties, featuring donor atoms that form complexes with transition metals.

Anticancer screening primarily uses cancer cell lines. Studies by Acad. A. Gulea et al. from the Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Moldova State University Institute of Chemistry, demonstrated APA and AOA of thiosemicarbazones and their Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II) complexes—valuable for preliminary oncology screening [15-17].

Many antitumor drugs induce DNA damage, effective in S-phase replication. Selectivity index used MDCK normal cells to assess cancer vs. non-cancer selectivity, aiding optimal dosing.

Results in Table 1 show doxorubicin and cisplatin's high toxicity (selectivity index 0.05–1.8). Both are effective against HeLa, RD, BxPC-3 lines, with doxorubicin superior to cisplatin. Both have AOA, doxorubicin exceeding Trolox. Correlation exists between AOA and anticancer activity for doxorubicin/cisplatin on HeLa and BxPC-3 lines.

Table 1. Antiproliferative activity of the standard drugs against HeLa, RD, and BxPC-3 cancer cell lines, as well as MDCK cell lines. $ABTS^{\bullet+}$ scavenging activity of DOXO, CDDP, and Trolox.

Compound	ABTS IC_{50} (μM)	SI	BxPC-3 IC_{50} (μM)	SI	RD IC_{50} (μM)	SI	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
DOXO	12.0	1.8	6.0	0.7	16.2	1.8	6.2	10.8
CDDP	43.0	0.1	11.2	0.3	4.6	0.05	30.9	1.5
Trolox	33.3	-	-	-	-	-	-	-

Average results of three experiments, SEM < ±3%.

Antiproliferative and antioxidant activities of isothiosemicarbazones

Isothiosemicarbazones represent a distinct group of organic derivatives synthesized through the condensation of isothiocyanates with hydrazines or related compounds. Unlike thiosemicarbazones, these isomers feature a unique >C=N-NH-C(S)- functional moiety with nitrogen positioning that alters their reactivity profile. Their general structure follows R_1R_2C=NNH-C(S)NH_2, where R_1 and R_2 denote various organic groups. The embedded isothiocyanate functionality confers exceptional reactivity, enabling diverse bond formations. These compounds readily engage in nucleophilic additions and substitution reactions, facilitated by the polarized C=N double bond .

Like their thiosemicarbazone counterparts, isothiosemicarbazones demonstrate antioxidant capabilities, effectively countering oxidative stress through free radical scavenging. Certain derivatives also show promising anticancer potential, suppressing tumor cell proliferation via apoptosis induction or cell cycle blockade. Consequently, isothiosemicarbazones emerge as a compelling chemical class, distinguished by specialized reactivity and pronounced bioactivity. Their utility spans medical applications as antioxidants, oncotherapeutic candidates, and antimicrobial agents, sustaining active investigation within organic synthesis and pharmacological sciences. Table 2 summarizes the antioxidant and antiproliferative potencies of tested isothiosemicarbazones, reported as IC_{50} values.

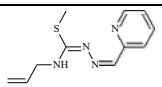
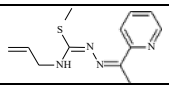
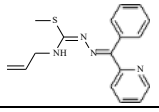
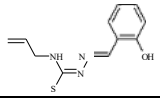
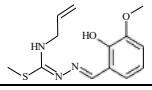
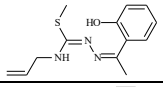
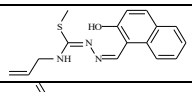
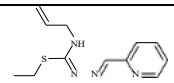
Notably selective APA was observed for ligands including methyl N-prop-2-en-1-yl-N'-[pyridin-2-ylmethylidene]carbamohydrazonothioate, methyl N'-[phenyl(pyridin-2-yl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate, methyl N'-[(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate, ethyl N-prop-2-en-1-yl-N'-[pyridin-2-ylmethylidene]carbamohydrazonothioate, ethyl N-prop-2-en-1-yl-N'-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]carbamohydrazonothioate, and phenyl N'-[(2-hydroxyphenyl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate. Modification with iodine hydriodide markedly amplified APA against examined cancer lines for ethyl N-prop-2-en-1-yl-N'-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]carbamohydrazonothioate (L^9), N'-[(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate (L^{11}), and N-prop-2-en-1-yl-N'-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]carbamohydrazonothioate (L^{13}) (Table 2) .

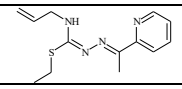
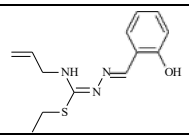
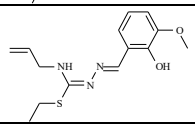
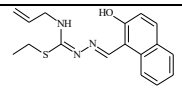
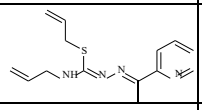
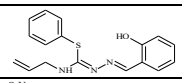
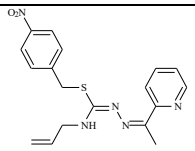
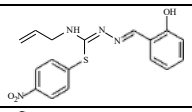
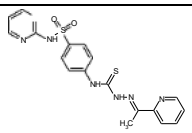
Among these, $L^9 \cdot HI$ proved most potent, achieving IC_{50} = 0.01 μM versus BxPC-3 and 0.7 μM versus RD cells. $L^{11} \cdot HI$ yielded IC_{50} = 0.4 μM (BxPC-3), 1.0 μM (RD), and 1.4 μM (HeLa). $L^{13} \cdot HI$ recorded IC_{50} = 0.5 μM (BxPC-3), 1.2 μM (RD), and 1.5 μM (HeLa) (Table 2). These values surpass corresponding potencies of doxorubicin and cisplatin standards .

This superiority likely stems from iodine's properties as a sizable, polarizable halogen capable of halogen bonding with biomolecular targets. Such interactions stabilize $L^{13} \cdot HI$ configurations, enhancing target affinity and selectivity for proliferation-related sites. Iodination boosts lipophilicity, promoting membrane permeation and intracellular access. Additionally, iodine modulates electron distribution, potentially activating key functional groups to heighten reactivity or binding precision .

Structural distinctions between isothiosemicarbazones and thiosemicarbazones thus underpin their divergent APA and AOA profiles. The former excel in antiproliferative action through optimized engagement with cellular machinery like enzymes and receptors. The isothiocyanate motif further enables covalent protein adduction, disrupting critical functions and curtailing proliferation .

Table 2. Antiproliferative activity of isothiosemicarbazones against HeLa, RD, and BxPC-3 cancer cell lines, as well as the MDCK normal cell line. $ABTS^{\bullet+}$ scavenging activity of the compounds.

	Formula	ABTS IC_{50} (μM)	BxPC-3 IC_{50} (μM)	RD IC_{50} (μM)	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
L^1		≥100	115.5	16.0	≥100	≥100
$L^1 \cdot HI$		≥100	≥100	20.2	≥100	≥100
L^2		≥100	1.4	≥100	47.5	13.0
L^3		-	0.9	30.1	≥100	18.0
L^4		-	≥100	70.6	≥100	≥100
$L^4 \cdot HI$			≥100	≥100	≥100	≥100
L^5		8.8	35.9	44.7	5.2	≥100
$L^5 \cdot HI$		7.7	72.7	126.3	4.0	≥100
$L^6 \cdot HI$		8.7	≥100	≥100	≥100	≥100
L^7		-	≥100	99.8	90	53
L^8		51.2	14.2	≥100	81.4	≥100

	Formula	ABTS IC_{50} (μM)	BxPC-3 IC_{50} (μM)	RD IC_{50} (μM)	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
L^9		≥100	15.5	≥100	≥100	≥100
L^9·HI		41.2	0.01	0.7	≥100	24
L^{10}·HI		13.7	88.0	≥100	≥100	≥100
L^{11}		6.9	≥100	≥100	≥100	≥100
L^{11}·HI		8.6	0.4	1.0	1.4	1.0
L^{12}·HI		6.2	≥100	≥100	≥100	≥100
L^{13}		≥100	13.5	13.71	13.2	11.9
L^{13}·HI		49.9	0.47	1.18	1.45	1.5
L^{14}		34.0	57.6	10.8	27.5	0.1
L^{15}		≥100	≥100	≥100	≥100	≥100
L^{15}·H Br		31.0	48.5	≥100	≥100	≥100
L^{16}		29.0	≥100	≥100	≥100	≥100

Average results of three experiments, SEM < ±3%.

The study of isothiosemicarbazones highlights a significant relationship between their structural characteristics and both APA and AOA. The findings reveal that specific functional groups, such as hydroxyl, methoxy, and halogen substituents like iodine, play a crucial role in modulating the biological activities of these compounds. Hydroxyl and methoxy groups enhance AOA by stabilizing free radicals through hydrogen donation, while the isothiocyanate functionality enables covalent interactions with cellular targets, thereby increasing APA. The incorporation of iodine not only improves the lipophilicity of these compounds but also boosts their binding affinity to biological targets, further amplifying their APA and AOA.

Antiproliferative and antioxidant activities of the 3d metal coordination compounds of isothiosemicarbazones

The comparative analysis of 3*d* metal coordination compounds of thiosemicarbazones and isothiosemicarbazones highlights the impact of different 3d metals on their antiproliferative and antioxidant activities. The study shows that the coordination of these ligands to metal centers generally enhances their antiproliferative properties but tends to reduce their antioxidant capabilities. Notably, a substantial number of these coordination compounds demonstrated antiproliferative activities exceeding those of well-known drugs like doxorubicin and cisplatin.

The study of 3*d* metal coordination compounds reveals a specific order of APA, Cu(II) complexes ≥ Ni(II) complexes ≥ Zn(II) complexes ≥ Co(III) complexes = Fe(III) complexes ≥ Cr(III) complexes, and AOA, Cr(III) complexes ≥ Mn(II) complexes = Fe(III) complexes ≥ Co(III) complexes = Ni(II) complexes = Cu(II) complexes = Zn(II) complexes (Table 3).

Table 3. Antiproliferative activity of the coordination compounds against HeLa, RD, and BxPC-3 cancer cell lines, as well as MDCK cell lines. $ABTS^{\bullet+}$ scavenging activity of the 3*d* metal coordination compound.

	Formula	ABTS IC_{50} (μM)	BxPC-3 IC_{50} (μM)	RD IC_{50} (μM)	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
1.1	$Cu(L_1)(NO_3)_2$	≥100	1.0	1.5	1.1	1.3
1.2	$Cu(L^1)Cl_2$	≥100	1.0	1.1	0.9	5
1.3	$Cu(L^1)Br_2$	≥100	0.3	0.6	1.2	1.5
1.4	$Cu(L^1)(ClO_4)_2$	≥100	1.3	1.3	1.4	5.5
1.5	$Cu(L^1\text{-}H)CH_3COO$	-	0.7	1.7	5.4	6.6
1.6	$Zn(L^1)_2I_2$	-	≥100	10.9	≥100	68
1.7	$Ni(L^1)_2I_2$	-	51.6	14.1	54	95
1.8	$Ni(L^1)_2(ClO_4)$	-	30.6	≥100	74.9	≥100
1.9	$Co(L^1\text{-}H)_2I$	≥100	≥100	≥100	≥100	≥100
1.10	$Co(L^1\text{-}H)_2Cl$	-	48.1	15.8	2.1	≥100
1.11	$Co(L^1\text{-}H)_2(NO_3)$	≥100	≥100	57.0	≥100	≥100
1.12	$Cu(L^1)SO_4$	≥100	≤0.1	0.7	2	2
2.2	$Cu(L^2)Cl_2$	≥100	≤0.1	0.1	3	1
2.3	$Cu(L^2)Br_2$	≥100	≤0.1	≤0.1	0.5	0.3
2.4	$Ni(L^2)_2(ClO_4)_2$	25.1	2.5	6.4	10.1	7.3
2.5	$Ni(L^2)_2(NO_3)_2$	21.5	16.4	≥100	25.5	≥100
2.6	$Co(L^2\text{-}H)_2NO_3$	≥100	12.9	7.5	12.8	18.5
2.7	$Co(L^2\text{-}H)_2I$	≥100	21.8	11.2	10.9	18.8
2.8	$Cu(L^2)(NO_3)_2$	≥100	≤0.1	0.1	1.0	0.7
2.9	$Fe(L^2\text{-}H)_2Br$	≥100	8.5	10.7	3.4	11.0
2.10	$Co(L^2\text{-}H)_2Cl$	≥100	≥100	12.6	92	42
3.1	$Cu(L^3)Br_2$	45.9	0.2	1.3	0.3	1.64
3.2	$Cu(L^3\text{-}H)(CH_3COO)$	≥100	2.8	2.5	1	3
3.3	$Cu(L^3)Cl_2$	≥100	≥100	13.4	≥100	36.3
3.4	$Ni(L^3)_2(NO_3)_2$	21.1	1.3	8.3	2.9	14.4
3.5	$Ni(L^3)_2(ClO_4)_2$	22.0	3.0	9.3	4.3	10.0
3.6	$Co(L^3\text{-}H)_2(CH_3COO)$	≥100	7.3	1.4	1	12.4
3.7	$Co(L^3\text{-}H)_2NO_3$	≥100	1.3	1.1	0.8	1.9
3.8	$Zn(L^3)I_2$	55.7	2.5	12.2	1.4	11.1
3.9	$Fe(L^3\text{-}H)_2NO_3$	10.0	≥100	0.9	15	75
4.2	$Co(L^4\text{-}H)_2NO_3$	7.1	≥100	49.3	≥100	≥100
4.3	$Co(L^4\text{-}H)_2Cl$	23.2	≥100	≥100	≥100	≥100

	Formula	ABTS IC_{50} (μM)	BxPC-3 IC_{50} (μM)	RD IC_{50} (μM)	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
4.4	$Co(L^4\text{-}H)_2I$	21.7	≥100	≥100	≥100	≥100
4.5	$Cr(L^4\text{-}H)_2NO_3$	1.2	≥100	≥100	≥100	≥100
4.6	$Ni(L^4)(L^4\text{-}H)ClO_4$	-	22.4	≥100	91.1	≥100
4.7	$Cu(L^4\text{-}H)CH_3COO$	-	0.4	11.1	3.1	13.1
4.8	$Cu(L^4\text{-}H)Br$	-	0.6	5.2	1.6	12.7
4.9	$Cu(L^4\text{-}H)Cl$	-	0.5	1.2	6.2	13.56
4.10	$Cu(Py)(L^4\text{-}H)NO_3$	46.6	1.28	11.4	5.0	12.2
4.11	$Cu(3\text{-}Pic)(L^4\text{-}H)NO_3$	53.1	0.7	13.8	9.4	16.9
4.12	$Cu(Im)(L^4\text{-}H)NO_3$	48.9	2.8	12.1	4.7	27.3
4.13	$Cu(3,4\text{-}Lut)(L^4\text{-}H)NO_3$	47.0	6.3	10.2	71.2	12.3
4.14	$Cu(1,10\text{-}Phen)(L^4\text{-}H)NO_3$	11.6	0.96	1.28	2.7	1.34
4.15	$Cu(L^4H)Cl$	20.9	0.4	1.2	1.0	1.3
5.2	$Cu(L^5\text{-}H)NO_3$	38.9	3.7	1.19	1.3	4
5.3	$Ni(L^5)(L^5\text{-}H)NO_3$	15.5	≥100	≥100	≥100	30
5.4	$Ni(L^5)(L^5\text{-}H)I$	8.3	15.4	9.7	4.3	12
5.5	$Co(L^5\text{-}H)_2NO_3$	20.9	≥100	≥100	≥100	≥100
5.6	$Co(L^5\text{-}H)_2I$	19.2	≥100	≥100	≥100	≥100
5.7	$Co(L^5\text{-}H)_2Cl$	23.1	≥100	≥100	≥100	≥100
5.8	$Fe(L^5\text{-}H)_2NO_3$	9.6	81.0	1.1	≥100	≥100
5.9	$Cu(L^5\text{-}H)Cl$	13.1	0.9	10.9	2.3	11.8
6.2	$Cu(L^6\text{-}H)NO_3$	12.2	2.5	12.5	14.5	12.2
6.3	$Cu(L^6\text{-}H)ClO_4$	16.3	1.2	3.2	6.6	13.3
6.4	$Cu(L^6\text{-}H)(CH_3COO)$	19.8	0.8	1.3	1.7	4.9
6.5	$Ni(L^6\text{-}H)_2$	6.0	78.3	≥100	≥100	≥100
6.6	$Co(L^6\text{-}H)_2NO_3$	14.5	8.5	≥100	23.8	≥100
6.7	$Co(L^6\text{-}H)_2Br$	7.5	5.0	10.7	≥100	27.2
6.8	$Co(L^6\text{-}H)_2I$	15.3	35.9	≥100	32.1	≥100
6.9	$Fe(L^6\text{-}H)_2NO_3$	2.1	34.1	≥100	28.3	≥100
7.1	$Cu(L^7\text{-}H)ClO_4$	11.9	1.3	12.5	3.9	14.7
7.2	$Ni(L^7)(L^7\text{-}H)ClO_4$	5.2	9.3	≥7	44.0	≥100
7.3	$Ni(L^7\text{-}H)_2$	8.6	0.72	9.8	3.5	12.6
7.4	$Co(L^7\text{-}H)_2NO_3$	16.5	44.3	≥100	≥100	≥100
7.5	$Co(L^7\text{-}H)_2I$	-	≥100	117.5	57.7	≥100
7.6	$Cr(L^7\text{-}H)_2NO_3$	1.4	≥100	≥100	≥100	≥100
8.1	$Cu(L^8\text{-}H)Cl$	108.0	≤0.1	≤0.1	1.5	0.4
8.2	$Co(L^8\text{-}H)_2I$	≥100	11.3	11.1	14.0	16.9
9.1	$Co(L^9\text{-}H)_2I$	≥100	4.1	1.2	1.9	5.6
9.2	$Ni(L^9)_2I_2$	16.7	5.2	≥100	6.4	≥100
9.3	$Cu(L^9)Cl_2$	-	≤0.01	0.2	0.5	1.4
9.4	$Cu(L^9)(NO_3)_2$	-	0.04	0.14	0.3	1.3
10.1	$Cu(L^{10}\text{-}H)NO_3$	27.9	1.0	5.5	13	1.6
10.2	$Cu(L^{10}\text{-}H)Br$	38.6	21.8	11.8	37.1	33.4
10.3	$Ni(L^{10})(L^{10}\text{-}H)ClO_4$	8.0	0.8	1.4	1.7	1.1
10.4	$Fe(L^{10}\text{-}H)_2NO_3$	12.5	1.3	≥100	2.2	≥100
10.5	$Co(L^{10}\text{-}H)_2NO_3$	19.3	≥100	≥100	≥100	≥100
10.6	$Cu(L^{10}\text{-}H)Cl$	13.7	≥100	12.6	14	12
10.7	$Ni(L^{10})(L^{10}\text{-}H)I$	6.2	69.0	56.7	82.6	≥100
10.8	$Co(L^{10}\text{-}H)_2I$	30.1	19.1	36.5	≥100	28.6
11.1	$Co(L^{11}\text{-}H)_2I$	19.0	≥100	≥100	≥100	≥100
11.2	$Ni(L^{11}\text{-}H)_2$	12.0	≥100	≥100	≥100	≥100

	Formula	ABTS IC_{50} (μM)	BxPC-3 IC_{50} (μM)	RD IC_{50} (μM)	HeLa IC_{50} (μM)	MDCK IC_{50} (μM)
11.3	$Co(L^{11}\text{-}H)_2Br$	17.9	≥100	≥100	≥100	≥100
11.4	$Co(L^{11}\text{-}H)_2(CH_3COO)$	23.2	≥100	≥100	≥100	≥100
11.5	$Co(L^{11}\text{-}H)_2NO_3$	21.7	≥100	≥100	≥100	≥100
11.6	$Fe(L^{11}\text{-}H)_2NO_3$	4.0	3.7	-	9.8	-
12.1	$Cu(L^{12}\text{-}H)Cl$	-	1.16	6.7	7.9	20.0
12.2	$Cu(L^{12}\text{-}H)NO_3$	-	0.9	18.8	9.3	12.7
12.3	$Co(L^{12}\text{-}H)_2I$	16.0	≥100	≥100	≥100	≥100
13.1	$Cu(L^{13})Br_2$	65.6	≤0.01	1.3	0.39	1.23
13.2	$Cu(L^{13})(NO_3)_2$	25.1	0.040	0.14	0.3	1.3
13.3	$Cu(L^{13})Cl_2$	65.5	≤0.01	0.2	0.5	1.4
14.1	$Cu(L^{14}\text{-}H)Cl$	≥100	1.5	1.2	1.1	0.0
14.2	$Co(L^{14}\text{-}H)_2Cl$	≥100	7.1	≥100	12.5	≥100
15.1	$Cu(L^{15})Br_2$	≥100	8.5	1.4	16.6	2.39
15.2	$Ni(L^{15})_2Br_2$	88.7	32.2	≥100	≥100	≥100
15.3	$Fe(L^{15}\text{-}H)_2NO_3$	≥100	3.1	2.0	5.5	1.1
15.4	$Co(L^{15}\text{-}H)_2Br$	-	10.7	12.4	22.9	24.6
16.1	$Ni(L^{16}\text{-}H)_2$	48.8	88.8	≥100	16.7	≥100
16.2	$Co(L^{16}\text{-}H)_2NO_3$	≥100	21.9	≥100	≥100	≥100

Average results of three experiments, SEM < ±3%.

The diversity of biological activity in these compounds arises from the interplay of metal ion characteristics, proligand architecture, and the biochemical milieu in which they operate. Each transition metal's distinct coordination chemistry—including coordination numbers and spatial geometries—profoundly shapes ligand-target affinities, dictating their bioefficacy. For example, the structural motifs in Cu(II) complexes optimize engagement with biomolecular sites. Furthermore, the redox states and reactivity profiles of metals such as copper and nickel can trigger signaling cascades that amplify antiproliferative outcomes .

Proligand design critically modulates potency. Thiosemicarbazone functional moieties enhance the stability and responsiveness of metal complexes, directly elevating their antiproliferative impact. Electron-delocalizing ligands stabilize reactive intermediates or target cancer cell hotspots, synergistically bolstering both antioxidant and growth-inhibitory effects. These metal assemblies selectively disrupt key cellular enzymes and signaling receptors; copper derivatives, in particular, excel at triggering apoptosis in malignant cells. In terms of antioxidant performance, 3*d* metal complexes promote radical quenching. Ions like chromium and manganese drive redox cycling that elevates ligand antioxidative capacity, fortifying defenses against oxidative insult. Variations in metabolic routing and biodistribution further refine their therapeutic utility.

The established hierarchy of antiproliferative and antioxidative traits reveals intricate synergies among metal cores, ligand scaffolds, and physiological processes. Cu(II) and Ni(II) assemblies achieve peak performance through ideal physicochemical attributes and target interactions, whereas alternative metals face inherent limitations. Ongoing studies promise refined strategies for engineering potent anticancer therapeutics.

Comparative evaluation of 3*d* metal isothiosemicarbazone complexes illuminates the multifaceted roles of diverse metal centers in modulating APA and AOA. Data reveal that metal coordination typically augments antiproliferative prowess while often attenuating antioxidative strength. Strikingly, numerous such entities outperform benchmark chemotherapeutics like doxorubicin and cisplatin in growth suppression.

The antioxidant capacity of honey bee products

The biological material (honey, beeswax, royal jelly, bee uterus, propolis, and pollen) was collected in late May. The samples were collected and registered at the apiary of the Republic of Moldova.

Honey dissolved in a water-alcohol solution (1:1); beeswax, royal jelly, bee uterus, propolis, and pollen dissolved in 96% ethanol were incubated in a thermostat at 25°C for 2 days. The biological material is examined at least 3 times at different concentrations ranging from 0.01 to 100.00 μM. In this study, the two most frequently used methods for assessing free radical scavenging ability, $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ assays, were performed, and Trolox was used as a reference.

The IC_{50} values of the bee products in control exhibiting the concentration that caused 50% scavenging of free radicals $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ are presented in Table 4. These two free radical scavenging activities revealed that the IC_{50} values of the tested samples ranged from 0.13 -543.00 mg/mL for the $DPPH^{\bullet}$ assay and from 0.08 -159.40 mg/mL for the $ABTS^{\bullet+}$ assay. The Table 4 data indicate that all honey bee products display a significant antioxidant capacity. The $ABTS^{\bullet+}$radical scavenging ability of the tested samples can be ranked in the following order: Propolis ≥ Bee Bread ≥ Royal Jelly ≥ Beeswax ≥ Bee Uterus ≥ Honey.

Of honey bee products, propolis seems to be the most powerful antioxidant as it contains the highest levels of phenols and flavonoids, followed by pollen and royal jelly, according to literature data [18]. Our AOC studies on bee products in the control group showed a level of activity consistent with data from literary sources. Propolis has demonstrated the highest radical scavenging activity, IC_{50} making 0.08 mg/mL for $ABTS^{\bullet+}$ and 0.13 mg/mL for $DPPH^{\bullet}$.

Propolis (bee glue) is not a food, unlike honey and pollen. Bees utilize it as both a building material and a protective substance. They use it to repair combs and strengthen thin honeycomb edges. Propolis is also employed for its biological activity as an insulating material to prevent microorganisms (fungi and bacteria) from penetrating the hive and to build the most sterile environment known in nature [19]. It is also active against human pathogens. Generally, naturally-occurring propolis is composed of 50% resin and vegetable balsam (including phenolic compounds), 30–40% wax and fatty acids, 5–10% essential and aromatic oils, 5% pollen, and approximately 5% other substances, including micronutrients, amino acids, and vitamins (pyridoxine, thiamin, vitamins C and E and riboflavin).

Bee bread showed radical scavenging activity with IC_{50} values of 2.43 mg/mL for $ABTS^{\bullet+}$ assay and 1.45 mg/mL for $DPPH^{\bullet}$ assay. Bee bread is a part of the pollen stored by bees in their combs, sealed with a thin honey and beeswax layer, and matured in a beehive. It is used by worker bees as food for larvae, and the production of royal jelly by young bees. Bee bread is processed by bees for storage by adding various enzymes and honey, leading to fermentation renders. The end product is enriched with new nutrients and becomes more digestible due to this type of lactic acid fermentation, as cell walls are partly destroyed during this process. Bee bread is more nutritious than pollen because of its higher free amino acid content and easily assimilated sugars. Its almost unlimited storage capacity as compared with dried or frozen pollen in which nutritional values rapidly vanish is one of the bee bread advantages [20].

The royal jelly manifested high AOC, with IC_{50} values of 6.65 mg/mL and 15.14 mg/mL for $ABTS^{\bullet+}$ and $DPPH^{\bullet}$ radicals, respectively. Royal jelly is a compound that is secreted by the hypopharyngeal and mandibular glands of worker honeybees. It is a yellowish, creamy, acidic substance with a slightly acrid scent and taste constituted on a wet weight basis including water (60–70%), proteins (9–18%), sugars (7–18%) (mainly fructose, glucose, and sucrose), lipids (3–8%), minerals (0.8–3.0%), ash (0.8–3%), and traces of polyphenols and vitamins [21]. All bee larvae in the early stages of life and the queen bee until she dies are fed with royal jelly. It plays a decisive role in determining the class of honeybees because larvae fed with greater amounts of

royal jelly for longer periods grow into large, fertile, long-living queens rather than smaller, infertile, short-living workers. Ramadan and Al-Ghamdi reported in their review that royal jelly possesses a large number of functional properties such as disinfectant action, antibacterial, vasodilative, hypotensive, anti-inflammatory, antihypercholesterolemic, antioxidant, and antitumor activity [5].

Table 4. AOC of the bee products

Control	ABTS$^{\bullet+}$					DPPH$^{\bullet}$			
	C (mg/mL)	Abs 734nm	Inh (%)	SD (%)	IC_{50} (mg/mL)	Abs 517nm	inh (%)	SD (%)	IC_{50} (mg/mL)
HONEY	100.00	0.506	39.76	0.51	159.40±8.91	0.561	33.15	0.08	543.00±38.18
	10.00	0.782	6.85	0.59		0.708	15.71	0.17	
	1.00	0.813	3.15	0.42		0.722	13.99	0.08	
	0.10	0.825	1.79	0.67		0.759	9.64	1.18	
BEE BREAD	50.00	0.054	93.57	0.34	2.43±0.01	0.026	96.85	0.08	1.45±0.04
	5.00	0.369	56.07	0.34		0.126	85.00	0.17	
	0.50	0.591	29.58	0.42		0.685	18.39	0.93	
	0.05	0.775	7.68	0.42		0.802	4.52	1.85	
BEESWAX	50.00	0.063	92.44	0.42	9.26±0.07	0.019	97.74	0.01	9.04±0.04
	5.00	0.597	28.93	0.67		0.644	23.33	0.51	
	0.50	0.770	8.33	0.17		0.753	10.30	1.26	
	0.05	0.838	0.24	0.17		0.800	4.70	0.25	
PROPOLIS	5.00	0.060	92.86	1.52	0.08±0.01	0.092	88.99	0.42	0.13±0.01
	0.50	0.291	65.30	0.08		0.145	82.74	1.52	
	0.05	0.404	51.90	0.17		0.633	24.64	0.51	
	0.01	0.735	12.44	0.25		0.772	8.04	1.43	
ROYAL JELLY	50.00	0.045	94.58	0.93	6.65±0.05	0.050	93.99	0.08	15.14±1.51
	5.00	0.512	39.05	0.34		0.755	10.12	0.84	
	0.50	0.732	12.86	0.34		0.761	9.35	0.59	
	0.05	0.827	1.55	0.17		0.796	5.24	1.01	
BEE UTERUS	50.00	0.060	92.86	1.68	9.11±0.24	0.061	92.74	2.69	12.54±0.89
	5.00	0.594	29.23	0.25		0.709	15.54	0.42	
	0.50	0.748	10.89	0.25		0.738	12.08	0.93	
	0.05	0.836	0.42	0.25		0.833	0.77	0.42	

The antioxidant performance of royal jelly is attributed to its free amino acids, including essential ones; polyphenolic and flavonoid compounds; small peptides, such as di-peptides (Lys-Tyr, Arg-Tyr, and Tyr-Tyr) yielded from protease hydrolyzed royal jelly proteins; vitamins; fatty acids (the main being 10-hydroxydecanoic acid); and peptides and proteins [5]. The major flavonoids that occur in royal jelly include flavonols (e.g., kaempferol, quercetin, fisetin, and

galangin), flavanones (e.g., pinocembrin, naringin, and hesperidin), and flavones (e.g., acacetin, apigenin, luteolin, and chrysin). A family of proteins secreted by honey bees comprises major royal jelly proteins (MRJPs). The family includes nine proteins, of which MRJP1 (also called royalactin), MRJP2, MRJP3, MRJP4, and MRJP5 are present in the royal jelly secreted by worker bees. MRJP1 is the amplest and largest in volume. The five proteins make 82–90% of the total proteins in royal jelly [5]. DPPH radical-scavenging assay carried out by Park et al. confirmed the antioxidant capacity of MRJPs 1–7 of *Apis mellifera* at levels varying between approximately 30 and 80% of the residual radical.

Beeswax and Bee Uterus demonstrated relatively similar strong AOC, with IC_{50} values of 9.26 mg/mL ($ABTS^{\bullet+}$) – 9.04 mg/mL ($DPPH^{\bullet}$) and 9.11 mg/mL ($ABTS^{\bullet+}$) – 12.54 mg/mL ($DPPH^{\bullet}$), respectively. Beeswax is secreted by Beeswax Worker bees through wax glands located in the abdomen. The peaks of this substance production fall generally during the colony growth phase in late spring. Beeswax is used to make combs. The synthesis of beeswax starts from honey sugars, and it has a crystalline structure suitable for hive construction. Chemical composition depends on bee species and geographical zones and includes free fatty acids, free fatty alcohols, and hydrocarbons, linear wax monoesters, hydroxymonoesters deriving from palmitic, 15-hydroxypalmitic and oleic acids, and complex wax esters containing 15-hydroxypalmitic acid and diols.

The studies on the beeswax AOC involve the by-products of wax recycling and the associated cost-benefit tradeoff. Honey, propolis, pollen, and royal jelly are considered commodities, while honeycomb is discarded as a by-product in bee product processing and production. Beeswax recycling can transform it into compounds previously considered industrial waste, though they could be of great value in biomedicine. This issue needs further exploration. It has been demonstrated by Zhao et al. and Giampieri et al. that byproducts from beeswax recycling present a rich source of proteins, minerals, and polyphenols, conferring strong total antioxidant capacity and low toxin levels.

Honey, a sweet naturally-occurring product appreciated for its nutritive value and beneficial health effects, is produced by honeybees *Apis mellifera* that directly select nectar from plants or the excretions of plant-sucking insects. Honey is known for its high antibacterial activity; thus, its use in modern medicine represents an attractive alternative treatment to deal with multidrug-resistant pathogens. Different factors, including hydrogen peroxide, a low pH, and high osmolarity contribute to honey's antibacterial activity. The presence, among its various components, of natural antioxidants is the most important therapeutic property of honey. It contains about 200 compounds, which are mainly sugars (fructose 25–45% and glucose 20–40%), water, and other substances, such as protein, amino acids, vitamins, enzymes, ash, organic acids, minerals, and phenolic and flavonoid compounds, which greatly contribute to its biological activity. The therapeutic capacity of honey is linked to the presence, variety, and amounts of bioactive compounds. In its turn, this depends on the type of flora, climatic conditions, geographical location of production, soil composition, seasonal factors, environmental conditions, botanical and entomological sources, as well as the production process. The enormous number of bioactive compounds in honey consists of molecules with phenolic structures, such as phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, procyanidins, vitamin E, vitamin C (ascorbic acid), enzymes (e.g., catalase, peroxidase), carotenoids, Maillard reaction products, and trace elements. The principle composition of phenolic compounds in different honey varieties is relatively similar and includes phenolic acids, such as ellagic, caffeic, p-coumaric, and ferulic acids; flavonoids, including galangin, apigenin, chrysin, kaempferol, hesperetin, quercetin, and pinocembrin, and antioxidants, such as ascorbic acid, tocopherols, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and reduced glutathione (GSH) [5]. In our studies, the

Honey displayed AOC in the IC_{50} values (159.40 mg/mL for $ABTS^{\bullet+}$ and 543.00 mg/mL for $DPPH^{\bullet}$).

All bee products have a high AOC, which is correlated with the content of antioxidant compounds such as flavonoids, phenolic acids, organic acids, amino acids, vitamins, enzymes, minerals, etc. The AOC of bee products in most cases exceeds the activity of a water-soluble analog of vitamin E - Trolox, which is a common standard antioxidant employed in biochemical techniques conducted to reduce oxidative stress.

Conclusions

Thiosemicarbazone-based compounds have garnered significant interest in recent years due to their remarkable potential as inhibitors of cancer cell proliferation. These compounds not only exhibit powerful antiproliferative effects but also possess antioxidant properties, which are crucial in combating oxidative stress associated with cancer progression. This article discusses their antioxidant and antiproliferative activities, as well as how the antitumor activity is related to the antioxidant properties of isothiosemicarbazones, and their coordination complexes with transition metals such as zinc(II), copper(II), nickel(II), cobalt(III), and iron(III).

Research indicates that coordinating thiosemicarbazones with copper(II) enhances their antiproliferative properties; however, these compounds often lack optimal selectivity, though their selectivity indexes compare favorably with those of doxorubicin and cisplatin used in medical practice. Notably, copper coordination compounds derived from *N*4-allylthiosemicarbazide have shown significant inhibitory effects against various cancer cell lines, often surpassing established chemotherapeutic agents. Coordination compounds involving nickel(II), iron(III), and cobalt(III) may exhibit lower overall activity against cancer cells but demonstrate improved selectivity, targeting cancer cells more effectively than normal cells.

Furthermore, enhancing the anticancer properties and selectivity of copper(II) coordination compounds can be achieved by introducing specific *N*-heteroaromatic bases. The search for new anticancer agents should extend beyond copper(II) to include promising candidates from nickel(II), zinc(II), cobalt(III), and iron(III) coordination compounds, which possess noteworthy selectivity.

This study underscores the importance of the antioxidant activity of isothiosemicarbazones, considering the role of oxidative stress in cancer progression. This work presents data on the ability of these compounds to neutralize free radicals, which is critical for protecting cellular components from oxidative damage. The results indicate that certain coordination compounds, especially those containing nickel, zinc, and iron, demonstrate superior antioxidant activity compared to their copper and cobalt counterparts. It was observed that many coordination compounds generally exhibit lower antioxidant activity than their corresponding free ligands.

Electrophoretic separation techniques revealed that interactions between the tested compounds and DNA resulted in fragmentation, highlighting the initiation of apoptosis in these cells. This apoptosis was characterized by significant morphological changes and was further corroborated through a microscopic cell analysis and flow cytometry.

Furthermore, an X-ray diffraction analysis revealed the electron density distribution within one of the most promising molecules, 4-allylthiosemicarbazone 2-formylpyridine, which exhibits high antiproliferative activity. The data indicate that a high electron density on the nitrogen atom of the pyridine ring plays a crucial role in facilitating the formation of hydrogen bonds with DNA. This interaction underscores the compound's capacity to interfere with DNA functions.

Nuclear magnetic resonance (NMR) studies supported these findings, confirming that the interactions between the molecular proliferation inhibitors and DNA indeed lead to the establishment of hydrogen bonds. Such interactions are pivotal for apoptotic signaling pathways,

emphasizing that enhanced binding to genomic DNA is a significant mechanism underlying the anticancer activity of these compounds.

Our correlation analysis of the overall data block conducted as part of our study indicates a potential correlation between AOA and APA. This suggests that some compounds with high antioxidant activity may also have enhanced anticancer properties.

The observation that some compounds may operate through similar or complementary mechanisms highlights the need for further exploration of the relationships between AOA and APA. Investigating how antioxidant properties can enhance the anticancer efficacy of specific compounds is crucial for developing more potent therapeutic strategies.

This research illustrates that, despite extensive previous studies on thiosemicarbazones, many unknowns remain. Their coordination with 3*d* metal ions and modifications of their inner sphere can lead to the development of new compounds with promising biological activity and selective action. Therefore, these substances may have potential applications in drug development, targeted therapies, and combination treatments.

Bee products provide complementary natural antioxidants. Propolis proved most potent (IC_{50} ABTS = 0.08 mg/mL; DPPH = 0.13 mg/mL), ~2000× superior to honey (543 mg/mL), followed by bee bread (1.45 mg/mL), royal jelly (6.65 mg/mL), beeswax/queen bee (9 mg/mL).

Acknowledgements

This research was funded by the subprograms 010602 and 010701 (Moldova State University).

This research was undertaken under the scientific guidance of Academician Aurelian Gulea. His extensive knowledge of coordination chemistry and bio-pharmaceutical sciences proved invaluable in securing the findings herein reported. As my principal supervisor, he supplied meticulous methodological direction and cultivated a setting ripe for intellectual advancement.

On the occasion of his 80th birthday, I offer heartfelt thanks for his substantial contributions to science in the Republic of Moldova. His stewardship has materially shaped my scholarly trajectory. Academician Gulea's notable body of work and steadfast support for nascent researchers embody the finest traditions of academic rigour.

With deepest regards and best wishes for his 80th jubilee.

References:

1. Ismail, M.A., Arafa, R.K., Youssef, M.M., El-Sayed, W.M. Anticancer, antioxidant activities, and DNA affinity of novel monocationic bithiophenes and analogues. *Drug Des. Dev. Ther.*, 2014, 8, 1659–1672. DOI: 10.2147/DDDT.S68016.
2. Bray, F., Jemal, A., Grey, N., Ferlay, J., Forman, D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): A population-based study. *Lancet Oncol.*, 2012, 13, 790–801. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70211-5.
3. Roy, P.S., Saikia, B.J. Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J. Cancer*, 2016, 53, 441–442. DOI: 10.4103/0019-509X.200658.
4. Graur, V., Gulea, A. Novel Biological Agents Based on Metal Complexes of N4-Allylthiosemicarbazones and Their Derivatives. Monograph; CEP USM: Chișinău, Moldova, 2024. ISBN 978-9975-62-716-0.
5. Garbuz, O., Gudumac, V., Toderaș, I., Gulea, A. Antioxidant Properties of Synthetic Compounds and Natural Products. Action Mechanisms. Monograph; CEP USM: Chișinău, Moldova, 2023. ISBN 978-9975-62-516-6.
6. Garbuz, O., Toderas, I., Gulea, A. Biological Properties of Some Synthetic and Natural Compounds. Correlation of anticancer and Antioxidant Activities. Monograph; Tipografia Centrală: Chișinău, Moldova, 2024, 271p. ISBN 978-5-88554-387-3.
7. Rusnac, R., Garbuz, O., Kravtsov, V., Melnic, E., Istrati, D., Tsapkov, V., Poirier, D., Gulea, A. Novel Copper(II) Coordination Compounds Containing Pyridine Derivatives of N4-Methoxyphenyl-

Thiosemicarbazones with Selective Anticancer Activity. *Molecules*, 2024, 29, 6002. DOI: 10.3390/molecules29246002.

8. Garbuz, O., Graur, V., Graur, I., Railean, N., Toderas, I., Pahontu, E., Ceban, I., Jinga, V., Istrati, D., Ceban, E., et al. Biological activity of copper (II) complex (2-((2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioyl)hydrazinylidene)methyl)phenolato)-chloro-copper (II) monohydrate. *J. Cancer Sci. Clin. Ther.*, 2024, 8, 287–294.
9. Graur, V., Usataia, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Garbuz, O., Hureau, C., Gulea, A. Synthesis, characterization, and biological activity of novel 3d metal coordination compounds with 2-acetylpyridine N4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. *Appl. Organomet. Chem.*, 2021, 35, e6172. DOI: 10.1002/aoc.6172.
10. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32, e4544.
11. Graur, I., Graur, V., Cadin, M., Garbuz, O., Bourosh, P., Melnic, E., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Tsapkov, V., Fala, V., 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*, 2024, 29, 3903. DOI: 10.3390/molecules29163903.
12. Graur, I., Bespalova, T., Graur, V., Tsapkov, V., Garbuz, O., Melnic, E., Bourosh, P., Gulea, A. A new thiosemicarbazone and its 3d metal complexes: Synthetic, structural, and antioxidant studies. *J. Chem. Res.*, 2023, 47, 1–8. DOI: 10.1177/17475198231216422.
13. Graur, V., Mardari, A., Bourosh, P., Kravtsov, V., Usataia, I., Ulchina, I., Garbuz, O., Gulea, A. Novel Antioxidants Based on Selected 3d Metal Coordination Compounds with 2-Hydroxybenzaldehyde 4,S-Diallylisothiosemicarbazone. *Acta Chim. Slov.*, 2023, 70, 122–130. DOI: 10.17344/acsi.2022.7885.
14. Gulea, A., Toderas, I., Garbuz, O., Ulchina, I., Graur, V., Railean, N. Biological Evaluation of a Series of Amine-Containing Mixed-Ligand Copper(II) Coordination Compounds with 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide. *Microsc. Microanal.*, 2022, 28, 1696–1702. DOI: 10.1017/S1431927622000733.
15. Chumakov, Y.M., Graur, V.O., Ulchina, Y.I., Smaglii, V.A., Gulea, A.P., Garbuz, O.S., Tsapkov, V.I. Crystal structures of N′-(2- oxidobenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)-carbamohydrazonothioato(2-)copper and N′-(2-oxidobenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)- carbamohydrazonothioato(2-)copper hemihydrates. *J. Struct. Chem.*, 2022, 63, 905–913. DOI: 10.1134/S0022476622060075.
16. Graur, V., Chumakov, Y., Garbuz, O., Hureau, C., Tsapkov, V., Gulea, A. Synthesis, Structure, and Biologic Activity of Some Copper, Nickel, Cobalt, and Zinc Complexes with 2-Formylpyridine N4-Allylthiosemicarbazone. *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2022, 2022, 2705332.
17. Rusnac, R., Garbuz, O., Chumakov, Y., Tsapkov, V., Hureau, C., Istrati, D., Gulea, A. Synthesis, Characterization, and Biological Properties of the Copper(II) Complexes with Novel Ligand: N-[4-({2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbothioyl}amino)phenyl]acetamide. *Inorganics*, 2023, 11, 408. DOI: 10.3390/inorganics11100408.
18. Kocot, J., Kiełczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., Musik, I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2018, 2018, 7074239.
19. Borycka, K., Grabek-Lejko, D., Kasprzyk, I. Antioxidant and antibacterial properties of commercial bee pollen products. *J. Apic. Res.*, 2015, 54, 491–502.
20. Atsalakis, E., Chinou, I., Makropoulou, M., Karabournioti, S., Graikou, K. Evaluation of phenolic compounds in Cistus creticus bee pollen from Greece. Antioxidant and antimicrobial properties. *Nat. Prod. Comm.*, 2017, 12, 1813–1816.
21. Pavel, C.I., Mărghita, L.A., Dezmirean, D.S., Tomos, L.I., Bonta, V., Sapcaliu, A., Buttstedt, A. Comparison between local and commercial royal jelly—Use of antioxidant activity and 10-hydroxy-2-decenoic acid as quality parameter. *J. Apic. Res.*, 2014, 53, 116–123.

Authors:



Olga Garbuz, Dr., Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X

CZU: 547.791:615.28:582.998.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.05

SINTEZA DERIVAȚILOR TRIAZOLICI PE BAZA ARTEMIZININEI ȘI AZIDELOR CARANICE ȘI STEROIDICE

Natalia SUCMAN, Serjiu COJOCARI, Dmitri BILAN, Fliur MACAEV

Institutul de Chimie al USM, str. Academiei,3 Chișinău, MD-2028, Republica Moldova

Abstract

This work is focused on the synthesis of 1,2,3-triazole derivatives based on the artemisinin scaffold, employed as a valuable structural motif in the design of biologically active compounds. The copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition reaction was investigated using carane and steroidal azides. It was demonstrated that the nature of the azide and the reaction conditions significantly influence the yield and course of the process, including secondary hydrolysis and rearrangement pathways. As a result, hybrid compounds incorporating both artemisinin and 1,2,3-triazole fragments were obtained. The structures of the products were confirmed by modern spectroscopic methods (IR, ^{1}H and ^{13}C NMR, HSQC, HMBC, NOESY) and mass spectrometry.

Rezumat

Lucrarea este axată pe obținerea derivaților 1,2,3-triazolici pe baza fragmentului de artemisinină, utilizat ca bloc structural valoros în proiectarea compușilor biologic activi. A fost investigată reacția de cicloadație azid–alchină catalizată de cupru, utilizând azide caranice și steroidice. S-a demonstrat că natura azidei și condițiile de reacție influențează semnificativ randamentul și direcția procesului, inclusiv procesele secundare de hidroliză și rearanjare. În urma reacțiilor au fost obținuți compuși hibrizi ce conțin simultan fragmente de artemisinină și 1,2,3-triazol. Structura produșilor a fost confirmată prin metode spectrale moderne (IR, RMN ^{1}H și ^{13}C, HSQC, HMBC, NOESY) și spectrometrie de masă.

Introducere

Compușii de origine naturală rămân, de-a lungul mai multor decenii, una dintre cele mai productive surse de substanțe cu activitate farmacologică, fapt confirmat de introducerea cu succes în practica clinică a unor medicamente precum penicilina, morfina, digitoxina, codeina și chinina [1]. Datorită relevanței biologice determinate evolutiv, moleculele naturale sunt considerate un punct de plecare fiabil pentru descoperirea de noi candidați medicamentoși și servesc drept bază conceptuală pentru dezvoltarea analogilor sintetici și a derivaților construiți pe schelete moleculare naturale [2].

Artemisinina **1** este un lacton sescviterpenic natural, izolat din planta *Artemisia annua*, care prezintă o activitate antimalarică pronunțată [3–5]. Structura sa unică include o punte endoperoxidică responsabilă de activitatea biologică. Datorită reactivității ridicate a grupării peroxidice, precum și prezenței unui schelet hidrofob, artemisinina reprezintă o țintă atractivă pentru modificări organice în vederea obținerii de noi compuși cu activitate antimalarică, antitumorală și antivirală [6–13].

Hibridizarea moleculară a structurilor naturale se bazează pe combinarea, în cadrul aceluiași sistem chimic, a două fragmente farmacofore – fie ambele de origine naturală, fie unul natural și unul sintetic – în scopul obținerii unor compuși cu proprietăți farmacologice optimizate. Un astfel de design permite amplificarea răspunsului biologic prin efect sinergic, extinderea spectrului de ținte, creșterea eficienței livrării, precum și compensarea parțială a dezavantajelor asociate cu solubilitatea scăzută și stabilitatea limitată a moleculelor inițiale [14].

Scopul prezentei lucrări a fost obținerea unor noi derivați hibrizi pe baza artemisininei, care conțin un fragment 1,2,3-triazolic și un alt fragment de compus natural. 1,2,3-Triazolii s-au impus ca fragmente heterociclice versatile, utilizate pe scară largă în modificarea compușilor naturali și în crearea de sisteme hibride cu proprietăți farmacologice îmbunătățite [15]. Cea mai

utilizată metodă de obținere a 1,2,3-triazolilor este reacția de cicloadație azid–alchină catalizată de cupru [16–18].

Metode şi materiale aplicate

Spectrele IR au fost înregistrate pe spectrofotometrul „Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR Spectrometer", utilizând metoda reflectanței totale atenuate (ATR). Spectrele RMN ^{1}H și ^{13}C au fost înregistrate pe spectrometrul „Bruker Avance III" (400,13 și 100,61 MHz) pentru soluții de 5% în $CDCl_3$, cu TMS drept standard intern. Rotația specifică a fost determinată cu ajutorul polarimetrului automat „Jasco-2000" în $CHCl_3$. Datele analizei elementare ale compușilor sintetizați au fost obținute pe aparatul „Elementar Vario LIII". Pentru cromatografia pe coloană s-a utilizat SiO_2 40/63 μ (Fluka). Cromatografia pe strat subțire (TLC) a fost efectuată pe plăci Silica gel 60 F_{254} (Merck).

Acetilena **2** a fost obținută conform metodei [19].

Azidoalcoolii **3** și **6** a fost obținut conform metodei [20].

(1S,3R,4R,6R)-4-azido-3,7,7-trimetilbiciclo[4.1.0]heptan-3-amină 10 a fost obținută comform metodei [21].

(1S,3R,4S,6R)-4-azido-3,7,7-trimetilbiciclo[4.1.0]heptan-3-amină 11 a fost obținută conform metodei [21].

(1R,3S,4S,6S)-4-azido-3,7,7-trimetilbiciclo[4.1.0]heptan-3-amină 12 a fost obținută analog metodei [21].

Metodă generală de obținere a derivaților 1,2,3-triazolici

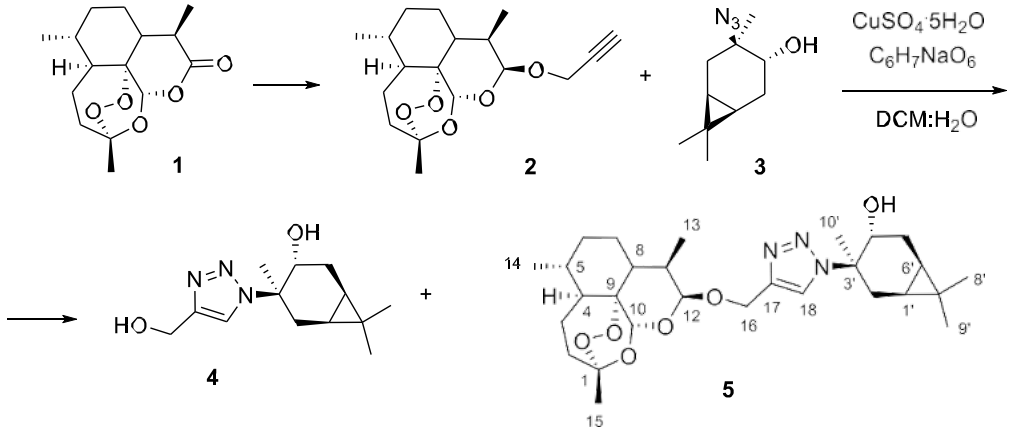
La o soluție de azidă (0,62 mmol, 2 echiv. pentru azidele 4,6 sau 0,31 mmol, 1 echiv. pentru azidele 16,17) și acetilenă 2 (0,31 mmol, 1 echiv.) în CH_2Cl_2 (4 mL) sau într-un amestec CH_2Cl_2/EtOH/hexan (2,5/10/2 mL) s-a adăugat o soluție de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (30,8 mg, 0,12 mmol, 40 mol%) în H_2O (2,5 mL). La amestecul rezultat s-a adăugat, sub agitare, ascorbat de sodiu (49,2 mg, 0,25 mmol, 80 mol%). Amestecul reacțional a fost agitat la temperatura camerei timp de 20 h până la dispariția acetilenei 2 (control TLC), după care a fost extras cu CH_2Cl_2 (derivați caranici) sau EtOAc (derivați steroizi). Produsul a fost purificat prin cromatografie pe coloană folosind amestecuri de eter petrolier/acetat de etil (10–60% pentru derivați caranici și 25–100% pentru derivați steroizi).

Rezultate obţinute şi discuţii

În literatură sunt descrise metode de sinteză a moleculelor bioactive regioizomere din seria caranică, conținând fragment 1,2,3-triazolic [22], pe baza azidelor **3** și **6**. În cadrul prezentului studiu a fost investigată cicloadația acetilenei **2**, catalizată de cupru, cu diferite azide. În etapa inițială, ca reactivi au fost utilizați azidele **3** (Schema 1) și **6** (Schema 2). La fierberea în *tert*-butanol a unui amestec de compuși **2** și **3**, în prezența $CuSO_4$ și a ascorbatului de sodiu, se formează 4-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazolul **4**, care reprezintă produsul de hidroliză al compusului țintă **5**. Atunci când reacția se desfășoară la temperatura camerei, se obține un amestec de substanțe – aductul țintă **5** și compusul **4** — într-un raport de 1:1.

Formarea produsului cu structura **5** este confirmată de apariția în spectrul RMN ^{1}H a semnalului protonului triazolic HC la δ 7,60 ppm (poziția 18 în Schema 1), iar în spectrul RMN ^{13}C de semnalele la 144,6 ppm (C-17) și 120,8 ppm (C-18). De asemenea, în spectru sunt prezente semnale caracteristice fragmentelor de artemisinină și caran. Structura compusului **5** este confirmată și de datele analizei elementare și ale spectrometriei de masă.

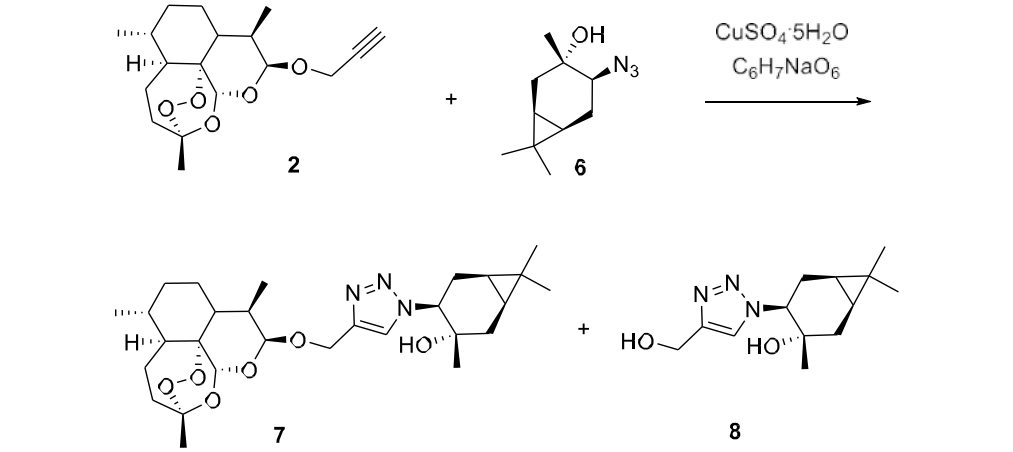
Spectrul de masă GC–MS al compusului **7** este caracterizat prin prezența ionului molecular $[M]^{+\bullet}$ (m/z 517) și a unui ion fragment intens la m/z 500, corespunzător ionului $[M - OH]^{+}$. Pierderea observată a grupării hidroxil este caracteristică fragmentării acestei clase de compuși și confirmă structura propusă.



Schema 1.

Înlocuirea *tert*-butanolului cu un amestec de diclorometan și apă a condus la creșterea randamentului hibridului 1,2,3-triazolic **5** până la 50%, în timp ce produsul de hidroliză **4** nu a putut fi izolat, deoarece în aceste condiții se formează doar în cantități de urme.

O reacție analogă a acetilenei **2** cu azida izomeră 4*S* **6**, în amestec de diclorometan și apă, a condus la obținerea compușilor **7** și **8**, cu randamente de 20% și 39%, respectiv. Structura moleculei hibride **7** rezultă din datele spectrelor IR, RMN ^{1}H și ^{13}C. Astfel, în spectrul RMN ^{13}C al compusului **7** sunt prezente două semnale în domeniul δ 144,4 și 123,0 ppm, caracteristice atomilor C(4) și C(5) ai triazolului, respectiv, iar în spectrul RMN ^{1}H se observă un semnal singlet în regiunea δ 7,51 ppm, tipic pentru protonul vinilic al fragmentului triazolic.



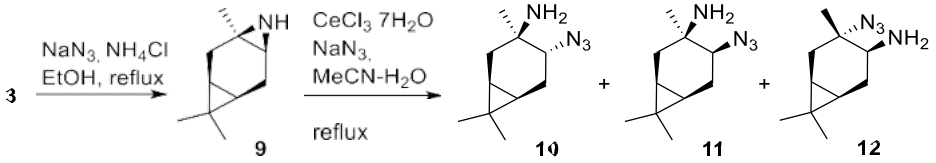
Schema 2.

Similar cazului descris anterior, se observă formarea alcoolului **8** ca urmare a hidrolizei compusului **7**. O diferență notabilă în acest caz constă în faptul că alcoolul corespunzător se formează în cantități relativ mari și, în toate experimentele repetate, randamentul său a depășit randamentul produsului principal. Concluzia care poate fi trasă din datele obținute este că structura azidei caranice inițiale influențează semnificativ viteza reacției de hidroliză.

De asemenea, a fost de interes investigarea reacției de cicloadație a azidocaranei izomere 4*R*. Ca obiect de studiu a fost ales aminoazidul corespunzător **10**, care a fost obținut, la rândul

său, din aziridina **9** în urma reacției cu NaN_3 (Schema 3), conform metodei descrise în literatură [21].

Trebuie menționat că, în MeCN apos, în prezența $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ și NH_4Cl, reacția conduce la formarea unui amestec de trei compuși, din care au fost izolate substanțele **10**, **11** și **12**, cu randamente de 14%, 6% și, respectiv, 13%. Formarea derivatului *cis* **11**, necaracteristic pentru astfel de reacții, este probabil legată de faptul că, în aceste condiții, reacția de deschidere a aziridinei are loc nu numai prin mecanism SN2, cu formarea derivaților **10** și **12**, ci și printr-un mecanism SN1, implicând formarea unui carbocation plan, la care nucleofilul se poate atașa de ambele părți ale planului particulei, conducând astfel la formarea compușilor **10** și **11**.



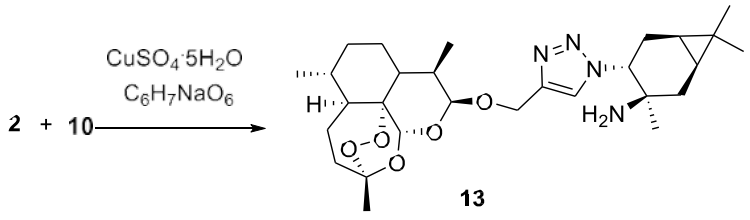
Schema 3.

Structura tuturor aminoazidelor a fost confirmată prin diferite metode spectrale. Astfel, în spectrele IR ale tuturor celor trei azidoamine, la 2095–2097 cm^{-1} se observă un semnal caracteristic grupării azidă. În spectrul RMN ^1H, semnalul protonului în poziția 4 a compusului **12** apare sub formă de triplet la δ 2,89 ppm, iar pentru compușii **10** și **11** valorile δ sunt 3,03 ppm și 3,37 ppm, respectiv.

În spectrul RMN ^{13}C, atomului de carbon din poziția **4** a compusului **12** îi corespunde un semnal la 52,9 ppm, iar atomului de carbon din poziția 3 — la 64,8 ppm. Pentru compușii **10** și **11**, deplasările chimice ale atomilor de carbon din pozițiile 4 și 3 sunt 68,9 ppm, 65,4 ppm, respectiv 51,6 ppm și 54,2 ppm. Datele experimentelor DEPT și $^1H–^{13}C$ HSQC confirmă, de asemenea, aceste atribuiri.

În plus, poziționarea grupărilor amino și azidă este susținută indirect de datele experimentelor bidimensionale $^1H–^{15}N$ HMBC. În spectrul compusului **10** se observă un semnal de corelație intens, caracteristic unei amine primare, la 51,7 ppm, corelat cu protonii grupării metil la 1,06 ppm, ceea ce indică vecinătatea lor directă în scheletul molecular. De asemenea, pentru acest compus se observă un semnal la intersecția δ 248,2 ppm, caracteristic atomului de azot al grupării azidă legat de carbon, și deplasarea chimică a protonului din poziția **3** a scheletului caranic (3,03 ppm).

S-a stabilit că reacția acetilenei **2** cu azida **10** conduce, de asemenea, la formarea unui amestec de compuși, din care a fost posibilă izolarea compusului țintă **13** (Schema 4), a cărui structură a fost confirmată, similar compușilor descriși anterior, prin metode spectrale IR și RMN.



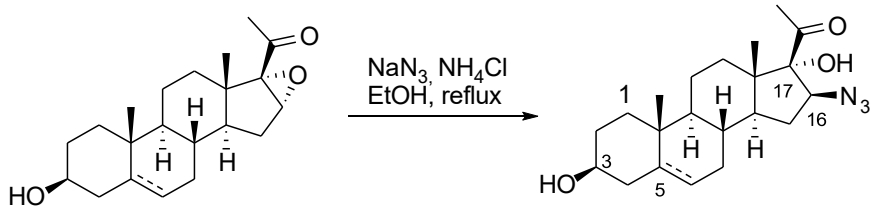
Schema 4.

Este de remarcat o particularitate: în spectrul RMN ^{13}C nu a fost observat un semnal clar al atomului de carbon CH din inelul triazolic; la δ 123,6 ppm a fost prezent doar un semnal slab și lărgit. Atribuirea acestuia a fost realizată cu ajutorul experimentului $^{1}H–^{13}C$ HSQC.

Un interes deosebit în contextul cercetărilor de chimie medicinală îl prezintă fragmentele steroidice și triazolice, care, în pofida originii lor diferite, sunt utilizate pe scară largă ca module funcționale în proiectarea compușilor biologic activi. Steroizii constituie o clasă de biomolecule endogene și exogene, caracterizate printr-un schelet policiclic specific, care îndeplinesc funcții regulatorii și structurale în sistemele vii, inclusiv participarea la cascadele de semnalizare și la formarea membranelor celulare. Reprezentanți tipici ai acestei clase sunt colesterolul și hormonii steroizi, precum și numeroși metaboliți de origine naturală izolați din organisme marine și terestre.

În ultimii ani, scheletul steroidic a fost utilizat intens ca platformă pentru proiectarea structurilor hibride, orientate în principal către aplicații antitumorale, fapt confirmat de numărul semnificativ de publicații din domeniul chimiei medicinale [23]. Un interes deosebit îl prezintă sinteza derivaților care conțin fragmentul artemizinin–triazol în ciclul D al steroizilor.

Recent s-a demonstrat că epoxizii **14** și **15** reprezintă precursori convenabili pentru sinteza sărurilor imidazolice cu activitate antitumorală ridicată [24]. În prezenta lucrare, acești epoxizi au fost utilizați, de asemenea, ca materii prime pentru obținerea derivaților azidici. Metoda deschiderii nucleofile a ciclului epoxidului **14** (NaN_3, H_2SO_4, DMSO) [25] a permis sinteza β-azidoalcoolului **16** cu un randament de 25%. Prin fierbere prelungită a epoxidului **14** cu NaN_3 și NH_4Cl în etanol apos, randamentul a crescut până la 86% (Schema 5). S-a demonstrat că, în condiții similare, epoxidul **15** conduce la β-azidoalcoolul **17** cu un randament de 58%.



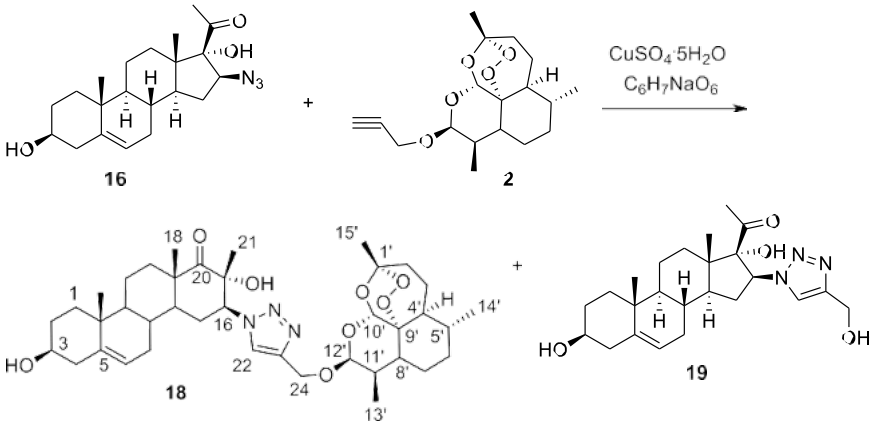
14: Δ^5
15: 5α

16: Δ^5
17: 5α

Schema 5.

Structura compușilor obținuți a fost confirmată prin diverse metode de spectroscopie RMN. Semnalul la 3,39–3,30 ppm a fost atribuit protonului legat de atomul de carbon C-3 pe baza datelor experimentului HSQC; în spectrul ^{1}H RMN acesta este parțial suprapus cu semnalul apei reziduale în DMSO-d_6. În spectrul NOESY, protonul hidroxilic cu deplasarea chimică de 5,73 ppm prezintă corelații de tip cross-peak cu protonul de la C-16 (3,97 ppm) și cu protonii grupării metil a substituentului acetil (2,13 ppm). Aceste corelații indică apartenența acestei grupări hidroxil la ciclul D. În combinație cu absența unui cross-peak cu gruparea metil de la C-13 (0,80 ppm), acest fapt indică orientarea α a grupării hidroxil.

Cicloadația azidei **16** la acetilena **2** în prezența $CuSO_4$ și a ascorbatului de sodiu, în amestec CH_2Cl_2–H_2O, adică în condițiile optimizate anterior pentru azidele caranice, nu are loc (Schema 6). S-a presupus că acest fapt este determinat de solubilitatea foarte scăzută a azidei **16**. Pentru a elimina această problemă, la CH_2Cl_2 s-a adăugat un exces de patru ori de etanol până la dizolvarea completă a azidei.



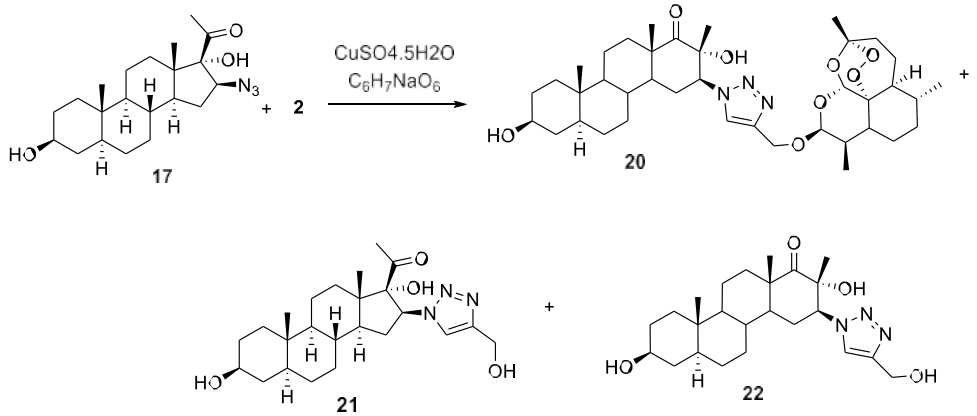
Schema 6.

În aceste condiții, randamentul produsului țintă s-a dovedit a fi scăzut: acetilena **2** se descompunea înainte de a reacționa, iar azida steroidică inițială rămânea în mediul de reacție. Este de menționat că masa de reacție, după adăugarea soluției apoase de sulfat de cupru, se rășiniza relativ rapid, formând un sistem omogen, spre deosebire de experimentele anterioare, în care amestecul CH_2Cl_2–H_2O genera un mediu heterogen.

S-a emis ipoteza că prezența fazei apoase, în care se dizolvă și se concentrează predominant sarea de cupru(II), împiedică transferul ionilor metalici în concentrații mari în faza organică, contribuind astfel la stabilitatea scheletului de artemizinină. Pornind de la aceste considerații și pentru a obține un sistem heterogen după adăugarea soluției apoase de sulfat de cupru, s-a adăugat hexan până la apariția unei turbidități vizibile a masei de reacție.

Această abordare a permis obținerea produsului 18 cu un randament de 20%. S-a constatat că, concomitent cu generarea fragmentului 1,2,3-triazolic, a avut loc o rearanjare cu formarea unui schelet homo-D-androstanic. Astfel de rearanjări sunt descrise în literatură și au loc sub acțiunea temperaturilor ridicate, precum și a ionilor de Cu(II) [25]. Din mediul de reacție a fost izolat, de asemenea, produsul de hidroliză 19; analiza structurii acestuia a arătat că acest compus nu a suferit rearanjări scheletice.

În mod analog decurge reacția de interacțiune a azidei **17** cu acetilena **2** (Schema 7).



Schema 7.

Prin cromatografiere au fost izolați produșii **20**, **21** și **22**, ale căror structuri au fost stabilite pe baza spectrelor IR, RMN, spectrometriei de masă și a datelor analizei elementare. Similar cazului precedent, a fost obținut produsul hibrid rearanjat **20**, precum și un amestec de produși de hidroliză rearanjați și nerearanjați.

Concluzii

În cadrul prezentei lucrări a fost elaborată o abordare eficientă pentru sinteza derivaților 1,2,3-triazolici pe baza artemizininei, utilizând reacția de cicloadație azid–alchină catalizată de Cu(I). S-a demonstrat că natura azidelor (caranice și steroidice), precum și condițiile de reacție, influențează semnificativ randamentul și selectivitatea procesului.

A fost evidențiat faptul că, pe lângă formarea nucleului 1,2,3-triazolic, în anumite condiții au loc procese secundare, precum hidroliza și rearanjările scheletice, inclusiv formarea structurilor de tip homo-D-androstan. Aceste transformări sunt favorizate de temperaturi ridicate și de prezența ionilor de Cu(II).

Structura compușilor obținuți a fost confirmată prin metode spectrale moderne (IR, RMN ^{1}H și ^{13}C, HSQC, HMBC, NOESY) și spectrometrie de masă, ceea ce a permis elucidarea detaliată a arhitecturii moleculare.

Rezultatele obținute demonstrează potențialul utilizării artemizininei ca platformă structurală pentru construcția de sisteme hibride triazolice, deschizând perspective pentru dezvoltarea de noi compuși cu proprietăți biologice relevante.

Mulțumiri

Acest studiu a fost susținut de proiectul de cercetare „Studiul chimic al metaboliților secundari din surse naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ prin extinderea diversității moleculare cu funcționalitate multiplă (MetNatVal)”, nr. 010601, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova.

Referințe:

1. Alamgir, A. N. M. Drugs: Their Natural, Synthetic, and Biosynthetic Sources. In: *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1*. Progress in Drug Research, 73. Springer, 2017, 105–123. DOI: 10.1007/978-3-319-63862-1_4.
2. Butler, M., Capon, R., Blaskovich, M., Henderson, I. Natural product-derived compounds in clinical trials and drug approvals. *Nat. Prod. Rep.*, 2025, 43. DOI: 10.1039/d5np00031a.
3. Vashisth, D., Mishra, S. Unlocking the potential of Artemisia annua for artemisinin production: current insights and emerging strategies. *3 Biotech*, 2025, 15, 164. DOI: 10.1007/s13205-025-04332-3.
4. Swamikannu, B., Umapathy, V. R., Natarajan, P. M., Nandini, M. S., Queency Stylin, A. G. S., Vimalarani, V., Rajinikanth, S. Unlocking the Therapeutic Benefits of Artemisia Annua: A Comprehensive Overview of its Medicinal Properties. *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 2024, 16(5), S4248–S4253. DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_1250_24.
5. Al-Khayri, J. M., Sudheer, W. N., Lakshmaiah, V. V., Mukherjee, E., Nizam, A., Thiruvengadam, M., Nagella, P., Alessa, F. M., Al-Mssallem, M. Q., Rezk, A. A., Shehata, W. F., Attimarad, M. Biotechnological Approaches for Production of Artemisinin, an Anti-Malarial Drug from Artemisia annua L. *Molecules*, 2022, 27(9), 3040. DOI: 10.3390/molecules27093040.
6. Shah, P., Tiwari, S., Siddiqi, M. I. Recent Progress in the Identification and Development of Anti-Malarial Agents Using Virtual Screening Based Approaches. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 2015, 18(3). DOI: 10.2174/1386207318666150305154913.
7. Liu, H., Liu, X., Zhang, L. Computational Analysis of Artimisinin Derivatives on the Antitumor Activities. *Nat. Prod. Bioprospect.*, 2017, 7, 433–443. DOI: 10.1007/s13659-017-0142-x.
8. Blazquez, A. G., Fernandez-Dolon, M., Sanchez-Vicente, L., Maestre, A. D., Gomez-San Miguel, A. B., Alvarez, M., Serrano, M. A., Jansen, H., Efferth, T., Marin, J. J., Romero, M. R. Novel artemisinin

derivatives with potential usefulness against liver/colon cancer and viral hepatitis. *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21(14), 4432–4441. DOI: 10.1016/j.bmc.2013.04.059.
9. Shukla, S., Kushwah, S., Mani, A. Targeting Malaria's Achilles' Heels: A Review of Plasmodium Life Cycle Vulnerabilities for Drug Discovery. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2025, 25(27), 3157–3189. DOI: 10.2174/0115680266348099250108065838.
10. Wang, X., Zheng, B., Ashraf, U., Zhang, H., Cao, C., Li, Q., Chen, Z., Imran, M., Chen, H., Cao, S., Ye, J. Artemisinin inhibits the replication of flaviviruses by promoting the type I interferon production. *Antiviral Res.*, 2020, 179, 104810. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104810.
11. Oiknine-Djian, E., Weisblum, Y., Panet, A., Wong, H. N., Haynes, R. K., Wolf, D. G. The Artemisinin Derivative Artemisone Is a Potent Inhibitor of Human Cytomegalovirus Replication. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2018, 62(7), e00288-18. DOI: 10.1128/AAC.00288-18.
12. Yang, D., Ning, J., Zhang, Y., Xu, X., Zhang, D., Fan, H., Wang, J., Lu, G. In vitro assessment of the anti-adenoviral activity of artemisinin and its derivatives. *Virus Res.*, 2024, 349, 199448. DOI: 10.1016/j.virusres.2024.199448.
13. Obeid, S., Alen, J., Nguyen, V. H., Pham, V. C., Meuleman, P., Pannecouque, C., Le, T. N., Neyts, J., Dehaen, W., Paeshuyse, J. Artemisinin analogues as potent inhibitors of in vitro hepatitis C virus replication. *PLoS ONE*, 2013, 8(12), e81783. DOI: 10.1371/journal.pone.0081783.
14. Sflakidou, E., Leonidis, G., Foroglou, E., Siokatas, C., Sarli, V. Recent Advances in Natural Product-Based Hybrids as Anti-Cancer Agents. *Molecules*, 2022, 27(19), 6632. DOI: 10.3390/molecules27196632.
15. Agalave, S., Maujan, S., Pore, V. Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chem. Asian J.*, 2011, 6, 2696–2718. DOI: 10.1002/asia.201100432.
16. Ragab, S. Recent Advancements in CuAAC Click Approaches for the Synthesis of 1,2,3-Triazole Hybrid Compounds as Anticancer Agents. *Chem. Biodiversity*, 2025, e202403462. DOI: 10.1002/cbdv.202403462.
17. Rodrigues, S., De Moraes, R., Pinto, G., Martins, M., Nascimento, P., Soares, D., Botelho, A. B., Cruz, C., Cunha, A. A Review on Chemistry and Methods of Synthesis of 1,2,4-Triazole Derivatives. *Chem. Rec.*, 2024, 25, e202400190. DOI: 10.1002/tcr.202400190.
18. Rohila, Y., Gupta, M., Swami, B., Sebastian, S., Ansari, A., Kumar, V. Diverse Synthetic Approaches to Access 1,2,3-Triazoles: Highly Versatile Heterocycles. *ChemistrySelect*, 2026, 11(4), e06879. DOI: 10.1002/slct.202506879.
19. Çapci, A., Lorion, M. M., Wang, H., Simon, N., Leidenberger, M., Borges Silva, M. C., Moreira, D. R. M., Zhu, Y., Meng, Y., Chen, J. Y., Lee, Y. M., Friedrich, O., Kappes, B., Wang, J., Ackermann, L., Tsogoeva, S. B. Artemisinin-(Iso)quinoline Hybrids by C-H Activation and Click Chemistry: Combating Multidrug-Resistant Malaria. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, 58(37), 13066–13079. DOI: 10.1002/anie.201907224.
20. Curlat, S., Macaev, F. Synthesis of 1,2,3-Triazole-Substituted 3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]Heptanols Based on (+)-3-Carene. *Chem. Nat. Compd.*, 2021, 57. DOI: 10.1007/s10600-021-03461-4.
21. Cimarelli, C., Fratoni, D., Palmieri, G. Stereoselective synthesis of new vicinal diaminoalkyl naphthols by three-component Mannich-type reaction of α,β-unsaturated aldehydes. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, 22, 1560–1567. DOI: 10.1016/j.tetasy.2011.08.025.
22. Curlat, S. N., Barba, A. N., Boldescu, V. V., Panekok, K., Macaev, F. Z. Synthesis of Aminoalkylated Aziridines from (+)-3-Carene. *Chem. Nat. Compd.*, 2019, 55(2), 269–274. DOI: 10.1007/s10600-019-02664-0.
23. Al-Awadhi, F. H., Mohamed, A. S., Habib, O. M., Al-Awadi, N. A. Synthesis and Characterization of Natural Product-Based Steroid-Triazole Hybrids via Click Reaction and Evaluation of Their Anticancer and Antibacterial Activities. *ACS Omega*, 2026, 11(3), 4653–4667. DOI: 10.1021/acsomega.5c11199.
24. Sucman, N. S., Bilan, D. Ya., Cojocari, S. V., Pogrebnoi, V. S., Stîngaci, E. P., Khripach, V. A., Zhabinskii, V. N., Tsybruk, T. V., Grabovec, I. P., Panibrat, O. V., Persoons, L., Schols, D., Froeyen, M., Shova, S., De Jonghe, S., Macaev, F. Z. Steroidal 21-imidazolium salt derivatives: Synthesis and anticancer activity. *Steroids*, 2024, 210, 109475. DOI: 10.1016/j.steroids.2024.109475.

25. Kotovshchikov, Y. N., Latyshev, G. V., Lukashev, N. V., Beletskaya, I. P. Synthesis of novel 1,2,3-triazolyl derivatives of pregnane, androstane and D-homoandrostane. Tandem “click” reaction/Cu-catalyzed d-homo rearrangement. *Org. Biomol. Chem.*, 2014, 12(22), 3707–3720. DOI: 10.1039/c4ob00404c.

Date despre autori:



Natalia SUCMAN, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: natalia_sucman@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-8733-3040



Sergiu COJOCARI, cercetător științific, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova
e-mail: sergiu.cojocari@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-6825-5390



Dmitri BILAN, Institul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: dumitru.bilan@sti.usm.md
ORCID: 0000-0003-4283-2510



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 547.497.1:546.562:616.314.163-022 https://doi.org/10.59295/mabt2026.06

MEDICAȚIA ENDODONTICĂ COMPLEXĂ DE VIITOR A PATOLOGIEI APICALE CRONICE OSTEO-DISTRUCTIVE

Dorin ISTRATI

Catedra de stomatologie interdisciplinară și reabilitare orală, USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

Rezumat

Introducere. Periodontitele apicale cronice osteodistructive reprezintă o patologie frecvent întâlnită în practica endodontică, caracterizată prin distrucția progresivă a osului periapical ca urmare a infecției persistente a sistemului endodontic. Organizarea microbiotei sub formă de biofilm polimicrobian tridimensional, prezent în canalele radiculare magistrale, istmuri, anstamoze intrercanalare, canalicule laterale și tubulii dentinari, explică rezistența crescută la tratamentul conventional și persistența inflamației cronice periapicale.

Scop. Scopul lucrării a fost evaluarea eficienței medicației endodontice de ultimă generație în managementul periodontitelor apicale cronice osteodistructive, prin analiza rolului decontaminării chimico-mecanice, al activării soluțiilor de irigare și al medicației intracanalare complexe bazată pe interacțiunea preparatelor de hidroxid de calciu și pe viitor a preparatelor care conțin compuși de coordonare pe baza de săruri de cupru(II) (ligand de tip tiosemicarbazone care conține o unitate structurală de paracetamol) asupra controlului infecției și a proceselor de vindecare totală periapicală.

Materiale și metode. Studiul observațional descriptiv a inclus pacienți adulți diagnosticați clinic și radiologic cu leziuni osteodistructive periapicale. Protocolul terapeutic a cuprins preparare mecanică reciprocantă, irigare secvențială cu hipoclorit de sodiu în concentrații de 5–10%, activare ultrasonică, utilizarea EDTA 17%, aplicarea medicației intracanalare pe bază de hidroxid de calciu (paleativ) și obturație tridimensională prin tehnici termoplastice moderne, în asociere cu sealeri adecvați. Evoluția a fost monitorizată clinic și radiologic de la 3 luni până la 6-8 ani, cu intervale de 6 luni. Utilizării Nu în ultimul rând generarea ideilor utilizării liganzilor de tip tiosemicarbazone cu proprietățile lor complexe.

Rezultate. Majoritatea cazurilor au prezentat dispariția simptomatologiei clinice și reducerea progresivă a radiotransparenței periapicale, cu refacerea trabeculației osoase la controalele tardive. Vindecarea a fost mai rapidă în cazurile tratate prin protocoale complete de irigare activată și prin utilizarea adecvată a medicației intracanalare.

Concluzii. Aplicarea unui protocol terapeutic integrat, orientat spre controlul biofilmului endodontic și prevenirea reinfectării, permite obținerea unei vindecări periapicale stabile și predictibile pe termen mediu și lung.

Cuvinte-cheie: periodontită apicală cronică, biofilm endodontic, irigare activată, hidroxid de calciu, obturație tridimensională, compuși de coordonare pe baza de săruri de cupru(II).

Introducere

Periodontitele apicale cronice osteodistructive reprezintă o patologie frecvent întâlnită în practica endodontică contemporană, caracterizată prin distrucția progresivă a osului periapical ca urmare a persistenței infecției la nivelul sistemului endodontic al dintelui afectat. Evoluția acestor leziuni este, în majoritatea cazurilor, asimptomatică sau paucisimptomatică, motiv pentru care sunt frecvent depistate întâmplător în cadrul examinărilor radiologice de rutină și diagnosticate adesea în stadii avansate, când procesul osteodistructiv este deja bine conturat.

Din punct de vedere biologic, periodontita apicală cronică osteodistructivă reflectă un dezechilibru complex între agresiunea microbiană persistentă și mecanismele de apărare ale gazdei. Etiologia acestor leziuni este predominant microbiană, infecția având origine intracanalară, consecutiv necrozei pulpare determinate de carie profundă, traumatisme sau infiltrare coronară defectuoasă. Microbiota endodontică este organizată sub formă de biofilm

polimicrobian tridimensional, alcătuit în principal din bacterii anaerobe stricte și facultative, care dezvoltă mecanisme de adaptare și rezistență la condițiile ostile ale mediului endodontic.

Infecția endodontică organizată sub formă de biofilm nu este limitată la canalul principal, ci se extinde în structuri anatomice complexe, precum istmurile, canalele laterale, delta apicală și tubulii dentinari, zone inaccesibile instrumentării mecanice convenționale. Persistența acestui biofilm determină menținerea inflamației cronice periapicale și împiedică procesele fiziologice de vindecare osoasă. Studiile experimentale au demonstrat că bacteriile organizate în biofilm pot prezenta o rezistență de până la 1000 de ori mai mare la agenții antimicrobieni comparativ cu formele planctonice, ceea ce explică dificultatea eradicării complete a infecției prin metode exclusiv mecanice.

Din punct de vedere patogenic, produșii bacterieni, în special lipopolizaharidele provenite din bacteriile Gram-negative, traversează foramenul apical și activează răspunsul imun local prin intermediul receptorilor Toll-like. Această activare determină eliberarea de citokine proinflamatorii, precum interleukina-1β, interleukina-6 și factorul de necroză tumorală alfa, care stimulează activitatea osteoclastică prin mecanismul RANK/RANKL, favorizând resorbția osoasă progresivă caracteristică leziunilor osteodistructive. Persistența stimulului microbian menține un cerc vicios inflamator, în care agresiunea bacteriană și reacția imună se autoîntrețin.

În acest context biologic complex, endodonția modernă se bazează pe un concept terapeutic integrat, în care instrumentarea mecanică a canalelor radiculare reprezintă doar o verigă a tratamentului. Succesul terapeutic este condiționat de asocierea preparării chimico-mecanice cu irigare eficientă și activată, utilizarea medicației intracanalare cu acțiune antimicrobiană prelungită și realizarea unei obturații tridimensionale etanșe a sistemului endodontic. Numeroase studii internaționale evidențiază faptul că omiterea sau insuficiența uneia dintre aceste etape crește semnificativ riscul de persistență a infecției și, implicit, de eșec al tratamentului endodontic, subliniind necesitatea unei abordări biologic fundamentate și etapizate.

Scopul lucrării

Scopul prezentei lucrări a fost analiza eficienței medicației endodontice moderne în managementul periodontitelor apicale cronice osteodistructive, prin evaluarea rolului infecției endodontice persistente în patogeneza leziunilor periapicale, aprecierea impactului decontaminării sistemului canalicular prin activarea soluțiilor de irigare și utilizarea medicației paleative intracanalare pe bază de hidroxid de calciu asupra controlului infecției și a proceselor de vindecare periapicală, precum și evaluarea performanței tehnicilor moderne de obturație tridimensională termoplastică, utilizate în asociere cu sealeri adecvați, în prevenirea microinfiltrației și reinfectării, în corelație cu rezultatele clinice și radiologice obținute pe termen mediu și lung în cadrul Clinicii Stomatologice Universitare UnidentArt și cu datele din literatura internațională de specialitate.

Materiale și metode

Studiul a avut un caracter observațional descriptiv și a fost realizat în cadrul Clinicii Stomatologice Universitare UnidentArt, incluzând pacienți adulți cu dinți permanenți diagnosticați clinic și radiologic cu periodontită apicală cronică osteodistructivă. Diagnosticul a fost stabilit pe baza anamnezei detaliate, a examenului clinic exobucal și endobucal, a testelor de percuție verticală și orizontală și a examinării radiologice periapicale, care a evidențiat prezența leziunilor osteodistructive periapicale. Au fost excluse cazurile cu fracturi radiculare verticale, perforații ireparabile, resorbții radiculare avansate sau imposibilitatea restaurării coronare adecvate.

Tratamentul endodontic a fost efectuat în mai multe ședințe, conform unui protocol clinic standardizat, orientat biologic. După realizarea cavității de acces minim invazive, dintele afectat

a fost izolat cu digă. Ulterior, s-au identificat orificiile canalare și s-a determinat lungimea de lucru utilizând un apex locator electronic, cu confirmare radiologică. Prepararea mecanică a canalelor radiculare a fost realizată cu sistemul reciprocant WaveOne Gold, în asociere cu WaveOne Gold Glider, care permite o modelare controlată și eficientă a canalului radicular, cu menținerea traiectului anatomic și reducerea riscului de transport apical sau fractură instrumentală. Prepararea a urmărit obținerea unei conicități adecvate, necesare pentru facilitarea penetrării soluțiilor de irigare și pentru realizarea ulterioară a unei obturații tridimensionale corecte.

Decontaminarea spațiului endodontic a fost realizată printr-un protocol secvențial riguros de irigare. Hipocloritul de sodiu, utilizat ca soluție principală de irigare datorită proprietăților sale antimicrobiene și capacității de dizolvare a țesuturilor organice, a fost aplicat pe parcursul întregii faze de preparare mecanică. Pentru creșterea eficienței antiseptice, soluția a fost activată ultrasonic, generând fenomene de cavitație și microcurenți hidrodinamici capabili să faciliteze penetrarea în istmuri, canale laterale, delta apicală și tubuli dentinari, contribuind la disruperea biofilmului matur cu ajutorul sistemului iVac. Ulterior, s-a utilizat EDTA 17% pentru îndepărtarea smear layer-ului și expunerea tubulilor dentinari, favorizând difuziunea agenților antiseptici și a medicației intracanalare. Clătirea finală a fost realizată cu apă distilată, în scopul eliminării reziduurilor chimice și prevenirii interacțiunilor nedorite între soluțiile utilizate.

În contextul metodelor moderne descrise în literatura de specialitate, au fost avute în vedere și tehnici suplimentare de activare a soluțiilor de irigare, precum activarea sonică, irigarea cu presiune negativă și activarea fotoacustică cu laser erbium (Er:YAG, Er,Cr:YSGG), care amplifică efectele hidrodinamice și favorizează penetrarea profundă a agenților antiseptici în structurile anatomice complexe ale sistemului endodontic.

După finalizarea etapei de decontaminare, s-a aplicat medicația intracanalar pe bază de hidroxid de calciu, menținută între ședințe pentru o perioadă de 7–14 zile. Efectul său antimicrobian este determinat de pH-ul alcalin ridicat, care induce denaturarea proteinelor bacteriene și inactivarea endotoxinelor. Prin mecanism de schimb ionic, ionii de calciu și hidroxil pot difuza către regiunea periapicală, contribuind la neutralizarea mediatorilor inflamatori și la crearea unui mediu biologic favorabil proceselor de reparare osoasă.

Obturarea tridimensională a canalelor radiculare a fost realizată prin tehnici termoplastice moderne, utilizând sisteme bazate pe gutapercă încălzită, precum GuttaCore sau Thermafil, în funcție de particularitățile anatomice și clinice ale fiecărui caz. Aceste sisteme permit plastifierea și adaptarea optimă a gutapercii la pereții canalului radicular, facilitând umplerea spațiilor laterale și a eventualelor neregularități ale sistemului endodontic. Alegerea metodei a fost individualizată, având ca obiectiv obținerea unei obturații tridimensionale etanșe, stabile și conforme cu morfologia canaliculară. În ambele tehnici, obturația a fost realizată în asociere cu un sealer amino-epoxidic (AH Plus) sau un sealer bioceramic, pentru asigurarea unei etanșări tridimensionale eficiente și reducerea riscului de microinfiltrație și reinfectare.

Evoluția post-terapeutică a fost monitorizată clinic și radiologic imediat după obturație, la 3, 6 și 12 luni, iar în cazuri selecționate la 24 de luni. Evaluarea a inclus aprecierea absenței durerii spontane, lipsa sensibilității la percuție, reducerea progresivă a radiotransparenței periapicale și refacerea trabeculației osoase. Pacienților li s-a recomandat punerea în funcție a dintelui tratat, în absența contraindicațiilor protetice, pentru stimularea circulației locale și facilitarea proceselor de vindecare periapicală.

Rezultate

Evaluarea evoluției post-terapeutice a evidențiat, în majoritatea cazurilor incluse în studiu, o evoluție clinică și radiologică favorabilă. Din punct de vedere clinic, s-a constatat dispariția durerii spontane și reducerea semnificativă a sensibilității la percuție verticală și orizontală în

primele zile post-tratament. Reacțiile algice postoperatorii, atunci când au fost prezente, au fost tranzitorii, de intensitate redusă sau moderată, remitându-se progresiv în interval de 48–72 de ore, fără necesitatea unor intervenții suplimentare.

Evaluarea radiologică efectuată la controalele de 3 și 6 luni a evidențiat reducerea progresivă a radiotransparenței periapicale în majoritatea cazurilor. La 12 luni, s-a observat tendința de refacere a trabeculației osoase și delimitarea clară a zonei periapicale de fanta periodontală, indicând procese active de regenerare tisulară. În cazurile monitorizate la 24 de luni, s-a constatat stabilizarea imaginii radiologice și integrarea structurală a zonei periapicale, compatibilă cu vindecarea osoasă.

Vindecarea a fost mai rapidă și mai evidentă în cazurile în care protocolul terapeutic a inclus activarea soluțiilor de irigare cu hipoclorit de sodiu în concentrații de 5–10%, utilizarea medicației intracanalare pe bază de hidroxid de calciu și realizarea obturației tridimensionale prin tehnici termoplastice moderne. Concentrațiile sub 3% pot avea o eficiență antimicrobiană diminuată, în special în prezența biofilmului matur sau a infecțiilor persistente. Utilizarea unor concentrații de 5–10% a permis obținerea unui efect bactericid superior și a unei capacități crescute de dizolvare a țesuturilor organice, contribuind la o decontaminare intracanaliculară mai eficientă. În aceste situații, reducerea radiotransparenței periapicale a fost observată precoce, iar simptomatologia clinică a fost absentă sau minimă.

De asemenea, s-a evidențiat importanța cooperării pacientului în obținerea unui rezultat terapeutic favorabil. Cazurile în care pacienții au respectat recomandările postoperatorii, au efectuat controalele periodice și au pus în funcție dintele tratat au prezentat o evoluție mai rapidă și mai stabilă, cu ameliorarea precoce a simptomatologiei și tendință constantă de vindecare radiologică. În ansamblu, rezultatele clinice și imagistice obținute susțin eficiența protocolului terapeutic integrat aplicat în tratamentul periodontitelor apicale cronice osteodistructive.

Nu în ultimul rând dezvoltarea ipotezei de utilizare pe cale largă a preparatelor ce conțin ca substanță de bază compuși de coordonare pe baza de săruri de cupru(II) (ligand de tip tiosemicarbazone care conține o unitate structurală de paracetamol).

Luând în considerare proprietățile lor antibacteriene ce au fost studiate asupra unei serii de microorganisme Gram-pozitive, și anume: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* și *Enterococcus faecalis*. Valorile pentru concentrația minimă inhibitorie (MIC) și pentru concentrația minimă bactericidă (MBC), activitatea complexelor este influențată mai întâi de natura atomului central. Complexele de cupru(II) sunt cele mai active și, de regulă, sunt mult mai active decât pro-liganzii corespunzători. Cele mai active complexe obținute sunt complexele de cupru(II) cu liganzi mixti, cu tiosemicarbazonă și 3,4-lutidină. Valorile MIC și MBC ale acestor complexe se află în intervalul 0,488–7,81 μg/mL. Astfel, ele sunt de 5–38 de ori mai active decât Furacillinum și depășește, de asemenea, activitatea Tetracycline cu 2–4 ori.

Concluzii

Periodontitele apicale cronice osteodistructive sunt consecința directă a infecției endodontice persistente, iar succesul terapeutic este condiționat de controlul eficient al biofilmului intracanalar și de prevenirea reinfectării sistemului endodontic.

Decontaminarea chimico-mecanică asociată cu activarea soluțiilor de irigare și utilizarea medicației intracanalare pe bază de hidroxid de calciu contribuie semnificativ la reducerea încărcăturii bacteriene reziduale și la favorizarea regresiei procesului inflamator periapical.

Obturarea tridimensională prin tehnici termoplastice moderne, în asociere cu sealeri adecvați, asigură o etanșare eficientă a sistemului canalicular și reduce riscul de microinfiltrație intraradiculară.

Menținerea rezultatului terapeutic pe termen lung depinde nu doar de calitatea obturației radiculare, ci și de realizarea unei sigilări coronare adecvate imediat post-tratament, capabile să prevină microinfiltrația marginală și recontaminarea sistemului endodontic.

Aplicarea consecventă a unui protocol terapeutic integrat, completat de monitorizare clinică și radiologică și de cooperarea pacientului, permite obținerea unei vindecări periapicale stabile și predictibile.

Referințe:

1. Jhajharia, K., Parolia, A., Shetty, K. V., Mehta, L. K. Biofilm in endodontics: A review. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.*, 2015, 5(1), 1–12. DOI: 10.4103/2231-0762.151956.
2. Menezes, R., Garlet, T. P., Letra, A., Bramante, C. M., Campanelli, A. P., Figueira, R. C., Sogayar, M. C., Granjeiro, J. M., Garlet, G. P. Differential patterns of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin expression in human periapical granulomas: possible association with progressive or stable nature of the lesions. *J. Endod.*, 2008, 34(8), 932–938. DOI: 10.1016/j.joen.2008.05.002.
3. Susila, A., Minu, J. Activated Irrigation vs. Conventional non-activated Irrigation in Endodontics - A Systematic Review. *Eur. Endod. J.*, 2019, 4(3), 96–110. DOI: 10.14744/eej.2019.80774.
4. Ahmadi, M., Govil, S. Conventional to EndoVac: A Comparative Evaluation of Two Irrigation Systems in Microbial Reduction of Primary Root Canals Using Chemical Irrigants: An In Vivo Study. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.*, 2023, 16(S2), 113–117. DOI: 10.5005/jp-journals-10005-2565.
5. Rekha, R., Kavitha, R., Venkitachalam, R., Prabath, S. V., Deepthy, S., Krishnan, V. Comparison of the sealing ability of bioceramic sealer against epoxy resin based sealer: A systematic review & meta-analysis. *J. Oral Biol. Craniofac. Res.*, 2023, 13(1), 28–35. DOI: 10.1016/j.jobcr.2022.10.006.
6. Duncan, H., El-Karim, I. Ghiduri de practică clinică endodontică de nivel S3: procesul și recomandările Societății Europene de Endodonție. *Br. Dent. J.*, 2025, 238, 580–586. DOI: 10.1038/s41415-025-8335-x.
7. Ricucci, D., Siqueira, J. F., Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J. Endod.*, 2010, 36(8), 1277–1288. DOI: 10.1016/j.joen.2010.04.007.
8. Jayan, P. *Ingle's Endodontics 7*. 2014.
9. Tănase, G., Ciavoi, G. Rolul hidroxidului de calciu în tratamentul leziunilor periapicale persistente. *Stomatologia Moldovei*, 2021, 28(2), 23–30.
10. Istrati, D., Istrati, L. Eficiența tratamentului endodontic în medicația periodontitelor apicale cronice osteo-distructive. *Medicina Stomatologică*, 2020, 2(55), 89–93.
11. Istrati, D. *Endodonția regenerativă a periodontitei apicale cornice distructive în dinții imaturi. Ghid practic*. Chișinău: Universul, 2022, 124 p.
12. Istrati, D., Cartaleanu, A., Romaniuc, D. *Endodonția clinică. Îndrumare metodică*. Chișinău: PRINTSHOP Iprint Grup, 2023, 64 p.
13. Rusnac, R., Garbuz, O., Chumakov, Y., Tsapcov, V., Hureau, C., Istrati, D., Gulea, A. Synthesis, characterization, and biological properties of the Copper (II) Complexes with novel ligand: N-[4-({2-[1-(pyridine-2-yl) ethylidene] hidrazinecarbothioyl} amino) phenyl] acetamide. *Inorganics*, 2023, 11(10), 408.
14. Istrati, D., Burlacu, V. Eficiența tratamentului endodontic imunomodulator în medicația periodontitelor apicale cornice osteo-distructive a dinților imaturi. In: *Culegerea de articole. Conferința națională cu participare internațională „Materiale avansate in Biofarmaceutica si Tehnică”*. Chișinău, 2021, 126–141.
15. Graur, V., Gulea, A. *Novel Biological Agents Based on Metal Complexes of N4-Allylthiosemicarbazones and Their Derivatives*. Chișinău: Moldova State University, 2024.

Date despre autori:



Dorin ISTRATI, doctor în științe medicale, conferențiar universitar, Catedra de stomatologie interdisciplinară și reabilitare orală, USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova
e-mail: dorin.istrati@usmf.md
ORCID: 0000-0002-8795-5277

CZU: 547.913:547.81 https://doi.org/10.59295/mabt2026.07

SINTEZA UNOR DERIVAȚI POLIFUNCȚIONALI ÎN BAZA ACIDULUI *ENT*-KAUR-16-EN-19-OIC

Lidia LUNGU[1], Alexandru CIOCÂRLAN[1], Aculina ARÎCU[1], Maria DUCA[2]

[1]*Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova*
[2]*Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat din Moldova*

Rezumat

Prezentul studiu este dedicat valorificării deșeurilor de floarea-soarelui ca sursă de acid ent-kaur-16-en-19-oic și obținerii unor derivați polifuncționali ai acestuia. A fost elaborată o metodă eficientă de separare chimică a acidului țintă din amestecul său cu acidul ent-trachiloban-19-oic, utilizând fotooxidarea sensibilizată. Prin această abordare a fost obținut selectiv acidul 17-hidroperoxi-ent-kaur-16-en-19-oic, ulterior transformat prin reacții de reducere și acetilare în derivați noi, inclusiv acidul 17-hidroxi și 17-acetoxi-ent-kaur-16-en-19-oic. Structurile compușilor au fost confirmate prin metode spectroscopice moderne (IR, RMN). Rezultatele evidențiază potențialul sintetic și aplicativ al diterpenoidelor ent-kauranice, precum și importanța utilizării resurselor regenerabile în obținerea de compuși bioactivi cu relevanță în chimia farmaceutică.

Cuvinte-cheie: deșeuri de floarea-soarelui, diterpenoide ent-kauranice, acid ent-kaur-16-en-19-oic, acid 17-hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oic, acid 17-acetoxi-ent-kaur-16-en-19-oic, fotooxidare sensibilizată.

SYNTHESIS OF POLYFUNCTIONAL DERIVATIVES BASED ON *ENT*-KAUR-16-EN-19-OIC ACID

Abstract

The present study is dedicated to the valorization of sunflower waste as a source of ent-kaur-16-en-19-oic acid and obtaining its polyfunctional derivatives. An efficient method for the chemical separation of the target acid from its mixture with ent-trachyloban-19-oic acid was developed, using sensitized photooxidation. Through this approach, 17-hydroperoxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid was selectively obtained and subsequently transformed by reduction and acetylation reactions into new derivatives, including 17-hydroxy and 17-acetoxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid. The structures of the compounds were confirmed by modern spectroscopic methods (IR, NMR). The results highlight the synthetic and applicative potential of ent-kauran diterpenoids, as well as the importance of using renewable resources in obtaining bioactive compounds relevant to pharmaceutical chemistry.

Keywords: sunflower waste, ent-kauranic diterpenoids, ent-kaur-16-en-19-oic acid, 17-hydroxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid, 17-acetoxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid, sensitized photooxidation.

Introducere

Compușii diterpenici *ent*-kauranici sunt foarte răspândiți în natură și se întâlnesc în cantități variabile în speciile de plante care aparțin mai multor familii [1]. Scheletul *ent*-kauranic are o structură specifică, care include un fragment perhidrofenantrenic format din inelele A, B, și C, ultimul conjugat cu un inel ciclopentanic D (Figura 1).

Diterpenoidele *ent*-kauranice se caracterizează printr-o gamă diversă de activități biologice: reglatori de creștere a plantelor, repelenți ai insectelor, antiparazitară, antimicrobiană, citotoxică, antitumorală, anti-HIV, steroidogenă, antifertilitate, hipotensivă, antiinflamatorie, diuretică, anti-Alzheimer [2], antiagregarea trombocitelor [3], antispasmolitică [4], antidiabetică și antiobezitate [5], analgezică [6], antialergică [7], embriotoxică [8], genotoxică [9], hipoglicemică [10], imunosupresivă [11], inducerea apoptozei [12], inhibarea contracțiilor vasculare ale mușchilor netezi [13], stimularea depunerii ouălor la insecte [14] și antioxidantă [15].

Semisintezele în bază de compuși naturali, sunt o direcție importantă și promițătoare pentru chimia organică, dar și pentru chimia farmaceutică. În acest context diterpenoidele *ent*-kauranice naturale reprezintă sintoni foarte atractivi. Astfel, în baza acestor compuși au fost efectuate numeroase sinteze, în rezultatul cărora au fost obținute substanțe bioactive noi. Transformările structurale au fost realizate prin procedee chimice sau microbiologice, folosind diverse culturi. De remarcat faptul că, primele investigații ce ţin de transformările chimice ale *ent*-kauranilor au avut drept scop determinarea structurii acestor compuși, în special, a configurației lor absolute [16], iar unele dintre aceste metode sunt utilizate până în prezent [17].

Floarea-soarelui (*Helianthus annuus L.*) este o plantă anuală din familia Asteraceae (sin. Compositae), originară din regiunile Americii Centrale și de Nord. Dovezile etnobotanice indică faptul că, speciile sălbatice din această familie erau folosite de indienii nord americani încă înainte de colonizarea Lumii Noi în alimentație și pentru tratarea diferitor maladii.

Introducerea florii-soarelui în Europa a avut loc la sfârșitul secolului al XVI-lea, când au fost aduse diferite specii de floarea-soarelui, care se deosebeau după structura tulpinii, culoarea florilor și a achenelor, majoritatea având discul capitulelor roșu - purpuriu, achenele prezentând culori foarte variate. Pe parcursul a 250 de ani ea a fost cultivată ca plantă ornamentală, ulterior fiind valorificată ca sursă de semințe comestibile delicioase.

Un moment decisiv în evoluția culturii a fost perioada anilor 1840–1850, când dezvoltarea tehnologiei de extracție a uleiului prin presare mecanică a determinat introducerea florii-soarelui ca plantă oleaginoasă de importanță economică. În Republica Moldova, cultura florii-soarelui are o tradiție de aproximativ două secole, fiind una dintre principalele plante cultivate.

Din punct de vedere economic, *Helianthus annuus* reprezintă una dintre cele mai importante plante oleaginoase la nivel global. În ierarhia producției mondiale de uleiuri vegetale alimentare, floarea-soarelui ocupă locul al patrulea, după soia, bumbac și arahide, contribuind cu aproximativ 16% la producția totală de uleiuri vegetale destinate consumului uman. Uleiul de floarea-soarelui este apreciat pentru calitățile sale nutritive, fiind bogat în acizi grași nesaturați și vitamine liposolubile.

Importanța acestei culturi depășește însă sfera producției de ulei. Floarea-soarelui are un spectru larg de utilizări, contribuind semnificativ la producerea de proteine vegetale, alimente fortificate cu vitamine și minerale, precum și la diversificarea resurselor agroalimentare. De asemenea, este o plantă meliferă valoroasă, producția de miere putând atinge 30–35 kg/ha, în funcție de condițiile pedoclimatice și tehnologia de cultură.

Reziduurile vegetale rezultate în urma recoltării prezintă, la rândul lor, o valoare agronomică și industrială considerabilă. Cenușa obținută din tulpini și resturi de inflorescențe conține aproximativ 35–36% oxid de potasiu (K_2O), constituind o sursă importantă de îngrășăminte potasice. Din tulpini și din cojile semințelor se pot obține compuși chimici valoroși, precum carbonatul de potasiu (K_2CO_3) și furfuralul ($C_5H_4O_2$), utilizat în industria chimică. În plus, floarea-soarelui este utilizată și ca plantă furajeră, în special sub formă de masă verde sau siloz, contribuind la asigurarea bazei furajere în zootehnie [18].

În contextul valorificării complexe a florii-soarelui (*Helianthus annuus* L.) în economia circulară și al necesității extinderii utilizărilor non-alimentare ale acestei culturi, prezentul studiu a avut ca obiectiv explorarea potențialului deșeurilor vegetale rezultate din procesarea plantei ca sursă de acid *ent*-kaur-16-en-19-oic, precum și sinteza unor derivați polifuncționali pe baza acestuia, în vederea eficientizării și diversificării căilor de valorificare a subproduselor agroindustriale.

Metode şi materiale aplicate

Generalități

Punctele de topire (p.t.) au fost determinate pe un aparat *Boetius* (VEB Analytik, Göttingen, Germania). Unghiurile de rotaţie specifică au fost măsurate cu un polarimetru Perkin-Elmer 241 (Perkin-Elmer, Norwalk, SUA), într-o cuvetă de 1 dm, în $CHCl_3$. Spectrele în infraroşu (IR) au fost înregistrate pe un spectrofotometrul Bio-Rad-Win-IR and Spectrum-100FT-IR (Perkin-Elmer) folosind tehnica ATR. Spectrele de rezonanţă magnetică nucleară ^1H și ^{13}C RMN, cât și experimentele bidimensionale au fost înregistrate pe spectrometrul Bruker Avance DRX-400 (400.13 și 100.61 MHz) (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Germania). Valoarea deplasărilor chimice este dată în părți per milion (ppm) în sistemul δ în corelație cu semnalele $CHCl_3$ (δ_H 7.26 și δ_C 77.00 ppm). Analizele GS-MS au fost efectuate pe un model Agilent-5975C (Agilent, Santa Clara, SUA) prevăzut cu o coloană capilară cu silice DB-17, cu diametrul interior de 30 × 0,25 mm, cu heliu ca agent purtător, cuplat cu un spectrometru Agilent-5975C (EI, 70 eV). Analiza elementală a fost realizată pe un analizator de elemente CHNOS, Vario EL III.

Extractele au fost obținute din material natural uscat și mărunțit, folosind extractoare de tip Soxhlet. Extractele au fost în continuare prelucrate cu soluție de NaOH (5%) și extrase cu Et_2O. Extractele eterice au fost spălate cu soluţie saturată de NaCl până la pH=7, uscate pe Na_2SO_4 anhidru, iar solventul distilat în vid [19].

Reacţiile de fotooxigenare au fost efectuate în baloane din sticlă de cuarț, la iradiere externă cu lămpi fluorescente (3 x 60 W), amplasate la distanţa de 1 cm de la balon, prin soluţie barbotându-se oxigen cu un debit de 0,6 cm^3/oră.

Pentru cromatografia analitică în strat subțire (TLC) s-au utilizat plăci de silicagel Merck (Rahway, NJ, SUA) de 60 G cu grosimea stratului de 0,25 mm. Cromatogramele au fost developate cu H_2SO_4 concentrat și încălzite la 80°C timp de 5 minute.

Cromatografia pe coloană a fost efectuată pe silicagel Across (Geel, Belgia) (60–200 mesh) și Merck 60 (70–230 mesh), utilizând un amestec eluant format din eter de petrol (p.f. 40–60°C) și EtOAc în gradient. Toți solvenții au fost purificați și uscați prin tehnici standard înainte de utilizare. Extractele organice au fost uscate peste Na_2SO_4 anhidru, apoi filtrate și evaporate sub presiune redusă.

Sinteza fotooxidativă a acidului 17-hidroperoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic 4.

La soluţia formată dintr-un amestec (100 mg, 0,332 mmol) de acizi ent-kaur-16-en-19-oic 2 și ent-trachiloban-19-oic 3 (aflați conform analizei GC-MS într-un raport de 1.7 : 1), în CH_2Cl_2 anhidru (50 mL), s-a adăugat o cantitate catalitică de meso-tetrafenilporfirină (H2ttp). Amestecul obţinut a fost iradiat timp de 7 ore la temperatura camerei cu becuri fluorescente 3 x 60 W, prin sistem barbotându-se oxigen pe tot parcursul reacției (control CSS). După distilarea solventului în vid, produsul de reacţie (111 mg) a fost cromatografiat pe o coloană cu SiO_2 (12,0 g, eluant EP/EtOAc (4:1)), obținându-se acidul 17-hidroperoxi-ent-kaur-15-en-19-oic 4 (61 mg, 96%), compus cristalin.

(4) - compus cristalin, p.t. 112 – 113 °C; $[\alpha]_D^{20} = -19{,}47°$, (*c* 0,3, $CHCl_3$). Spectrul IR (cm^{-1}, ATR): 2931, 2850, 1696, 1665, 1469, 1445, 1256, 1169, 1021, 905, 800, 706. Spectrul ^1H RMN (400.13 MHz, δ, ppm): 0.99 (3H, s, H_{20}), 0.99-1.07 (4H, m, 2xCH_2), 1.23 (3H, s, H_{18}), 1.25-2.16 (17H, m), 2.61 (1H, t, *J*= 2.0 Hz, H_{13}), 4.56 (2H, d, *J*= 3.4 Hz, H_{17}), 5.50 (1H, s, H_{15}). Spectrul ^{13}C RMN (100.61 MHz, δ, ppm): 40.65 (C_1), 19.03 (C_2), 37.78 (C_3), 43.75 (C_4), 56.70 (C_5), 20.63 (C_6), 43.79 (C_7), 49.28 (C_8), 47.23 (C_9), 39.87 (C_{10}), 18.88 (C_{11}), 39.01 (C_{12}), 41.58 (C_{13}), 25.37 (C_{14}), 140.71 (C_{15}), 140.94 (C_{16}), 75.18 (C_{17}), 28.91 (C_{18}), 184.12 (C_{19}), 15.40 (C_{20}).

Reducerea acidului 17-hidroperoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic 4.

La soluția hidroperoxidului 4 (97 mg, 0,2904 mmol) în MeOH (3,5 mL) s-a adăugat soluția formată din tiouree (46 mg, 0,6052 mmol) în MeOH (2,5 mL). Amestecul de reacție a fost agitat

timp de 3 ore la temperatura camerei, apoi diluat cu H_2O (20 mL) și extras cu Et_2O (3 x 20 mL). După distilarea solventului la presiune redusă, produsul de reacție (80 mg) a fost cromatografiat pe o coloană cu SiO_2 (44,0 g, eluant: EP/EtOAc 95:5), a obținându-se acidul 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic 5 (74 mg, 79%), compus uleios.

(5) - $[\alpha]_D^{20} = -50{,}15°$, (*c* 0,2, $CHCl_3$). Spectrul IR (cm^{-1}, ATR): 3232, 2930, 2853, 1698, 1469, 1445, 1256, 1169, 1132, 918, 798. Spectrul ^1H RMN (400.13 MHz, δ, ppm): 0.97 (3H, s, H_{20}), 1.26 (3H, s, H_{18}), 2.61 (1H, s.l., H_{13}), 4,21 (2H, d, *J*= 1.04 Hz, H_{17}), 5.38 (1H, s, H_{15}). Spectrul ^{13}C RMN (100.61 MHz, δ): 40.7 (C_1), 19,.01 (C_2), 37.78 (C_3), 43.64 (C_4), 56.61 (C_5), 20.75 (C_6), 39.2 (C_7), 48.96 (C_8), 47.61 (C_9), 39.8 (C_{10}), 18.93 (C_{11}), 25.41 (C_{12}), 41.12 (C_{13}), 43.90 (C_{14}), 135.56 (C_{15}), 146.13 (C_{16}), 61.32 (C_{17}), 28.89 (C_{18}), 183.32 (C_{19}), 15.58 (C_{20}). Găsit (%): C 75.46; H 9.48. Calculat. $C_{20}H_{30}O_3$: C 75.43; H 9.50.

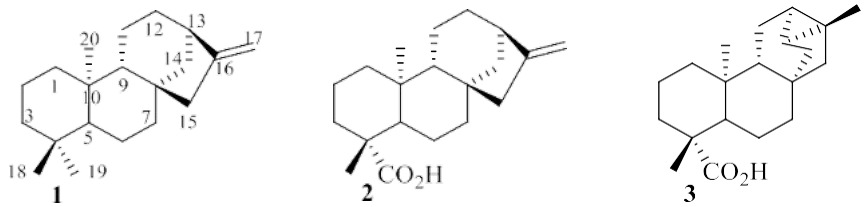
Acetilarea acidului 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic 5.

La soluția alcoolului 5 (45 mg, 0,14 mmol) în Py anhidră (1,5 mL) s-a adăugat Ac_2O (0,5 mL). Amestecul rezultat a fost agitat peste noapte la temperatura camerei. Apoi, amestecul de reacție a fost diluat cu H_2O (30 mL) și extras cu Et_2O (3 x 20 mL). Extractul eteric a fost spălat consecutiv cu soluție de H_2SO_4 (5%, 2 x 30 mL), apoi cu H_2O (3 x 30 mL) până la pH=7. După uscare pe Na_2SO_4 anh. și distilarea solventului la presiune redusă, produsul de reacție (62 mg) a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu SiO_2 (4,0 g, eluant: EP / EtOAc 75: 25), obținându-se acetatul 6 (47 mg, 93%), compus uleios.

(6) - $[\alpha]_D^{20} = -33{,}19°$, (*c* 0,5, $CHCl_3$). Spectrul IR (cm^{-1}, ATR): 2932, 2855, 1740, 1698, 1470, 1444, 1366, 1240, 1226, 1136, 1022, 914, 799, 734. Spectrul ^1H RMN (400.13 MHz, δ, ppm): 0.99 (3H, s, H_{18}), 1.26 (3H, s, H_{20}), 2.10 (3H, s, OAc), 2.55 (1H, t, *J*= 2.6 Hz, H_{13}), 4.65 (2H, dd, *J*= 14.6, 1.0 Hz, H_{17}), 5.46 (1H, s, H_{15}). Spectrul ^{13}C RMN (100.61 MHz, δ, ppm): 171.01 (OAc), 20.69 (OAc), 40.68 (C_1), 19.07 (C_2), 37.90 (C_3), 43.70 (C_4), 56.72 (C_5), 20.98 (C_6), 39.05 (C_7), 49.14 (C_8), 47.32 (C_9), 39.88 (C_{10}), 18.84 (C_{11}), 25.35 (C_{12}), 41.48 (C_{13}), 43.77 (C_{14}), 138.58 (C_{15}), 140.94 (C_{16}), 62.50 (C_{17}), 28.93 (C_{18}), 182.73 (C_{19}), 15.43 (C_{20}).

Rezultate obținute și discuții

Numărul diterpenoidelor *ent*-kauranice izolate crește continuu, dar cel mai frecvent compușii care prezintă interes se găsesc în cantităţi destul de mici în sursele naturale. În acest context, acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** reprezintă diterpenoid cu un potențial sintetic înalt. Acesta se întâlnește în diferite specii de plante împreună cu acidul *ent*-trachiloban-19-oic **3**, dar dintre toate se evidențiază floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.)*,* în care se conțin cantităţi considerabile de compuși **2** și **3** (Figura 1). De menționat că, ambii acizi sunt biologic activi. De exemplu, acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** se caracterizează printr-o gamă diversă de proprietăţi biologice, precum cea antibacteriană, antifungică, antiinflamatorie, analgezică, citotoxică (leucemie, cancer de colon, mamar, hepatic), anti-Alzheimer, anti-HIV-1 și tratarea diabetului. Ca şi mulţi alţi compuși e*nt*-kauranici, acidul **2** joacă un rol important în biosinteza gibberelinelor.



1 **2** **3**

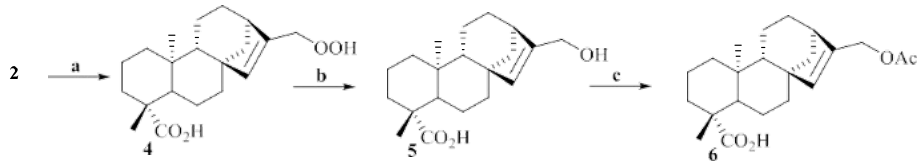
Figura 1. Schelet *ent*-kauranic 1, acizii *ent*-kaur-16-en-19-oic 2 și *ent*-trachiloban-19-oic 3.

Dar aspectul cel mai important este că, compușii **2** și **3** pot fi izolați din deșeurile de floarea-soarelui, iar valorificarea acestor deșeuri are o importanţă practică şi economică deosebită.

Extracţia acizilor *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** și *ent*-trachiloban-19-oic **3** din deșeurile de floarea-soarelui, a fost efectuată anterior [19]. S-a demonstrat că, acești compuși sunt cromatografic inseparabili pe fază normală, dar pot fi separați pe SiO_2 impregnat cu azotat de argint.

Scopul acestui studiu a fost găsirea unor modalități de separare a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** din amestecul cu acidul *ent*-trachiloban-19-oic **3** prin metode chimice, mai exact printr-o metodă neconvențională.

Ideea a fost realizată prin utilizarea fotooxidării sensibilizate a amestecului inseparabil cromatografic de acizi *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** și *ent*-trachiloban-19-oic **3**, aflați într-un raport de 1.7:1, și care a permis transformarea selectivă a acidului **2** în derivatul oxigenat **4**, conform Schemei 1.



Schema 1. Sinteza derivaților oxigenați ai acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic 2.

Reagenți și condiții: a) CH_2Cl_2, (H_2ttp), iradiere 7 ore, 3 x 60W, O_2 c.n., 96%; b) MeOH, CH_4N_2S, agitare 3 ore, c.n. 79%; c) Ac_2O, Py, agitare 24 ore, c.n., 93%.

Produsul de reacție **4** a fost obținut cu un randament de 96%, iar structura acestuia a fost confirmată prin analiza spectrală.

În spectrul IR al acidului 17-hidroperoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **4** sunt prezente benzile de absorbție ce corespund grupărilor alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-) la 2930 și 2853 cm^{-1}, grupei hidroperoxi (-OOH) la 3232 și 1169 cm^{-1} grupei carboxil (-COOH) la 1665 și 1169 cm^{-1}, iar cele caracteristice legăturii duble trisubstituite (>C=CH-) la 1660 și 905 cm^{-1}.

În spectrul ^{1}H RMN se observă prezența semnalelor singlet ale grupelor metil din C_{18} la 1.23 ppm şi C_{20} la 0.96 ppm, semnalul singlet monoprotonic din C_{15} la 5.50 ppm şi semnalul dublet al grupei metilenice din C_{17} la 4.56 ppm.

În spectrul ^{13}C RMN al acestui compus sunt prezente semnale ce aparțin atomului de carbon C_{18} la 28.91 ppm şi C_{20} la 15.40 ppm și a nouă grupe metilenice, inclusiv a celei din C_{17} de la 75.18 ppm. Semnalele carbonilor cuaternari din poziţiile C_4, C_8, C_{10} şi C_{16} se găsesc la 43.75, 49.28, 39.87 şi 140.94 ppm, iar semnalul grupei caboxil din poziţia C_{19} se găseşte la 184.12 ppm. Semnalele carbonilor trisubstituiţi C_5, C_9 şi C_{15} se găsesc la 56.70, 47.23 şi 140.71 ppm

În continuare, hidroperoxidul **4** a fost redus, iar în rezultatul acestei transformări s-a obținut alcoolul alilic **5** cu un randament de 79%. De menționat că în acest fel a fost realizată sinteza scurtă și eficientă a unui analog natural, izolat anterior din fructele speciei *Annona glabra* [20]. Structura acidului 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **5** a fost stabilită în baza datelor spectrale.

În spectrul IR al acestuia sunt prezente benzile de absorbție caracteristice pentru grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-) la 2930 și 2853 cm^{-1}, grupei carboxil (-COOH) la 1698 și 1169 cm^{-1}, hidroxil (-OH) la 3232 și 1132 cm^{-1} și a legăturii duble trisubstituite (>C=CH-) la 1660 și 918 cm^{-1}.

În spectrul ^{1}H RMN sunt prezente semnalele singlet ale grupelor metil din C_{18} la 1.26 ppm şi C_{20} la 0.99 ppm, semnalul singlet monoprotonic din C_{15} la 5.38 ppm şi semnalul dublet al grupei metilenice din C_{17} la 4.21 ppm.

Spectrul ^{13}C RMN se atestă prezența grupelor metil în C_{18} la 28.89 ppm și C_{20} la 15.42 ppm, precum și a nouă grupe metilenice, inclusiv a celei din C_{17} de la 61.32 ppm. Semnalele carbonilor cuaternari din poziţiile C_4, C_8, C_{10} şi C_{16} se găsesc la 43.64, 48.96, 39.80 şi 146.13 ppm, iar semnalul grupei caboxil din poziţia C_{19} se găseşte la 183.32 ppm. Semnalele carbonilor trisubstituiţi C_5, C_9 şi C_{15} se găsesc la 56.61, 47.61 şi 135,56 ppm.

Acetilarea acidului 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **5** în condițiile indicate în Schema 1, a condus la formarea acidului 17-acetoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **6**.

În spectrul IR al compusului **6** sunt prezente benzile de absorbție caracteristice pentru grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-) la 2932 și 2855 cm^{-1}, grupării acetat (-OAc) la 1740, 1240 și 1226 cm^{-1}, și a legăturii duble trisubstituite (>C=CH-) la 1698 și 914 cm^{-1}.

În spectrul ^1H RMN sunt prezente semnalele singlet ale grupelor metil din C_{18} la 1.26 ppm și C_{20} la 0.99 ppm și din grupa acetat la 2.10 ppm, semnalul singlet monoprotonic din C_{15} la 5.44 ppm și semnalul dublet al grupei metilenice din C_{17} la 4.69 ppm.

Spectrul ^{13}C RMN se atestă prezența grupelor metil în C_{18} la 28.93 ppm și C_{20} la 15.43 ppm și a nouă grupe metilenice, inclusiv a celei din C_{17} de la 62.50 ppm. Semnalele carbonilor cuaternari din poziţiile C_4, C_8, C_{10} şi C_{16} se găsesc la 43.64, 49.14, 39.88 şi 140.94 ppm, iar semnalul grupei caboxil din poziţia C_{19} se găseşte la 182.73 ppm și a grupei acetat la 171.01 și 20.69 ppm.

Concluzii

A fost elaborat un procedeu nou și eficient de separare chimică a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic **2** din amestecul cu acidul *ent*-trachiloban-19-oic **3**, folosind reacția de fotooxidare sensibilizată. În rezultat au fost obținuți derivații noi ai acestuia: acizii 17-hidroperoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **4**, 17-acetoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **6** și analogul natural, acidul 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic **5**, iar structurile acestora a fost confirmată prin metode fizico-chimice moderne.

Referinţe:

1. Garsia, P. A., de Oliveira, A. B., Batista, R. Occurrence, Biological activities and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. *Molecules*, 2007, 12(3), 455–483. DOI: 10.3390/12030455.
2. Ghisalberti, E. L. The biological activity of naturally occurring kaurane diterpenes. *Fitoterapia*, 1997, 68(4), 303–325.
3. Yung, Y.-L., Chang, F.-R., Wu, C.-C., Wang, W.-Y., Wu, Y.-C. New ent-kaurane diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from Annona squamosa. *J. Nat. Prod.*, 2002, 65(10), 1462–1467. DOI: 10.1021/np020191e.
4. Zamilpa, A., Tortoriello, J., Navarro, V., Delgado, G., Alvarez, L. Antispasmodic and antimicrobial diterpenic acids from Viguiera hypargyrea roots. *Planta Med.*, 2002, 68(3), 281–283. DOI: 10.1055/s-2002-23146.
5. Kim, S., Na, M., Oh, H., Jang, J., Sohn, C. B., Kim, B. Y., Ahn, J. S. PTP1B inhibitory activity of kaurane diterpenes isolated from Siegesbeckia glabrescens. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2006, 21, 379–383. DOI: 10.1080/14756360600741560.
6. Block, L. C., Santos, A., de Souza, M. M., Scheidt, C., Rosendo, A. Y., Santos, M. A., Monache, F. D., Filho, V. C. Chemical and pharmacological examination of antinociceptive constituents of Wedelia Paludosa. *J. Ethnopharmacol.*, 1998, 61(1), 85–89. DOI: 10.1016/S0378-8741(98)00019-1.
7. Cheenpracha, S., Yodsaoue, O., Karalai, C., Ponglimanont, C., Subhadhirasakul, S., Tewtrakul, S., Kanjana-Opas, A. Potential anti-allergic ent-kaurene diterpenes from the bark of Suregada multiflora. *Phytochemistry*, 2006, 67(24), 2630–2634. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.09.031.
8. Costa-Lotufo, L., Cunha, G., Farias, P. A. M., Viana, G. S. B., Cunha, K. M. A., Pessoa, C., de Moraes, M. O., Silveira, E. R., Gramosa, N. V., Rao, V. S. N. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from Copaifera langsdorffii oleo-resin. *Toxicon*, 2002, 40(8), 1231–1237. DOI: 10.1016/S0041-0101(02)00128-9.

9. Cavalcanti, B. C., Costa-Lotufo, L., Moraes, M. O., Burbano, R. R., Silveira, E. R., Cunha, K. M. A., Rao, V. S. N., Moura, D. J., Rosa, R. M., Henriques, J. A. P., Pessoa, C. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. *Food Chem. Toxicol.*, 2006, 44(3), 388–392. DOI: 10.1016/j.fct.2005.08.011.
10. Bresciani, L. F. V., Cechinel-Filho, V., Yunes, R. A. Comparative study of different parts of Wedelia paludosa by gas chromatography. *Nat. Prod. Lett.*, 2000, 14(4), 247–254. DOI: 10.1080/10575630008041239.
11. Duan, H., Takaishi, Y., Momota, H., Ohmoto, Y., Taki, T., Jia, Y., Li, D. Immunosuppressive diterpenoids from Tripterygium wilfordii. *J. Nat. Prod.*, 1999, 62, 1522–1525. DOI: 10.1021/np9902183.
12. Liu, J., Huang, R., Lin, D. J., Peng, J., Zhang, M., Pan, X., Hou, M., Wu, X., Lin, Q., Chen, F. Ponicidin, an ent-kaurane diterpenoid derived from a constituent of the herbal supplement PC-SPES, Rabdosia rubescens, induces apoptosis by activation of caspase-3 and mitochondrial events in lung cancer cells in vitro. *Cancer Invest.*, 2006, 24(2), 136–148. DOI: 10.1080/07357900500524371.
13. Cunha, K. M. A., Paiva, L. K., Santos, F. A., Gramosa, N. V., Silveira, E. R., Rao, V. S. N. Smooth muscle relaxant effect of kaurenoic acid, a diterpene from Copaifera langsdorffii on rat uterus in vitro. *Phytother. Res.*, 2003, 17(4), 320–324. DOI: 10.1002/ptr.1133.
14. Morris, B. D., Foster, S. P., Grugel, S., Charlet, L. D. Isolation of the diterpenoids, ent-kauran-16α-ol and ent-atisan-16α-ol, from sunflowers, as oviposition stimulants for the banded sunflower moth, Cochylis hospes. *J. Chem. Ecol.*, 2005, 31, 89–102. DOI: 10.1007/s10886-005-0976-2.
15. Kataev, V., Khaybullin, R., Sharipova, R., Strobykina, I. Ent-Kaurane diterpenoids and glycosides: Isolation, properties, and chemical transformations. *Rev. J. Chem.*, 2011, 1, 93–160. DOI: 10.1134/S2079978011010043.
16. Kaneda, N., Kohda, H., Yamasaki, K., Tanaka, O., Nishi, K. Paniculosides I-V, diterpenes-glucosides from Stevia ovata L. *Chem. Pharm. Bull.*, 1978, 26, 2266–2267. DOI: 10.1248/cpb.26.2266.
17. Briggs, L. H., Cawley, R. W. Diterpenes. Part I. The Identity of Kaurene with Podocarprene. *J. Chem. Soc.*, 1948, 1888–1889. DOI: 10.1039/JR9480001888.
18. Duca, M., Stratan, A., Duca, G., Clapco, S., Craciunescu, O., Oprita, E. I. Agroecological management of sunflower in the circular economy. In: *The Nineteenth International Conference on Management Science and Engineering Management. ICMSEM 2025. Lecture Notes on Data Engineering and Communications Technologies*, vol. 264. Springer, Singapore, 2025. DOI: 10.1007/978-981-95-1595-0_102.
19. Morărescu, O. *Transformări sintetice ale acizilor ent-kaur-16-en-19-oic şi ent-trachiloban-19-oic*. [Dissertation]. Chișinău, 2019, 123 p.
20. Hsieh, T.-J., Wu, Y.-C., Chen, S.-C., Huang, C.-S., Chen, C.-Y. Chemical constituents from Annona glabra. *J. Chin. Chem. Soc.*, 2004, 51, 869–876. DOI: 10.1002/jccs.200400131.

Date despre autori:



Lidia LUNGU, dr. în științe chimice, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: lidia.lungu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-9495-2621



Alexandru CIOCÂRLAN, dr. hab. în științe chimice, conf. univ., Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: alexandru.ciocarlan@usm.md
ORCID: 0000-0002-0776-5095



Aculina ARÎCU, memb. cor., dr. hab. în științe chimice, conf. cerc., Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: aculina.aricu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-7201-2519



Maria DUCA, acad., prof., dr.hab. în științe biologice, Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: mduca2000@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-5855-5194

CZU: 544.142.3:546.732 https://doi.org/10.59295/mabt2026.08

A LADDER-LIKE COBALT(II) COORDINATION POLYMER INCORPARATING PIVALATE AND 4,4′-BIPYRIDINE LIGANDS

Ecaterina BELEAEV, Victor Ch. KRAVTSOV, Svetlana G. BACA

Institute of Applied Physics, Moldova State University, Academiei str. 5, MD2028 Chisinau, R. Moldova

Abstract

A new one-dimensional (1D) coordination polymer $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (**1**) (where Hpiv = pivalic acid, 4,4′-bpy = 4,4′-bipyridine) has been synthesized via the solvothermal reaction of a dinuclear $[Co_2(H_2O)(piv)_4(Hpiv)_4]$ complex with 4,4′-bipyridine. Single-crystal X-ray diffraction analysis reveals that the structure of **1** adopts a distinctive ladder-like chain architecture. In this structural motif, dinuclear $[Co_2(piv)_4]$ subunits function as the rigid rungs, while the elongated 4,4′-bpy ligands act as the rails, which together define the ladder-like topology of the coordination polymer. Within the chains, the 4,4′-bpy exo-ligand bridge the Co(II) centers with a Co···Co separation of 11.407 Å, while the pivalate ligands facilitate inter-chain connectivity through double-bridging modes, resulting in a significantly shorter Co···Co separation of 4.155 Å. The influence of the various types of intermolecular interactions on the crystal packing was evaluated using Hirshfeld surface analysis and 2D fingerprint plots.

Keywords: ladder-like, coordination polymer, cobalt, pivalic acid, 4,4′-bipyridine, X-ray structure, Hirshfeld surface analysis.

UN POLIMER COORDINATIV DE COBALT(II) DE TIP SCARĂ CARE ÎNCORPOREAZĂ LIGANZI DE PIVALAT ȘI 4,4′-BIPIRIDINĂ

Resumat

Un nou polimer de coordinativ unidimensional (1D), $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (**1**) (unde Hpiv = acid pivalic, 4,4′-bpy = 4,4′-bipiridină), a fost sintetizat prin reacția solvotermală a unui complex dinuclear $[Co_2(H_2O)(piv)_4(Hpiv)_4]$ cu 4,4′-bipiridină. Analiza prin difracție de raze X pe monocristal relevă faptul că structura compusului **1** constă din lanțuri de tip scară. În acest motiv structural, subunitățile dinucleare $[Co_2(piv)_4]$ funcționează ca trepte rigide, în timp ce liganzii alungiți de 4,4′-bpy servesc drept trepte, care împreună definesc topologia de tip scară a polimerului coordinativ. În cadrul lanțurilor, exo-ligandul 4,4′-bpy leagă centrele Co(II) cu o separare Co···Co de 11,407 Å, în timp ce liganzii pivalați facilitează conectivitatea inter-lanț prin moduri de dublă punte, rezultând o separare Co···Co semnificativ mai scurtă de 4,155 Å. Influența diverselor tipuri de interacțiuni intermoleculare asupra împachetării cristaline a fost evaluată ulterior prin analiza suprafeței Hirshfeld și prin diagrame de amprentă 2D.

Cuvinte-cheie: tip scară, polimer coordnativ, cobalt, 4,4′-bipiridină, acid trimetilacetic, structură cu raze X, analiza suprafaței Hirshfeld.

Introduction

The design and synthesis of coordination polymers (CPs) based on transition metal ions and organic bridging ligands have become a focal point in materials science [1-4]. Among the transition metals, cobalt occupies a prominent position due to its versatile coordination geometries, multiple oxidation states, and potential for exhibiting interesting magnetic and catalytic properties [5-8]. The structural diversity of cobalt-based CPs, in conjunction with their tunable architectures, offers significant potential for the development of functional porous materials that exhibit desirable physical and chemical characteristics [9-11].

A fundamental strategy employed in the field of crystal engineering of cobalt-based systems involves the utilization of carboxylate groups as preferred spacer ligands, often in conjunction

with select auxiliary co-ligands [8, 11-14]. Specifically, pivalate ligands have proven highly effective in stabilizing both discrete clusters and extended frameworks [8,15-17]. The pivalate moiety is particularly advantageous as it combines the robust coordination ability of the carboxylate group with the significant steric bulk and hydrophobic nature of the *tert*-butyl group. These features enable the regulated assembly of metal clusters, where pivalate ligands frequently function as terminal or bridging units, thereby determining the ultimate dimensionality of the framework [18-20]. On the other hand, the 4,4′-bipyridine (4,4′-bpy) ligand facilitates the formation of various topologies, including 1D chains, 2D layers, and 3D frameworks [21]. Despite the established utility of both pivalates and 4,4′-bpy in coordination chemistry, the library of cobalt-based coordination polymers featuring this specific combination remains remarkably sparse. A survey of the Cambridge Structural Database (CSD) [22] reveals only two reported cobalt-pivalate polymers bridged by 4,4′-bpy (refcodes: ILUXOD [19] and YEHGAV [20]). The aforementioned examples are both constituted by two-dimensional (2D) polymeric layers that are characterized by the presence of honeycomb-like cavities.

As cobalt-based coordination polymers with these ligands have not been extensively explored, the present study seeks to expand the structural landscape of this family. We report the synthesis and structural characterization of a new one-dimensional (1D) ladder-like coordination polymer, $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (**1**) (where Hpiv = pivalic acid, 4,4′-bpy = 4,4′-bipyridine). The structure of **1** was elucidated using single-crystal X-ray diffraction, complemented by IR and TG analyses to establish structure-property relationships. Additionally, Hirshfeld surface analysis was conducted to provide a quantitative and qualitative assessment of the intermolecular interactions governing the crystalline packing of this new cobalt architecture.

Experimental section

Method and materials. Commercially available chemicals were used without further purification. All reactions were carried out under aerobic conditions using commercial grade solvents. Cobalt(II) pivalate was prepared by the method described in literature [23]. Thermogravimetric analysis measurements were performed on METTLER TOLEDO thermogravimetric analyzer TGA/DSC3 in nitrogen atmosphere with heating rate of 5 K/min from 25 to 600 °C. The hydro(solvo)thermal synthesis was carried out in cylindrical PTFE-lined stainless-steel autoclave, which were heated in a Memmert UFP 400 programmable oven. The FT-IR spectrum were recorded using a Perkin Elmer FT-IR Spectrum spectrophotometer within the 650-4000 cm^{-1} range. HS analysis and two-dimensional (2D) fingerprint plots diagrams generated by CrystalExplorer [24-25] were performed to investigate the nature and quantitative contributions of intermolecular interactions in crystal assembly. The 2D fingerprint plots were displayed using the 0.6–2.8 Å expanded view, with the scale for the d_i (inside) and d_e (outside) distances displayed on the plot axes.

Synthesis of $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (1). A mixture containing $[Co_2(H_2O)(piv)_4(Hpiv)_4]$ (0.28 g, 0.295 mmol), NaN_3 (0.01 g, 0.15 mmol), and 4,4′-bpy (0.023 g, 0.15 mmol) in 6 mL of ethanol was stirred to homogenize and then transferred to a cylindrical PTFE-lined stainless-steel autoclave and slowly heated in an oven for 2 h to reach 120°C The temperature was held constant for an additional 48 h, followed by cooling for 48 h to room temperature. Dark-orange, needle-shaped crystals suitable for single-crystal X-ray diffraction were filtered off, washed with a small amount of water and then cold ethanol, and dried in air. Yield: 0.033 g, 13% (based on Co). Notably, while sodium azide does not coordinate to metal center, it acts as a necessary template for the formation of the crystals; blank experiments preformed without sodium azide failed to yield any crystalline product. FT-IR (cm^{-1}) 2951 (m), 2927 (m), 2864 (sh), 1585 (vs), 1544 (sh), 1481 (s), 1459 (sh), 1418 (vs), 1375 (sh), 1355 (s), 1291 (sh), 1221 (vs), 1208 (sh), 1103 (w), 1071 (m), 954 (m), 934 (w), 895 (s), 811 (vs), 732 (m), 630 (vs), 600 (s).

Crystallography. Single-crystal X-ray diffraction experiments for **1** were performed at 293 K on a Xcalibur E CCD diffractometer equipped with graphite-monochromatized Mo Kα radiation. The positions of the metal atoms were determined using direct methods. The other atoms were subsequently identified through alternating cycles of least-squares refinement and difference Fourier map analysis. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically using a full-matrix least-squares approach implemented in the SHELX software package [26]. The experimental data are presented in Table 1 and selected bond distances and angles in Table 3. Crystallographic data for the structure have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) under the accession number: 2538525.

Results and disscusion

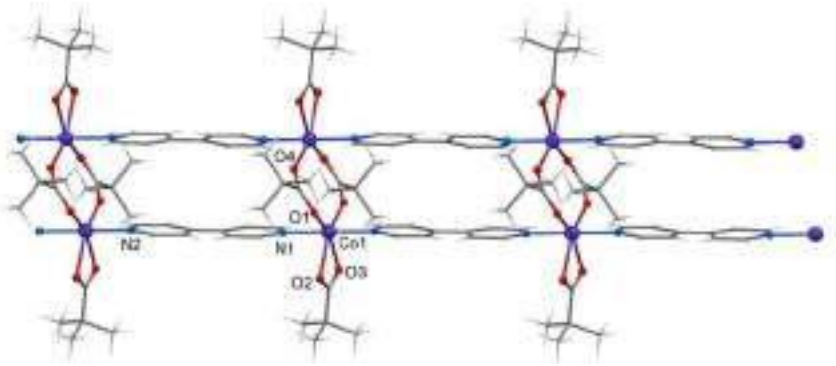
Structural Characterization

Single crystal X-ray analysis reveals that 1 crystallizes in the monoclinic $P2_1/c$ space group, with unit cell parameters a = 11.3930(8), b = 11.4065(7), c = 16.4614(9) Å, β = 101.144(6)°, V = 2098.9(2) Å^3 (Table 1). The X-ray analysis shows that 1 represent the ladder type 1D coordination polymer, in which dimeric [$Co_2(piv)_4$] units serve as ladder rungs, while the 4,4′-bpy ligands serve as the rails (Fig. 1a). In this arrangement, the 4,4′-bpy molecules function as linear spacers, effectively separating the metal nodes along the chain. The pivalate groups play a dual role: they satisfy the coordination requirements of the Co(II) ions and facilitate inter-chain connectivity. Their bulky *tert*-butyl groups govern the supramolecular assembly, providing steric hindrance that prevent the formation of higher-dimensional frameworks. Survey of CSD reveals only two examples of similar ladder-like cobalt polymer with phenyl [27], and trifluoroacetic acid [28] carboxylate ligands.

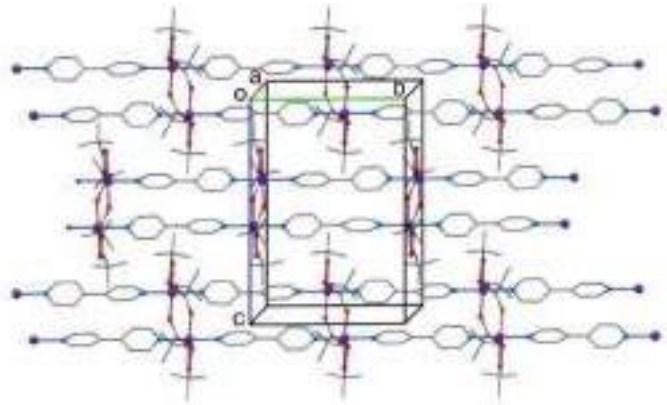
The coordination environment around the cobalt center is best described as a distorted N_2O_4 octahedron. This geometry is further confirmed by Continuous Shape Measure (CShM) analysis [29-30], which yields a value of 2.738, indicating a clear deviation from the ideal octahedral (*O*$_h$, *OC*-6) symmetry (Table 2). The coordination sphere is composed of four oxygen atoms from three pivalate ligands (comprising two bridging and one chelating group) and two nitrogen atoms from 4,4′-bpy ligands occupying *trans*-positions. The Co–O bond distances range from 2.024(2) to 2.241(2) Å, while the Co–N bond distances are similar and equal 2.151(2) and 2.155(2) Å (Table 3). Two pivalate ligands adopt a μ_2-bridging mode, linking adjacent cobalt centers into dinuclear [Co_2] units with a Co···Co separation of 4.1553(5) Å. These units are further extended into a 1D polymeric ladder-like structure by the 4,4′-bpy spacers, which bridge the metal nodes along the chain with a Co···Co separation of 11.4065(9) Å. In the crystal lattice, these chains are parallel and running along the *b* crystallographic axis (Fig. 1b).

IR Spectroscopy and Thermal Analysis

The IR spectrum of 1 exhibits characteristic asymmetric and symmetric absorption bands corresponding to the coordinated pivalate ligands and the 4,4′-bpy linkers. Aliphatic C–H asymmetric and symmetric stretching vibrations of the *tert*-butyl fragments of the pivalates, along with the aromatic C–H stretching vibrations of 4,4′-bpy ligands, appear in the 2951-2864 cm^{-1} range. Bands at 1481 cm^{-1} and in the 1418-1355 cm^{-1} region are attributed to asymmetric and symmetric C–H bending vibrations, respectively. Strong characteristic bands in the region of 1585-1544 cm^{-1} are assigned to the asymmetric stretching vibrations of the coordinated carboxylate groups, ν_{as}(COO), overlapping with the ν(C=N) stretching of the 4,4′-bpy ligands. The band at 1418 cm^{-1} corresponds to symmetric ν_s(COO) stretching modes of the carboxylate groups. Further, the absorption at 1221 cm^{-1} is associated with C–N stretching and in-plane aromatic ring vibrations of the 4,4′-bpy ligand, while the peak at 1072 cm^{-1} is attributed to pyridyl rings deformations. In the lower-frequency region, peaks at 895, 811, and 732 cm^{-1} correspond to the out-of-plane C–H bending vibrations of the 4,4′-bpy pyridine rings.



(a)



(b)

Figure 1. (a) View of the ladder-like 1D polymer in the structure; (b) View of the crystal packing of 1, showing the parallel arrangement of the chains along the *b* axis.

Table 1. Crystal data and details of structural determinations for 1

Formula	$C_{20}H_{26}CoN_2O_4$
*M*r / g·mol^{-1}	417.36
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1/c$
a/Å	11.3930(8)
b/Å	11.4065(7)
c/Å	16.4614(9)
α/°	90
β/°	101.144(6)
γ/°	90
V/Å^3	2098.9(2)
Z	4
Final R_1, wR_2 (%)	0.0473, 0.1057
R indices R_1, wR_2 (all data) (%)	0.0804, 0.1196

Table 2. Continuous shape measures (CShM) for the coordination geometry of the Co center in 1

	JPPY-6	*TPR*-6	*OC*-6	*PPY*-6	*HP*-6
ML6	Johnson pentagonal pyramid J2 (C_{5v})	Trigonal prism (D_{3h})	Octahedron (O_h)	Pentagonal pyramid (C_{5v})	Hexagon (D_{6h})
Co1	27.166	11.223	**2.738**	23.156	33.019

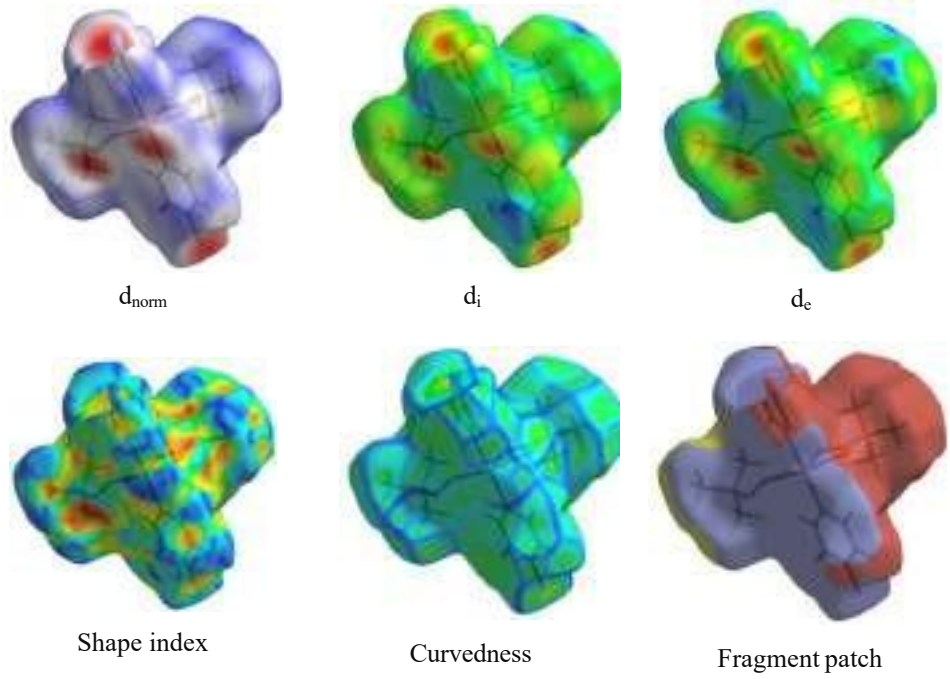
Table 3. Selected bond distances (Å) and angles (°) in 1

Co(1)–O(1)	2.025(2)	O(4)–Co(1)–N(2)	86.77(9)
Co(1)–O(4)	2.026(2)	O(3)–Co(1)–N(2)	91.55(9)
Co(1)–O(3)	2.144(2)	O(1)–Co(1)–N(1)	90.67(8)
Co(1)–N(2)	2.151(2)	O(4)–Co(1)–N(1)	93.54(8)
Co(1)–N(1)	2.156(2)	O(3)–Co(1)–N(1)	88.49(8)
Co(1)–O(2)	2.241(2)	N(2)–Co(1)–N(1)	179.68(9)
O(1)–Co(1)–O(4)	115.57(9)	O(1)–Co(1)–O(2)	92.97(8)
O(1)–Co(1)–O(3)	152.52(9)	O(4)–Co(1)–O(2)	151.43(9)
O(4)–Co(1)–O(3)	91.89(9)	O(3)–Co(1)–O(2)	59.55(8)
O(1)–Co(1)–N(2)	89.15(9)	N(2)–Co(1)–O(2)	92.60(8)
		N(1)–Co(1)–O(2)	87.15(8)

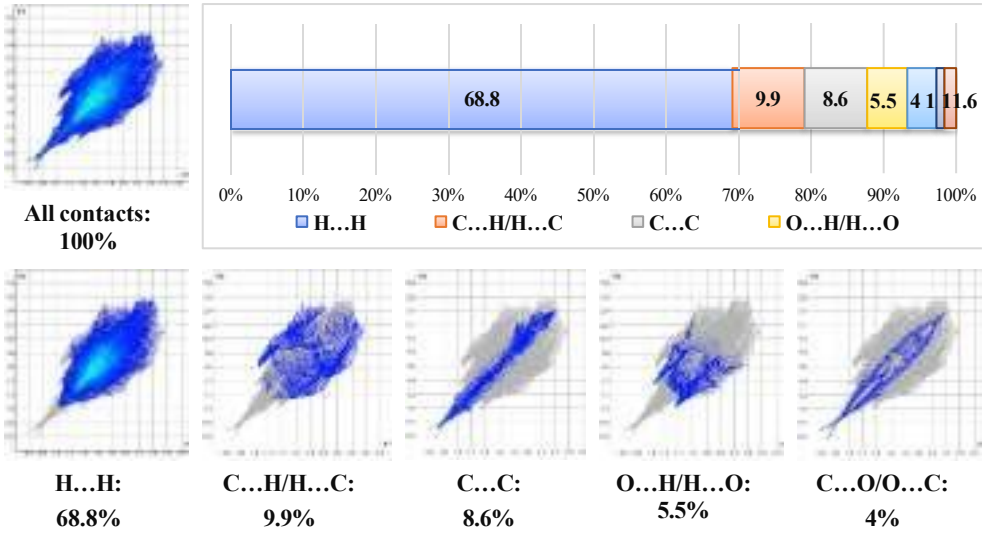
The thermal analysis of coordination polymer 1 reveals that the material is stable up to 180 °C. Above this temperature, a significant mass loss of 85.8% (calc. 85.8%) occurs in the temperature range up to 290 °C, corresponding to simultaneous decomposition of both pivalate and 4,4′-bpy ligands. The next stage, between 313 °C and 330 °C, involves the complete decomposition of the framework, resulting in a solid residue of CoO. The DTA curve exhibits a thermal effect associated with the degradation of the organic ligands with a minor endothermic peak at 310 °C.

Hirshfeld Surface Calculation

The Hirshfeld molecular surfaces for a fragment of the one-dimensional polymeric compound $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (1) was generated at high resolution, with the three-dimensional surfaces mapped over d_{norm} using a fixed color scale ranging from -1.2138 to +1.7015 (Fig. 2a). The two-dimensional (2D) fingerprint plots were employed to quantify the contributions of all intermolecular contacts (Fig. 2b). The analysis reveals that H···H interactions dominate, comprising 68.8% of the Hirshfeld surface and reflecting their prevalence in the crystal packing. The C···H/H···C contacts represent the second most significant contribution (9.9%), suggesting the presence of weak C–H···π interactions within the lattice. In addition, C···C interactions account for 8.6%, which can be attributed to π-π stacking between the aromatic rings of the 4,4′-bpy ligands. Hydrogen bond O···H/H···O contacts contribute 5.5%, indicating weak hydrogen bonding involving carboxylate oxygen atoms. Furthermore, C···O/O···C interactions contribute 4.0%, while other minor contacts collectively represent 3.2% of the Hirshfeld surface.



(a)



(b)

Figure 2. (a) View of the Hirshfeld surface for the $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (1) decorated with different properties. (b) 2D fingerprint plot with the relative contributions of all contacts mapped over d_{norm} in 1

Conclusions

In conclusion, a new 1D coordination polymer, $[Co(piv)_2(4,4'\text{-bpy})]_n$ (**1**), has been synthesized and structurally characterized. The polymer structure exhibits a distinct ladder-like topology based on $[Co_2(piv)_4]$ building units, which function as the structural "rungs" of the ladder. These dimeric nodes are interconnected by rigid 4,4'-bpy ligands acting as "rails" that extend the coordination network along the *b* axis in **1**. This specific 1D architecture is further stabilized by the peripheral *tert*-butyl groups of the pivalate ligands, which effectively shield the polymeric chains and prevent inter-chain cross-linking into higher-dimensional networks. The results demonstrate that the synergy between rigid aromatic spacers and sterically demanding carboxylates is an effective strategy for engineering stable, low-dimensional molecular architectures.

References:

1. Yaghi, O. M. Synthetic strategies, structure patterns, and emerging properties in the chemistry of modular porous solids. Acc. Chem. Res., 1998, 31, 474–484. DOI: 10.1021/ar970151f.
2. Moulton, B., Zaworotko, M. J. From molecules to crystal engineering: supramolecular isomerism and polymorphism in network solids. *Chem. Rev.*, 2001, 101, 1629–1658. DOI: 10.1021/cr9900432.
3. Perry, J. J., Perman, J. A., Zaworotko, M. J. Design and synthesis of metal–organic frameworks using metal–organic polyhedra as supermolecular building blocks. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38, 1400–1417. DOI: 10.1039/B807086P.
4. Férey, G. Hybrid porous solids: past, present, future. *Chem. Soc. Rev.*, 2008, 37, 191–214. DOI: 10.1039/B618320B.
5. Pachisia, S., Goyal, H., Aashish, Kumar, G., Gupta, R. Cobalt Coordination Polymers Offering Hydrogen Bonding Cavities as Efficient Catalysts for Coupling Reactions. *ChemCatChem*, 2024, 16, e202301123. DOI: 10.1002/cctc.202301123.
6. Wan, Y., Zhang, Y.-L., Zhang, Q., Yanga, S.-Y., Shao, D. Cobalt(II) coordination polymers with single-ion magnet property. *CrystEngComm*, 2024, 26, 3771–3782. DOI: 10.1039/D4CE00512K.
7. Hossain, S. S., Dhakshinamoorthy, A., Biswas, S. Cobalt(II) Coordination Polymer-Based Catalyst for Tandem Synthesis of Imines and CO2 Fixation for Synthesis of Cyclic Carbonates under Mild Conditions. *Inorganic Chemistry*, 2025, 64(49), 24098–24109. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5c04422.
8. Beleaev, E. S., Van Leusen, J., Kravtsov, V. Ch., Brüx, D., Chumakov, Yu., Kögerler, P., Baca, S. G. Aggregation of hexanuclear mixed-valent [Co(II)4(Co(III)2] pivalates into 1D cluster-based coordination polymer. *Solid State Sciences*, 2026, 176, 108288. DOI: 10.1016/j.solidstatesciences.2026.108288.
9. Agarwal, R. A., Aijaz, A., Ahmad, M., Sañudo, E. C., Xu, Q., Bharadwaj, P. K. Two New Coordination Polymers with Co(II) and Mn(II): Selective Gas Adsorption and Magnetic Studies. *Cryst. Growth Des.*, 2012, 12(6), 2999–3005. DOI: 10.1021/cg300217v.
10. Sarma, D., Mahata, P., Natarajan, S., Panissod, P., Rogez, G., Drillon, M. Synthesis, Structure, and Magnetic Properties of a New Eight-Connected Metal–Organic Framework (MOF) based on Co4 Clusters. *Inorganic Chemistry*, 2012, 51(8), 4495–4501. DOI: 10.1021/ic2020989.
11. Luo, F., Che, Y.-X., Zheng, J.-M. Trinuclear Cobalt Based Porous Coordination Polymers Showing Unique Topological and Magnetic Variety upon Different Dicarboxylate-like Ligands. *Cryst. Growth Des.*, 2009, 9(2), 1066–1071. DOI: 10.1021/cg800895g.
12. Malaestean, I. L., Speldrich, M., Baca, S. G., Ellern, A., Schilder, H., Kögerler, P. Diphenic Acid-Based Cobalt(II) Complexes: Trinuclear and Double-Helical Structures. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2009, 8, 1011–1018. DOI: 10.1002/ejic.200801138.
13. Wang, X.-L., Sui, F.-F., Lin, H.-Y., Zhang, J.-W., Liu, G.-C. Multifunctional Cobalt(II) Coordination Polymers Tuned by Flexible Bis(pyridylamide) Ligands with Different Spacers and Polycarboxylates. *Cryst. Growth Des.*, 2014, 14(7), 3438–3452. DOI: 10.1021/cg500371n.
14. Si, C.-D., Hu, D.-C., Fan, Y., Dong, X.-Y., Yao, X.-Q., Yang, Y.-X., Liu, J.-C. Three-Dimensional Supramolecular Architectures with CoII Ions Assembled from Hydrogen Bonding and π···π Stacking

Interactions: Crystal Structures and Antiferromagnetic Properties. *Cryst. Growth Des.*, 2015, 15(12), 5781–5793. DOI: 10.1021/acs.cgd.5b01124.
15. Beleaev, E., Van Leusen, J., Kravtsov, V. C., Kögerler, P., Baca, S. G. Synthesis, structure and properties of a linear trinuclear Co(II) isobutyrate cluster with 1,10′-phenanthroline. In: *IFMBE Proceedings, Vol. 134, 7th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. Springer, Cham, 2025, 94–103. DOI: 10.1007/978-3-032-06494-3_11.
16. Stati, D., Van Leusen, J., Kravtsov, V. Ch., Krämer, K. W., Liu, Sh.-X., Decurtins, S., Kögerler, P., Baca, S. G. Hexadecanuclear isobutyrate nanoclusters with a {CoII14CoIII2} core. *CrystEngComm*, 2024, 26(32), 4264–4271. DOI: 10.1039/D4CE00637B.
17. Albors, P., Rentschler, E. A Co36 Cluster Assembled from the Reaction of Cobalt Pivalate with 2,3-Dicarboxypyrazine. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, 48, 9366–9370. DOI: 10.1002/anie.200904743.
18. Evstifeev, I. E., Kiskin, M. A., Bogomyakov, A. S. Structure and magnetic properties of heterometallic coordination carboxylate polymers with cobalt and lithium atoms. *Crystall. Rep.*, 2011, 56, 842–847. DOI: 10.1134/S1063774511050087.
19. Polunin, R. A., Kolotilov, S. V., Kiskin, M. A., Cador, O., Mikhalyova, E. A., Lytvynenko, A. S., Golhen, S., Ouahab, L., Ovcharenko, V. I., Eremenko, I. L., Novotortsev, V. M. Topology control of porous coordination polymers by building block symmetry. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 5055–5057. DOI: 10.1002/ejic.201000929.
20. Grabovaya, N. V., Polunin, R. A., Kiskin, M. A., Gavrilenko, K. S., Knyazev, Yu. V., Eremenko, I. L., Novotortsev, V. M., Kolotilov, S. V. Porous coordination polymers based on three core carboxylate. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2011, 46, 51. DOI: 10.15587/1729-4061.2011.1591.
21. Biradha, K., Sarkar, M., Rajput, L. Crystal engineering of coordination polymers using 4,4′-bipyridine as a bond between transition metal atoms. *Chemical Communications*, 2006, 40, 4169–4179. DOI: 10.1039/B606184B.
22. Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P., Ward, S. C. The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallographica Section B*, 2016, 72(2), 171–179. DOI: 10.1107/S2052520616003954.
23. Aromí, G., Batsanov, A. S., Christian, P., Helliwell, M., Parkin, A., Parsons, S., Smith, A. A., Timco, G. A., Winpenny, R. E. Synthetic and structural studies of cobalt–pivalate complexes. *Chemistry–A European Journal*, 2003, 9(20), 5142–5161. DOI: 10.1002/chem.200304993.
24. Wolff, S. K., Grimwood, D. J., McKinnon, J. J., Turner, M. J., Jayatilaka, D., Spackman, M. A. CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. *J. Appl. Cryst.*, 2021, 54, 1006–1011. DOI: 10.1107/S1600576721002910.
25. Spackman, M. A., Jayatilaka, D. Hirshfeld surface analysis. *CrystEngComm*, 2009, 11, 19–32. DOI: 10.1039/B818330A.
26. Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. C Struct. Chem.*, 2015, 71(1), 3–8. DOI: 10.1107/S2053229614024218.
27. Peña-Rodríguez, R., Rivera, J. M., Colorado-Peralta, R., Duarte-Hernández, A. M., Flores-Parra, A. Bis(μ2-benzoato-κ2O:O′)bis[(benzoato-κ2O,O′) bis(4,4′-bipyridine-κN)cobalt(II)]–benzoic acid (1/6). *Structure Reports*, 2013, 70(1), m21–m22. DOI: 10.1107/S1600536813033357.
28. Peedikakkal, A. M. P., Song, Y. M., Xiong, R. G., Gao, S., Vittal, J. J. Cobalt(II) Coordination Polymers Containing trans-1,2-Bis(4-pyridyl)ethene and Their Magnetic Properties. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 3856–3865. DOI: 10.1002/ejic.201000375.
29. Llunell, M., Casanova, D., Cirera, J., Alemany, P., Alvarez, S. *SHAPE v. 2.1*. University of Barcelona: Barcelona, Spain, 2013.
30. Alvarez, S., Alemany, P., Casanova, D., Cirera, J., Llunell, M., Avnir, D. Shape maps and polyhedral interconversion paths in transition metal chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, 2005, 249(17-18), 1693–1708. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.03.031.

Acknowledgements

The authors are grateful for the subprogram 011202 financed by the Ministry of Education and Research of R. Moldova and the project 25.80012.5007.87SE supported by the Moldovan National Agency for Research and Development (NARD).

Date despre autori:



Ecaterina BELEAEV, doctorandă USM, cercetător științific în Laboratorul Metode Fizice de Studiere a Solidului ″Tadeusz Malinowski″, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
Teză de doctorat – conducător Baca Svetlana
e-mail: ecaterina.beleaev@ifa.usm.md
ORCID: 0000-0003-0266-5316



Victor Ch. KRAVTSOV, Doctor, conf., cercetător științific coordonator, Șef de laborator în Laboratorul Metode Fizice de Studiere a Solidului “Tadeusz Malinowski”, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: victor.kravtsov@ifa.usm.md
ORCID: 0000-0002-1955-8480



Svetlana G. BACA, Doctor, conf., cercetător științific coordonator în Laboratorul Metode Fizice de Studiere a Solidului ″Tadeusz Malinowski″, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: svetlana.baca@ifa.usm.md
ORCID: 0000-0002-2121-2091

CZU: 615.322:579.61 https://doi.org/10.59295/mabt2026.09

EFFECTS OF CHEMICAL AND NATURAL COMPOUNDS ON THE BIOCHEMICAL ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Greta BALAN[1], Dmitri IUNAC[1], Valeriu RUDIC[1], Olga BURDUNIUC[1], Roman RUSNAC[2], Aurelian GULEA[2]

[1]Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova
[2]Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University

Abstract

Understanding the specific mechanisms of action of antimicrobial compounds is essential not only for evaluating their therapeutic potential but also for advancing a pharmaceutical product from concept to clinical application. In this study, three newly synthesized chemical compounds and two Spirulina extracts were evaluated for their effects on *Staphylococcus aureus* strains. Changes in key biochemical parameters were assessed, and all experimental results were analyzed using both descriptive and inferential statistical methods.

The results showed that Spirulina extracts exert no direct cytotoxic effects on *S. aureus*, as evidenced by stable levels of malondialdehyde and extracellular lactate dehydrogenase comparable to control values. In contrast, the chemical compounds, even at minimally inhibitory concentrations, induced pronounced toxic effects, including increased malondialdehyde levels, elevated extracellular lactate dehydrogenase activity, and suppression of primary antioxidant enzymes.

Notably, the combined application of chemical and Spirulina compounds enhanced these effects, despite the chemical compounds being used at 2–4 times lower concentrations than when applied individually. This observation indicates a synergistic interaction between the chemical and biological agents, highlighting their potential as effective antibacterial formulations with reduced cytotoxicity.

Keywords: chemical compounds, Spirulina extracts, *Staphylococcus aureus*, biochemical parameters.

EFECTELE COMPUȘILOR CHIMICI ȘI NATURALI ASUPRA ACTIVITĂȚII BIOCHIMICE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Rezumat

Înțelegerea mecanismelor de acțiune ale compușilor antimicrobieni este esențială atât pentru evaluarea potențialului terapeutic, cât și pentru dezvoltarea unui produs farmaceutic, de la concept până la aplicarea clinică. În acest studiu au fost evaluați trei compuși chimici noi sintetizați și două extracte de Spirulina asupra tulpinilor de *Staphylococcus aureus*. Modificările parametrilor biochimici cheie au fost investigate, iar toate rezultatele experimentale au fost analizate prin metode statistice descriptive și inferențiale.

Rezultatele au arătat că extractele de Spirulina nu exercită efecte citotoxice directe asupra *S. aureus*, ceea ce se reflectă în menținerea nivelurilor de dialdehidă malonică și lactat dehidrogenază extracelulară comparabile cu valorile de control. În schimb, compușii chimici, chiar și la concentrații minim inhibitorii, au determinat efecte toxice semnificative, incluzând creșterea nivelului de dialdehidă malonică, creșterea activității lactat dehidrogenazei extracelulare și scăderea activității enzimelor antioxidante primare.

Aplicarea combinată a compușilor chimici cu extractele de Spirulina a amplificat aceste efecte, deși concentrația compușilor chimici a fost de 2–4 ori mai mică comparativ cu utilizarea individuală. Aceasta sugerează existența unui efect sinergic între agenții chimici și cei biologici, evidențiind potențialul lor ca formulări antibacteriene eficiente, cu citotoxicitate redusă.

Cuvinte-cheie: compuși chimici, extracte de Spirulina, *Staphylococcus aureus*, parametri biochimici.

Introduction

The intensity of oxidative stress induced by various exogenous factors in living cells can be evaluated either through the direct measurement of reactive oxygen species and free radicals or indirectly, by assessing biomarkers that reflect the degradation of cellular components. From a methodological perspective, the use of biological markers is more practical, as these compounds are significantly more stable than reactive species. Moreover, they provide information not only about the current oxidative status but, more importantly, about cumulative and often irreversible cellular alterations [1,6].

Biomarkers derived from the oxidative degradation of major classes of biological macromolecules, namely nucleic acids, proteins, and lipids, are widely employed to assess cellular stress. Among these, 8-hydroxydeoxyguanosine is commonly used as an indicator of oxidative DNA damage, while protein oxidation can be evaluated by measuring carbonylated proteins and nitrated derivatives such as 3-nitrotyrosine. In addition, reactive oxygen species contribute to the formation of advanced glycation end products (AGEs) and advanced oxidation protein products (AOPP) [1-3].

However, the most reliable and extensively utilized indicators of oxidative stress are the end products of lipid peroxidation. This process generates a variety of secondary compounds, among which malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxy-2-nonenal are predominant. MDA results from the breakdown of polyunsaturated fatty acids, including those derived from arachidonic acid metabolism during thromboxane A_2 synthesis. Its quantification is commonly based on its reaction with thiobarbituric acid under acidic conditions (pH 3.5), forming an MDA–TBA adduct that can be detected spectrophotometrically at 532 nm (thiobarbituric acid reactive substances assay). Measurement of intracellular MDA levels is widely applied for identifying stress conditions and evaluating the toxic effects of various compounds. Due to its broad applicability across different cell types, including prokaryotes, MDA is considered a universal biomarker and can also serve as an indicator in the assessment of pharmaceutical efficacy and safety [4, 12].

Another important indicator of cellular damage induced by xenobiotics is lactate dehydrogenase (LDH). This enzyme plays a central role in cellular metabolism by catalyzing the conversion of pyruvate to lactate while regenerating NAD^+, thereby sustaining glycolysis. Beyond its metabolic function, LDH contributes to microbial virulence and stress resistance by maintaining cellular redox balance. Reduced LDH activity has been associated with increased susceptibility of microorganisms to environmental stressors, including antimicrobial agents, as well as impaired capacity for host colonization. Under normal conditions, LDH activity is confined intracellularly; however, membrane damage or increased permeability caused by toxic agents leads to its release into the extracellular environment. Therefore, extracellular LDH activity is widely regarded as a sensitive marker of cell damage and cytotoxicity [7, 9].

Cellular defense against oxidative stress is mediated by antioxidant systems, in which enzymatic components play a pivotal role. Superoxide dismutase, catalase, and peroxidases constitute the primary antioxidant enzymes responsible for neutralizing reactive oxygen species and limiting oxidative damage. In pathogenic microorganisms, these enzymes may also be secreted into the extracellular environment, contributing to protection against host immune responses. This mechanism facilitates the neutralization of reactive species generated at the host-pathogen interface, thereby enhancing microbial survival and persistence [11].

Materials and Methods

Chemical and natural compounds

The study included newly synthesized chemical compounds, KSS ($C_{13}H_{16}Br_2CuN_4S$), TIS ($C_{14}H_{19}CuN_7O_4S$), and SVA ($C_{10}H_{14}CuN_4O_5S_2$), obtained in the Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University.

High-purity reagents from Sigma-Aldrich, Acros Organics, and Alfa Aesar were used as synthesis precursors.

Biologically active compounds were represented by extracts and complexes (ES and MX) derived biotechnologically from the cyanobacterium Spirulina platensis CNMN CB-02, sourced from the National Collection of Non-pathogenic Microorganisms (Institute of Microbiology and Biotechnology).

The ES extract consists of an amino acid and oligopeptide complex (≤10 kDa), containing both non-essential (e.g., glycine, alanine, serine, cysteine) and essential amino acids (e.g., leucine, lysine, methionine), as well as functionalized macro- and microelements. For in vitro assays, ES was used as a 10 mg/mL solution in 50% ethanol.

The MX extract represents a myxoxanthophyll carotenoid pigment isolated from Spirulina biomass, with a concentration of 0.214 mg/mL in 80% aqueous ethanol.

Bacterial strains

The reference strain Staphylococcus aureus ATCC 25923, obtained from the American Type Culture Collection (ATCC), was used in this study. Prior to experimentation, the strain was pre-cultured in Tryptic Soy Broth.

Bacterial growth and maintenance were performed on Tryptic Soy Agar and Mannitol Salt Agar (bioMérieux, France), according to standard microbiological procedures.

Determination of biochemical parameters

Malondialdehyde (MDA) assay. Lipid peroxidation was assessed by measuring malondialdehyde (MDA), a key marker of oxidative stress, using the thiobarbituric acid (TBA) reaction. Briefly, 100 mg of bacterial biomass was homogenized in 1 mL of 20% trichloroacetic acid and centrifuged at 12,000 g for 5 min. An aliquot of 0.4 mL supernatant was mixed either with 0.4 mL of 20% trichloroacetic acid (control) or 0.4 mL of 0.5% TBA. Samples were incubated at 98°C for 30 min, cooled to room temperature, and absorbance was measured at 532 nm and 600 nm.

Lactate dehydrogenase (LDH) activity. LDH activity was determined in the culture supernatant by monitoring NADH oxidation. The reaction mixture contained 100 mM pyruvate and NADH in 500 mM potassium phosphate buffer (pH 7). After adding 100 µL of sample, absorbance was recorded at 340 nm for 5 min. Enzyme activity was expressed as U/L, where one unit corresponds to the oxidation of 1 µmol of NADH per minute.

Superoxide dismutase (SOD) activity. SOD activity was measured using a xanthine–xanthine oxidase system to generate superoxide radicals. These react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT), forming a red formazan dye. SOD activity was evaluated based on the inhibition of formazan formation [8].

Catalase (CAT) activity. Catalase activity was assessed by quantifying residual hydrogen peroxide (H_2O_2) after enzymatic decomposition into water and oxygen. The reaction was stopped with sodium azide, and the remaining H_2O_2 was measured via a colorimetric reaction with 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid and 4-aminoantipyrine in the presence of peroxidase, forming a quinoneimine dye. Absorbance was measured at 520 nm, and activity was calculated using a calibration curve [8].

Glutathione peroxidase (GPx) activity. GPx activity was determined by monitoring the oxidation of reduced glutathione (GSH) by cumene hydroperoxide. In the presence of glutathione reductase and NADPH, oxidized glutathione (GSSG) is rapidly reduced back to GSH, accompanied by NADPH oxidation to $NADP^+$. The decrease in absorbance at 340 nm was recorded and is proportional to GPx activity [8].

Statistical data analysis

Experimental data were analyzed using descriptive statistics (mean ± standard deviation) and inferential statistics. Statistical significance was assessed using Student's t-test. All analyses were performed using Microsoft Excel.

Results and discussion

The level of toxicity of individual chemical and biological compounds and in combinations was assessed by the amount of malondialdehyde yde in the biomass of the studied microorganisms.

Natural compounds did not significantly affect malondialdehyde levels in *Staphylococcus aureus* strains, as the values obtained for myxoxanthophyll and Spirulina extract were comparable to the control (Figure 1).

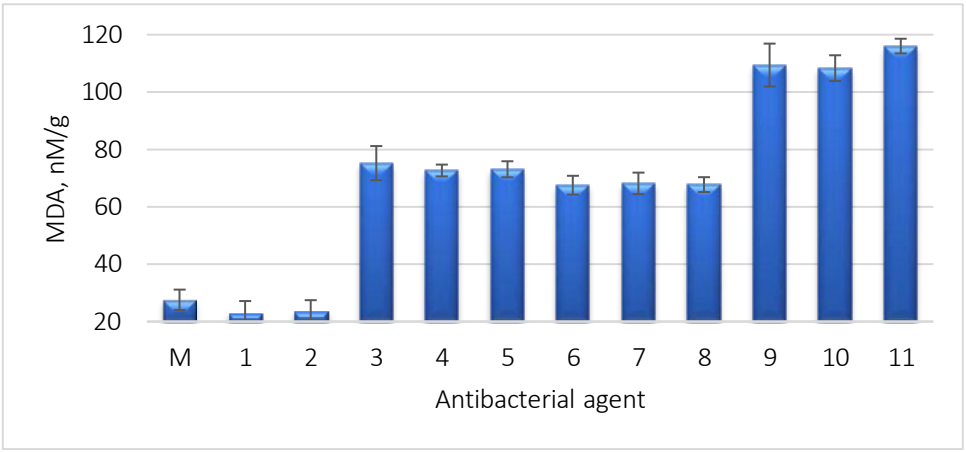


Figure 1. The influence of the tested compounds on the amount of malondialdehyde in the cell mass of *S. aureus*.

M – control, 1 – myxoxanthophyll (MX), 2 – spirulina extract (ES), 3 – TIS; 4 – TIS+ES; 5 – TIS+MX; 6 – SVA; 7 – SVA+ES; 8 – SVA+MX; 9 – KSS; 10 – KSS+ES; 11 – KSS+MX

In contrast, all tested chemical compounds induced a substantial increase in MDA content, indicating intensified lipid peroxidation. TIS and SVA, applied both individually and in combination with natural extracts, increased MDA levels by approximately 2.5–2.7 fold relative to the control. The most pronounced effect was observed for the KSS compound, which induced a 3.9–4.2 fold increase in MDA levels, regardless of the mode of application.

Overall, the elevated levels of lipid peroxidation suggest a high susceptibility of *S. aureus* to the tested chemical compounds.

The integrity and selective permeability of the bacterial cell membrane were evaluated by measuring lactate dehydrogenase activity in the extracellular medium. LDH is normally confined to the intracellular space and is released only upon cell lysis, whether due to physiological processes (e.g., programmed cell death) or exposure to toxic compounds.

In control cultures, LDH activity was 155 U/L. All tested chemical compounds induced an increase in extracellular LDH, indicating cellular stress, with KSS showing the most pronounced effect (figure 2).

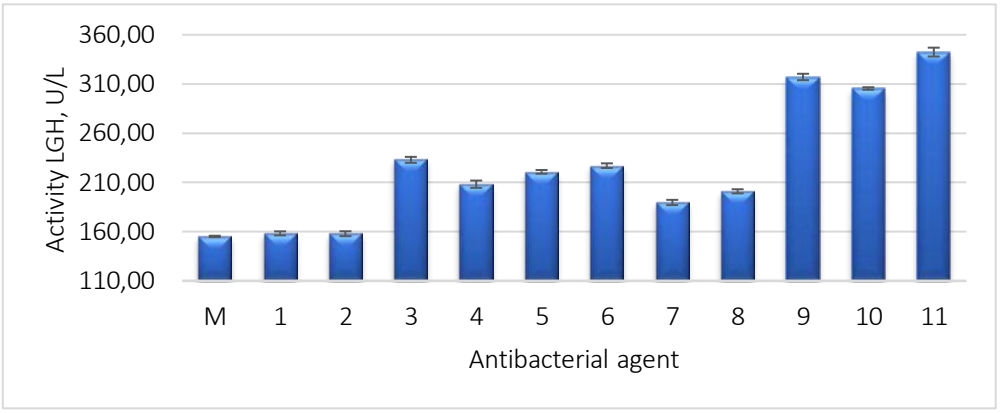


Figure 2. Influence of the tested compounds on the activity of lactate dehydrogenase released by *S. aureus*.

M – control, 1 – myxoxanthophyll (MX), 2 – spirulina extract (ES), 3 – TIS; 4 – TIS+ES; 5 – TIS+MX; 6 – SVA; 7 – SVA+ES; 8 – SVA+MX; 9 – KSS; 10 – KSS+ES; 11 – KSS+MX

Applied individually, KSS caused a twofold increase in LDH activity, which rose to 2.2-fold when combined with myxoxanthophyll, a statistically significant enhancement ($P = 0.0007$).

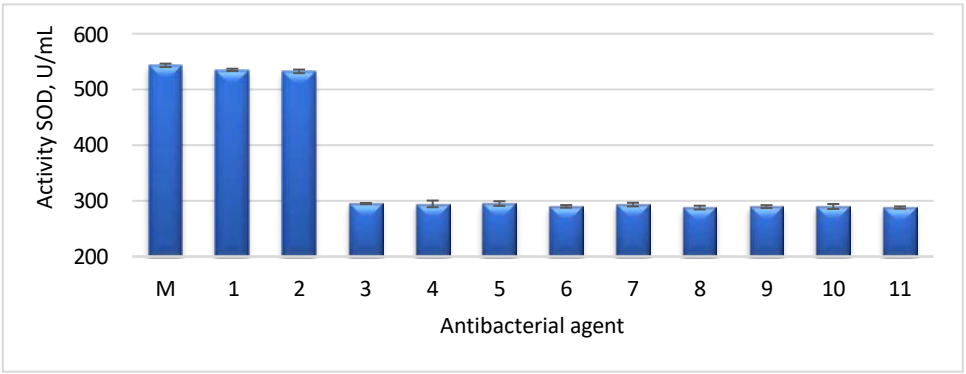
These results indicate that KSS exhibits the highest cytotoxicity among the tested compounds, as reflected by LDH release.

Under conditions of severe stress, the activity of antioxidant enzymes declines, which compromises the cell's ability to neutralize reactive oxygen species and other free radicals generated by exposure to toxic xenobiotics. Such a reduction in enzymatic activity diminishes the protective capacity of the cell, rendering it more susceptible to oxidative damage and associated disruptions of cellular functions.

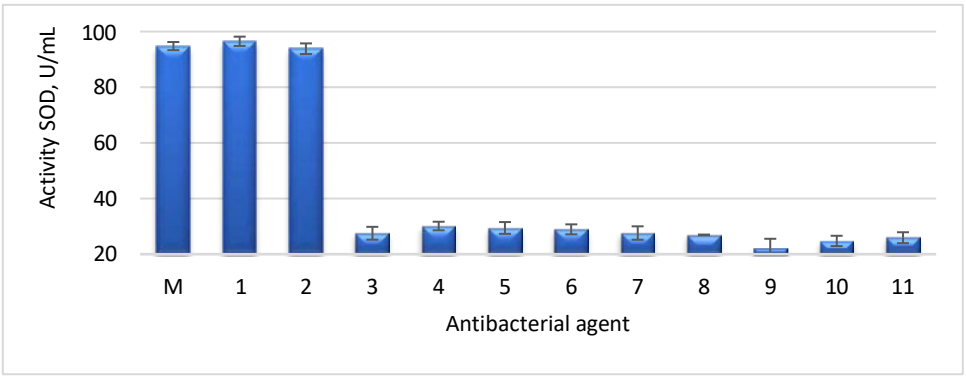
In the bacterial cultures studied, the primary line of antioxidant defense is provided by key enzymes that specifically target different reactive species. Superoxide dismutase catalyzes the dismutation of superoxide radicals into hydrogen peroxide, thereby preventing the accumulation of highly reactive superoxide anions. Hydrogen peroxide, in turn, is detoxified by catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx), which convert it into water and molecular oxygen, limiting its potential to initiate lipid peroxidation and protein oxidation.

SOD activity was assessed both within the bacterial cells and in the culture medium, reflecting its role in intracellular defense as well as potential extracellular protective effects. In contrast, CAT and GPx activities were measured only in the cell mass, since their extracellular concentrations were below the detection threshold of the applied assays and considered physiologically insignificant. This observation highlights that, in these bacterial strains, the majority of hydrogen peroxide scavenging is confined to the intracellular environment, emphasizing the critical importance of these enzymes for maintaining redox homeostasis and cellular integrity under stress conditions.

Figure 3 shows the effect of antibacterial agents on SOD activity in *Staphylococcus aureus*. Natural compounds, myxoxanthophyll and ES Spirulina extract, did not produce significant changes, with intracellular and extracellular SOD activity remaining at control levels.



(a)



(b)

Figure 3. Influence of tested compounds on superoxide dismutase activity in (a) biomass and (b) culture liquid in *S. Aureus.*

M – control, 1 – myxoxanthophyll (MX), 2 – spirulina extract (ES), 3 – TIS; 4 – TIS+ES; 5 – TIS+MX; 6 – SVA; 7 – SVA+ES; 8 – SVA+MX; 9 – KSS; 10 – KSS+ES; 11 – KSS+MX

In contrast, all tested chemical compounds caused a pronounced reduction in SOD activity. Intracellular SOD activity decreased by 45–47% in all experimental variants, except those treated with individual natural compounds, while extracellular SOD activity was more strongly affected, decreasing by 69.8–77.9%. Among the chemical agents, KSS and SVA caused the most substantial reduction in intracellular SOD, whereas KSS exhibited the strongest effect on extracellular SOD. TIS also reduced extracellular SOD, but to a slightly lesser extent than KSS. The combination of chemical compounds with natural extracts did not produce significant differences compared to the individual chemical treatments, indicating that the presence of Spirulina derivatives does not mitigate the inhibitory effect on SOD.

The inactivation of SOD represents a critical stress for aerobic bacteria, as it impairs their ability to detoxify superoxide radicals produced during normal metabolism and in response to toxic agents. In pathogenic microorganisms, reduced extracellular SOD activity may lower their capacity to counteract reactive oxygen species released by host immune cells, effectively reducing pathogenicity. This mechanism suggests that the tested chemical compounds can impair bacterial antioxidant defenses and potentially enhance the efficacy of antimicrobial strategies, including against strains resistant to conventional antibiotics.

Hydrogen peroxide is a highly reactive molecule with pronounced cytotoxic effects, due to its relatively long lifetime compared to other free radicals. In living cells, its detoxification is mediated by several enzymes, with catalase and peroxidase serving as the primary defenses. Catalase activity in bacterial cultures exposed to the studied antibacterial agents is shown in Figure 4.

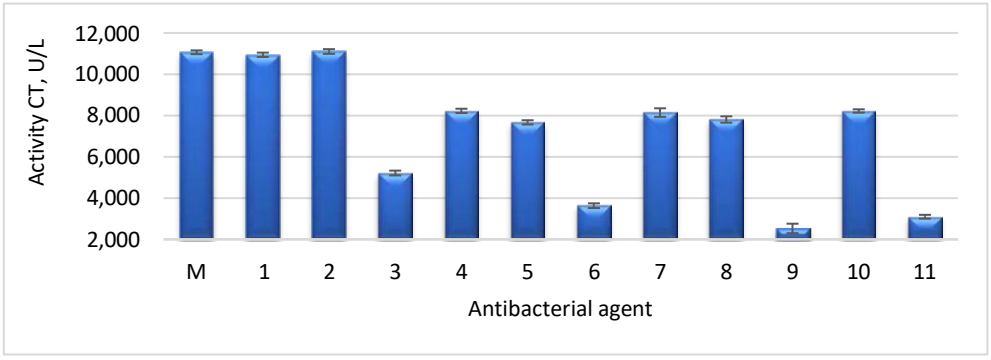


Figure 4. Influence of tested compounds on catalase activity in *S. aureus.*

M – control, 1 – myxoxanthophyll (MX), 2 – spirulina extract (ES), 3 – TIS; 4 – TIS+ES; 5 – TIS+MX; 6 – SVA; 7 – SVA+ES; 8 – SVA+MX; 9 – KSS; 10 – KSS+ES; 11 – KSS+MX

In *S. aureus*, the application of natural compounds, did not produce statistically significant changes in catalase activity compared to the control. In contrast, all tested chemical compounds caused a substantial decrease in CAT activity, reflecting oxidative stress, with partial mitigation observed when these compounds were combined with natural extracts.

The TIS compound reduced CAT activity by 52.9% when applied alone. In combination with ES extract, the reduction was limited to 25.6%, while with MX, the decrease was 30.7%. Similarly, the SVA compound applied individually decreased CAT activity by 67.2%, whereas its combination with ES reduced the effect to 26.4% and with MX to 30.0%.

The most pronounced inhibitory effect was observed with the KSS compound. Applied alone, KSS reduced CAT activity by 77.1%. When combined with ES extract, CAT activity was partially restored, showing a 25.7% decrease relative to control, whereas the KSS+MX combination still resulted in a 72.0% reduction, despite the lower concentration of the compound in this mixture.

Overall, these results indicate that the tested chemical compounds strongly impair catalase-mediated antioxidant defense in *S. aureus*, while natural Spirulina derivatives can partially protect enzymatic activity, with ES extract generally more effective than MX.

Another key enzyme responsible for the detoxification of hydrogen peroxide is glutathione peroxidase. The results of GPx activity in bacterial cultures exposed to the tested agents are presented in Figure 5.

In *S. aureus*, natural compounds (myxoxanthophyll and ES Spirulina extract) did not induce significant changes in GPx activity.

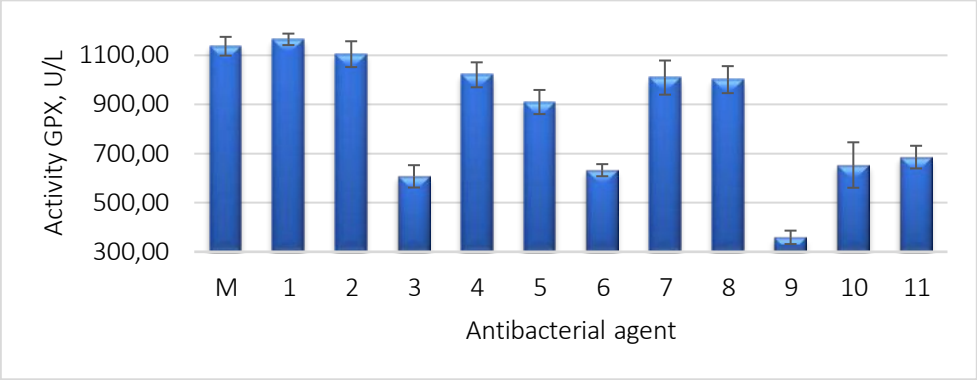


Figure 5. Influence of tested compounds on glutathione peroxidase activity in *S. aureus*

M – control, 1 – myxoxanthophyll (MX), 2 – spirulina extract (ES), 3 – TIS; 4 – TIS+ES; 5 – TIS+MX; 6 – SVA; 7 – SVA+ES; 8 – SVA+MX; 9 – KSS; 10 – KSS+ES; 11 – KSS+MX

All tested chemical compounds markedly reduced GPx activity when applied individually. The TIS compound caused a 46.6% decrease, while its combination with ES extract or MX resulted in smaller reductions of 10.2% and 20%, respectively. The SVA compound decreased GPx activity by 44.4% when applied alone, whereas combinations with ES or MX limited the reduction to 11.2% and 12.0%, respectively. KSS exhibited the most pronounced effect, reducing GPx activity by 68.4% when applied alone. In combination with ES extract or MX, the inhibition was still substantial but less severe, at 42.5% and 39.7%, respectively.

These results indicate that both individual chemical compounds and their combinations strongly impair the activity of GPx in *S. aureus*, paralleling the effects observed for catalase. The inhibition of these key antioxidant enzymes compromises the bacteria's ability to detoxify hydrogen peroxide, effectively blocking the first line of cellular antioxidant defense. When combined with previously observed decreases in superoxide dismutase activity, these effects render *S. aureus* cells highly vulnerable to oxidative stress, suggesting a potential mechanism through which these agents could enhance antibacterial efficacy.

The success of *Staphylococcus aureus* in establishing infections is closely linked to its ability to withstand oxidative stress generated by the host immune system. Macrophages and other immune cells produce superoxide radicals through NADH-oxidase activity, which are subsequently converted to hydrogen peroxide via superoxide dismutase (SOD). Hydrogen peroxide is highly reactive, particularly with Fe(II)-containing proteins, leading to irreversible oxidative modifications such as carbonylation and protein aggregation. Certain amino acids, including cysteine, methionine, and tryptophan, are especially susceptible to oxidation, resulting in both reversible (sulfenic acid formation and thiolation) and irreversible (sulfinic and sulfonic acids) modifications. These post-translational changes can trigger bacterial stress responses, including activation of specific signal transduction pathways that help maintain cell survival under oxidative pressure [9].

In *S. aureus*, exposure to metal ions, such as silver (I), or natural compounds like glabridin, induces oxidative stress by increasing the intracellular levels of reactive oxygen species (ROS), including hydrogen peroxide and nitric oxide radicals. This ROS accumulation can damage key macromolecules, including DNA, lipids, and proteins, highlighting the vulnerability of pathogenic bacteria to oxidative stress [10].

Bacterial survival under oxidative conditions relies heavily on antioxidant enzymes, including SOD, catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx). These enzymes neutralize

superoxide radicals and hydrogen peroxide, preventing cellular damage. In *S. aureus*, exposure to bactericidal antibiotics such as vancomycin or ciprofloxacin has been associated with increased hydroxyl radical formation, reduced catalase expression (katA), and decreased CAT activity. Such changes underscore the role of antioxidant defenses in mediating bacterial tolerance to both endogenous and exogenous ROS [5, 11-13].

Overall, antibacterial agents induce a state of oxidative stress in *S. aureus*, characterized by ROS accumulation, decreased total antioxidant capacity, and inhibition of key protective enzymes. Monitoring these responses in bacterial biomass provides valuable insight into the mechanism of action of tested compounds and their potential therapeutic efficacy. The observed sensitivity of *S. aureus* to oxidative imbalance emphasizes the importance of targeting antioxidant defenses in the development of new antimicrobial strategies.

Conclusions

1. ES Spirulina extract and myxoxanthophyll exhibit no direct cytotoxicity toward *Staphylococcus aureus*, as evidenced by stable levels of malondialdehyde and lactate dehydrogenase comparable to control values. Similarly, these natural compounds do not impair the activity of primary antioxidant enzymes, indicating the preservation of cellular redox homeostasis.

2. Chemical compounds TIS, SVA, and KSS, even at minimally inhibitory concentrations, exert pronounced toxic effects on S. aureus. These effects include elevated malondialdehyde levels, reflecting lipid peroxidation, increased extracellular lactate dehydrogenase activity, indicating membrane damage, and suppression of primary antioxidant enzymes, demonstrating disruption of intracellular redox balance.

3. Combinations of chemical compounds with ES Spirulina extract or myxoxanthophyll effectively modulate these toxic effects, even at 2–4 times lower concentrations than those applied individually. This highlights their potential as efficient antibacterial formulations with reduced cytotoxicity.

4. Synergistic interactions between the chemical compounds (TIS, SVA, KSS) and natural extracts (ES, MX) appear to enhance antimicrobial activity through mechanisms not fully elucidated in this study, offering promising prospects for the development of antibacterial agents with low toxicity and reduced potential for resistance development.

References

1. BALAN, G. Compuși noi cu acțiune asupra microorganismelor izolate din ulcere trofice: tz. de doc. hab. în șt. medicale. Chisinau, 2022, 283p.
2. CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., MISCU, V., RUDIC, V. Dialdehida malonică – un potențial marcher al toxicității nanoparticulelor în mediul acvatic. In: One Health and Risc Management. 2020, 1(1), 64-71. doi:10.5281/zenodo.3701197.
3. CHOROMAŃSKA, M., KLIMIUK, A., KOSTECKA-SOCHOŃ, P., et al. Antioxidant Defence, Oxidative Stress and Oxidative Damage in Saliva, Plasma and Erythrocytes of Dementia Patients. Can Salivary AGE be a Marker of Dementia? In: International Journal of Molecular Sciences. 2025, 18(10). doi:10.3390/ijms18102205.
4. CORDIANO, R., DI GIOACCHINO, M., MANGIFESTA, R., et al. Malondialdehyde as a Potential Oxidative Stress Marker for Allergy-Oriented Diseases: An Update. In: Molecules. 2023, 28(16):5979. doi: 10.3390/molecules28165979.
5. DEMASI, M., AUGUSTO, O., BECHARA, E., et al. Oxidative Modification of Proteins: From Damage to Catalysis, Signaling, and Beyond. In: Antioxid Redox Signal. 2021, 35(12), 1016-1080. doi:10.1089/ars.2020.8176.
6. IUNAC, D., COJOCARI, D., ZARICIUC, E., RUDIK, V., BALAN, G. Modification of some biochemical parameters of bacterial cultures under the influence of chemical compounds and

spirulina extracts. In: Sănătate Publică, Economie şi Management în Medicină. 2025, nr. 1(103), p. 40-52. ISSN 1729-8687. doi.org/10.52556/2587-3873.2025.1(103).06
7. MIRLOHI, M., YAGHOOTI, H., SHIRALI, S. et al. Increased levels of advanced glycation end products positively correlate with iron overload and oxidative stress markers in patients with β-thalassemia major. In: Ann Hematol. 2018, 97, 679-684. doi:10.1007/s00277-017-3223-3.
8. PERRONE, A., GIOVINO, A., BENNY, J., MARTINELLI, F. Advanced Glycation End Products (AGEs): Biochemistry, Signaling, Analytical Methods, and Epigenetic Effects. In: Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2020, 1-18. doi:10.1155/2020/3818196.
9. RICHARDSON, A., LIBBY, S., FANG, F. A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables Staphylococcus aureus to resist innate immunity. In: Science. 2008, 319, 1672-1676. doi:10.1126/science.1155207.
10. SAVAGE, D., HILT, J., DZIUBLA, T. In vitro methods for assessing nanoparticle toxicity. In: Methods in Molecular Biology. 2019, 1894, 1-29. doi:10.1007/978-1-4939-8916-4_1.
11. SINGH, V., PAL, A., DOROKAR, M. A polyphenolic flavonoid glabridin: Oxidative stress response in multidrug-resistant Staphylococcus aureus. In: Free Radical Biology and Medicine. 2015, 87, 48-57. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.016.
12. TSIKAS, D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. In: Analytical Biochemistry. 2017, 524, 13-30. doi:10.1016/j.ab.2016.10.021.
13. WANG, G. Improved Methods for Classification, Prediction and Design of Antimicrobial Peptides. In: Methods Mol Biol. 2015, 1268, 43-66. doi:10.1007/978-1-4939-2285-7_3.

Date despre autori:



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



Dmitri IUNAC, asistent universitar, Disciplina de microbiologie şi imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu” Chişinău, Republica Moldova
E-mail: dmitri.iunac@usmf.md
ORCID: 0000-0002-0002-6636



Valeriu RUDIC, doctor habilitat în ştiinţe biologice, profesor universitar, academician, Disciplina de microbiologie şi imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu” Chişinău, Republica Moldova
E-mail: valeriu.rudic@usmf.md
ORCID: 0000-0001-8090-3004



Olga BURDUNIUC, doctor habilitat în ştiinţe medicale, conferenţiar cercetător, Șef Direcție, Agenţia Naţională de Sănătate Publică, Chişinău, Republica Moldova
E-mail: olga.burduniuc@usmf.md
ORCID: 0000-0002-6944-0800



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



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

CZU: 577.125:616-006-092 https://doi.org/10.59295/mabt2026.10

IMPLICAȚIILE BIOCHIMICE ALE OXIDĂRII PEROXIDICE ÎN CANCER

Dionisie CEBOTARI[1], Evgheni GRUSAC[1], Cristea DANIEL[1], Olga GARBUZ[2], Silvia STRATULAT[1], Olga TAGADIUC[1], Veronica SARDARI[1]

[1]Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[2]Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

Cancerul folosește reprogramarea metabolică pentru a rezista stresului oxidativ, evitând ferroptoza prin hiperactivarea factorului nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2), a transportorului de cistină-glutamat (SLC7A11) și a glutation peroxidazei 4 (GPX4). Prezentul studiu analizează rolul produsului electrofil 4-hidroxinonenal (4-HNE) în progresia neoplazică. Deoarece hiperactivarea acestei căi, dependentă de glutationul redus (GSH), induce chimiorezistență, inhibarea sa este vitală. Cercetarea elucidează mecanismul prin care doxorubicina induce peroxidarea lipidică a cardiolipinei mitocondriale, generând 4-HNE. Concomitent, compușii coordinativi ai cuprului inhibă sistemul antioxidant prin depleția GSH și catalizează reacții Fenton, formând radicali hidroxil toxici. Astfel, doxorubicina și compușii de cupru devin inductori puternici ai ferroptozei. Dereglarea homeostaziei redox și intensificarea peroxidării lipidice transformă vulnerabilitatea tumorală într-un mecanism terapeutic letal eficient.

Cuvinte-cheie: oxidare peroxidică, ferroptoză, 4-hidroxinonenal, factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2, glutation peroxidaza 4, doxorubicină, compuși coordinativi ai cuprului, glutation, rezistență tumorală.

Abstract

Cancer utilizes metabolic reprogramming to resist oxidative stress, avoiding ferroptosis through the hyperactivation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2), the cystine-glutamate transporter (SLC7A11), and glutathione peroxidase 4 (GPX4). The present study analyzes the role of the electrophilic product 4-hydroxynonenal (4-HNE) in neoplastic progression. Since the hyperactivation of this pathway, which is dependent on reduced glutathione (GSH), induces chemoresistance, its inhibition is vital. The research elucidates the mechanism by which doxorubicin induces the lipid peroxidation of mitochondrial cardiolipin, generating 4-HNE. At the same time, copper coordination compounds inhibit the antioxidant system through GSH depletion and catalyze Fenton reactions, forming toxic hydroxyl radicals. Thus, doxorubicin and copper compounds become potent inducers of ferroptosis. The dysregulation of redox homeostasis and the intensification of lipid peroxidation transform tumor vulnerability into an effective, lethal therapeutic mechanism.

Keywords: peroxidative oxidation, ferroptosis, 4-hydroxynonenal, nuclear factor erythroid 2-related factor 2, glutathione peroxidase 4, doxorubicin, copper coordination compounds, glutathione, tumor resistance.

Introducere

Actualitatea temei abordate constă în complexitatea mecanismelor de supraviețuire pe care celulele tumorale le dezvoltă în contextul unui microambient tumoral nebenefic. Cancerul reprezintă o afecțiune caracterizată printr-o profundă reprogramare metabolică, proces esențial pentru a asigura proliferarea celulară necontrolată și capacitatea de invazie [1]. Una dintre cele mai semnificative adaptări ale celulelor tumorale este dirijarea stresului oxidativ, definit ca un dezechilibru între producția de specii reactive de oxigen (ROS) și capacitatea sistemelor antioxidante de a le neutraliza [1, 3]. Metabolismul accelerat, disfuncția la nivelul lanțului respirator mitocondrial și activarea enzimelor pro-oxidante, conduc la o acumulare constantă de radicali liberi, care, deși pot favoriza progresia tumorală în concentrații moderate, devin letali

pentru celulele cancerigene prin inducerea unor leziuni moleculare ireversibile, printre care se numără și oxidarea peroxidică a lipidelor [4, 7].

Peroxidarea lipidică (POL) reprezintă un proces biochimic de degradare oxidativă a acizilor grași polinesaturați (PUFA) din structura membranelor celulare, desfășurându-se sub forma unei reacții autocatalitice în lanț [7]. Sensibilitatea membranelor biologice la acest proces este direct proporțională cu gradul de nesaturare al lipidelor componente, acidul arahidonic și acidul docosahexaenoic fiind țintele principale [7,5]. Din punct de vedere evolutiv, procesul este structurat în trei faze distincte: inițierea, propagarea și terminarea [7]. Faza de inițiere este declanșată atunci, când o specie chimică extrem de reactivă, cum este radicalul hidroxil, posedă energia necesară pentru a extrage un atom de hidrogen de la nivelul unei grupări metilenice a unui acid gras polinesaturat [7]. Această reacție conduce la formarea unui radical lipidic instabil, care suferă rapid o rearanjare moleculară pentru a forma diene conjugate [7].

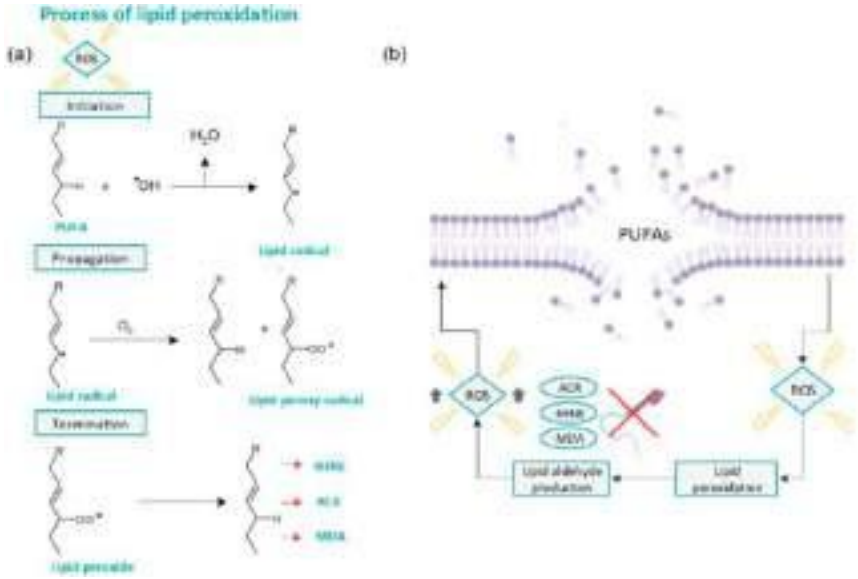


Figura 1. Reprezentarea schematică a cascadei peroxidării lipidice structurată în trei etape fundamentale și generarea aldehidelor lipidice electrofile rezultate din degradarea oxidativă [13].

Secțiunea (a) a figurii detaliază cascada biochimică a peroxidării lipidice prin cele trei etape critice: inițierea, declanșată de atacul radicalilor liberi asupra acizilor grași polinesaturați, propagarea, definită prin reacția în lanț în care radicalii peroxil atacă noi molecule lipidice generând hidroperoxizi și noi radicali, și terminarea, prin stabilizarea finală a speciilor reactive. Secțiunea (b) evidențiază generarea aldehidelor lipidice electrofile rezultate din scindarea acestor hidroperoxizi, fiind menționate în mod specific acroleina, 4-hidroxinonenalul și malondialdehida. Acești produși finali acționează ca mesageri secundari ai stresului oxidativ, având capacitatea de a difuza de la locul formării pentru a modifica covalent proteinele și acidul dezoxiribonucleic (ADN), proces ce accelerează degradarea membranară și asigură supraviețuirea și progresia celulelor tumorale [1,5,13].

În etapa de propagare, radicalul lipidic reacționează cvasi-instantaneu cu oxigenul molecular, rezultând un radical peroxil lipidic [7]. Această specie de radicali este capabilă să atace o nouă moleculă de acid gras polinesaturat adiacentă, extrăgând un atom de hidrogen și generând un hidroperoxid lipidic, simultan cu un nou radical lipidic care va perpetua ciclul

oxidativ [7]. Faza de terminare survine fie prin reacția a doi radicali între ei, formând produși stabili, fie prin intervenția a antioxidanților liposolubili, cum este alfa-tocoferolul, care cedează un atom de hidrogen radicalului peroxil, întrerupând astfel cascada distructivă [7]. Hidroperoxizii lipidici formați sunt molecule instabile, care, în prezența metalelor de tranziție precum fierul sau cuprul, suferă reacții de scindare ce conduc la formarea unei game largi de produși secundari, în special aldehide reactive [7, 5].

Printre cei mai studiați produși finali ai peroxidării lipidice se numără malondialdehida (MDA) și 4-hidroxinonenalul (4-HNE), acesta din urmă fiind recunoscut ca un mesager secundar critic al stresului oxidativ [5]. Datorită structurii sale electrofile, 4-hidroxinonenalul posedă o reactivitate înaltă față de grupările tiol și amino ale proteinelor și a acizilor nucleici, formând aducți stabili care alterează funcția macromoleculelor [5, 3]. În biochimia cancerului, 4-hidroxinonenalul manifestă un comportament hormetic: la concentrații scăzute, acesta stimulează semnalizarea celulară de supraviețuire și proliferare, în timp ce acumularea sa masivă depășește pragul de toleranță al celulei, inducând apoptoza sau autofagia [3, 5, 4].

Un aspect fascinant și paradoxal al biochimiei tumorale este rezistența extremă a celulelor tumorale la peroxidarea lipidică, în ciuda mediului lor pro-oxidant [4, 7]. Studiile efectuate pe diverse linii celulare tumorale, în special pe hepatocarcinoame, au demonstrat că rata peroxidării este invers proporțională cu gradul de diferențiere și viteza de diviziune [4]. Această rezistență nu este accidentală, ci rezultatul unei remodelări profunde a arhitecturii membranare [4]. Celulele tumorale își reduc în mod activ conținutul de acizi grași polinesaturați vulnerabili și cresc concentrația de acizi grași saturați și colesterol [4, 6].

Pe lângă bariera fizică, celulele tumorale își hiperactivează sistemele enzimatice de protecție, coordonate în principal de factorul de transcripție numit factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2) [1, 2]. În condiții de stres oxidativ, acest factor de transcripție migrează în nucleu, unde induce expresia genelor antioxidante, inclusiv a celor implicate în sinteza glutationului redus (GSH) și a glutation peroxidazei 4 (GPX4) [1, 2]. GPX4 este singura enzimă capabilă să reducă hidroperoxizii lipidici direct în membrane, prevenind astfel declanșarea ferroptozei – un tip de moarte celulară programată dependentă de fier și caracterizată prin acumularea exagerată de lipide oxidate [1, 2].

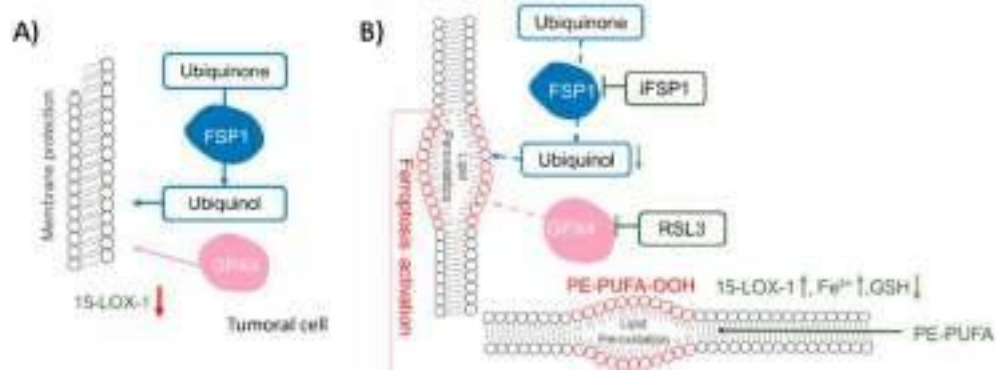


Figura 2. Mecanismele de protecție ale celulelor tumorale împotriva peroxidării lipidice prin intermediul sistemelor enzimatice glutation peroxidaza 4 și proteina 1 de suprimare a ferroptozei [1].

Imaginea detaliază mecanismele moleculare prin care celulele tumorale își asigură supraviețuirea și modul în care aceste mecanisme pot fi contracarate terapeutic [1]. Secțiunea notată cu litera (A) ilustrează rolul crucial al reducerii ubiquinonei, mediată de proteina 1 de suprimare a ferroptozei și de glutation peroxidaza 4, în protecția membranei celulare împotriva

peroxidării lipidice în contextul tumoral. În celulele tumorale, aceste două enzime antioxidante funcționează sinergic pentru a reduce hidroperoxizii lipidici în alcooli lipidici inofensivi, prevenind astfel acumularea letală de peroxizi și protejând celula de moartea celulară programată. Secțiunea notată cu litera (B) prezintă strategia de inducere a ferroptozei prin utilizarea unor inhibitori specifici ai acestor sisteme de apărare, precum iFSP1 pentru proteina 1 de suprimare a ferroptozei și RSL3 pentru glutation peroxidaza 4. Blocarea acestor enzime antioxidante, simultan cu stimularea lipoxigenazelor, în special a izoformei 15-lipoxigenaza 1, declanșează un proces masiv de peroxidare lipidică. Mai mult, fierul, acționează ca substrat ce stimulează cascada ferroptozei, conducând la distrugerea selectivă a celulelor canceroase prin stres oxidativ necontrolat [1, 8].

Glutationul redus reprezintă, astfel, pilonul central al chimiorezistenței tumorale [8]. Abilitatea celulelor tumorale de a menține rezerve înalte de glutation redus le permite să neutralizeze eficient agenții chimioterapici pro-oxidanți și să blocheze semnalizarea apoptotică [8]. Depășirea acestei rezistențe a devenit o prioritate în cercetarea oncologică modernă. O strategie inovatoare constă în utilizarea compușilor coordinativi ai cuprului cu liganzi de tip tiosemicarbazonă, care pot penetra membranele tumorale și pot induce o depleție selectivă și rapidă a glutationului redus [8]. Particularitatea terapeutică a acestor compuși constă în capacitatea lor de a împiedica sistemul antioxidant fără a declanșa mecanismele compensatorii mediate de factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2, privând celula tumorală de sistemul său defensiv [8]. Prin suprimarea acestui antioxidant – glutationul redus, celula tumorală devine vulnerabilă la procesele de peroxidare lipidică masivă. Reacțiile de tip Fenton, potențate de prezența ionilor metalici, accelerează formarea radicalilor hidroxil, conducând la degradarea ireversibilă a lipidelor membranare și la formarea porilor transmembranari letali [6, 8].

Scopul studiului dat este de a elucida mecanismele moleculare detaliate ale peroxidării lipidice în cancer și de a evidenția potențialul utilizării agenților pro-oxidanți pentru dereglarea homeostaziei redox a celulelor tumorale, oferind o perspectivă integrată asupra modului în care mecanismele biochimice de bază pot fi transpuse în strategii terapeutice de succes pentru depășirea rezistenței la tratament.

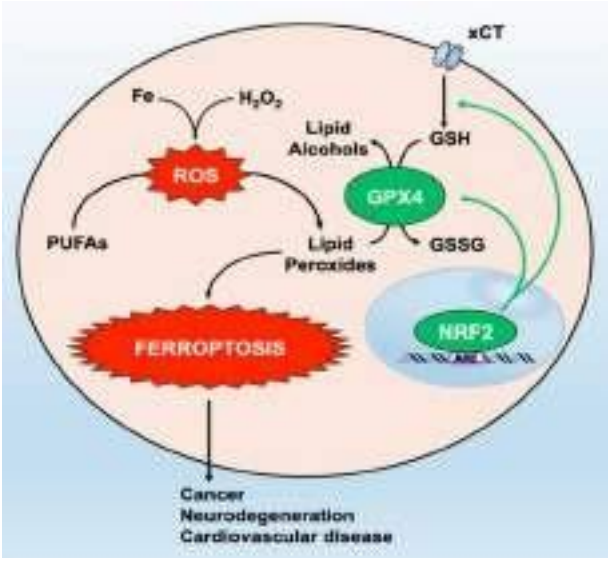


Figura 3. Mecanismele de reglare mediată de factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 asupra peroxidării lipidice și ferroptozei [15].

Imaginea prezintă modul în care factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2) coordonează protecția antioxidantă prin activarea genelor ce previn acumularea speciilor reactive de oxigen (ROS). În nucleu, acesta stimulează sistemul de transport al cistinei și glutamatului (SLC7A11), asigurând fluxul de cistină necesar sintezei de glutation (GSH). Acest compus este utilizat de enzima glutation peroxidaza 4 (GPX4) pentru a reduce hidroperoxizii lipidici, inhibând formarea de specii reactive lipidice (RLS) toxice, precum 4-hidroxinonenalul (4-HNE) și malondialdehida (MDA). Schema indică faptul că utilizarea unor inhibitori precum erastina sau RSL-3, în prezența fierului, neutralizează acest sistem de protecție și declanșează ferroptoza, conducând la moartea celulei prin peroxidare lipidică masivă [1, 2, 15].

Pentru a menține acest echilibru și de a supraviețui, celulele tumorale se bazează pe sisteme de protecție coordonate de factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2) [1, 2]. Acest factor de transcripție reglează expresia genelor implicate în sinteza glutationului redus (GSH) și în activitatea enzimelor antioxidante, acționând ca un sistem metabolic ce blochează ferroptoza [1, 2, 8]. Hiperactivarea acestei căi stă la baza chimiorezistenței, limitând eficacitatea terapiilor pro-oxidante [1, 8].

Materiale și metode

Studiul s-a bazat pe o cercetare bibliografică realizată prin accesarea directă a bazelor de date științifice internaționale: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, ResearchGate, precum și a altor surse academice verificate. Pentru a asigura relevanța și actualitatea informațiilor prezentate, documentarea s-a axat pe surse recente de informații, fiind incluse cu prioritate studii și cercetări publicate în perioada 2018-2026. În urma aplicării criteriilor de selecție strict pe tema rolului peroxidării lipidice în cancer și a mecanismelor asociate, au fost utilizate în analiză 19 articole științifice.

O etapă fundamentală a acestei metodologii a constat în accesarea datelor complete. Pentru a evita preluarea unor informații parțiale sau interpretarea exclusivă a rezumatelor disponibile liber pe site-urile de profil, a fost utilizat doar textul integral al cercetărilor. În situațiile în care platformele online restricționau accesul la întregul document, s-a solicitat accesul la studiul științific direct de la autorii principali. Această abordare a garantat utilizarea sursei științifice în totalitatea ei, permițând o analiză corectă și exactă a datelor originale publicate.

Rezultate

Rezultatele demonstrează că peroxidarea lipidică a evoluat de la statutul de simplu proces de degradare celulară la cel de reglator critic al stării funcționale celulare, o peroxidare lipidică excesivă conducând celulele la moarte programată denumită ferroptoză. Datele extrase sunt structurate pe baza observațiilor directe asupra microambientului tumoral și a răspunsului la diverse intervenții terapeutice.

Evaluarea nivelului de stres oxidativ estimează diferențe majore între țesutul malign și cel sănătos adiacent. Malondialdehida (MDA) și 4-hidroxinonenalul (4-HNE) înregistrează concentrații serice și tisulare semnificativ crescute la pacienții oncologici, funcționând ca biomarkeri principali ai procesului tumoral. Datele imunohistochimice confirmă o acumulare masivă a aducților proteici formați de 4-hidroxinonenal (4-HNE) în zonele de hipoxie tumorală [1, 2]. Un aspect fundamental relevat de studii este că, aproximativ 30% din proteinele modificate covalent de către 4-hidroxinonenal (4-HNE) sunt localizate în mitocondrie, afectând direct componentele lanțului transportor de electroni (ETC) și ale ciclului acizilor tricarboxilici (TCA). O sursă abundentă a acestor produși o reprezintă cardiolipina, un fosfolipid specific al membranei mitocondriale interne, a cărei oxidare generează specii electrofile reactive cu un impact direct asupra integrității celulare. În stadiile avansate de boală, concentrația crescută a

acestor biomarkeri corelează direct cu un prognostic clinic nefavorabil și cu o agresivitate superioară a fenotipului malign.

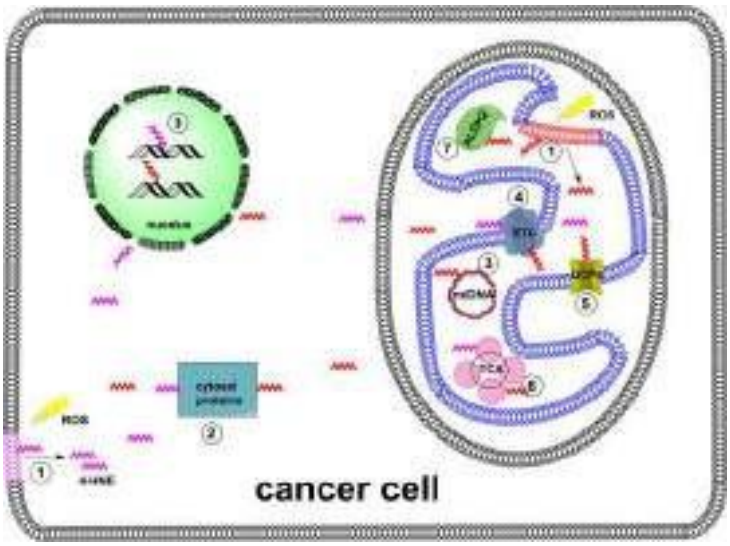


Figura 4. Reprezentarea schematică a formării și consecințelor biologice ale aducților 4-hidroxinonenalului (4-HNE) în celula tumorală [17].

O reprezentare schematică a aducților macromoleculari ai 4-hidroxinonenalului (4-HNE) în celula tumotală. Aducții macromoleculari ai 4-hidroxinonenalului (4-HNE) sunt implicați în inițierea, progresia, reprogramarea metabolică și moartea celulei tumorale. 4-hidroxinonenalul (4-HNE) (reprezentat printr-o linie în zigzag) este produs prin peroxidarea lipidică indusă de speciile reactive de oxigen (ROS) la nivelul membranelor plasmatice și mitocondriale. Consecințele biologice ale aducției cu 4-hidroxinonenal (4-HNE): 1, reducerea integrității membranare; 2, afectarea funcției proteinelor în citosol; 3, provocarea de leziuni la nivelul de DNA nuclear și mitocondrial; 4, inhibarea activității lanțului transportor de electroni (ETC); 5, activarea proteinelor decuplante (UCPs); 6, reducerea activității ciclului acizilor tricarboxilici (TCA); 7, inhibarea activității aldehid dehidrogenazei 2 (ALDH2).

Pentru a supraviețui acestei acumulări toxice de produși de peroxidare lipidică, celulele tumorale declanșează o reprogramare metabolică complexă. Rezultatele genomice indică o hiperactivare frecventă a axei factorului nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2). Această activare conduce la supraexprimarea unor mecanisme vitale de protecție, în special a sistemului de transport al cistinei și glutamatului (cu subunitatea sa principală SLC7A11) și a enzimei glutation peroxidaza 4 (GPX4), sporind capacitatea tumorii de a menține homeostazia redox în condiții de stres extrem. Mai mult, s-a relevat că o inhibiție parțială și moderată a lanțului transportor de electroni (ETC) crește capacitatea de migrare a celulelor tumorale și favorizează metastazarea in vivo. Ca răspuns adaptativ la speciile reactive de oxigen (ROS), 4-hidroxinonenalul (4-HNE) format, prin autoreglare activează proteinele decuplante mitocondriale (UCPs) pentru a reduce producția excesivă de superoxid anion, funcționând astfel ca un protector antioxidant. Capacitatea de detoxifiere este asigurată și de enzima aldehid dehidrogenaza 2 (ALDH2); totuși, datele experimentale relevă că la concentrații intracelulare ce depășesc pragul de 10 micromolari 4-HNE inhibă ireversibil această enzimă prin formarea unui aduct covalent la nivelul situsului activ [16,17].

Un exemplu biochimic pentru inducerea intenționată a oxidării peroxidice îl reprezintă doxorubicina. Dincolo de interacțiunile sale nucleare, molecula de doxorubicină, funcționează ca un agent activ în procesele de transfer electronic celular. Doxorubicina manifestă acțiune prooxidantă prin generarea anionului superoxid (O^{2-}), astfel reprezentând un generator de ROS.

Particularitatea biochimică a doxorubicinei, în contextul studiului, este afinitatea sa excepțională pentru cardiolipină, care este fosfolipidul mitocondrial esențial, menționat anterior, ca sursă principală de 4-HNE (Figura 4). Formarea complexului doxorubicină-cardiolipină localizează producția de radicali liberi exact la nivelul membranei mitocondriale interne, în imediata proximitate a acizilor grași polinesaturați (PUFA). De asemenea, doxorubicina are capacitatea de a lega ionii de fier (Fe^{3+}), formând complexe redox-active care catalizează reacțiile de tip Fenton. Rezultatul este producerea locală masivă de radicali hidroxil (-OH), speciile chimice cu cea mai înaltă reactivitate, capabile să extragă atomul de hidrogen de la nivelul grupărilor metilenice ale PUFA, declanșând faza de inițiere a oxidării peroxidice. Această cascadă biochimică conduce la epuizarea sistemelor de protecție dependente de glutation (GSH) și inactivează funcția GPX4. Prin urmare, acumularea hidroperoxizilor lipidici și generarea subsecventă de aldehide electrofile, precum 4-HNE, transformă doxorubicina dintr-un simplu inhibitor enzimatic într-un inductor puternic al ferroptozei.

O strategie biochimică de înaltă specificitate pentru depășirea chimiorezistenței mediate de axa NRF2-GPX4 reprezintă utilizarea compușilor coordinativi ai cuprului (Cu) cu liganzi de tip tiosemicarbazonă. Acești compuși funcționează ca transportori metalici cu înaltă lipofilie, capacitate ce le permite să traverseze facil straturile bilipidice membranare și să elibereze cuprul sub formă de centru redox-activ direct în compartimentele intracelulare, ocolind mecanismele clasice de eflux celular.

Mecanismul prin care acești compuși epuizează homeostazia redox este bidirecțional și sinergic. În prima etapă, ionii de cupru (Cu^{2+}) interacționează direct cu glutationul redus (GSH), substanța de bază a protecției celulare. Printr-o reacție de reducere intracelulară, Cu^{2+} este transformat în Cu^{+}, proces care induce oxidarea concomitentă a moleculelor de glutation redus (GSH) în glutation oxidat (GSSG). Această depleție masivă a tiolilor liberi provoacă o epuizare biochimică a sistemului de protecție, deoarece privează enzima GPX4 de donorul său de electroni esențial pentru reducerea hidroperoxizilor lipidici (PLOOH). Fără neutralizarea acestor peroxizi, integritatea membranelor este sever compromisă prin propagarea autocatalitică a radicalilor liberi.

În a doua etapă, ionii de cupru rezultați (Cu^{+}) devin catalizatori activi pentru reacții de tip Fenton, interacționând cu peroxidul de hidrogen (H2O2) pentru a genera radicali hidroxil (-OH). Generarea acestor radicali cu înaltă reactivitate în imediata apropiere a membranelor, transformă peroxidarea lipidică dintr-un proces fiziologic controlat într-o cascadă fulminantă. În rezultat are loc acumularea excesivă de aldehide electrofile, precum 4-hidroxinonenalul (4-HNE), și formarea porilor transmembranari letali. Astfel, prin utilizarea proprietăților biochimice ale metalelor de tranziție, compușii coordinativi ai cuprului reușesc să destabilizeze decisiv substanța antioxidantă antitumorală – glutationul redus, transformând peroxidarea lipidică într-un mijloc de autodistrugere a celulelor maligne rezistente la terapiile convenționale.

Pe baza acestor sensibilități metabolice, studiile in vitro și in vivo demonstrează că reducerea decisivă a substanței ~~a~~ntioxidante antitumorale reprezintă o strategie terapeutică de înaltă eficacitate. Utilizarea agenților inductori ai ferroptozei determină efecte letale pentru celula tumorală. De exemplu, administrarea de erastină, care blochează importul de cistină mediat de transportorul - membrul 11 al familiei de transportori de solute 7 (SLC7A11), sau utilizarea compusului letal selectiv pentru RAS 3 (RAS-selective lethal 3, (RSL3)), care inactivează direct glutation peroxidaza 4 (GPX4), provoacă o acumulare excesivă și dependentă de fier a peroxizilor lipidici, forțând tumora să intre în apoptoză.

Intervențiile care vizează microambientul mitocondrial oferă de asemenea rezultate notabile. Administrarea de captatori de superoxid specifici mitocondriei, precum mimeticul enzimei superoxid dismutază (mitoTEMPO), a demonstrat capacitatea de a preveni fenotipul metastatic în modelele experimentale. Prin urmare, superoxid anionul mitocondrial poate fi o opțiune terapeutică pentru prevenirea metastazelor tumorale spontane. O descoperire integrativă relevantă este sinergia dintre nutriție și terapiile pro-oxidante [17]. Dietele ketogene, caracterizate printr-un aport redus de carbohidrați și ridicat de acizi grași polinesaturați (PUFAs), îmbogățesc cardiolipina mitocondrială cu acid linoleic; sub influența stresului oxidativ indus de tratament, aceasta devenind o sursă abundentă de 4-HNE, proces care predispune celulele tumorale la moarte celulară.

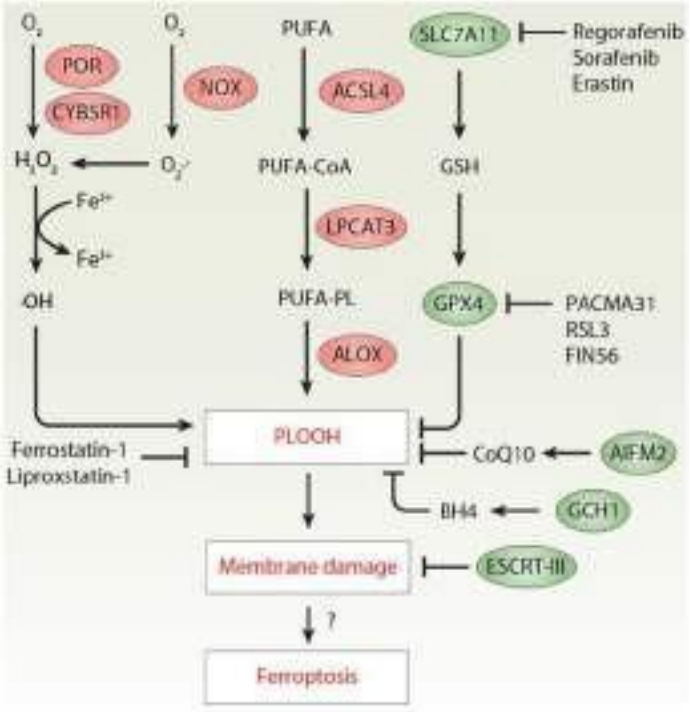


Figura 5. Reprezentarea schematică a formării și consecințele biologice ale aducților 4-hidroxinonenalului (4-HNE) în celula tumorală [18].

Peroxidarea lipidică excesivă joacă un rol important în promovarea ferroptozei prin producerea de hidroperoxizi fosfolipidici (PLOOH) toxici. Cel puțin trei căi enzimatice mediate de citocrom P450 oxidoreductaza (POR) împreună cu citocrom B5 reductaza 1 (CYB5R1), NADPH oxidaza (NOX) și lipoxigenaza (ALOX) contribuie la producția de hidroperoxizi fosfolipidici (PLOOH) prin oxidarea fosfolipidelor polinesaturate (PUFA-PL), proces facilitat de enzime precum acil-CoA sintetaza cu lanț lung membrul 4 (ACSL4) și lizofosfatidilcolin aciltransferaza 3 (LPCAT3). În contrast, activarea axelor protectoare formate din membrul 11 al familiei de transportori de solute 7 (SLC7A11) - glutation (GSH) - glutation peroxidaza 4 (GPX4), factorul de inducere a apoptozei asociat mitocondriei 2 (AIFM2, cunoscut și ca FSP1) - coenzima Q10 (CoQ10) și GTP ciclohidrolaza 1 (GCH1) - tetrahidrobiopterină (BH4) limitează peroxidarea lipidică în timpul ferroptozei. În plus, deteriorarea membranei mediată de

hidroperoxizii fosfolipidici (PLOOH) poate fi reparată de complexul de sciziune a membranei, denumit complexul de sortare endozomală necesar pentru transport-III (ESCRT-III).

Pe lângă moleculele direct pro-ferroptotice, analiza datelor evidențiază eficacitatea compușilor farmacologici adjuvanți în limitarea extinderii bolii. Rezultatele din literatura de specialitate indică faptul că utilizarea acidului acetilsalicilic (aspirina) prezintă un rol antitumoral pronunțat în culturile celulare expuse la stres oxidativ sever. Efectul antiagregant al aspirinei limitează interacțiunile anormale dintre celulele tumorale circulante și plachetele sanguine, blocând agregarea necesară supraviețuirii tumorii în torentul circulator și inhibând astfel formarea micrometastazelor. Capacitatea acestui compus de a diminua cascada inflamatorie și de a interacționa cu produșii metabolismului lipidic contribuie la reducerea ratei de progresie tumorală, oferind o abordare complementară esențială în managementul oncologic modern [2, 17, 18].

Discuţii

Analiza datelor obținute subliniază o schimbare fundamentală în înțelegerea biochimiei tumorale: peroxidarea lipidică nu mai este privită exclusiv ca o consecință distructivă a stresului oxidativ, ci ca un mecanism reglator central, cu rol dual în evoluția cancerului. Pe de o parte, la niveluri reduse sau moderate, produșii de peroxidare precum 4-hidroxinonenalul (4-HNE) acționează ca molecule de semnalizare care asigură progresia tumorală; pe de altă parte, supraacumularea acestora declanșează o epuizare metabolică fatală prin ferroptoză. Cercetările în rezultatul determinării biomarkerilor ai stresului oxidativ demonstrează că celulele tumorale operează la limita superioară a toleranței redox, ceea ce le face paradoxal mai vulnerabile la agenții care țintesc specific homeostazia lipidelor.

Interpretarea impactului mitocondrial al 4-hidroxinonenalului (4-HNE) relevă complexitatea adaptării celulare la mediul pro-oxidant. Așa cum ilustrează analiza aducților macromoleculari [16], generarea de 4-hidroxinonenal (4-HNE) din cardiolipina mitocondrială induce modificări care, în primă fază, pot avantaja tumora. Scăderea integrității membranare, inhibarea parțială a lanțului transportor de electroni (ETC) și reducerea activității ciclului acizilor tricarboxilici (TCA) promovează o deviere a metabolismului energetic către glicoliză aerobă cu formare de lactat (efectul Warburg), asigurând în același timp un nivel de specii reactive de oxigen (ROS) suficient pentru a stimula căile de proliferare și migrare [16]. Activarea proteinelor decuplante (UCPs) de 4-HNE evidențiază capacitatea celulei de a menține acest echilibru precar, limitând producția letală de superoxid anion [16]. Cu toate acestea, punctul de vulnerabilitate majoră este atins atunci când capacitatea de detoxifiere este depășită prin inhibarea ireversibilă a aldehid dehidrogenazei 2 (ALDH2), moment în care leziunile provocate pentru acidul dezoxiribonucleic (DNA) și proteine devin letale [16].

Acest echilibru fragil este apărat semnificativ de celula tumorală printr-o rețea abundentă de sisteme antioxidante, datorită căreia se explică frecventele eșecuri ale chimioterapiei convenționale. Modelul evolutiv al ferroptozei demonstrează evident că rezistența tumorală nu se bazează pe un singur mod de apărare [18]. Deși axa formată din factorul nuclear eritroid 2-înrudit cu factorul 2 (NRF2), transportorul de cistină-glutamat (SLC7A11) și enzima glutation peroxidaza 4 (GPX4) reprezintă protectorul principal împotriva acumulării hidroperoxizilor fosfolipidici (PLOOH), celulele tumorale utilizează căi alternative de salvare [17, 18]. Descoperirea faptului că tumorile pot activa factorul de inducere a apoptozei asociat mitocondriei 2 (AIFM2, cunoscut și ca FSP1) pentru a regenera coenzima Q10 (CoQ10), sau enzima GTP ciclohidrolaza 1 (GCH1) pentru a sintetiza tetrahidrobiopterină (BH4), demonstrează capacitatea vădită a cancerului de a bloca peroxidarea lipidică independentă de glutation [18]. Acest fapt sugerează că, terapiile care vizează o singură țintă, precum inhibitorii

RSL3 (care blochează doar GPX4), ar putea fi insuficiente în clinică, impunând necesitatea unor strategii terapeutice combinate care să blocheze simultan mai multe axe de protecție [18].

Din perspectivă aplicativă, rezultatele obținute deschid calea unor noi strategii terapeutice. Pe lângă utilizarea agenților direcți pro-ferroptotici (precum erastina), țintirea substratului lipidic al tumorii se dovedește a fi promițătoare. Deoarece enzimele precum acil-CoA sintetaza cu lanț lung membrul 4 (ACSL4) și lizofosfatidilcolin aciltransferaza 3 (LPCAT3) sunt esențiale pentru încorporarea acizilor grași polinesaturați (PUFAs) în membrane, furnizând „combustibilul" pentru peroxidare [18], suplimentarea dietetică cu PUFAs (prin diete ketogene) poate amplifica artificial potențialul ferroptotic al celulelor tumorale. [16]. În paralel, rolul agenților modulatori complementari capătă o nouă perspectivă. Așa cum a fost evidențiat anterior, acidul acetilsalicilic acționează în afara mediului intracelular, perturbând agregarea placheto-tumorală și inhibând formarea micrometastazelor, oferind un control sistemic necesar pe durata inducerii morții tumorale programate.

Concluzii

În urma analizei datelor științifice actuale, prezentul studiu demonstrează că oxidarea peroxidică a lipidelor nu este doar o simplă consecință secundară a metabolismului celular alterat, ci și un pivot central care dictează supraviețuirea sau moartea programată a celulei tumorale. Oxidarea peroxidică a lipidelor joacă un rol dual în biochimia cancerului. Pe de o parte, o rată redusă și echilibrată a acestui proces generează produși reactivi care funcționează ca molecule de semnalizare. Aceștia facilitează adaptarea la stresul oxidativ, reprogramarea energetică și capacitatea de metastazare, transformând oxidarea peroxidică într-un instrument de supraviețuire pe care tumora îl utilizează în avantajul său. Pe de altă parte, anume această toleranță forțată la un mediu pro-oxidant reprezintă vulnerabilitatea supremă a bolii neoplazice. Atunci când capacitatea celulei tumorale de a-și neutraliza hidroperoxizii lipidici este suprimată, oxidarea peroxidică își schimbă radical rolul, obținând un efect benefic. Acumularea necontrolată a radicalilor liberi conduce la oxidarea peroxidică în lanț ce favorizează afectarea ireversibilă a integrității membranelor și a funcțiilor vitale ale organitelor, declanșând ferroptoza – un tip de moarte celulară programată, caracterizată prin acumularea dependentă de fier a peroxizilor lipidici, pe care tumorile nu o pot evita prin mecanismele clasice de rezistență.

În concluzie studiul dat fundamentează că, succesele în viitor al terapiilor anticancerigene se bazează pe transformarea intenționată a oxidării peroxidice a lipidelor dintr-o modalitate ineficientă de tratament a tumorii în principalul său mijloc de autodistrugere. Accelerarea terapeutică a acestui proces de degradare lipidică deschide o direcție revoluționară și plină de speranță pentru tratamentul a acelor forme de cancer care au devenit rezistente la tratamentele convenționale.

Referințe:

1. Clemente, S. M., Martinez-Costa, O. H., Monsalve, M., Sahman-Arias, A. K. Targeting Lipid Peroxidation for Cancer Treatment. *Molecules*, 2020, 25(21), 5144. DOI: 10.3390/molecules25215144.
2. Dodson, M., Castro-Portuguez, R., Zhang, D. D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis. *Redox Biol.*, 2019, 23, 101107. DOI: 10.1016/j.redox.2019.101107.
3. Barrera, G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *ISRN Oncol.*, 2012, 2012, 137289. DOI: 10.5402/2012/137289.
4. Yin, H., Xu, L., Porter, N. A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem. Rev.*, 2011, 111(10), 5944–5972. DOI: 10.1021/cr200084z.
5. Dianzani, M. U. Lipid peroxidation and cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 1993, 15(2), 125–147. DOI: 10.1016/1040-8428(93)90052-6.
6. Shoeb, M., Ansari, N. H., Singh, S. 4-Hydroxynonenal in the pathogenesis and progression of human diseases. *Curr. Med. Chem.*, 2014, 21(2), 230–237. DOI: 10.2174/09298673113209990171.

7. Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., Jouanin, I., Siems, W., Uchida, K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radic. Res.*, 2010, 44(10), 1098–1124. DOI: 10.3109/10715762.2010.497477.
8. Barrera, G., Pizzimenti, S., Daga, M., Dianzani, C., Arcaro, A., Cetrangolo, G. P., Ferraresi, A., Cuffini, P. P., Aldini, G., Barrera, G. Role of 4-hydroxynonenal-protein adducts in human diseases. *Antioxid. Redox Signal.*, 2014, 22(18), 1681–1702. DOI: 10.1089/ars.2014.6186.
9. Roede, J. R., Jones, D. P. Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2010, 51(8-9), 780–790. DOI: 10.1002/em.20601.
10. Brigelius-Flohé, R., Maiorino, M. Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, 1830(5), 3289–3303. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.
11. Chen, Z. H., Niki, E. 4-Hydroxynonenal (4-HNE) has been widely accepted as an inducer of oxidative stress. *IUBMB Life*, 2006, 58(5-6), 372–373.
12. Aldini, G., Gamberoni, L., Facino, R. M., Vistoli, G. Novel molecular approaches for improving enzymatic and nonenzymatic detoxification of 4-hydroxynonenal. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, 75, S1–S2. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.669.
13. Levonen, A. L., Jauhiainen, S., Kansanen, E. Redox regulation of antioxidants, autophagy, and the response to stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, 75, S44. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.871.
14. Gümüşlü, S., Cömelekoğlu, U., Yalin, S., Tanyol, H., Sağlam, H. Plasma lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with lung cancer. *Cell Biochem. Funct.*, 2002, 20(4), 331–334. DOI: 10.1002/cbf.982.
15. Elsevier / ScienceDirect. Methods in Cell Biology: Implementation of the FENIX assay for screening and evaluating lipid peroxidation and ferroptosis inhibitors. 2026.
16. Zhong, H., Yin, H. Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: Focusing on mitochondria. *Redox Biol.*, 2015, 4, 193–199. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.005.
17. Jiang, X., Stockwell, B. R., Conrad, M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2021, 22(4), 266–282. DOI: 10.1038/s41580-020-00324-8.
18. Chen, X., Kang, R., Tang, D. Ferroptosis by lipid peroxidation: The tip of the iceberg? *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, 9, 646890. DOI: 10.3389/fcell.2021.646890.
19. Taymaz-Nicolaeu, M., Al-Hussaini, H., Maimaitiyiming, M., Al-Ghabkari, A. Doxorubicin-induced oxidative stress and ferroptosis in cancer therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2022, 2022, 8560014. DOI: 10.1155/2022/8560014.

Date despre autori:



Dionisie CEBOTARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cebotaridionisie@gmail.com
ORCID: 0009-0005-1955-1261



Evgheni GRUSAC, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: grusak16@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0719-3882



Cristea DANIEL, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cristeadaniel447@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0613-3933



Olga Garbuz, doctor în ştiinţe biologice,
Laboratorul de Sistematică și Filogenetică Moleculară,
Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Silvia STRATULAT,
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, conferențiar universitar.
e-mail: silvia.stratulat@usmf.md
ORCID: 0000-0003-0985-307X



Olga TAGADIUC,
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
e-mail: olga.tagadiuc@usmf.md
ORCID: 0000-0002-5503-8052



Veronica SARDARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, asistent universitar, cercetător științific superior.
e-mail: veronica.sardari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-1047-9145

CZU: 542.913:547.497.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.11

SYNTHESIS OF COORDINATION COMPOUNDS OF SELECTED BIOMETALS WITH PYRIDINE-DERIVED N-METHOXYPHENYLTHIOSEMICARBAZONES EXHIBITING BIOLOGICAL ACTIVITY

Aliona PÎNTEA[1], Roman RUSNAC[1], Viorica RAILEAN[2,3], Olga Garbuz[4], Aurelian GULEA[1]

[1]*Laboratory of "Advanced Materials in Biopharmaceutics and Engineering," Institute of Chemistry, Moldova State University*
[2]*Department of Infectious and Invasive Diseases and Veterinary Administration, Institute of Veterinary Medicine, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Szosa Bydgoska 13, 87-100 Toruń, Poland*
[3]*BioColl Team, Centre for Modern Interdisciplinary Technologies, Institute for Advanced Studies, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Wileńska 4, 87-100 Toruń, Poland*
[4]*Laboratory of Systematic and Molecular Phylogeny, Institute of Zoology, Moldova State University*

Abstract

The present study reports the synthesis and characterization of coordination compounds of selected biometals Cu(II), Zn(II), Co(III), and Ni(II) with pyridine-derived N-methoxy-phenyl-thiosemicarbazone ligands. The synthesis method is based on the condensation reaction between pyridine carbonyl derivatives and substituted thiosemicarbazides under mild conditions. The biological activity of the obtained compounds was evaluated through antifungal and anticancer assays, highlighting the influence of ligand structure and metal ion nature on biological performance. The outcomes demonstrate an increased activity of the coordination compounds in comparison to the free ligands, particularly for Cu(II) and Ni(II) complexes. The study confirms the potential of these compounds as promising bioactive agents.

Keywords: coordination compounds; biometals; pyridine thiosemicarbazones; structure–activity relationship; antifungal activity; anticancer activity.

SINTEZA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI UNOR BIOMETALE CU N METOXIFENILTIOSEMICARBAZONE PIRIDINICE CU PROPRIETĂȚI BIOLOGICE

Rezumat

Lucrarea prezintă sinteza și studiul compușilor coordinativi ai unor biometale Cu(II), Zn(II), Co(III), Ni(II) cu liganzi de tip N-metoxi-fenil-tiosemicarbazonă piridinică. Metoda de obținere se bazează pe reacția de condensare dintre derivați carbonilici piridinici și tiosemicarbazide substituite, în condiții blânde. Activitatea biologică a compușilor a fost evaluată prin teste antimicotice și anticancer, evidențiindu-se influența structurii ligandului și a naturii metalului asupra activității biologice. Rezultatele indică o creștere a activității în cazul combinațiilor coordinative comparativ cu liganzii liberi, în special a combinațiilor coordinative cu Cu(II) și Ni(II). Studiul confirmă potențialul acestor compuși ca agenți bioactivi promițători.

Cuvinte-cheie: compuși coordinativi; biometale; tiosemicarbazone piridinice; relație structură–activitate, activitate antifungică; activitate anticancer.

Introduction

The field of coordination chemistry is currently undergoing a period of intensive development, with a focus on the design and synthesis of compounds with predetermined properties. The aim of this development is to address the pressing challenges of contemporary medicine and pharmacology. The increased interest in coordination compounds of biometals such as Cu, Co, Ni, and Zn with thiosemicarbazone ligands is driven by the multifunctionality

of these systems, which exhibit a broad spectrum of biological activities, including remarkable antitumor, antibacterial, and antifungal properties.

Antonie Ablov and his collaborators have demonstrated that by modifying the peripheral structure of the organic ligand through the introduction of various fragments, such as methoxy-phenyl groups or pyridine nuclei, it is possible to fine-tune the physicochemical and biological properties of the resulting complexes [1, 2]. Pyridine-based thiosemicarbazones, in particular, are of particular interest due to their ability to coordinate metal ions through N,N,S donor atom sets, forming stable structures that can mimic enzymatic processes or selectively interact with cellular targets [3].

The findings of local research underscore the pivotal function of copper(II) and zinc(II) in the context of cellular metabolism. The administration of these elements in the form of organometallic chelates has been shown to enhance bioavailability and mitigate toxicity [4,5]. The incorporation of a methoxy-phenyl fragment into the ligand molecule is intended to optimise the lipophilicity of the complex, thereby facilitating its passage across cellular membrane barriers, which is an essential aspect for the efficacy of a pharmaceutical agent [6].

In recent years, interest in coordination compounds of Zn(II) with thiosemicarbazone-type ligands has increased considerably. The reasons for this increase are twofold: firstly, their biological potential and, secondly, the fundamental role that zinc plays in numerous biochemical processes. Due to its redox-inert nature and high biocompatibility, Zn(II) is frequently utilised in the design of compounds with pharmacological potential, with a particular focus on reducing systemic toxicity and increasing biological selectivity [7].

Recent studies demonstrate that methoxy-substituted thiosemicarbazones represent a class of ligands that directly influence their coordination behaviour. The methoxy group ($–OCH_3$), which exhibits an electron-donating character, contributes to an increased electron density on the aromatic ring and on the donor centres involved in the chelation of the metal ion. Consequently, this facilitates the formation of more stable Zn(II) complexes [8].

A significant aspect emphasised in the extant literature is the influence of the methoxy substituent position on the physicochemical and biological properties of coordination compounds. It is evident that ortho isomers are distinguished by pronounced steric effects, which have the potential to restrict ligand access to the metal centre and induce distorted coordination geometries [9]. However, meta isomers demonstrate a balance between steric and electronic effects, favouring the formation of complexes with moderate stability and a relatively ordered structure [10]. Para isomers, due to extended electron delocalization and increased accessibility of donor centres, have been found to generally lead to more stable complexes and often enhanced biological activity [11].

These correlations are supported by numerous structural studies based on X-ray diffraction, which have demonstrated that the position of the substituent directly influences coordination parameters, including metal–ligand bond lengths and the overall geometry of the complex [12].

From a structural point of view, Zn(II) complexes with thiosemicarbazones exhibit tetrahedral or octahedral geometries, depending on the denticity of the ligand and any co-ligands (Smith et al., 2022). As demonstrated in the majority of cases documented in the extant literature, the thiosemicarbazone ligands coordinate to the Zn(II) ion in bidentate (N,S) or tridentate (N,N,S) modes, forming stable chelate rings that significantly contribute to the rigidification of the complex structure. In the case of methoxy-substituted derivatives, it has been observed that the methoxy group does not participate directly in coordination. However, it has been demonstrated that the group exerts influence on the complex stability through inductive and resonance effects exerted on the conjugated system 13]. From a biological activity perspective, Zn(II) thiosemicarbazone complexes have demonstrated a broad spectrum of action. Recent studies highlight significant antimicrobial activity, particularly against Gram-positive bacteria,

as well as antifungal activity dependent on the nature of the substituents and the lipophilicity of the complex [14]. Moreover, a considerable number of studies indicate the antiproliferative potential of these compounds against tumor cell lines, including breast and colon cancer [15].

In particular, it has been found that para-methoxy derivatives of Zn(II) coordination compounds exhibit superior biological activity, which is attributed both to higher structural stability and to an enhanced ability to interact with target biomolecules. This correlation supports the importance of substituent positioning in optimizing the biological properties of these systems [16].

Pyridine-based thiosemicarbazones represent an important class of compounds in coordination chemistry and medicinal chemistry, being extensively studied due to their ability to form stable metal complexes and their diverse biological activity. In this context, derivatives substituted with N-methoxyphenyl groups have attracted particular attention, as the substituent significantly influences the electronic properties of the conjugated system, the coordination ability, and the biological activity of the resulting compounds.

The general synthesis method of these thiosemicarbazones is based on the condensation reaction between pyridine-based carbonyl derivatives (aldehydes or ketones) and substituted thiosemicarbazides, a process well documented in the literature [17]. The reaction mechanism is of the nucleophilic condensation type and proceeds through several successive steps.

In the first step, activation of the carbonyl group occurs, where the carbon atom of the C=O group may be protonated in a mildly acidic medium, leading to an increase in the electrophilicity of the carbonyl carbon and facilitating subsequent nucleophilic attack. In the second step, the terminal nitrogen atom of the $–NH_2$ group in thiosemicarbazide acts as a nucleophile, attacking the carbonyl carbon and forming a carbinolamine-type intermediate. This step is essential for initiating the condensation process and determines the pathway of product formation.

Subsequently, the carbinolamine intermediate undergoes a dehydration step, with the elimination of a water molecule, leading to the formation of the azomethine double bond (–C=N–), characteristic of the final thiosemicarbazone structure.

In the final stage, the obtained product is stabilized through extended π-conjugation within the aromatic system and the azomethine fragment, through possible intramolecular hydrogen bonding, as well as through thioamide tautomeric equilibria, which contribute to structural rigidification and the thermodynamic stability of the compound. Thus, the synthesis mechanism explains both the efficient formation of pyridine thiosemicarbazones and their structural and functional properties, relevant to their applications in coordination and bioorganic chemistry.

Overview of ligand synthesis

The synthesis of thiosemicarbazones is carried out under relatively mild conditions, making the method efficient and widely used in organic and coordination chemistry. The reaction is typically performed in polar protic solvents such as ethanol, methanol, or hydroalcoholic mixtures, which facilitate both the dissolution of the reactants and the progression of the condensation steps. These conditions are well documented in the literature regarding the synthesis of thiosemicarbazone derivatives and the optimization of carbonyl–hydrazinic condensation reactions [18–19].

The process is catalyzed by small amounts of glacial acetic acid, which acts as an activating agent for the carbonyl group without generating significant side reactions. The reaction is conducted under moderate reflux conditions at temperatures ranging between 60–80°C, ensuring suitable reaction kinetics without degradation of sensitive compounds. The reaction time varies depending on the structure of the reactants, typically between 1 and 4 hours, and the optimal molar ratio is generally 1:1 between the carbonyl compound and thiosemicarbazide [20].

Once the reaction has been completed, the reaction mixture is gradually cooled to room temperature. This process induces precipitation of the condensation product due to its low

solubility in the reaction medium. The obtained solid product is then isolated by filtration, followed by purification steps through recrystallization from suitable solvents, such as ethanol, in order to obtain a compound of high purity required for subsequent stages of structural characterization and property evaluation [21,22].

Materials and methods

The scientific research was carried out within the Laboratory of "Advanced Materials in Biopharmaceutical and Technical Applications" of the Institute of Chemistry of the State University of Moldova. The syntheses were performed using reagents purchased from "Sigma-Aldrich", "Acros Organics", or "Alfa Aesar", which were used without prior purification.

FTIR spectra were recorded on powder samples using a Bruker ALPHA instrument, in the wavenumber range of 4000–400 cm^{-1}. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectra were recorded at room temperature using a Bruker DRX400 spectrometer. Acetone-d_6 was used as the solvent.

The antifungal activity was evaluated according to the serial dilution method described in the literature. The tests were carried out in the Microbiology Laboratory of the National Agency for Public Health in Chisinau.

The synthesis procedure of ligands HL1–HL3 was performed according to the method described in reference [23], as shown in Fig. 1.

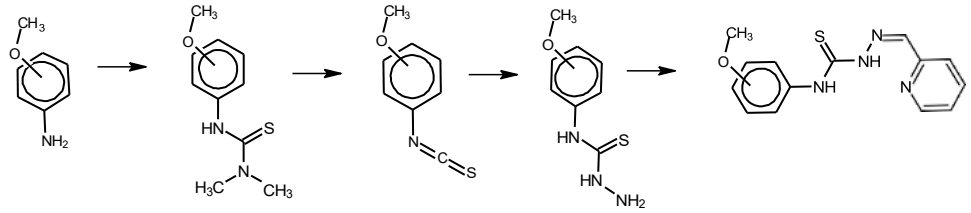


Figure 1. Synthetic scheme of thiosemicarbazones HL^1–HL^3

A mixture of equimolar amounts of a pyridine-based carbonyl compound and N-methoxyphenyl-thiosemicarbazide is dissolved in ethanol. To the resulting solution, 3 drops (~100 µL) of glacial acetic acid are added, and the mixture is heated under reflux for 3 hours with continuous stirring. The progress of the reaction is monitored by thin-layer chromatography (TLC). Once the reaction mixture has been cooled to room temperature, the resulting solid product is isolated by filtration, washed with cold ethanol, and dried under vacuum. The purification of the substance is achieved through recrystallization from ethanol. The condensation method between pyridine-based carbonyl derivatives and N-methoxyphenyl-thiosemicarbazide represents an efficient and versatile approach for obtaining functionalized thiosemicarbazones. This synthetic strategy allows the modulation of the physicochemical and biological properties of the compounds, being particularly useful in the development of ligands for coordination chemistry and bio-pharmaceutical applications, whose structures are presented in Fig. 2.

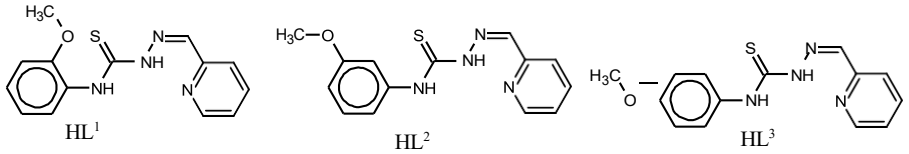


Figure 2. Structural formulas of the synthesized ligands

The synthesis of coordination compounds [Cu(L)Cl], [Cu(L)(H_2O)NO_3], [Co($L)_2$]Cl, [Zn(HL)Cl_2], and [Ni($Ly)_2$], was carried out according to the general synthetic procedure described in reference [24]. In a conical flask, 1 mmol of ligand and 1 mmol of $MX_2 \cdot nH_2O$ are introduced in 20 mL of ethanol. The reaction mixture is stirred for 2 hours at 70–75 °C. After completion, the mixture is cooled to room temperature; the resulting precipitate is filtered, washed with cold ethanol, and dried in a desiccator to constant mass.

Biological evaluation methods of antifungal activity

The antimycotic properties of the synthesized compounds were investigated *in vitro* against the laboratory strain *Candida albicans*. The activity was determined in Sabouraud liquid nutrient medium (pH = 6.8). Inocula were prepared from fungal cultures aged 3–7 days. Their concentration in suspension was adjusted to (2–4) × 10^6 colony-forming units per millilitre [23–24].

The evaluation of the antifungal activity of organic compounds and synthesized coordination complexes represents a fundamental stage in the study of their biological properties, being essential for identifying potential antifungal agents. In particular, pyridine-based thiosemicarbazone derivatives and their metal coordination complexes are extensively studied due to their ability to interact with fungal biological systems and to exhibit significant biological effects. Numerous studies have shown that the antifungal activity of these compounds is influenced both by the structure of the ligand and by the nature of the metal center, with complexes often exhibiting higher activity than the free ligand due to increased lipophilicity and improved transport across cellular membranes.

The antifungal testing procedure begins with the preparation of biological material, which involves the selection of standardized fungal strains such as *Candida albicans*, cultivated on appropriate nutrient media such as Sabouraud or RPMI 1640. The fungal suspension is adjusted to a standardized concentration expressed in colony-forming units per millilitre to ensure experimental reproducibility. Control of incubation parameters, including temperature and exposure time, is essential for obtaining comparable and reproducible results.

Subsequently, the tested compounds are dissolved in suitable solvents such as dimethyl sulfoxide or ethanol, yielding homogeneous solutions that are subjected to biological evaluation. One of the most commonly used methods is the disc diffusion assay (Fig. 3), which allows a preliminary assessment of antifungal activity. In this method, a solid medium uniformly inoculated with the fungal suspension serves as a support for discs impregnated with the tested compound. During incubation, the substance diffuses into the medium, and in the presence of antifungal activity, a clear inhibition zone forms around the disc, corresponding to suppression of fungal growth.

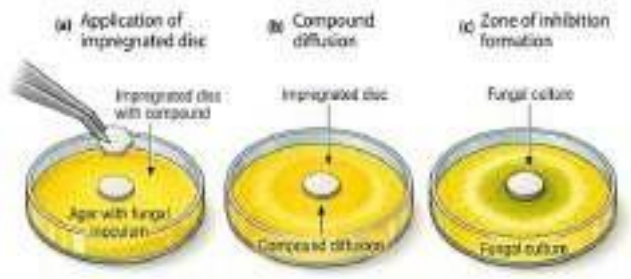


Figure 3. Schematic representation of the disc diffusion method for the evaluation of antifungal activity: (a) application of the compound-impregnated disc onto the inoculated medium, (b) diffusion of the compound into the agar, (c) formation of the inhibition zone.

The image illustrates the uniform distribution of the fungal inoculum on the surface of the agar medium and the appearance of circular inhibition zones around the discs impregnated with the active substance. Clear zones indicate inhibition of microbial growth and are directly correlated with the sensitivity of the fungus to the tested compound. The diameter of these zones is used to evaluate antifungal activity and can be correlated with minimum inhibitory concentration values, according to standardized protocols.

Despite the efficacy of this approach for rapid screening, a more precise quantitative assessment of antifungal activity is achieved through the utilisation of the broth dilution method, particularly the microdilution variant. This involves preparing a series of dilutions of the compound in a liquid nutrient medium, followed by inoculation of each sample with the standardized microorganism (Fig. 4). After incubation, fungal growth is assessed by observing turbidity or through spectrophotometric measurements, and the lowest concentration at which no visible growth is detected is defined as the minimum inhibitory concentration (MIC).

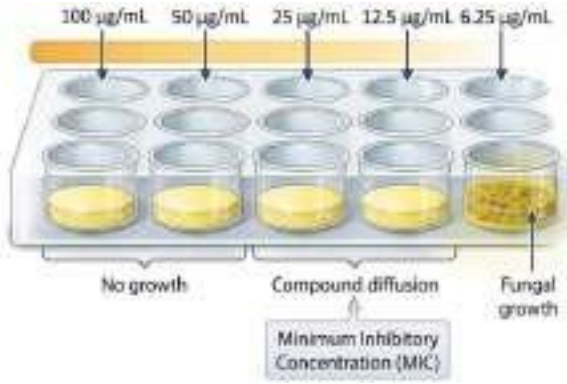


Figure 4. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) by the microdilution method: variation of compound concentration in wells and assessment of fungal growth inhibition

The figure shows a 96-well microtiter plate used for the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC), in which the concentration of the compound decreases progressively along the dilution series. Wells exhibiting turbidity indicate fungal growth, whereas clear wells indicate complete inhibition of growth.

The MIC is defined as the lowest concentration at which no visible growth is observed, typically determined either by optical density measurements or by visual inspection. In order to distinguish between fungistatic and fungicidal effects, the minimum fungicidal concentration (MFC) is also determined. This involves transferring samples from wells without visible growth onto solid media and assessing the ability of the microorganisms to regrow.

The absence of growth confirms the lethal effect on the microorganisms, whereas regrowth indicates only temporary inhibition of fungal development (Fig. 5).

The image illustrates the transfer of samples from a liquid medium (with no visible growth) onto a solid medium for the evaluation of fungal viability. The presence of colonies indicates that the microorganisms were not completely destroyed, whereas their absence confirms the fungicidal effect of the compound.

This method enables a clear distinction between fungistatic and fungicidal activity and is used as a complementary approach to MIC determination. In the case of coordination complexes, antifungal activity is influenced by both the nature of the metal and the structure of the ligand.

Studies indicate that transition metals such as copper or nickel can enhance biological activity through mechanisms including the generation of reactive oxygen species and interaction with fungal enzymes.

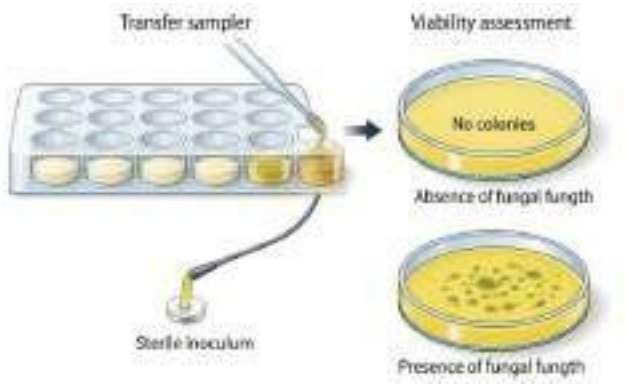


Figure 5. Schematic representation of the determination of the minimum fungicidal concentration (MFC): transfer of samples onto solid medium and evaluation of fungal viability

Ligand coordination reduces polarity and enhances membrane permeability, which explains the higher activity of the complexes compared to the free ligands, as exemplified in Fig. 6.



Figure 6. Comparative representation of antifungal activity: free ligand versus coordination complexes, highlighting the increase in biological efficacy

The figure illustrates the relationship between the inhibition zone diameter and the minimum inhibitory concentration, demonstrating an inverse proportionality between the two variables. Compounds that yield substantial inhibition zones characteristically demonstrate low MIC values, suggesting a high degree of antifungal potency. This correlation is utilised for the validation of screening methods and the interpretation of experimental results in comparative studies.

The results obtained are frequently represented graphically as comparative diagrams, thus allowing the structure-activity relationships to be highlighted. These representations evidently demonstrate that structural modifications and the introduction of a metal centre result in improved biological properties, thereby confirming the significance of coordination chemistry in the development of new antifungal agents [25–26].

MTT assay for cell proliferation

The MTT assay, a colorimetric method, quantifies viable cells in order to evaluate cytotoxic effects on the MCF-7 cell line. It measures the conversion of MTT into insoluble formazan by mitochondrial succinate dehydrogenase in metabolically active cells, thereby reflecting cellular viability. The tested compounds were dissolved in saline solution and DMSO (≤0.1%) and evaluated at concentrations of 0.1, 1, and 10 μM, following the method described by Mosmann [27–28].

Cells were centrifuged, while adherent cells were trypsinized and then diluted to 5×10^4 cells/mL in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum. Subsequently, 5×10^3 cells in 100 μL were seeded into 96-well plates and incubated to allow cell attachment. After compound addition, the cells were incubated for 24 hours at 37 °C and 3% CO_2.

Subsequently, the MTT reagent was added, and the cells were monitored under a microscope for formazan formation. Following the appearance of the purple precipitate, a detergent reagent was added, and the plates were stored in the dark for a period of 4 hours. Absorbance was measured at a wavelength of 540 nm, employing a BioTek plate reader (Agilent, Santa Clara, CA, USA).

The results, expressed as percentage inhibition, were calculated using the following formula:

$$I\,(\%) = 100 - \frac{Abs_{570\,nm\,(sample)} - Abs_{600\,nm\,(sample)}}{Abs_{540\,nm\,(control)} - Abs_{600\,nm\,(control)}} \times 100 \quad (1)$$

The formula is based on the principle of determining cell viability by accounting for the differences in light absorption at 570 nm and 600 nm (Equation 1).

The percentage of inhibition was calculated as follows: The methodology for the anticancer evaluation of thiosemicarbazones and Cu(II) coordination compounds in breast cancer is based on a complex, integrated approach that allows the assessment of both cytotoxic effects and the underlying molecular mechanism of action. The interest in these systems is due to the fact that these semicarbazones and their coordination complexes exhibit significant antiproliferative activity against breast cancer cell lines, such as MCF-7 (estrogen receptor-positive, ER+), due to their ability to interact with DNA, disrupt metal homeostasis, and induce oxidative stress, ultimately leading to programmed cell death [27].

The experimental process begins with the cultivation of tumor cell lines under standardized conditions, using appropriate nutrient media such as RPMI-1640, supplemented with fetal bovine serum and antibiotics, in a controlled atmosphere of 5% CO_2 at 37 °C. Cells are seeded into culture plates, typically 96-well plates, at an optimal density that ensures uniform growth and experimental reproducibility, as exemplified in Fig. 7.

After stabilization of the cell culture, the investigated compounds are added at various concentrations obtained through serial dilution, allowing the analysis of dose–response relationships and the determination of specific pharmacological parameters [27].

The evaluation of cytotoxic effects is primarily performed using the MTT assay, which is based on the enzymatic reduction of tetrazolium salts to formazan in viable cells. The intensity of the resulting color is proportional to cellular metabolic activity and is measured spectrophotometrically. A decrease in absorbance indicates reduced cell viability, and graphical representation of the data allows determination of the IC_{50} value, corresponding to the concentration required to inhibit 50% of the cell population [27].



Figure 7. Evaluation of cytotoxic effects using the MTT assay in MCF-7 cells

Results and Discussion

Following the synthesis procedures, three ligands and coordination complexes of Zn(II), Cu(II), Co(III), and Ni(II) were obtained, on which a series of antifungal investigations were carried out. The analysis of the experimental data (Fig. 8) shows that the antifungal activity of thiosemicarbazones is strongly dependent both on the structure of the ligand and on the nature of the metal ion involved in the formation of the coordination complexes. It has been demonstrated that Cu(II) thiosemicarbazone complexes exert a strong anticancer effect through a multistep mechanism involving the following processes: cellular uptake, redox cycling, and ROS generation [34]. The produced oxidative stress leads to significant DNA damage, including strand breaks and base oxidation, as well as interference with DNA topology and replication processes. These molecular events activate apoptotic signaling pathways, characterized by caspase cascade activation and PARP cleavage, ultimately resulting in programmed cell death. The MTT assay confirms a concentration-dependent decrease in cell viability, reflected in low IC_{50} values for the tested complexes. Overall, Cu(II)-TSC complexes act as multitarget agents, combining oxidative stress induction, DNA interaction, and apoptosis activation, which explains their enhanced cytotoxic activity compared to free ligands. Additionally, the redox properties of copper favor the generation of reactive oxygen species, which contribute to the damage of cellular components and further enhance the cytotoxic effect.Coordination complexes of copper(II) with thiosemicarbazone-type ligands (Cu(II)-TSC) represent a promising class of non-platinum antitumor agents. Their high biological activity is attributed to a multifactorial mechanism of action that exploits both the redox properties of the copper ion and the ability of the organic ligand to coordinate biometals and interact with cellular targets.

In contrast to the covalent binding of cisplatin to DNA, copper(II) coordination complexes have been observed to exert their effect by the generation of oxidative stress and the interference with essential enzymatic processes. Confirmation of the apoptotic process is achieved through complementary methods such as fluorescent staining, DNA fragmentation analysis, and flow cytometry, which allow the identification of structural and functional changes in treated cells. These techniques demonstrate that treatment with coordination complexes induces chromatin condensation, nuclear fragmentation, and cell accumulation in specific phases of the cell cycle, indicating a clear mechanism of proliferation inhibition.

In the case of copper coordination complexes, anticancer activity is enhanced by the synergistic effect between the ligand and the Cu(II) metal ion. Cu(II) can participate in intracellular redox reactions, generating free radicals that induce selective oxidative stress in tumor cells. This characteristic contributes to the increased selectivity of these compounds toward normal cells and explains the low IC_{50} values observed in experimental studies [29, 31].

This increase in activity can be explained by changes in physicochemical properties induced by metal coordination. Complex formation leads to an increase in lipophilicity, which facilitates passage through the cell membrane, in accordance with Overton's theory. As a result, the coordination compound penetrates tumor cells more efficiently, reaching higher intracellular concentrations and enhancing the cytotoxic effect.

From a mechanistic perspective, the differences between the free ligand and the metal complex are significant. The uncoordinated ligand acts predominantly through limited mechanisms, such as specific interactions with certain enzymes or cellular receptors, leading to a relatively moderate cytotoxic effect. In contrast, Cu(II) coordination complexes exhibit a dual mechanism of action that is much more aggressive toward cancer cells. They are capable of generating reactive oxygen species through Fenton-type redox reactions, inducing intense oxidative stress. The consequences of this process include degradation of cellular macromolecules, DNA fragmentation, and impairment of mitochondrial function, ultimately leading to apoptosis.

Another significant finding, as indicated by the data analysis, is the variation in the specificity of the compounds according to the cell line employed. However, complexation with Cu(II) has been shown to help partially overcome this resistance, suggesting an increased therapeutic potential of these coordination systems in the treatment of more aggressive forms of breast cancer. Overall, the comparative analysis shows that transforming the organic ligand into a copper coordination complex not only enhances anticancer activity but also profoundly modifies the mechanism of action, thereby offering significant advantages in the development of new effective therapeutic agents.

Validation of the in vitro results is performed through in vivo studies on experimental models, where tumor progression and systemic effects of the compounds are monitored. Tumor reduction and the absence of severe toxicity confirm the potential of these substances as effective therapeutic agents. The integration of these results allows the establishment of a clear structure–activity relationship, providing important perspectives for the development of new anticancer drugs [30–33].The free ligands exhibit moderate activity, predominantly fungistatic, indicating an intrinsic biological potential but one that remains limited in the absence of metal coordination. The introduction of metal ions leads to significant changes in activity; however, the effect is not uniform, being decisively influenced by the type of metal and the position of the methoxy substituent.

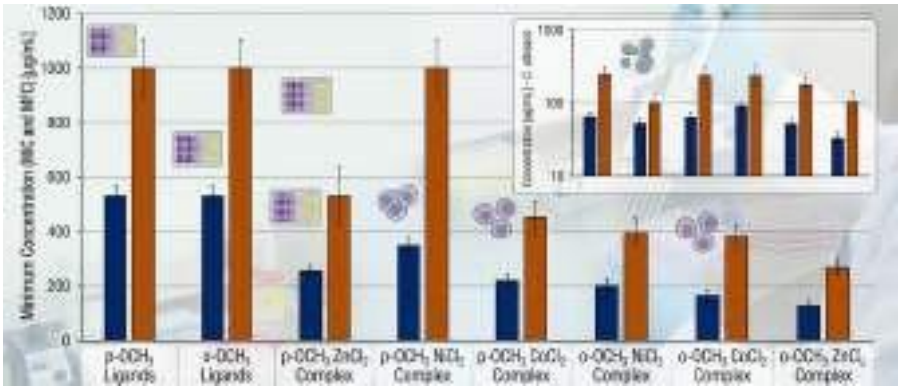


Figure 8. Comparative analysis of antifungal activity (MIC and MFC) for free ligands and metal complexes of Zn(II), Ni(II), and Co(III), highlighting the influence of methoxy substituents (ortho, meta, para) on biological efficacy, including activity against *Candida albicans*

The most significant result is represented by the Ni(II) coordination complexes with the para-methoxy ligand, which exhibit superior antifungal activity, with equal values of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC), demonstrating a pronounced fungicidal effect. This behaviour suggests the existence of an optimal synergy between the complex geometry, electronic properties, and the ability to interact with fungal biological targets.

In contrast, other coordination complexes, particularly those of Zn(II) and Co(III), have been observed to reduce antifungal activity, indicating that not every complexation process leads to biological enhancement, but only certain structurally favorable combinations.

The outcomes of this study demonstrate that the antifungal efficacy of these systems is determined by a delicate balance between ligand structure and the nature of the metal center. Ni(II) complexes bearing para-methoxy substitution emerge as the most promising candidates for the development of fungicidal antifungal agents.

The comparative analysis of the experimental data allows for the identification of structure-activity relationships, which contributes to a more profound understanding of the mechanisms through which the compounds interact with biological targets. In this context, graphical representation of the results is an essential tool for identifying trends and significant variations among the investigated samples.

The anticancer activity of the ligands (*o-, m-, p-OCH₃*) and their Cu(II) coordination compounds on a breast cancer cell line provides insight into their efficacy (Fig. 9).

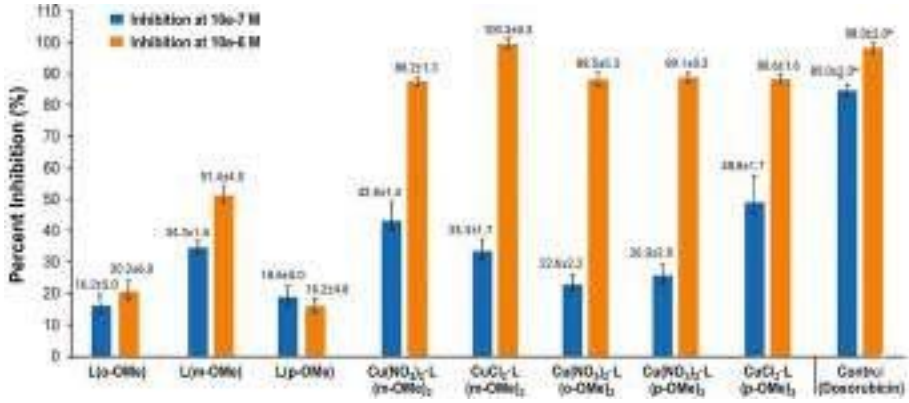


Figure 9. Anticancer activity of the ligands (o-, m-, p-OCH_3) and their corresponding Cu(II) complexes against a breast cancer cell line.

The comparative analysis of the data clearly shows that the cytotoxic activity of the studied compounds is strongly influenced both by concentration and by their chemical nature. First, a general dose - response behavior is observed, with most compounds showing a significant increase in the percentage of inhibition at a concentration of 10^{-6} M compared to 10^{-7} M. This trend confirms that biological efficacy is dose - dependent, although minor deviations are observed in the case of some free ligands.

The most significant discrepancies are evident between the uncomplexed ligands and their coordination compounds. The free ligands demonstrate moderate cytotoxic activity, with relatively low inhibition values, whereas the copper(II) complexes exhibit a marked increase in efficacy, frequently reaching values above 85–90% at higher concentrations. This observation suggests that metal ion incorporation significantly modifies the properties of the compounds, enhancing their interaction with biological targets.

Furthermore, the position of the methoxy substituent on the aromatic nucleus has been demonstrated to clearly influence activity. The meta derivatives demonstrate the highest efficiency, a notable example being the corresponding copper chloride complex, which attains maximal inhibition values slightly above 100%. In contrast, the ortho and para derivatives, although active, show slightly lower values, suggesting the influence of steric and electronic effects on the mechanism of action.

Regarding the comparison with the standard used, most of the metal complexes reach or approach the inhibition level of the reference compound, indicating a high biological potential. Overall, the data support the idea that copper complexes, especially those derived from the meta isomer, represent promising candidates for the development of cytotoxic agents, justifying further in-depth investigations.

Conclusions

The present study highlights the major importance of pyridine-based thiosemicarbazones substituted with N-methoxyphenyl groups in the development of coordination systems with high biological potential. The research demonstrated that the synthetic method based on the condensation reaction between pyridine carbonyl derivatives and substituted thiosemicarbazides is efficient, reproducible, and adaptable, enabling the preparation of ligands with well-defined structural properties.

A key finding confirmed by the results is the decisive role of ligand structure and metal ion nature in modulating biological activity. The complexation of thiosemicarbazones with biometal ions such as Cu(II), Zn(II), Co(III), and Ni(II) leads to significant changes in the physicochemical properties of the coordination compounds.

Biological studies have shown that free ligands exhibit moderate activity, whereas coordination compounds often display enhanced activity, attributed to increased lipophilicity and improved penetration into target cells. In particular, Cu(II) complexes demonstrated significant anticancer potential through complex mechanisms involving DNA interaction and the induction of oxidative stress, leading to cellular apoptosis.

Regarding antifungal activity, the results show that it is strongly influenced by both the nature of the metal and the position of the methoxy substituent. The Ni(II) complex with para-methoxy substitution proved to be the most effective, exhibiting a pronounced fungicidal effect, suggesting an optimal synergy between electronic structure and molecular geometry.

Furthermore, structure - activity relationship analysis confirmed that the introduction of the methoxy group contributes to the optimization of electronic properties and enhances the biological potential of the compounds, while its position on the aromatic nucleus plays a crucial role in determining the final efficacy.

Acknowledgements

We would like to express our gratitude to Dr. habil. Olga Burduniuc, Associate Research Professor, Head of Department at the National Agency for Public Health, Chișinău, Republic of Moldova, for conducting the antifungal investigations.

The experimental material presented in this article was developed within the institutional subprogram “Synthesis and study of new materials based on complex compounds with polyfunctional ligands and useful properties in medicine, biology and engineering”, code: 010602; details at: https://ichem.md/SSMCCLP, Republic of Moldova.

References:

1. VAN, Hoang Thi Kim; THANH, Nguyen Dinh. Maltose-Conjugated Thiosemicarbazones from Substituted Benzaldehydes: Synthesis and Inhibitory Activity against Gram-(+) and Gram-(−)

Bacteria. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2026, 17.3: 670-678. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5c00700

2. GULEA, Aurelian. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. *Revista de Ştiinţă, Inovare, Cultură şi Artă „Akademos”*, 2013, 28.1: 102-107. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/Noi%20inhibitori%20de%20proliferare%20a%20celulelor%20de%20cancer.pdf
3. GULEA Aurelian; RUSNAC Roman; BĂLAN Greta; RUSNAC Anna; NICOLENCO Nicoleta; ŢAPCOV Victor. Utilizarea nitrato-[N-ciclohexil-N'-(piridin-2-ilmetiliden)carbamohidrazontioato]cupru in calitate de inhibitor al proliferării bacteriilor din specia *Acinetobacter baumannii*. Brevet de invenție 4761 (13)B1. Nr. depozit: a 2020 0019; Data depozit: 2020.03.05; Disponibil la: https://db.agepi.md/Inventions/details/a%202020%200019
4. ALY, Ashraf A.; HASSAN, Alaa A.; ABDEL-LATIEF, El-Shaimaa SM. An update of the use of thiocarbohydrazides and thiosemicarbazides in the preparation of heterocycles and their biological importance. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2018, 55.10: 2196-2223. https://doi.org/10.1002/jhet.3295
5. YADAV, Paras Nath, et al. N(3)-substituted thiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones compounds and their copper (II) complexes: Synthesis, characterization, in silico study and anticancer activity. *Polyhedron*, 2026, 118022. https://doi.org/10.1016/j.poly.2026.118022
6. JYOTHI, P. Recent advances in thiosemicarbazone metal complexes: structure–activity relationship and therapeutic prospects. *Discover Chemistry*, 2026, 3.1: 73. https://doi.org/10.1007/s44371-026-00538-3
7. TARAI, Arup, et al. Thiosemicarbazones as ion chelators: Unveiling their coordination and multifaceted applications. *Dyes and Pigments*, 2025, 113419. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2025.113419
8. SINGH, Vipin, et al. Investigation of the anticancer potential of newly synthesized N4-substituted thiosemicarbazones: In silico and in vitro biological approaches. *Journal of Molecular Structure*, 2025, 1324: 140764. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140764
9. BERALDO, Heloisa; GAMBINOB, Dinorah. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 2004, 4.1: pp. 31-39. https://doi.org/10.2174/1389557043487484
10. LOBANA, Tarlok S., et al. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—an overview. *Coordination Chemistry Reviews*, 2009, 253.7-8: pp.977-1055. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.07.004
11. PAHONTU, Elena, et al. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2015, 19.4: pp, 865-878. https://doi.org/10.1111/jcmm.12508
12. SCHWITALLA, Kevin, et al. Water-Soluble, Titanocene-Based Prodrugs with Thiosemicarbazones as Cytotoxic Agents. *ACS omega*, 2025, 10.36: 41677-41687. https://doi.org/10.1021/acsomega.5c05481
13. KOGA, Hiroyasu. Antifungal Susceptibility Testing Method for Dermatophytes-Determination of MIC and MFC Values. *Medical Mycology Journal*, 2014, 55.2. DOI: 10.3314/mmj.55.J57
14. SHAHZADI, Anam, et al. Synthesis, Characterization, Anticancer, Antioxidant, and In Silico Evaluation of Semicarbazides and Thiosemicarbazides. *ACS omega*, 2025, 10.30: 33383-33392. https://doi.org/10.1021/acsomega.5c03358
15. PANDEY, Shashank, et al. Zn (II)/Cd (II) thiosemicarbazone complexes: synthesis, structural characterisation, and comparative multifunctional applications. *Inorganica Chimica Acta*, 2026, 123229. https://doi.org/10.1016/j.ica.2026.123229
16. SINGH, Vipin, et al. Exploring the biological potential of N4-substituted thiosemicarbazones derived from 5-bromo salicylaldehyde: In silico and in vitro evaluation. *Journal of Molecular Structure*, 2025, 144676. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2025.144676
17. MAHENDIRAN, Dharmasivam, et al. Copper complexes as prospective anticancer agents: In vitro and in vivo evaluation, selective targeting of cancer cells by DNA damage and S phase arrest. *RSC advances*, 2018, 8.30: pp. 16973-16990. DOI: 10.1039/C8RA00954F

18. VEG, Ekhlakh, et al. Some Biological Applications and Mechanistic Insights of Benzaldehyde-Substituted Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes: A Review. *Natural Sciences*, 2025, 5.1-2: e70005. https://doi.org/10.1002/ntls.70005
19. PALIWAL, Kumudini, et al. Targeting Triple Negative Breast Cancer with a Dinuclear Copper (II) Thiocarbohydrazone Complex: Efficacy Evaluation and Cellular Response. *ACS omega*, 2025, 10.36: 41342-41358. https://doi.org/10.1021/acsomega.5c04277
20. ABDOU, Achraf, et al. Design, synthesis, and antibacterial evaluation of novel thiosemicarbazone derivatives from estragole. *Natural Product Research*, 2025, 1-9. https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2608710
21. LANERO, Francesco, et al. Non-covalent interactions in thiosemicarbazone coordination chemistry: From crystal engineering to functional materials. *Coordination Chemistry Reviews*, 2026, 558: 217722. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2026.217722
22. PALIWAL, Kumudini, et al. Targeting Triple Negative Breast Cancer with a Dinuclear Copper (II) Thiocarbohydrazone Complex: Efficacy Evaluation and Cellular Response. *ACS omega*, 2025, 10.36: pp. 41342-41358. https://doi.org/10.1021/acsomega.5c04277
23. FUIOR, Arcadie, et al. Synthesis, Structures, and Solution Studies of a New Class of [Mo2O2S2]-Based Thiosemicarbazone Coordination Complexes. *ACS omega*, 2022, 7.19: 16547-16560. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00705
24. RUSNAC, Roman, et al. Synthesis, Characterization, and Biological Properties of the Copper (II) Complexes with Novel Ligand: N-[4-({2-[1-(pyridin-2-yl) ethylidene] hydrazinecarbothioyl} amino) phenyl] acetamide. *Inorganics*, 2023, 11.10: 408. https://doi.org/10.3390/inorganics11100408
25. SHAO, Jia, et al. Thiosemicarbazone Cu (II) and Zn (II) complexes as potential anticancer agents: Syntheses, crystal structure, DNA cleavage, cytotoxicity and apoptosis induction activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2014, 136: pp. 13-23, https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.03.004.
26. MACIJEWSKA, N., RISTIĆ, P., KALLINGAL, A. et al. Multifaceted biological and computational assessment of aromatic and N-heteroaromatic non-substituted thiosemicarbazones. *Sci. Rep.* (2026). https://doi.org/10.1038/s41598-026-44568-4
27. RUSNAC, Roman, et al. Novel Copper (II) Coordination Compounds Containing Pyridine Derivatives of N 4-Methoxyphenyl-Thiosemicarbazones with Selective Anticancer Activity. *Molecules*, 2024, 29.24: 6002. https://doi.org/10.3390/molecules29246002
28. GULEA Aurelian; RUSNAC Roman; RUSNAC Anna; ȚAPCOV Victov. Etil-4-{2-[(piridin-2-ilmetiliden)hidrazinocarbotioil]amino}benzoat monohidrat care manifestă proprietăți de inhibitor al proliferării celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane. Brevet de invenție 4613 (13) C1. Nr. depozit: a 2017 0078; Data depozit: 2017.09.11. Detalii la: https://db.agepi.md/Inventions/details/a%202017%200078/LinkTitluElib
29. GRAUR Vasilii, GULEA Aurelian. Novel biological agents based on metal complexes of N4-allylthiosemicarbazones and their derivatives. ISBN 978-9975-62-716-0. Chișinău 2024. Disponibil la: https://ichem.md/sites/default/files/2025-01/Monograph%20Graur%20Gulea%202024.pdf
30. DOS REIS, Camilla Moretto, et al. Microwave-assisted synthesis of new N1,N4-substituted thiosemicarbazones. *Molecules*, 2011, 16.12: 10668-10684. https://doi.org/10.3390/molecules161210668
31. KUVAKIN, Alexander S., et al. Benzalacetone-Based β-Isothiocyanatoketones: Synthesis and Transformation to Diaryl-Substituted 14-Membered Cyclic Thiosemicarbazones and Related Heterocycles. *The Journal of Organic Chemistry*, 2025, 90.50: 17814-17838. https://doi.org/10.1021/acs.joc.5c02318
32. AYIKKODAN VEETTIL, Ashwathi; KUMAR, Namadari Sai; BASHEER, Sabeel Mohammed. Synthesis and Photoluminescence Properties of Quinoline-Derived Thiosemicarbazone Lanthanide Complexes and Their Polymer-Embedded Stability. *ACS Applied Optical Materials*, 2025, 3.12: 2857-2869. https://doi.org/10.1021/acsaom.5c00436
33. CASTIÑEIRAS, Alfonso, et al. Reactivity of Acetylbarbituric Thiosemicarbazone Derivatives with Silver (I) Nitrate and the Influence of Substituents at Nitrogen Atom 4N on the Bonding and Nuclearity of the Resulting Silver (I) Complexes. *ACS omega*, 2025, 10.37: 42862-42881. https://doi.org/10.1021/acsomega.5c05539

34. HANGAN, ADRIANA CORINA, et al. Copper Complexes: Main Mechanisms as Anticancer Agents. *Molecules*, 2026, 31.5: 874. https://doi.org/10.3390/molecules31050874

Authors:



Aliona PÎNTEA, PhD student / junior research scientist, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, State University of Moldova, Chișinău, Republic of Moldova.
e-mail: pintea.aliona@usm.md
ORCID: 0009-0008-1713-9195



Roman RUSNAC, Doctor in Chemical Sciences, Senior Research Scientist / University Lecturer, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, State University of Moldova, Chișinău, Republic of Moldova.
e-mail: roman.rusnac@usm.md
ORCID: 0000-0002-5713-5251



Viorica RAILEAN, PhD in Chemical Sciences, Department of Infectious and Invasive Diseases and Veterinary Administration, Institute of Veterinary Medicine, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 13 Szosa Bydgoska Street, 87-100 Toruń, Poland. BioColl Team, Center for Modern Interdisciplinary Technologies, Institute for Advanced Studies, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 4 Wileńska Street, 87-100 Toruń, Poland.
e-mail: viorica.railean@umk.pl
ORCID: 0000-0001-9916-0095



Olga Garbuz, PhD in Biological Sciences, Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, State University of Moldova, Chișinău, Republic of Moldova.
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Aurelian GULEA, Academician, Doctor Habilitate, University Professor, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
E-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

CZU: 547.497.1:546.56 https://doi.org/10.59295/mabt2026.12

IN VITRO MODULATION OF THE THIOL SYSTEM BY Cu–THIOSEMICARBAZONE COMPOUNDS: IMPLICATIONS FOR CELLULAR REDOX HOMEOSTASIS

Valeriana PANTEA, Ecaterina PAVLOVSCHI, Olga TAGADIUC

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova

Abstract

Introduction. Thiosemicarbazones are organic compounds with antimicrobial, antiviral and antitumor activities. They are capable of modulating redox balance and protecting against oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effects of selected thiosemicarbazones and their copper (Cu) complexes on protein thiol groups *in vitro*, in order to elucidate structure-activity relationships and their therapeutic potential.

Materials and Methods. The effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on thiol (SH) groups (protein-bound, total, and free) were analyzed at concentrations of 10.0 and 1.0 μmol/L, compared with a negative control and doxorubicin as a positive control.

Results. The compounds CMD-8, CMJ-33, TIA-123, and TIA-160 (10.0 μmol/L) significantly increased SH group levels, indicating a dose-dependent antioxidant effect. In contrast, CMC-34 (1.0 μmol/L) reduced free SH groups, suggesting that both chemical structure and concentration influence redox activity.

Conclusions. Cu-thiosemicarbazones exhibit antioxidant potential by protecting thiol groups and supporting cellular redox homeostasis.

Keywords: Cu-thiosemicarbazones, thiol system, oxidative stress, redox homeostasis.

Rezumat

Introducere. Tiosemicarbazonele reprezintă o clasă de compuși organici cu proprietăți farmacologice bine documentate, incluzând activități antimicrobiene, antivirale și antitumorale, capabili să moduleze echilibrul redox și să protejeze împotriva stresului oxidativ. Scopul studiul a investigheat efectele unor tiosemicarbazone și ale complexelor lor cu Cu asupra grupelor tiolice proteice *in vitro*, pentru a evidenția relația structură–activitate și potențialul terapeutic.

Materiale și metode. Au fost analizate efectele compușilor Cu-tiosemicarbazonă asupra grupelor SH grupe tiolice proteice, totale și libere la 10,0 și 1,0 μmol/L, comparativ cu control negativ, iar doxorubicină s-a utilizat ca control pozitiv.

Rezultate. Compușii CMD-8, CMJ-33, TIA-123 și TIA-160 (10,0 μmol/L) au crescut semnificativ grupele SH, indicând efect antioxidant dependent de doză. CMC-34 (1,0 μmol/L) a redus grupele SH libere, sugerând influența structurii și concentrației asupra activității redox.

Concluzii. Cu-tiosemicarbazonele prezintă potențial antioxidant, protejând grupele tiolice și susținând homeostazia redox celulară.

Cuvinte-cheie: Cu-tiosemicarbazone, sistem tiolic, stres oxidativ, homeostazie redox.

Introduction

Oxidative stress (OS) represents a fundamental biological process involved both in the regulation of normal cellular functions and in the pathogenesis of numerous chronic diseases, including cardiovascular, neurodegenerative disorders, diabetes, and cancer. It occurs when there is an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), and the capacity of endogenous antioxidant systems to neutralize them, leading to oxidative damage of proteins, lipids, and nucleic acids [1].

At low or moderate concentrations, ROS and RNS play essential roles in physiological cellular processes. They contribute to the regulation of cellular responses to various harmful stimuli, participate in host defense mechanisms against infectious agents, are involved in cell

signaling pathways, and can stimulate the initiation of mitogenic responses, i.e., the process by which cells are induced to proliferate.

In contrast, excessive production of ROS/RNS, originating either from the mitochondrial electron transport chain (ETC) or from the overactivation of NADPH oxidases, leads to OS, resulting in cellular damage and contributing to the pathogenesis of chronic diseases, aging, and cancer [2, 3].

The effects of OS arise as a result of peroxidative damage to macromolecules and cellular membranes, as well as disruption of the metabolic activities of cellular components in living organisms. It is well established that organ and tissue pathologies develop when OS becomes excessive within the organism.

Thiols are recognized as one of the principal protective mechanisms against OS. They have been shown to play important roles in enzymatic reactions, apoptosis, detoxification processes, and the antioxidant defense of the organism. Numerous studies have demonstrated alterations in thiol status and thiol–disulfide homeostasis in various diseases, including those affecting the digestive, respiratory, reproductive, and urinary systems, as well as in metabolic disorders and cancer. This further highlights the critical importance of thiol status in the pathogenesis of oxidative stress-mediated diseases [4].

Thiols are a class of organic compounds containing the sulfhydryl (-SH) functional group, consisting of a sulfur atom bonded to a hydrogen atom and attached to a carbon atom [5]. In the organism, during oxidative processes generated by ROS, excess electrons are transferred to thiols, leading to the formation of disulfide bonds. Due to the dynamic redox balance, electrons within these reversible bonds can be restored to regenerate thiol groups.

The antioxidant capacity of thiol–disulfide homeostasis is essential for numerous biological processes, including enzymatic reactions, signal transduction, detoxification, transcription, regulation of enzyme activation, cellular signaling mechanisms, and apoptosis [6, 7].

Thiol groups (–SH), present in the amino acid cysteine within protein structures and in low-molecular-weight molecules such as glutathione, are considered sensitive markers of cellular redox status. These groups play a critical role in maintaining the three-dimensional structure of proteins and in regulating the activity of antioxidant enzymes. Oxidation of these groups may lead to loss of protein function and disruption of essential biochemical processes [8]. Recent studies emphasize the importance of evaluating thiol-related parameters as indicators of OS and of the efficacy of biologically active compounds on redox balance [9].

In recent years, research has increasingly focused on identifying molecules capable of influencing cellular redox balance through direct interactions with thiol groups, which are key components of antioxidant systems. In this context, thiosemicarbazones (TSCs) have gained particular attention. These compounds represent a class of Schiff bases, typically obtained through the condensation of thiosemicarbazide with aldehydes or ketones, and have attracted the interest of chemists and biologists due to their broad spectrum of pharmacological effects, including their potential to modulate OS and associated cellular functions.

A particularly promising area of application for these effective metal-chelating agents is their investigation as antitumor agents, owing to their ability to modulate redox processes and selectively affect cancer cells. Thiosemicarbazones exhibit a broad clinical antitumor spectrum, demonstrating efficacy in various types of tumors, including leukemia, pancreatic cancer, breast cancer, non-small cell lung cancer, cervical cancer, and prostate cancer [10, 11].

Doxorubicin (DOXO) is an anthracycline chemotherapeutic agent widely used in clinical anticancer regimens. Its mechanisms of action are not fully elucidated. However, DOXO exerts pleiotropic effects, including DNA damage, generation of ROS, and induction of apoptosis, senescence, autophagy, ferroptosis, and pyroptosis, as well as immunomodulatory activity [12]. Through the generation of ROS and the depletion of thiol groups, doxorubicin disrupts cellular

redox balance, impairing protein function and compromising DNA integrity. This mechanism makes it a classical model for OS studies and for investigating oxidative effects at the cellular level [13].

In light of the above, the analysis of the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on protein thiol groups, as well as on total and free thiols, provides important insights into how these compounds influence cellular redox balance. This evaluation enables the identification of both potential antioxidant and pro-oxidant mechanisms of Cu–thiosemicarbazones. Since these effects have not yet been extensively studied and characterized, their investigation contributes to a better understanding of the biological activity of these compounds and facilitates the identification of those with the highest therapeutic potential.

The aim of the present study is to investigate the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on thiol–disulfide homeostasis, an essential system involved in maintaining cellular redox balance. By analyzing changes in thiol groups, the study seeks to evaluate how these compounds influence OS and the functioning of antioxidant systems.

Materials and methods

The research was conducted *in vitro* using biological samples collected in accordance with contemporary principles of biological standardization of experimental procedures. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, with a favorable opinion issued under No. 5 of protocol No. 38 dated June 20, 2024. The study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, as amended (Somerset West Amendment, 1996) [14], regarding research involving human subjects, who were included only after providing written informed consent.

The study investigated copper coordination compounds with thiosemicarbazones, synthesized at the Moldova State University within the Research Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics [15].

The compounds were classified into the following groups (Table 1):

Benzothiazole derivatives of thiosemicarbazone – CMA-18, CMD-8, MG-22;

Phenyl thiosemicarbazone derivatives – CMC-34, CMJ-33, CMT-67;

Allyl thiosemicarbazone derivatives – CMG-41, TIA -123, TIA-160.

To evaluate the specific effects of locally synthesized Cu–thiosemicarbazone compounds, a series of *in vitro* experiments was performed using peripheral blood samples collected from 10 apparently healthy individuals.

Blood samples were collected in the morning under fasting conditions, by cubital vein puncture, in a volume of 5 mL. Under sterile conditions, the blood was transferred into a flask containing 20 mL of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), supplemented with heparin (2.5 U/mL), gentamicin (100 μg/mL), and L-glutamine (0.6 mg/mL).

To assess the influence of the tested compounds, 0.9 mL of this mixture was dispensed into the wells of a 24-well plate. For the control group, used to determine the baseline levels of the studied parameters, 0.1 mL of 0.9% NaCl solution was added to four parallel wells. In the remaining wells, the tested compounds (CMA-18, CMD-8, MG-22, CMC-34, CMJ-33, CMT-67, CMG-41, TIA-123, TIA-160), diluted in 0.1 mL of physiological saline, were added to achieve final concentrations of 10.0 μmol/L and 1.0 μmol/L. All dilutions were tested in duplicate.

The prepared plates were incubated at 37°C for 48 hours in a thermostatic incubator with 3.5% CO_2.

After incubation, the contents of the wells were transferred into 2.0 mL Eppendorf tubes and centrifuged for 5 minutes at 3000 rpm. The obtained supernatant was then transferred into

1.5 mL Eppendorf tubes and stored at −40°C until biochemical analysis. All samples were coded prior to analysis.

Table 1. Newly studied native copper coordination compounds with thiosemicarbazones [16]

S. No.	Cod	Chemical name of the substance
1	Control	0.1 ml 0.9% saline solution + Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)
2	DOXO	Doxorubicin
Benzothiazole derivatives of thiosemicarbazone		
3	CMA-18	Chloro-{1-(1,2-benzothiazol-3-yl)-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]diazanido}copper
4	CMD-8	Chloro-{4-ethyl-2-[phenyl(pyridin-2-yl)methylidene]hydrazine-1-carbothioamido} copper
5	MG-22	Di-Chloro-{N'-(4-methoxyphenyl)-N,N-dimethylcarbamimidothioato} copper
Phenyl thiosemicarbazone derivatives		
6	CMC-34	Chloro-{N'-[phenyl(pyridin-2-yl)methylidene]-N-pyridin-2-ylcarbamohydrazonothioato} copper
7	CMJ-33	Chloro-{4-(3-methoxyphenyl)-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazine-1-carbothioamido} copper
8	CMT-67	Nitrato-{N-phenyl-N'-(pyridin-2-ylmethylidene)carbamohydrazonothioato} copper
Allyl thiosemicarbazone derivatives		
9	CMG-41	Nitrato-{N'-[phenyl(pyridin-2-yl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioato} copper
10	TIA-123	Di-Chloro-{N'-[phenyl(pyridin-2-yl)methylidene]-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioato} copper
11	TIA-160	Acetato-{2-({[(methylsulfanhyl)(prop-2-en-1-lamino)ethylidene]hydrazinylidene} methyl) enolato}copper

In the obtained supernatant, parameters of thiol–disulfide metabolism were quantified using spectrophotometric micromethods, including the content of protein thiol (SH) groups, as well as thiol–disulfide homeostasis parameters (free thiol groups and total thiol groups) [17–18]. All determinations of these biomarkers of lipid peroxidation were performed in the Biochemistry Laboratory of Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, using methods modified and adapted by our team for application on the Synergy H1 microplate spectrophotometer (Hybrid Reader) (BioTek Instruments, USA).

The evaluation of the *in vitro* effects of Cu–thiosemicarbazone compounds was carried out according to the standard methodology described by Ryzhikova S. L. et al. [19].

Statistical analysis of the obtained data was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 23; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The main descriptive statistical indicators were determined, including the median, interquartile range (IQR), and median percentage.

Results

The evaluation of the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on cellular redox homeostasis was performed by determining the levels of protein thiol groups, total thiol groups, and free thiol groups. These parameters are important indicators of the redox status of biological systems, as –SH groups play a key role in antioxidant defense mechanisms and in maintaining protein structure and function. Data are presented as median ± interquartile range (IQR), and percentage changes are expressed relative to the negative control (Table 2).

Table 2. Effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on thiol–disulfide metabolism *in vitro*

Study groups	SH-protein thiol groups, μmol/g.prot	SH-total thiol groups, μmol/L	SH-free thiol groups, μmol/L
Negative control	4.59 ; IQR 0.38 100%	61.31 ; IQR 2.70 100%	56.18 ; IQR 4.54 100%
Positive control			
DOXO-10.0 μmol/L	4.79 ; IQR 0.25 104%	63.00 ; IQR 1.83 103%	55.42 ; IQR 5.91 99%
DOXO-1.0 μmol/L	4.28 ; IQR 0.37 93%	62.60 ; IQR 2.67 102%	54.81 ; IQR 2.15 98%
Benzothiazole			
CMA-18-10.0 μmol/L	4.20 ; IQR 0.67 91%	64.35 ; IQR 1.94 * 105%	60.16 ; IQR 1.75 107%
CMA-18-1.0 μmol/L	3.95 ; IQR 0.19 ** 86%	57.32 ; IQR 2,83 *** 93%	55.40 ; IQR 3.40 99%
CMD-8-10.0 μmol/L	6.57 ; IQR 1.13*** 143%	65.51 ; IQR 2.09 *** .107%	59.64 ; IQR 1.65 106%
CMD-8-1.0 μmol/L	4.51 ; IQR 0.35 98%	60.52 ; IQR 2.64 99%	56.85 ; IQR 3.51 101%
MG-22-10,0 μmol/L	4.70 ;IQR 0.22 102%	64.91 ; IQR 1.27 ** 106%	58.67 ; IQR 2.33 104%
MG-22-1.0 μmol/L	4.23 ; IQR 0.41 92%	63.64 ; IQR 3.73 104%	57.46 ; IQR 2.19 102%
Phenyl			
CMC-34-10.0 μmol/L	4.20 ; IQR 1.03 91%	58.04 ; IQR 3.73 95%	54.59 ; IQR 3.33 97%
CMC-34-1.0 μmol/L	4.00 ; IQR 0.56 87%	57.26 ; IQR 1.53 *** 93%	40.66 ; IQR 4.03 *** 72%
CMJ-33-10.0 μmol/L	5.34 ; IQR 0.69*** 116%	62.73 ; IQR 3.21 102%	57.72 ; IQR 3.59 103%
CMJ-33-1.0 μmol/L	4.75 ; IQR 0.67 103%	58.68 ; IQR 1.91 * 96%	54.36 ; IQR 2.45 97%
CMT-67-10.0 μmol/L	4.63 ; IQR 0.55 101%	62.74 ; IQR 2.48 102%	57.70 ; IQR 1.26 103%
CMT-67-1.0 μmol/L	4.12 ; IQR 0.22 90%	61.71 ; IQR 2.92 101%	54.58 ; IQR 1.35 97%
Allyl			
CMG-41-10.0 μmol/L	4.85 ; IQR 0.70 * 106%	63.13 ; IQR 1.60 103%	55.09 ; IQR 4.72 98%
CMG-41-1.0 μmol/L	4.44 ; IQR 0.36 97%	62.47 ; IQR 5.79 102%	54.26 ; IQR 3.16 97%
TIA-123-10.0 μmol/L	5.34 ; IQR 0.97 ** 116%	71.06 ; IQR 7.67 116%	57.68 ; IQR 0.99 103%
TIA-123-1.0 μmol/L	4.23 ; IQR 0.43 92%	63.15 ; IQR 3.33 103%	55.20 ; IQR 08,0 98%
TIA-160-10.0 μmol/L	5.25 ; IQR 0.45 ** 114%	72.28 ; IQR 5.37 *** 118%	58.03 ; IQR 1.12 103%
TIA-160-1.0 μmol/L	4.31 ; IQR 0.43 94%	66.10 ; IQR 2.36 *** 108%	57.26 ; IQR 1,97 102%

Note: *Statistical significance compared to the control group: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$.*

The *in vitro* analysis of protein thiol groups, as well as total and free thiol (SH) groups, revealed changes dependent on both the type of compound tested and the concentration applied. In the negative control group, the median values were 4.59 µmol/g protein for protein thiol groups, 61.31 µmol/L for total thiol groups, and 56.18 µmol/L for free thiol groups.

Administration of DOXO (positive control) at concentrations of 10.0 µmol/L and 1.0 µmol/L did not induce significant changes in these parameters, with values remaining close to those of the negative control. Overall, DOXO caused only minor alterations in the analyzed parameters. At a concentration of 10.0 µmol/L, protein thiol levels showed a slight increase of 4%, and total thiol groups increased by 3%, while free thiol groups remained comparable to control values. At 1.0 µmol/L, DOXO induced a slight decrease in protein thiol groups (−7% vs. control), suggesting a possible partial oxidation of SH groups.

The *in vitro* analysis of the effects of phenyl Cu–thiosemicarbazone compounds revealed significant variations in thiol-related parameters depending on the specific compound and the concentration used. In the case of CMA-18, a reduction in protein thiol group levels was observed, particularly at the concentration of 1.0 µmol/L, where the value decreased by 14% compared to the control, indicating a possible interaction with thiol groups or an increase in oxidative processes. At the same time, at the higher concentration, an increase in total thiol groups by 5% ($p < 0.05$) was observed, suggesting a possible compensatory activation of antioxidant mechanisms.

A pronounced effect on protein thiol groups was observed for the compound CMD-8, especially at the concentration of 10.0 µmol/L, where the value increased by up to +43% ($p < 0.001$) compared to the control. This significant increase may indicate a potential protective effect on proteins or stimulation of the cellular antioxidant system. Concurrently, total thiol groups increased by +7% ($p < 0.001$), and free thiol groups by +6% ($p > 0.05$), confirming the positive influence of this compound on redox homeostasis.

Within the same group, the compound MG-22 exhibited moderate effects on the analyzed parameters. At a concentration of 10.0 µmol/L, an increase in total thiol groups of +6% ($p < 0.01$) was observed, while protein-bound and free thiol groups increased by +2–4% ($p > 0.05$). These results suggest a relatively stable influence on the redox balance (Table 2).

In the case of phenyl Cu–thiosemicarbazone compounds, particularly CMC-34, the effects were more pronounced on free thiol groups. At a concentration of 1.0 µmol/L, their levels decreased significantly by −28% ($p < 0.001$) compared to the control, which may reflect oxidation of SH groups and the formation of disulfide bonds. In parallel, total thiol groups decreased by −7% ($p < 0.001$), while protein thiol groups decreased by −13% ($p > 0.05$), suggesting a possible pro-oxidant effect of this compound at lower concentrations.

The compounds CMJ-33 and CMT-67 exhibited moderate effects on the analyzed parameters, with most values remaining close to control levels. However, for CMJ-33 at 10.0 µmol/L, a significant increase in protein thiol groups of +16% ($p < 0.001$) was observed, which may indicate a protective effect against protein oxidation.

The evaluation of *in vitro* results for the allyl Cu–thiosemicarbazone group revealed both increases and decreases in thiol group levels. A significant increase in protein thiol groups was observed particularly for CMG-41 at 10.0 µmol/L, showing a moderate rise of +6% ($p < 0.05$) compared to the control group, suggesting a possible enhancement of antioxidant capacity.

Notably, compounds from the TIA series demonstrated some of the most pronounced effects on the thiol system. TIA-123 at 10.0 µmol/L induced an increase in protein thiol groups up to +16% ($p < 0.01$) and in total thiol groups up to +16% ($p > 0.05$). An even stronger effect was observed for TIA-160, where total thiol groups reached +18% ($p < 0.001$) compared to control, and protein thiol groups increased up to +14% ($p < 0.01$). These results suggest that

TIA-series compounds may exhibit significant antioxidant properties and contribute to the maintenance of redox homeostasis.

Overall, the obtained results indicate that certain Cu–thiosemicarbazone compounds, particularly CMD-8, CMJ-33, CMG-41, TIA-123, and TIA-160 at a concentration of 10.0 μmol/L, significantly increase thiol group levels, suggesting a potential antioxidant effect and possible protection of proteins against oxidative modifications.

Thus, the analysis highlights that the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on the thiol system are dependent on both the chemical structure of the compound and the concentration used. While some compounds demonstrated potential antioxidant effects by increasing thiol group levels, others led to decreases in these parameters, suggesting possible pro-oxidant effects or direct interactions with SH groups of biomolecules. These observations underline the importance of further investigation to clarify the mechanisms of action and pharmacological potential of these compounds.

Discussion

The *in vitro* results obtained in the present study demonstrate that the analyzed Cu–thiosemicarbazone compounds exert variable effects on redox homeostasis, reflected by changes in the levels of protein thiol groups, total thiol groups, and free thiol groups. Thiol groups represent essential components of the cellular antioxidant system, playing a key role in maintaining protein structure and function, regulating enzymatic activity, and protecting cells against oxidative stress. Therefore, the observed alterations in these parameters may indicate the influence of the tested compounds on cellular redox balance [20].

Analysis of the obtained results indicates that the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds are dependent on both their chemical structure and the concentration used. In some cases, significant increases in thiol group levels were observed, suggesting a potential antioxidant or protective effect on biomolecules, while in other cases, decreases in these parameters were recorded, which may indicate oxidative processes or direct interactions with protein –SH groups.

One of the most notable compounds in terms of its effect on the thiol system is the derivative CMD-8, which at a concentration of 10.0 μmol/L induced a significant increase in protein thiol groups by +43% compared to the control. At the same time, increases in total and free thiol groups were also observed. These findings suggest that this compound may contribute to the stabilization of the cellular antioxidant system and to the protection of thiol groups against oxidation. The increase in thiol group levels may reflect either activation of antioxidant mechanisms or prevention of cysteine oxidation within protein structures [21].

Similar results have been reported in the scientific literature, where thiosemicarbazone derivatives have demonstrated the ability to act as antioxidant agents by scavenging free radicals or by modulating cellular redox systems. Studies conducted by Beraldo and Gambino have shown that numerous thiosemicarbazone derivatives can interact with free radicals and contribute to the maintenance of cellular redox balance. This activity is mainly attributed to the presence of the sulfur atom and the conjugated double-bond system within the molecular structure, which facilitates electron transfer and participation in redox reactions [22].

Another group of compounds that demonstrated significant effects on the analyzed parameters is represented by the TIA series, particularly TIA-123 and TIA-160. In the case of these compounds, significant increases in total thiol groups and protein thiol groups were observed, especially at the concentration of 10.0 μmol/L. For TIA-160, an increase in total thiol groups of +18% compared to control was recorded, suggesting a possible stimulation of cellular antioxidant mechanisms.

These observations are consistent with data reported in the contemporary literature, indicating that Cu–thiosemicarbazone compounds can influence redox balance through multiple mechanisms, including chelation of metal ions involved in free radical-generating reactions or modulation of intracellular glutathione levels. Glutathione represents one of the most important intracellular antioxidant molecules, and its level is closely correlated with the total thiol content of cells [23].

In most experimental groups, the values of protein thiol (SH) groups remained close to those of the negative control or showed moderate increases. Significant increases were observed particularly for the compounds CMD-8, CMJ-33, TIA-123, and TIA-160 at a concentration of 10.0 µmol/L, suggesting a possible stimulation of antioxidant mechanisms or protection of thiol groups against oxidative processes. These findings indicate that certain Cu–thiosemicarbazone compounds may contribute to maintaining protein integrity by protecting thiol groups.

Regarding total thiol groups, most tested compounds produced values comparable to or slightly higher than those of the negative control. The highest increases were observed for TIA-123 and TIA-160 at 10.0 µmol/L, as well as for CMD-8, suggesting a possible activation of cellular systems involved in maintaining redox balance. These changes may reflect the ability of certain Cu–thiosemicarbazone compounds to positively influence cellular antioxidant status.

Analysis of free thiol groups revealed, in most cases, values close to those of the negative control, indicating that the majority of compounds did not significantly affect the availability of free thiol groups. However, a significant decrease was observed for the compound CMC-34 at a concentration of 1.0 µmol/L, which may suggest a direct interaction with thiol groups or an enhancement of oxidative processes at the cellular level.

Such pro-oxidant effects have also been described in other studies, where certain thiosemicarbazone derivatives were shown to generate reactive oxygen species or interfere with mitochondrial function. Under specific conditions, these properties may be therapeutically beneficial, particularly in tumor cells, as the induction of oxidative stress can lead to inhibition of cell proliferation and activation of apoptotic pathways [24–25].

Overall, the obtained results are consistent with data reported in the scientific literature, suggesting that Cu–thiosemicarbazone compounds can influence cellular redox balance and exert antioxidant effects by preserving the integrity of protein thiol groups. These findings support the biological potential of these compounds and highlight the need for further studies to elucidate the underlying molecular mechanisms and to evaluate the structure–activity relationship.

Conclusions

The results of the present study demonstrated that the analyzed Cu–thiosemicarbazone compounds exert differential effects on redox homeostasis, reflected by changes in the levels of protein thiol groups, total thiol groups, and free thiol groups. These parameters represent important indicators of the redox status of biological systems and allow the evaluation of the influence of the tested compounds on cellular antioxidant mechanisms.

Compared to the negative control, some compounds induced significant increases in thiol group levels, suggesting a potential protective effect on the antioxidant system. In particular, the compounds CMD-8, CMJ-33, TIA-123, and TIA-160 at a concentration of 10.0 µmol/L demonstrated significant increases in total and protein thiol groups, indicating a potential antioxidant effect and a possible capacity to stabilize the cellular redox system.

Overall, the obtained results demonstrate that the effects of Cu–thiosemicarbazone compounds on thiol homeostasis are dependent on both the chemical structure of the compound and the concentration used. Some of these substances may exhibit antioxidant potential,

contributing to the maintenance of cellular redox balance, while others may induce oxidative modifications of biomolecules.

Further investigation of the relationship between chemical structure, concentration, and biological activity of these compounds may lead to the identification of molecules with significant therapeutic potential, particularly in the context of diseases associated with oxidative stress or in anticancer therapy.

Acknowledgments

We express our gratitude to Academician Aurelian Gulea and his colleagues from the Advanced Materials Research Laboratory in Biopharmaceuticals at the State University of the Republic of Moldova for synthesizing the compounds.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging*, 2018, 13, 757–772. DOI: 10.2147/CIA.S158513.
2. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th edn. Oxford Academic, 2015. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001.
3. Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandes, M. S., Xu, Q., Griendling, K. K. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ. Res.*, 2018, 122(6), 877–902. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401.
4. Kükürt, A., Gelen, V., Faruk, Ö., Başer, H., Deveci, A., Karapehlivan, M. Thiols: Role in Oxidative Stress-Related Disorders. In: *Accenting Lipid Peroxidation*. IntechOpen, 2021. DOI: 10.5772/intechopen.96682.
5. Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Dalle-Donne, I. Cysteinylation and homocysteinylation of plasma protein thiols during ageing of healthy human beings. *J. Cell. Mol. Med.*, 2009, 13, 3131–3140. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00417.x.
6. Turell, L., Radi, R., Alvarez, B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013, 65, 244–253. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.050.
7. Cremers, C. M., Jakob, U. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *J. Biol. Chem.*, 2013, 288(37), 26489–26496. DOI: 10.1074/jbc.R113.462929.
8. Comini, M. A. Measurement and meaning of cellular thiol:disulfide redox status. *Free Radic. Res.*, 2016, 50(2), 246–271. DOI: 10.3109/10715762.2015.1110241.
9. Go, Y. M., Jones, D. P. Thiol/disulfide redox states in signaling and sensing. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2013, 48(2), 173–181. DOI: 10.3109/10409238.2013.764840.
10. Shakya, B., Yadav, P. N. Thiosemicarbazones as Potent Anticancer Agents and their Modes of Action. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2020, 20(8), 638–661. DOI: 10.2174/1389557519666191029130310.
11. Kalinowski, D. S., Quach, P., Richardson, D. R. Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment. *Future Med. Chem.*, 2009, 1(6), 1143–1151. DOI: 10.4155/fmc.09.80.
12. Kciuk, M., Gielecińska, A., Mujwar, S., Kołat, D., Kałuzińska-Kołat, Ż., et al. Doxorubicin-An Agent with Multiple Mechanisms of Anticancer Activity. *Cells*, 2023, 12(4), 659. DOI: 10.3390/cells12040659.
13. Darwish, S., Sadeghiani, N., Fong, S., et al. Synthesis and antiproliferative activities of doxorubicin thiol conjugates and doxorubicin-SS-cyclic peptide. *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, 161, 594–606. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.10.042.
14. Puri, K. S., Suresh, K. R., Gogtay, N. J., Thatte, U. M. Declaration of Helsinki, 2008: implications for stakeholders in research. *J. Postgrad. Med.*, 2009, 55(2), 131–134. DOI: 10.4103/0022-3859.52846.
15. Gulea, A., Poirier, D., Roy, J., Stavila, V., Bulimestru, I., et al. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: chemical synthesis and structure – activity relationships. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2008, 23(6), 806–818. DOI: 10.1080/14756360701743002.

16. Pantea, V., Pavlovschi, E., Macari, V., Tagadiuc, O. Effects of copper(II) thiosemicarbazones on pro-oxidant and antioxidant system markers in in vivo erythrocytes. *Farmacia*, 2025, 73(3), 759–768. DOI: 10.31925/farmacia.2025.3.22.
17. Ellis, H. R. On 'Tissue sulfhydryl groups' by George L. Ellman. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2022, 726, 109174. DOI: 10.1016/j.abb.2022.109174.
18. Erel, O., Neselioglu, S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin. Biochem.*, 2014, 47, 326–332. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.09.026.
19. Ryzhikov, S. L., Druzhinina, Iu. G., Riabicheva, T. G., Varaksin, N. A. The standardization of technique of detection of blood cells cytokine production ex vivo. *Klin. Lab. Diagn.*, 2011, (11), 49–53.
20. Yu, Y., Suryo Rahmanto, Y., Hawkins, C. L., Richardson, D. R. The potent and novel thiosemicarbazone chelators di-2-pyridylketone-4,4-dimethyl-3-thiosemicarbazone and 2-benzoylpyridine-4,4-dimethyl-3-thiosemicarbazone affect crucial thiol systems required for ribonucleotide reductase activity. *Mol. Pharmacol.*, 2011, 79(6), 921–931. DOI: 10.1124/mol.111.071324.
21. Suzuki, Y. J., Marcocci, L., Shimomura, T., Tatenaka, Y., Ohuchi, Y., et al. Protein Redox State Monitoring Studies of Thiol Reactivity. *Antioxidants*, 2019, 8(5), 143. DOI: 10.3390/antiox8050143.
22. Beraldo, H., Gambino, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2004, 4(1), 31–39. DOI: 10.2174/1389557043487484.
23. Ritacca, A. G., Falcone, E., Doumi, I., Vileno, B., Faller, P., et al. Dual Role of Glutathione as a Reducing Agent and Cu-Ligand Governs the ROS Production by Anticancer Cu-Thiosemicarbazone Complexes. *Inorg. Chem.*, 2023, 62(9), 3957–3964. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.2c04392.
24. Yalowich, J. C., Kalinowski, D. S., Richardson, D. R. Thiosemicarbazones as anticancer agents: mechanisms involving redox cycling and generation of reactive oxygen species. *Mol. Pharmacol.*, 2009.
25. Trachootham, D., Alexandre, J., Huang, P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2009, 8(7), 579–591. DOI: 10.1038/nrd2803.

Date despre autori:



Valeriana PANTEA, cercetător științific superior, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
e-mail: valeriana.pantea@usmf.md
ORCID: 0000-0002-8835-6612



Ecaterina PAVLOVSCHI, conferenţiar universitar, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
e-mail: ecaterina.pavlovschi@usmf.md
ORCID: 0000-0003-0385-4805



Olga TAGADIUC,
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor habilitat în ştiinţe medicale, profesor universitar
e-mail: olga.tagadiuc@usmf.md
ORCID: 0000-0002-5503-8052

CZU: 546.05:546.723 https://doi.org/10.59295/mabt2026.13

SINTEZA NANOPARTICULELOR OXIZILOR DE FIER OBȚINUTE DIN SALICILAȚII FIERULUI(III)

Viorina GORINCIOI, Boris PUȘCAȘU, Vasile LOZAN

Laboratorul Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

Cercetarea realizată a avut la bază obiectivul identificării condițiilor favorabile de obținere a nanomaterialelor folosind ca precursori combinații complexe homo– și heteronucleare ale Fe(III) în baza acidului salicilic. Utilizarea precursorilor heterometalici în sinteza nanoparticulelor a condus la obținerea oxizilor micști, ceea ce permite controlul omogenității și compoziției compușilor. Particulele obținute au fost caracterizate din punct de vedere microstructural prin microscopie electronică de transmisie (TEM), microscopie de baleaj (SEM), analiza dispersiei radiației X după energie și spectroscopia FT-IR.

Cuvinte-cheie: combinații coordinative ale fierului(III), oxo–carboxilați, clusteri heteropolinucleari, acidul salicilic, nanooxizi de fier.

SYNTHESIS OF IRON OXIDE NANOPARTICLES OBTAINED FROM IRON(III) SALICYLATES

Abstract

The research was based on the objective to identify favorable conditions for synthesis of nanomaterials using homo– and heteronuclear coordination compounds of Fe(III) based on salicylic acid. The use of heterometallic precursors in the synthesis of nanoparticles led to the obtaining of mixed oxides, which allows the control of the homogeneity and composition of the compounds.

The obtained particles were characterized from a microstructural point of view by transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray analysis and FT-IR spectroscopy.

Keywords: coordination compounds of iron(III), oxo–carboxylates, heteropolynuclear clusters, salicylic acid, iron nanooxides.

Introducere

În ultimele decade nanotehnologia (nanoparticulele NP și nanostructurile NS) s-a dezvoltat rapid practic în toate domeniile științifice. Dezvoltarea nanotehnologiei a oferit oportunități extraordinare pentru diferite aplicații ale nanomaterialelor și nanocompozitelor datorită proprietăților deosebite și potențialului de aplicație, inclusiv noi tipuri de catalizatori super activi și selectivi, senzori chimici și biologici [1], agenți de transportare a medicamentelor [2,3], dispozitive performante de stocare a informațiilor, dispozitive magneto– și optoelectronice [4], etc. Materialele oxidice nanodimensionale își pot găsi întrebuințare și în electrotehnica contemporană [5,6], materiale feroelectrice [7] precum și în calitate de catalizatori, în unele reacții chimice [8].

Deși sunt cunoscute numeroase metode de sinteză a nanoparticulelor de oxizi de fier: descompunerea termică [9], metoda hidrotermală [10,11], metoda solvotermală [12], metoda electrochimică [13], co–precipitarea [14] ș.a., experimentatorii continuă cercetările în domeniul perfectării metodelor existente și crearea noilor metode de sinteză.

Pentru prepararea nanoparticulelor de oxid de fier cu formă și dimensiuni prestabilite, adesea se folosesc metode chimice, care sunt mai versatile în comparație cu celelalte metode [15]. De cele mai multe ori, drept precursori metalici pentru prepararea oxizilor de fier sau

oxizilor micști se utilizează sărurile acestora [16]. O atenție deosebită se acordă combinațiilor coordinative datorită proprietăților ce contribuie la creșterea solubilității și/sau a volatilizării precursorului. În numeroase cercetări metoda de obținere a nanoparticulelor se referă la descompunerea termică a complecșilor metalici cu liganzi ce conțin oxigen precum oleați sau acetați [16-18]. În dependență de condițiile de reacție și raportul molar al precursorilor se pot obține NP de diferite dimensiuni și forme [19].

Gama proprietăților nanoparticulelor de fier poate fi variată prin introducerea în componența chimică a unui alt element chimic obținându-se amestecuri de natură fizică [20,21]. În sursele științifice de specialitate mai rar sunt întâlnite exemple de clusteri homo– și heteronucleari ai fierului folosiți ca precursori pentru sinteza nanoparticulelor. Presupunem, că prin utilizarea clusterilor de fier în calitate de precursori în sinteza oxizilor de fier, va permite obținerea nanoparticulelor de o puritate mai înaltă comparativ cu oxizii obținuți din amestecuri de săruri metalice. Surfactanții selectați au servit ca agenți de stabilizare și protejare în scopul monitorizării controlului, păstrării dimensiunilor și dispersiei particulelor în mediile date [22].

Metode și materiale aplicate

Probele nanoparticulelor de oxizi de fier obținute **NP1-NP10** au fost investigate cu ajutorul microscopiei electronice de transmisie, microscopiei electronice de baleaj și spectroscopia cu raze X prin dispersie de energie.

Spectroscopia în domeniul infraroșu (FT-IR)

Spectrele FT-IR în domeniul 4000 – 400 cm^{-1} au fost înregistrate la spectrometrul Perkin-Elmer Spectrum–100 FTIR în Centrul Chimie Fizică și Anorganică al Institutului de Chimie.

Microscopia electronică de transmisie (MET)

Microscopia electronică de transmisie este metoda fundamentală aplicată în cercetarea și caracterizarea nanoparticulelor, oferind date cu privire la dimensiunea și morfologia acestora, precum și unele informații structurale.

Microscopia electronică de baleaj (MES)

Microscopia electronică de scanare sau baleaj este folosită cu scopul de a obține informații cu privire la dimensiunea, morfologia și compoziția chimică elementală a nanoparticulelor.

Spectroscopia cu raze X prin dispersie de energie (EDX)

Spectroscopia cu raze X prin dispersie de energie este o tehnică de analiză chimică folosită pentru a determina compoziția elementală a probelor. Aceasta funcționează prin iradierea probei cu electroni sau raze X, provocând emisia de raze X caracteristice, care sunt apoi detectate și analizate în funcție de energia lor.

Probele **NP1**–**NP5** au fost studiate în Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica Materialelor (București–Măgurele, România) cu microscopul electronic de transmisie (MET), la o tensiune de accelerare de 200 kV. Pentru analiză s-a luat probă de nanoparticule, acestea au fost dispersate în 15 mL de hexan și lăsate timp de 5 minute pentru sedimentarea particulelor mari. O picătură de soluție a fost pusă pe o grilă de cupru, acoperită cu carbon și lăsată pentru 5 minute înainte de a pune următoarea picătură. Probele **NP6–NP10** au fost studiate în Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare (Chișinău, Moldova) cu microscopul electronic prin transmisie (MET) Tesla-500, la o tensiune de accelerare de 100 kV.

Sinteza nanoparticulelor oxizilor de fier(III) obținute din salicilații polinucleari

Experimentele de obținere a nanoparticulelor au fost realizate în balon de sticlă cu trei gâturi, echipat cu un condensor, termometru și mantă de încălzire. Reacțiile de obținere ale NP au decurs în atmosferă de argon pentru a evita procese de oxidare nedorite. În calitate de precursori au fost folosiți salicilați μ_3–oxo de fier(III) sintetizați anterior de tipul FeM_2, unde M = Sr(**NP1**) și Fe_2M, unde M = Mn(**NP2**), Zn(**NP3**), Cu(**NP4**), Co(**NP5**), Fe(**NP6-NP10**) [23]. Sinteza nanoparticulelor de fier a fost efectuată în conformitate cu schema prezentată în Figura 1.



Figura 1. Schema de sinteză a nanoparticulelor

Pentru înlăturarea surplusului de surfactant, materialul obținut a fost dispersat în amestec de solvenți organici, după care a fost centrifugat timp de 10 min. Purificarea s-a repetat de 3-4 ori.

Nanoparticule NP1

Amestecul format din $\{[FeSr_2(Sal)_2(SalH)_2(NO_3)(DMA)_4]\}_n$ [24] (0,79 g, 2,00 mmol), acid oleic (2,53 mL, 7,96 mmol) şi 1–octadecenă (6,30 mL, 19,70 mmol) a fost transferat într-un balon cu trei gâturi și încălzit treptat până la 320 °C, menținut la această temperatură timp de o oră în curent continuu de argon [23]. Produsul de reacție a fost dizolvat în heptan (50,0 mL), filtrat şi extras cu etanol (50,0 mL). Precipitatul obținut de culoare brun închis a fost centrifugat timp de 10 minute (10000 rot/min), apoi spălat cu amestecul de CH_3OH:CH_3CN (1:1).

Nanoparticule NP2

Într-un balon cu trei gâturi, au fost plasate fierbătoare din porțelan, $[Fe_2MnO(SalH)_6(C_2H_5OH)(CH_3OH)_2]\cdot DMA\cdot C_2H_5OH\cdot 2CH_3OH\cdot H_2O$ [25] (0,88 g, 0,66 mmol), acid oleic (2,54 mL, 7,98 mmol) și 1–octadecenă (6,32 mL, 19,77 mmol). Amestecul reactant, a fost încălzit treptat până la 320 °C și menținută încălzirea timp de o oră în curent de argon. Substanţa vâscoasă obținută a fost dizolvată în amestecul de cloroform:metanol (1:1, 40,0 mL), apoi centrifugată timp de 10 minute (10000 rot/min). Produsul obținut după centrifugare a fost spălat cu hexan (20,0 mL), apoi cu amestecul din cloroform:metanol (1:1, 20 mL) și centrifugat 20 minute [23].

Nanoparticule NP3

Proba de nanoparticule **NP3** a fost sintetizată conform metodei prezentate pentru obținerea **NP2**, în rezultatul reacției dintre $[Fe_2ZnO(SalH)_6(C_2H_5OH)(CH_3OH)_2]\cdot DMF\cdot 2CH_3OH\cdot 1{,}5H_2O$ [25], acid oleic și 1–octadecenă, păstrând același raport molar [23].

Nanoparticule NP4

Procedeul de obținere a probei **NP4** este similar cu procedeul de obținere a **NP2–NP3** [23], diferența constând doar în utilizarea altui cluster trinuclear $[Fe_2CuO(SalH)_6(C_2H_5OH)(CH_3OH)_2]\cdot DMA\cdot 4H_2O$ [25].

Nanoparticule NP5

Proba de nanoparticule **NP5** a fost obținută în urma sintezei dintre compusul $[Fe_2CoO(SalH)_6(CH_3OH)_2(H_2O)]\cdot DMA\cdot 2{,}5H_2O$ [26] (0,68 g, 0,56 mmol), acid oleic (0,72 mL, 2,25 mmol) şi 1–octadecenă (1,77 mL, 5,54 mmol). Amestecul a fost încălzit într-un balon cu

trei gâturi timp de o oră, la 320 °C în curent de argon [23]. Particulele sintetizate au fost extrase cu hexan (50,0 mL), centrifugate timp de 10 min (10000 rot/min).

Nanoparticule NP6

Proba de nanoparticule **NP6** a fost obținută în rezultatul sintezei dintre amestecul $[Fe_3O(SalH)_6(H_2O)_3]Cl{\cdot}DMA{\cdot}H_2O$ [26] (0,79 g, 0,66 mmol), acid oleic (2,54 ml, 7,98 mmol) și 1–octadecenă (6,30 ml, 19,70 mmol), la temperatura de 320 °C în curent de argon într-un balon cu trei gâturi timp de o oră. După răcire, produsul de reacție din balon a fost extras cu hexan și trecut într-un pahar. Substanța de culoare neagră a fost centrifugată (10000 de rotații/min) timp de 10 minute, apoi spălată cu amestecul de solvenți organici CH_3Cl/CH_3OH (1:1, 40 mL) și re-centrifugată.

Nanoparticule NP7–NP10

Pentru prepararea probelor **NP7**–**NP10**, au fost efectuate 4 sinteze în diferite condiții de reacție folosind același precursor $[Fe_3O(SalH)_6(H_2O)_3]Cl{\cdot}DMA{\cdot}H_2O$ [26]. Baloanele cu produsele de reacție au fost încălzite treptat până la temperaturile menționate în Tabelul 1, după care la răcire a fost adăugat hexan (60,0 mL), apoi amestecurile au fost transferate în pahare, la care a fost adăugat etanol (70,0 mL), agitate cu baghete de sticlă. S-a observat că produsele de reacție conțin două faze, care au fost separate, iar stratul uleios ce conține nanoparticule suspendate în hexan a fost centrifugat timp de 10 minute (10000 rot/min). Compusul negru ce s-a depus la centrifugare, în toate cele patru cazuri, a fost spălat cu amestecul de solvenți hexan:acetonă (1:4, 25,0 mL) și centrifugat. Suspensiile obținute au fost analizate prin microscopia electronică de transmisie, care a demonstrat obținerea nanoparticulelor polidisperse.

Rezultate

Pentru determinarea grupelor funcționale ale probelor NP s-a utilizat spectroscopia în infraroșu (FT-IR), măsurătorile au fost realizate în domeniul 4000 – 400 cm^{-1}. În Figura 2 sunt prezentate spectrele FT-IR ale probelor de **NP1–NP6**, acid oleic și 1–octadecenă.

Prin analiza spectrală FT-IR a probelor **NP1**–**NP6** s-a stabilit existența substanței organice pe suprafața nanoparticulelor. Spectrele obținute pun în evidență prezența modurilor vibraționale corespunzătoare grupărilor hidroxil, carboxil și legăturii C–H. Benzile prezente în spectrele tuturor probelor studiate de la 3375 – 3003 cm^{-1} se atribuie vibrațiilor ν(OH), benzile de la 2954 – 2923 – 2852 cm^{-1} sunt caracteristice vibrațiilor de valență ν_{as} și ν_s ale legăturii C–H din grupele CH_3 și CH_2 (2954 cm^{-1} – $\nu_{as}(CH_3)$; 2923 cm^{-1} – $\nu_s(CH_2)$; 2852 cm^{-1} – $\nu_{as}(CH_2)$) [22]. Aceste benzi confirmă prezența agenților de stabilizare 1–octadecenă și acid oleic.

În spectrele FT-IR ale nanoparticulelor (NP) pot fi observate atât benzi caracteristice pentru oxidul de fier (600 – 400 cm^{-1}), cât și benzi caracteristice pentru agenții de stabilizare 1576 cm^{-1} – $\nu_{as}(COO^-)$; 1377 cm^{-1} – $\nu_s(COO^-)$. Banda caracteristică pentru grupele carboxilice protonate ale acizilor nereacționați (COOH) lipsește în spectrul probelor NP, ceea ce demonstrează că surfactanții sunt legați de suprafața nanoparticulelor prin intermediul grupărilor carboxilat.

Vibrațiile de valență în regiunea 1717 – 1200 cm^{-1} se atribuie alungirii legăturii C–O, vibrațiile de valență în domeniul ~ 1282 cm^{-1} sunt caracteristice vibrațiilor de alungire simetrice ale legăturii COO^-, iar banda intensă la ~ 1413 cm^{-1} este caracteristică legăturii C–O–H de deformare unghiulară. Banda de absorbție la 936 cm^{-1} prezentă în spectrul acidului oleic dispare și apare o bandă nouă la ~ 966 cm^{-1} ca rezultat al deformării din afara planului legăturii O–H [22].

Pentru obținerea unor rezultate concludente, probele de nanoparticule **NP1**–**NP6** au fost analizate prin microscopia electronică de transmisie (MET) la o tensiune de accelerare de 200kV și prin spectroscopia cu raze X prin dispersie de energie (EDX), cu scopul determinării dimensiunilor nanometrice, a formelor geometrice ale particulelor și compoziției cantitative elementale ale probelor.

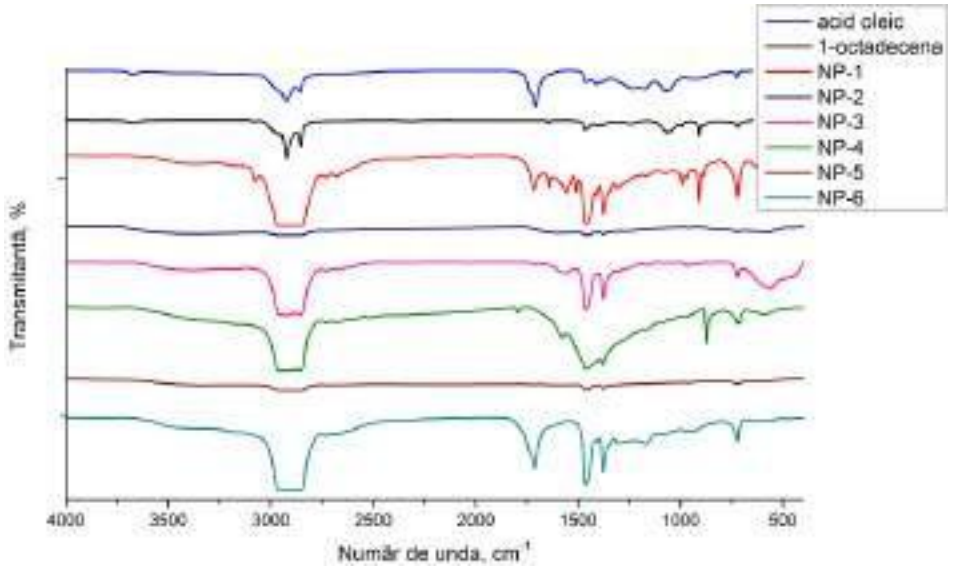
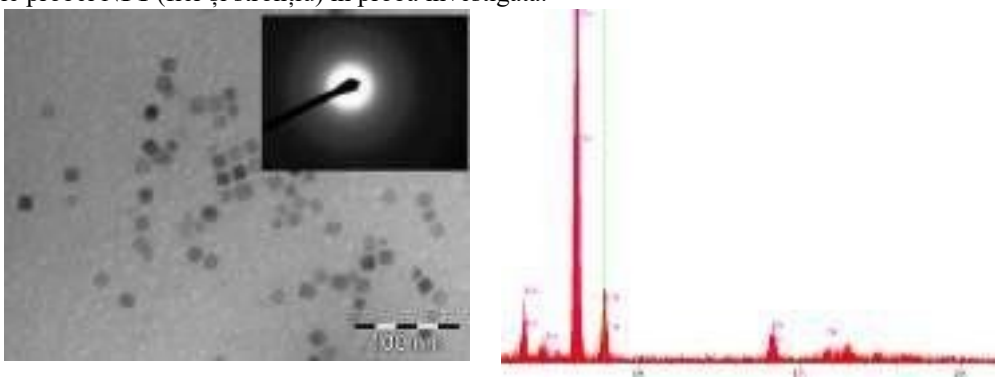


Figura 2. Spectrele FT-IR ale probelor de NP1–6 și ale agenților de stabilizare utilizați

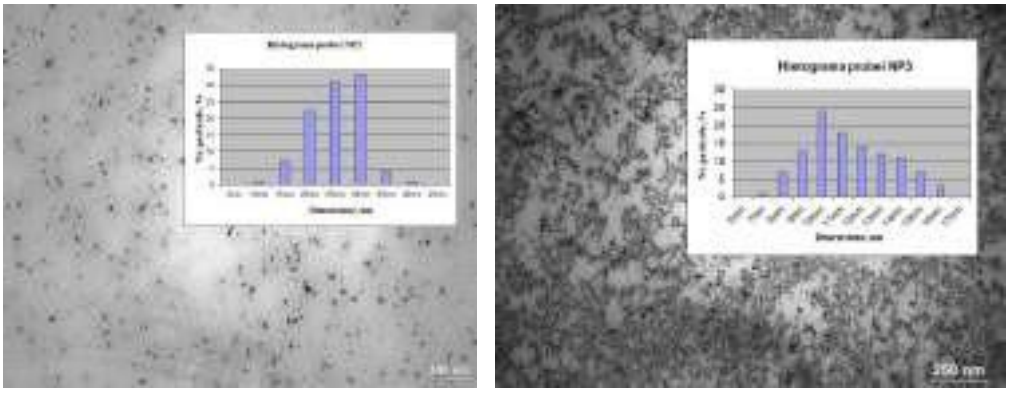
Probele de nanoparticule obținute în laborator au fost dispersate în hexan și cloroform. În Figura 3 sunt prezentate imaginile MET ale dispersiei de nanoparticule pulverizate pe grila de cupru acoperită cu carbon, modelul de difracție al electronilor și spectrul EDX pentru proba **NP1**. Geometria nanoparticilelor **NP1** (Figura 3, a) poate fi aproximată ca cuburi cu dimensiuni variate. Modelul de difracție electronică obținut (Figura 3, a) ne demonstrează că proba studiată este cristalină, iar liniile spectrului EDX (Figura 3, b) confirmă prezența elementelor constituente ale probei **NP1** (fier și stronțiu) în proba investigată.



a b

Figura 3. (a) Imaginea MET și difracția de electroni, (b) spectrul EDX ale probei NP1

Imaginile MET și histogramele distribuției particulelor după dimensiune pentru probele **NP2** și **NP3** sunt prezentate în Figura 4 (a, b). Geometria nanoparticulelor pentru proba **NP2** poate fi aproximată ca sfere cu unele iregularități, **NP2** cu dimensiuni mici au tendință sferică, iar cele cu dimensiuni mari obțin forma sferei perfecte (Figura 4, a). Histograma de distribuție a dimensiunilor nanoparticulelor **NP2** ne demonstrează că mărimea medie a nanoparticulelor este cuprinsă între 10 – 30 nm, dintre care ~ 33% din nanoparticule au diametrul 30 nm.

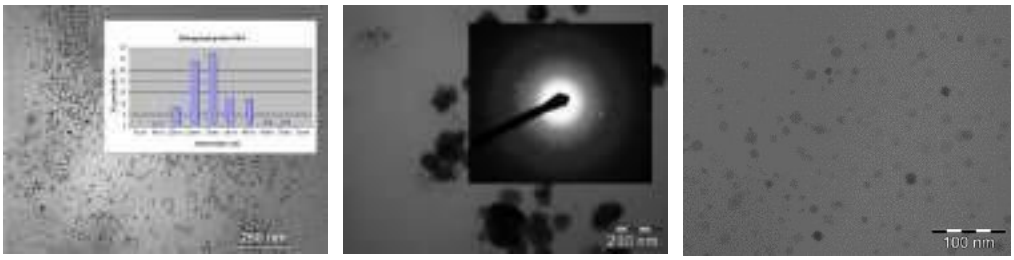


(a) (b)

Figura 4. Imagini MET și histogramele distribuției particulelor după dimensiune pentru probele NP2 (a) și NP3 (b)

Din imaginea MET a probei **NP3** (Figura 4, b) se observă prezența nanoparticulelor cu dimensiuni mai omogene cuprinse între 8 – 15 nm. Morfologic aceste particule au forme neregulate cu tendința spre formă cubică. Distribuția dimensiunii particulelor **NP3** după număr este prezentată în Figura 4, b. Astfel, nanoparticulele au dimensiuni de 7 – 16 nm, dintre care 22% au dimensiuni de 10 nm.

Imaginile MET a probelor **NP4–NP6** sunt prezentate în Figura 5. Din imaginea MET se observă, că nanoparticulele obținute **NP4** (Figura 5, a) au formă cubică cu valoarea medie a laturii ~ 11 nm; **NP5** (Figura 5, b) au forme neregulate de diferite dimensiuni; **NP6** (Figura 5, c) au formă cubică cu dimensiuni cuprinse între 7 – 20 nm cu lungimea medie ~ 11 nm.



NP4 NP5 NP6

Figura 5. Imagini MET ale nanoparticulelor NP4(a), NP5(b) și NP6(c)

Pentru **NP4** a fost calculată și construită curba de distribuție Gauss (Figura 6), astfel obținând imaginea repartizării valorilor dintr-o serie de date. Distribuția dimensiunii **NP4** după număr este prezentată în Figura 6, unde se observă că valoarea dimensiunilor particulelor cu cea mai mare frecvență tinde spre valorile 27 – 28 nm.

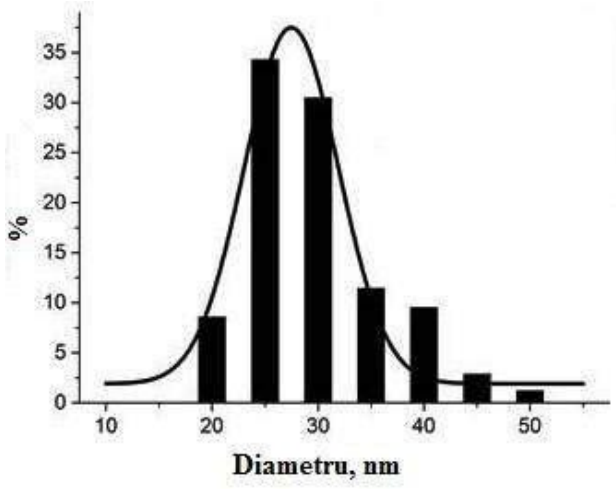


Figura 6. Histograma de distribuție a dimensiunilor particulelor NP4

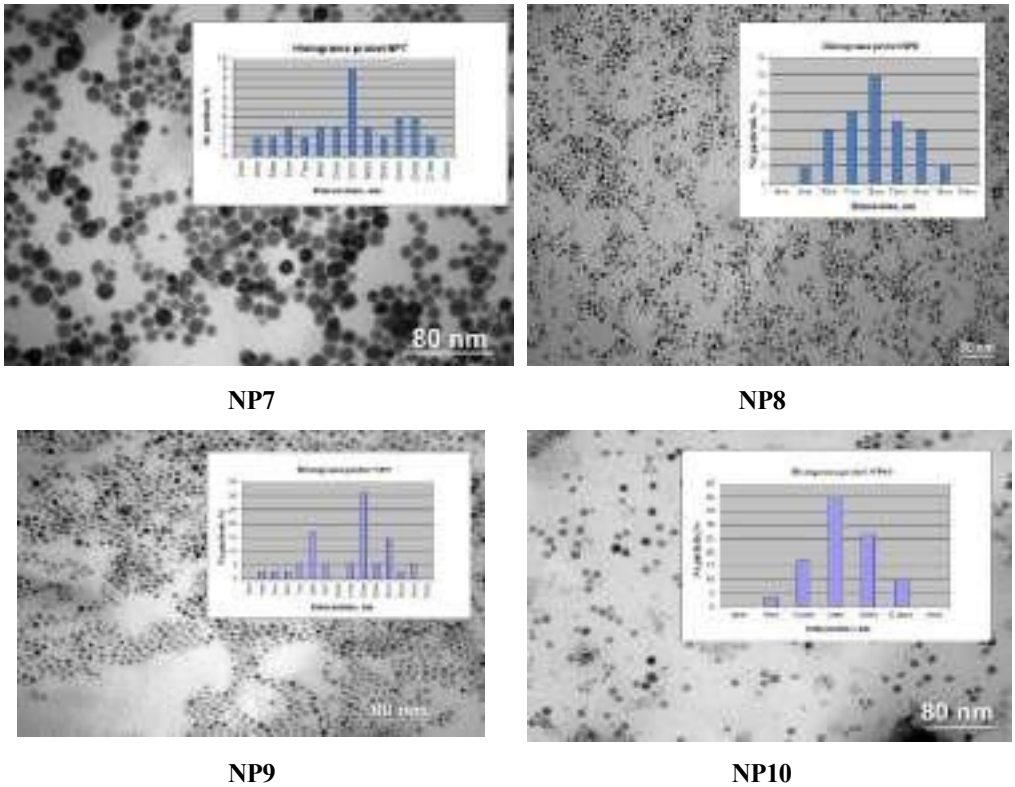
Ulterior s-a investigat influența temperaturii și timpul reacției asupra formei și dimensiunilor nanoparticulelor, păstrând raportul molar precursor : surfactant [17]. Pentru aceasta, în calitate de precursor a fost folosită combinația coordinativă $[Fe_3O(SalH)_6(H_2O)_3]Cl\cdot DMA\cdot H_2O$ și au fost efectuate patru sinteze de obținere a nanoparticulelor în diferite condiții (Tab. 1). Analiza **NP** realizată la microscopul electronic prin transmisie Tesla BS–500 a demonstrat, că nanoparticulele obținute au formă sferică cu tendința spre formă cubică. **NP7** au dimensiuni între 2 – 30 nm, cu o valoare medie de ~ 16 nm; dintre care 9% din NP au dimensiuni de 12 nm; **NP8** au formă sferică cu dimensiuni cuprinse între 8,7 – 14,7 nm, cu o medie ~ 11,7 nm; **NP9** au dimensiuni cuprinse între 4 – 16 nm, cu o medie ~ 11,7 nm cu formă sferică și tendință spre forma cubică; **NP10** au formă sferică cu dimensiuni cuprinse între 4 – 6,5 nm, dintre care 40% din NP au valoarea de 5 nm (Tabelul 1).

Tabelul 1. Condițiile de reacție în sintezele de obținere a NP7–NP10

Nr. sintezei	Nr. NP	Precursor[a] (mmol)	Surfactant[b] (mmol)	Solvent[c] (mL)	Temperatura (°C)	Timpul (min)	Diametrul NP (nm)
1	NP7	6	9	18	305	60	12
2	NP8	6	9	18	290	120	11,7
3	NP9	6	9	18	320	120	10
4	NP10	6	9	18	360	60	5,25

[a] *Precursor = Compusul* $[Fe_3O(SalH)_6(H_2O)_3]Cl\cdot DMA\cdot H_2O$
[b] *Surfactant = acid oleic*
[c] *Solvent = 1–octadecenă*

În literatura de specialitate s-a constatat, că odată cu creșterea temperaturii și mărirea timpului de reacție crește și dimensiunea nanoparticulelor [17]. În cazul experimentelor efectuate (Tabelul 1), nanoparticule cu cele mai mici dimensiuni s-au obținut în urma sintezei la temperatura de 360 °C timp de 60 min (Figura 7).



NP7 **NP8**

NP9 **NP10**

Figura 7. Imaginile MET ale nanoparticulelor NP7–NP10

Concluzii

Compușii coordinativi trinucleari Fe–M de tip μ_3–oxo au fost utilizați ca precursori pentru obținerea oxizilor micști de dimensiuni nanometrice prin metoda de descompunere termică. Pe parcursul cercetării au fost sintetizate și investigate 10 probe de nanoparticule de diverse forme și dimensiuni obținute din precursorii trinucleari homo– și heteronucleari ai fierului(III) cu compoziție și structură determinată. Investigările TEM și MES ale probelor analizate au demonstrat că produsele de reacție reprezintă oxizi de fier de diferite dimensiuni și forme.

Referințe:

1. Qiang, Y., Antony, J., Marino, M. G., Pendyala, S. Synthesis of Core-Shell Nanoclusters With High Magnetic Moment for Biomedical Applications. *IEEE Trans. Magn.*, 2004, 40(6), 3538–3540. DOI: 10.1109/TMAG.2004.828962.
2. Jain, T. K., Morales, M. A., Sahoo, S. K., Leslie-Pelecky, D. L., Labhasetwar, V. Iron Oxide Nanoparticles for Sustained Delivery of Anticancer Agents. *Mol. Pharmaceutics*, 2005, 2(3), 194–205. DOI: 10.1021/mp0500014.
3. Mody, V. V., Cox, A., Shah, S., Singh, A., Bevins, W., Parihar, H. Magnetic Nanoparticle Drug Delivery Systems for Targeting Tumor. *Appl. Nanosci.*, 2014, 4(4), 385–392. DOI: 10.1007/s13204-013-0216-y.
4. Yasumori, A., Matsumoto, H., Hayashi, S., Okada, K. Magneto-Optical Properties of Silica Gel Containing Magnetite Fine Particles. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 2000, 18(3), 249–258. DOI: 10.1023/A:1008700107415.

5. Setter, N., Waser, R. Electroceramic Materials. *Acta Mater.*, 2000, 48(1), 151–178. DOI: 10.1016/S1359-6454(99)00293-1.
6. Schoonman, J. Nanostructured Materials in Solid State Ionics. *Solid State Ionics*, 2000, 135(1–4), 5–19. DOI: 10.1016/S0167-2738(00)00324-6.
7. Thurston, J. H., Whitmire, K. H. Molecular Precursors for Ferroelectric Materials: Synthesis and Characterization of Bi2M2(μ-O)(Sal)4(Hsal)4(OEt)2 and BiM4(μ-O)4(Sal)4 (Hsal)3(OiPr)4. *Inorg. Chem.*, 2003, 42(6), 2014–2023. DOI: 10.1021/ic026108s.
8. An, K., Somorjai, G. A. Size and Shape Control of Metal Nanoparticles for Reaction Selectivity in Catalysis. *ChemCatChem*, 2012, 4(10), 1512–1524. DOI: 10.1002/cctc.201200229.
9. Amara, D., Grinblat, J., Margel, S. Solventless Thermal Decomposition of Ferrocene as a New Approach for One-Step Synthesis of Magnetite Nanocubes and Nanospheres. *J. Mater. Chem.*, 2012, 22(5), 2188–2195. DOI: 10.1039/C1JM13942H.
10. Zhang, Z. J., Chen, X. Y., Wang, B. N., Shi, C. W. Hydrothermal Synthesis and Self-Assembly of Magnetite (Fe3O4) Nanoparticles with the Magnetic and Electrochemical Properties. *J. Cryst. Growth*, 2008, 310(24), 5453–5457. DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2008.08.064.
11. Khalil, M., Yu, J., Liu, N., Lee, R. L. Hydrothermal Synthesis, Characterization, and Growth Mechanism of Hematite Nanoparticles. *J. Nanopart. Res.*, 2014, 16(4), 2362. DOI: 10.1007/s11051-014-2362-x.
12. Xing, R., Xu, F., Liu, S., Niu, J. Surfactant-Free Fabrication of Fe3O4 Nanospheres with Selective Shape. *Mater. Lett.*, 2014, 134, 71–74. DOI: 10.1016/j.matlet.2014.07.035.
13. Fajaro, F., Setyawan, H., Widiyastuti, W., Winardi, S. Synthesis of Magnetite Nanoparticles by Surfactant-Free Electrochemical Method in an Aqueous System. *Adv. Powder Technol.*, 2012, 23(3), 328–333. DOI: 10.1016/j.apt.2011.04.007.
14. Lu, A., Salabas, E. L., Schüth, F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46(8), 1222–1244. DOI: 10.1002/anie.200602866.
15. Hubert-Pfalzgraf, L. G. Some Trends in the Design of Homo- and Heterometallic Molecular Precursors of High-Tech Oxides. *Inorg. Chem. Commun.*, 2003, 6(1), 102–120. DOI: 10.1016/S1387-7003(02)00664-0.
16. Yu, W. W., Falkner, J. C., Yavuz, C. T., Colvin, V. L. Synthesis of Monodisperse Iron Oxide Nanocrystals by Thermal Decomposition of Iron Carboxylate Salts. *Chem. Commun.*, 2004, (20), 2306. DOI: 10.1039/b409601k.
17. Chen, C.-J., Lai, H.-Y., Lin, C.-C., Wang, J.-S., Chiang, R.-K. Preparation of Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles via the Synthesis and Decomposition of Iron Fatty Acid Complexes. *Nanoscale Res. Lett.*, 2009, 4(11), 1343-1350. DOI: 10.1007/s11671-009-9403-x.
18. Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J.-G., Noh, H.-J., Kim, J.-Y., Park, J.-H., Hwang, N.-M., Hyeon, T. Ultra-Large-Scale Syntheses of Monodisperse Nanocrystals. *Nature Mater.*, 2004, 3(12), 891–895. DOI: 10.1038/nmat1251.
19. Kovalenko, M. V., Bodnarchuk, M. I., Lechner, R. T., Hesser, G., Schäffler, F., Heiss, W. Fatty Acid Salts as Stabilizers in Size- and Shape-Controlled Nanocrystal Synthesis: The Case of Inverse Spinel Iron Oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(20), 6352–6353. DOI: 10.1021/ja0692478.
20. Sangaiya, P., Jayaprakash, R. A Review on Iron Oxide Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *J. Supercond. Nov. Magn.*, 2018, 31(11), 3397–3413. DOI: 10.1007/s10948-018-4841-2.
21. Wu, W., He, Q., Jiang, C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Res. Lett.*, 2008, 3(11), 397. DOI: 10.1007/s11671-008-9174-9.
22. Coates, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Meyers, R. A., Ed.; Wiley, 2000. DOI: 10.1002/9780470027318.a5606.
23. Gorincioi, V. Sinteza și studiul combinațiilor complexe polinucleare ale metalelor –s și –d cu acidul salicilic și derivații lui. Ph.D. Thesis, Chișinău, 2022, 217 p.
24. Gorinchoy, V. V., Turte, K. I., Simonov, Yu. A., Shova, S. G., Lipkowski, J., Shofranskii, V. N. Heteronuclear {Fe-Ba, Fe-Sr} Salicylate Complexes. Synthesis, Structure, and Physicochemical Properties. *Russ. J. Coord. Chem.*, 2009, 35(4), 279–285. DOI: 10.1134/S1070328409040083.

25. Gorinchoy, V., Cuzan-Munteanu, O., Petuhov, O., Melnic, E., Kravtsov, V. Ch., Shova, S. Thermal Analysis, Synthesis and Structural Studies of Heterometallic {Fe2MO} Salicylate Complexes. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2019, 138(4), 2623–2633. DOI: 10.1007/s10973-019-08642-6.
26. Gorinchoy, V. V., Zubareva, V. E., Shova, S. G., Szanfranski, V. N., Lipkowski, J., Stanica, N., Simonov, Yu. A., Turta, C. I. Homo- and Heteronuclear Iron Complexes {Fe2MO} with Salicylic Acid: Synthesis, Structures, and Physicochemical Properties. *Russ. J. Coord. Chem.*, 2009, 35(10), 731–739. DOI: 10.1134/S1070328409100042.

Date despre autori:



Viorina GORINCIOI, cercetător științific coordonator, Laboratorul Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: oviorina@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6991-2241



Boris PUȘCAȘU, Inginer, Laboratorul Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: borispuscasu@gmail.com
ORCID: 0009-0007-3906-0229



Vasile LOZAN, doctor habilitat în științe chimice, Conferențiar universitar, cercetător științific principal, Șeful laboratorului Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: vasilelozan@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6951-6115

CZU: 544.47:547.913 https://doi.org/10.59295/mabt2026.14

SINTEZA ȘI STUDIUL PROPRIETĂȚILOR CATALITICE ALE DIOXA-AZAHIDROFOSFIȚILOR DIN (+)-3-CARENA

Sergiu COJOCARI, Fliur MACAEV

Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova

Rezumat

Lucrarea abordează sinteza și evaluarea hidrofosforanilor derivați din (+)-3-carenă ca liganzi chirali în cataliza asimetrică. Prin transformări oxidative și reacții ulterioare, au fost obținuți compuși de tip spiro-hidrofosforan, caracterizați prin metode spectroscopice (IR, RMN). Aceștia au fost utilizați în sisteme catalitice pe bază de paladiu pentru reacții de sulfonilare alilică și aminare. Rezultatele indică o influență limitată a timpului de complexare asupra randamentului produselor racemice, dar evidențiază apariția inducției asimetrice (până la 37% ee) în condiții optime. De asemenea, natura aminei și solventul influențează semnificativ conversia și selectivitatea. Studiul demonstrează potențialul hidrofosforanilor ca liganzi eficienți în cataliza asimetrică, oferind perspective pentru dezvoltarea unor sisteme catalitice performante.

Cuvinte-cheie: monoterpena (+)-3-carenă, hidrofosfiți, reacții catalizate de Pd, reacții asimetrice.

SYNTHESIS AND STUDY OF THE CATALYTIC PROPERTIES OF DIOXO-AZA-HYDROPHOSPHITES DERIVED FROM (+)-3-CARENE

Abstract

The paper addresses the synthesis and evaluation of hydrophosphoranes derived from (+)-3-carene as chiral ligands in asymmetric catalysis. Through oxidative transformations and subsequent reactions, spiro-hydrophosphorane-type compounds were obtained and characterized by spectroscopic methods (IR, NMR). These compounds were employed in palladium-based catalytic systems for allylic sulfonylation and amination reactions. The results indicate a limited influence of complexation time on the yield of racemic products, while highlighting the occurrence of asymmetric induction (up to 37% ee) under optimal conditions. Furthermore, the nature of the amine and the solvent significantly affects conversion and selectivity. The study demonstrates the potential of hydrophosphoranes as efficient ligands in asymmetric catalysis, providing perspectives for the development of high-performance catalytic systems.

Keywords: monoterpene (+)-3-carene, hydrophosphites, Pd-catalyzed reactions, asymmetric reactions.

Introducere

Sinteza stereoselectivă a compușilor chirali reprezintă o direcție principală a sintezei organice moderne. Se preconizează că, în secolul actual, utilizarea substanțelor organice chirale în chimia farmaceutică și în industria parfumurilor, precum și în producerea pesticidelor și a aditivilor alimentari sub formă racemică va fi exclusă sau, cel puțin, redusă la minimum. Succesul în crearea unui catalizator metalocomplexic foarte eficient depinde aproape în totalitate de alegerea corectă a ligandului chiral, iar eficiența acestuia este determinată în mare măsură de selectarea adecvată a sintonei chirale inițiale. Acest lucru este pe deplin valabil pentru compușii optici activi care conțin fosfor, ce determină în mare măsură imaginea actuală a sintezei catalitice asimetrice. Deși poziția dominantă este ocupată încă de fosfinele chirale, tot mai mulți cercetători se orientează spre utilizarea compușilor de tip fosfit (ponderea fosfiților nu depășește 15% din numărul total al ligandilor chirali care conțin fosfor cunoscuți). Hidrofosforanii reprezintă o clasă versatilă de compuși ai fosforului(V) penta-coordonați, care includ structuri monociclice, biciclice și triciclice și care, în pofida absenței centrilor donori tradiționali cu perechi de electroni neparticipante, demonstrează diverse posibilități de coordonare de tip P-, N-, P,N- sau P,O-.

În mod tradițional, în sinteza fosfiților cu atomi de fosfor stereogeni sunt utilizate diamine, aminoalcooli și bis-naftoli. Una dintre cele mai practice abordări pentru realizarea unor astfel de sinteze se bazează pe transformările unor compuși naturali optici activi accesibili, de exemplu monoterpena (+)-3-carenă **1**.

Printre cele mai importante avantaje ale ligandilor de tip fosfit se numără π-aciditatea lor pronunțată, stabilitatea oxidativă, precum și accesibilitatea sintezei și costul redus.

Materiale și metode

Cu scopul determinării structurii compușilor sintetizați, a fost utilizată o gamă largă de metode fizico-chimice de cercetare și caracterizare. Temperaturile de topire au fost determinate cu ajutorul aparatului „Boetius". Spectrele IR au fost înregistrate la spectrofotometrul „Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR". Spectrele RMN de ^{1}H, ^{13}C și ^{31}P au fost înregistrate la spectrometrul „Avance III Bruker 400", care funcționează la un câmp magnetic constant de 9,4 T. Monitorizarea procesului reacțiilor s-a realizat cu ajutorul cromatografiei în strat subțire (CSS) pe plăci de Silufol, developate în vapori de I_2. Pentru cromatografia pe coloană s-a utilizat silicagel L 100/400 μm sau silicagel 60 Fluka. Substanțele și reagenții chimici utilizați sunt disponibili comercial și au fost folosiți fără purificare suplimentară. (+)-3-carena **1** a fost procurată de la firma Sigma Aldrich.

Metoda de obținere a caran-3,4-diolului 2.

La o soluție de (+)-3-carenă **1** (12,0 g, 8,8 mmol) într-un amestec de 240 ml tert-butanol și 120 ml apă, sub agitare intensă și la temperatura de 5–10 °C, s-a adăugat picătură cu picătură, timp de 2,5 ore, o soluție de permanganat de potasiu (17,29 g, 10,9 mmol) în 360 ml apă. Amestecul reacțional a fost agitat încă o oră. Reacția a fost monitorizată prin cromatografie în strat subțire (CSS). Precipitatul format a fost filtrat, iar filtratul a fost concentrat în vid, apoi saturat cu 100 g NaCl și extras cu acetat de etil. Extractele organice reunite au fost spălate cu soluție saturată de NaCl și uscate pe Na_2SO_4. Reziduul obținut după îndepărtarea solventului a fost supus cromatografiei pe coloană pe silicagel (benzen – 20% eter). S-au obținut 7,82 g din compusul **2** sub formă de produs cristalin alb. Randament 47%. $[\alpha]D^{22}$ +12,7 (c 1,5, $CHCl_3$), p.t. 62–64 °C. Ref. [1] [α]D +12,8, p.t. 69–70 °C.

Metoda de obținere a amidofosfitului 3

Amestecul de 3,4-diol **2** (1,70 g, 0,01 mol) și $P(NEt_2)_3$ (2,47 g, 0,01 mol) a fost agitat la 120°C timp de 40 min. Apoi amestecul de reacție a fost agitat în vid (10 mm Hg) la 80°C timp de 30 min, după care a fost distilat în vidul pompei de ulei (0,8 mm Hg), obținându-se un ulei incolor. Randament: 66%. T_f: 78–85°C (0,8 mm Hg). Ref. [3]: T_f 81–82°C (0,8 mm Hg).

Metoda de obținere a hidrofosforanei 4

După amestecarea timp de 2 ore a unui amestec de 2-amino-2-metilpropan-1-ol (890 mg, 10 mmol) și 2,46 g (10 mmol) de reactiv fosforilant **3** la 120 °C în curent de argon, amestecul a fost agitat în continuare timp de 30 minute în vid (10 mm Hg) la 100 °C. Reziduul a fost distilat în vid (1 mm Hg), colectându-se fracția cu punctul de fierbere 125–127 °C. S-au obținut 1,5 g de ulei vâscos incolor **5**. Randament: 57%. Structura compusului **5** este confirmată pe baza analizei elementare și a datelor spectrale: $C_{15}H_{28}NO_2P$, *Calculat,(%)*: C, 62.97; H, 10.05; N, 5.11; O, 11.11; P, 10.76. *Stabilit,(%):* C, 63.13; H, 9.89; N, 4.91; O, 11.21; P, 10.85. IR (ν,cm^{-1}): 1377 (gem-dimetil), 2341, 2374 (P-H), 3456 (N-H). Spectrul RMN ^{31}P (162.0 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm, *J*/Hz): -44,63 (d, $^{1}J_{PH}$=733.02), -41,13 (d, $^{1}J_{PH}$=738.1).

Metoda de obținere a complexelor de paladiu 5*

***** (Date din cercetări comune cu grupul prof. K. N. Gavrilov de la Universitatea de Stat din Riazan „S. A. Esenin").

O soluție a ligandului corespunzător (1 mmol) în CH_2Cl_2 (20 ml) a fost adăugată picătură cu picătură la soluția agitată de $[Pd(alil)\text{-}Cl]_2$ (raport molar P/Pd = 1(2)/1) în același solvent (20

ml) la 20 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 30 min. Apoi excesul de solvent a fost îndepărtat în vid (40 mm Hg), iar la reziduul obținut s-au adăugat 10 ml de hexan. Precipitatul format a fost separat prin centrifugare, spălat cu eter (2 × 10 ml) și uscat în vid (2 mm Hg).

O soluție de $BF_3 \cdot Et_2O$ (0,503 ml, 4 mmol) în $CHCl_3$ (3 ml) a fost adăugată picătură cu picătură la soluția complexului de paladiu obținut mai sus (165 mg, 4 mmol) în $CHCl_3$ (3 ml).

Amestecul de reacție a fost agitat timp de 30 min. Apoi solventul a fost îndepărtat sub vid (40 mm Hg), iar la reziduu s-a adăugat eter (10 ml). Precipitatul obținut a fost separat prin centrifugare, spălat cu eter (2 × 5 ml) și uscat în vid (1 mm Hg), obținându-se compusul sub formă de substanță solidă galbenă.

Rezultate și discuții

Anterior s-a demonstrat că fosfiții pe bază de (+)-3-carenă 1 reprezintă un tip important de agenți de transfer al chiralității pentru cataliza asimetrică, însă exemple de spiro-hidrofosforani de tip caranic nu erau cunoscute până atunci [1-5].

Pentru sinteza hidrofosforanilor s-a pornit de la produsele transformării oxidative a monoterpenei **1**. S-a stabilit că încălzirea fosfitului **3** [3] cu 2-amino-2-metilpropan-1-ol la 120 °C în flux de argon conduce la formarea spiro-hidrofosforanilor **4** (Figura 1). În spectrul IR al produsului de reacție se observă benzi de absorbție caracteristice: pentru legătura P–H în regiunea 3456 cm^{-1}, precum și o bandă caracteristică grupării gem-dimetil în regiunea 1377 cm^{-1}. În spectrul RMN ^1H al probei investigate apar patru seturi de semnale caracteristice ale grupării gem-dimetil, ceea ce indică faptul că produsul reprezintă un amestec de compuși **4**. Analiza datelor de spectroscopie RMN ^{31}P pentru centrul stereogenic al fosforului indică prezența semnalelor la: δ_P −46,79 ppm, δ_P −44,05 ppm, δ_P −42,09 ppm și δ_P −43,19 ppm.

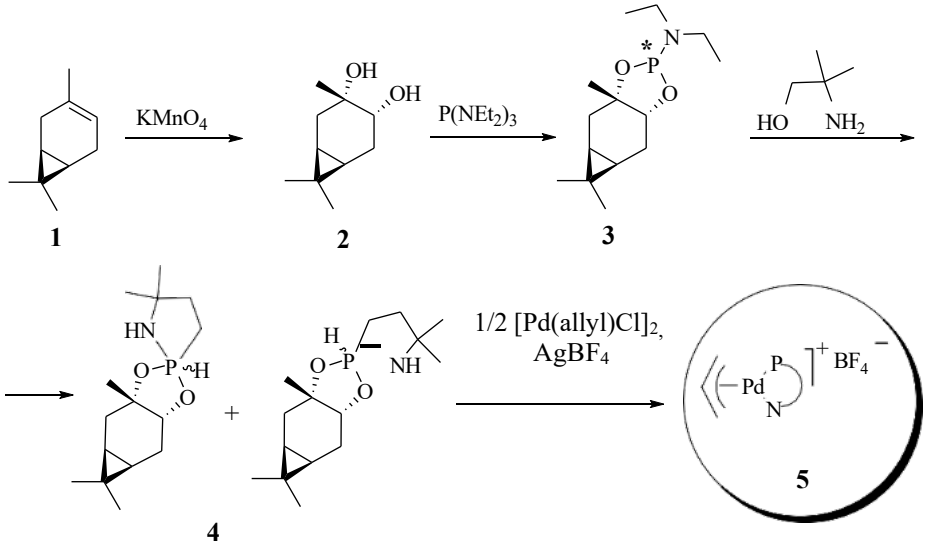


Figura 1. Schema sintezei liganzilor 4 din (+)-3-carenă

În funcție de raportul ligand 4/Pd și de timpul de complexare, a fost înregistrat un nivel diferit al randamentului produselor 7 și 8 (Figura 2) în reacțiile de sulfonilare alilică catalizată și alchilare a (E)-1,3-difenilalilacetatului **6.**

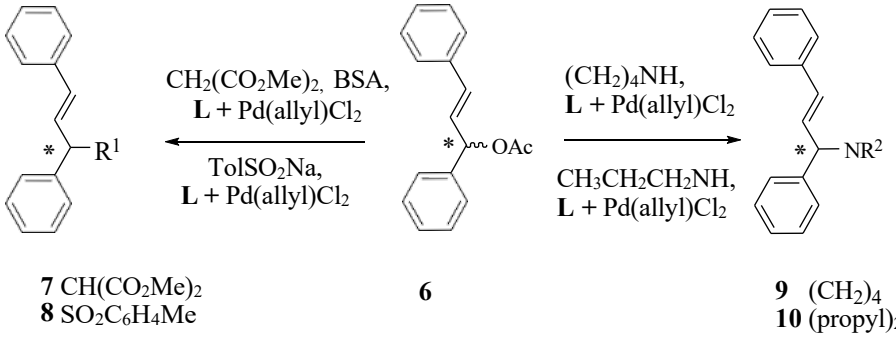


Figura 2. Reacția de sulfonilare alilică catalizată și alchilare a (E)-1,3-difenilalilacetatului 6

Creșterea timpului de complexare de la 40 de minute la 24 de ore și, respectiv, 30 de zile a determinat o majorare nesemnificativă a randamentului produsului racemic 7, valorile obținute fiind de 48%, 54% și 60%.

S-a evidențiat existența unei inducții asimetrice (până la 37% ee) în procesul de formare a compusului (E)-(3-tosilprop-1-en-1,3-diil)dibenzena **8**, la un raport molar de 2:1 între hidrofosforanul **4** și complexul $[Pd(allyl)Cl]_2$, în soluție de CH_2Cl_2.

Eficiența diferențiată a sistemelor catalitice bazate pe hidrofosforan a fost observată în reacțiile de aminare cu pirolidină și dipropilamină. În cazul utilizării dipropilaminei, s-a obținut exclusiv produsul racemic **10**, conversia substratului inițial 6 atingând până la 57%.

O creștere marginală a conversiei, până la 59%, concomitent cu o inducție asimetrică de 17% ee pentru produsul țintă **9**, a fost înregistrată atunci când reacția de aminare a fost realizată în soluție de THF, la un raport molar de 2:1 între hidrofosforanul **4** și complexul $[Pd(allyl)Cl]_2$.

Concluzii

În concluzie, studiul demonstrează că hidrofosforanii de tip caranic, obținuți din (+)-3-carenă, reprezintă o clasă promițătoare de liganzi chirali pentru cataliza asimetrică pe bază de paladiu. Metodologia de sinteză elaborată permite obținerea acestor compuși în randamente moderate, structura lor fiind confirmată prin metode spectroscopice moderne. Rezultatele experimentale evidențiază faptul că parametrii de reacție, precum timpul de complexare, raportul ligand/metal, natura nucleofilului și solventul, influențează în mod diferit randamentul și selectivitatea proceselor catalitice. Deși creșterea timpului de complexare are un impact limitat asupra randamentului, s-au obținut valori notabile ale inducției asimetrice, de până la 37% ee. Aceste rezultate confirmă potențialul hidrofosforanilor în dezvoltarea unor sisteme catalitice eficiente și deschid perspective pentru optimizarea ulterioară a performanțelor stereoselective.

Mulțumiri:

Acest studiu a fost susținut de proiectul de cercetare „Studiul chimic al metaboliților secundari din surse naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ prin extinderea diversității moleculare cu funcționalitate multiplă (MetNatVal)”, nr. 010601, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova**.**

Autorii își exprimă recunoștința față de profesorul K. N. Gavrilov de la Universitatea de Stat din Riazan „S. A. Esenin” pentru desfășurarea cercetărilor comune.

Referințe:

1. Roth, D., Thorwart, T., Douglas, C., Greb, L. Bis(amidophenolato)phosphonium: Si-H Hydride Abstraction and Phosphorus-Ligand Cooperative Activation of C-C Multiple Bonds. *Chemistry*, 2023, 29(8), e202203024. DOI: 10.1002/chem.202203024.

2. Krasowska, D., Chrzanowski, J., Kiełbasiński, P., Drabowicz, J. Chiral Hypervalent, Pentacoordinated Phosphoranes. *Molecules*, 2016, 21(11), 1573. DOI: 10.3390/molecules21111573.
3. Benetsky, E. B., Zheglov, S. V., Grishina, T. B., Macaev, F., Bet, L. P., Davankov, V. A., Gavrilov, K. N. Various P*-chiral phosphite-type ligands: their synthesis, stereochemistry and use in the Pd-catalysed allylation. *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 8326–8330.
4. Gavrilov, K. N., Benetsky, E. B., Grishina, T. B., Zheglov, S. V., Rastorguev, E. A., Petrovskii, P. V., Macaev, F., Davankov, V. A. Diastereomeric P*-chiral diamidophosphites with terpene fragments in asymmetric catalysis. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, 18, 2557–2564.
5. Gavrilov, K. N., Polosukhin, A. I., Bondarev, O. G., Lyubimov, S. E., Lyssenko, K. A., Petrovskii, P. V., Davankov, V. A. Synthesis and properties of pentacoordinated phospha derivatives of iso-leucinol: A rare example of using of hydrophosphoranes as ligands in asymmetric catalysis. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2003, 196(1–2), 39–53. DOI: 10.1016/S1381-1169(02)00633-7.

Date despre autori:



Sergiu COJOCARI, cercetător științific, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova
e-mail: sergiu.cojocari@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-6825-5390



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 542.913:546.562:547.497.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.15

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF COORDINATION COMPOUNDS OF Cu(II) BASED ON N^4-CYCLOHEXYLTHIOSEMICARBAZONE 2-ACETYLPYRIDINE

Iulia GRIBANOVA, Andrei CIURSIN, Roman RUSNAC, Aurelian GULEA

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

Abstract

Thiosemicarbazones are a class of organic compounds with versatile biological properties. In addition to this, they are also known as efficient ligands for the coordination of 3*d* metals. Coordination compounds of thiosemicarbazones with Cu(II) are of major interest, as they often exhibit better biological activities than the free ligand. In this work, the N^4-cyclohexylthiocarbazone of 2-acetylpyridine and four coordination compounds based on it with the salts $CuCl_2$, $CuBr_2$, $Cu(Ac)_2$ and $Cu(NO_3)_2$ were synthesised. The synthesised compounds were characterised by physico-chemical methods and subjected to the evaluation of their antioxidant, antimicrobial and antifungal activities.

Keywords: coordination compounds, thiosemicarbazones, copper(II), antimicrobial and antifungal activity, antioxidant properties.

SINTEZA ȘI ANALIZA BIOLOGICĂ A COMPUSILOR COORDINATIVI AI CU(II) ÎN BAZA N^4-CICLOHEXILTIOSEMICARBAZONEI 2-ACETILPIRIDINEI

Rezumat

Tiosemicarbazonele constituie o clasă de compuși organici cu proprietățile biologice versatile. Pe lângă acestui fapt, ei sunt cunoscuți și ca liganzi eficienți pentru coordinarea metalelor 3*d*. Compuși coordinativi ai Cu(II) cu tiosemicarbazone cu sunt de interes major, întrucât prezintă adesea activități biologice mai bune față de ligandul necoordinat. În această lucrare au fost sintetizați: patru compuși coordinativi în baza sărurilor de cupru - $CuCl_2$, $CuBr_2$, $Cu(Ac)_2$ și $Cu(NO_3)_2$ și N^4-ciclohexiltiocarbazona 2-acetilpiridinei. Compuși sintetizați au fost caracterizați prin metodele fizico-chimice și supuși evaluării activităților antioxidante, antimicrobiene și antifungice.

Cuvinte-cheie: compuși coordinativi, tiosemicarbazonele, cupru(II), activitate antimicrobiană și antifungică, proprietăți antioxidative.

Introduction

In recent decades, humanity has been in a continuous search for new medicines capable of effectively combating numerous diseases that threaten the health of the population. The development of resistance of microorganisms to conventional treatments, the increase in cancer cases and in deaths related to oncological diseases, as well as the necessity of more selective and less toxic therapies present a particular interest for scientists from all over the world. The International Agency for Research on Cancer founded by the World Health Organization forecasts that the number of new cancer cases will increase significantly in all regions, the largest absolute share being in Asia (+64.5% of the number of cases from the year 2022), and Africa stands out by the largest relative increase, of over 99%, which indicates a doubling of the number of cases, up to approximately 2.45 million (Figure 1.) [1]. This trend underlines the necessity of intensifying research in the field of the synthesis of new compounds with potential biological activity.

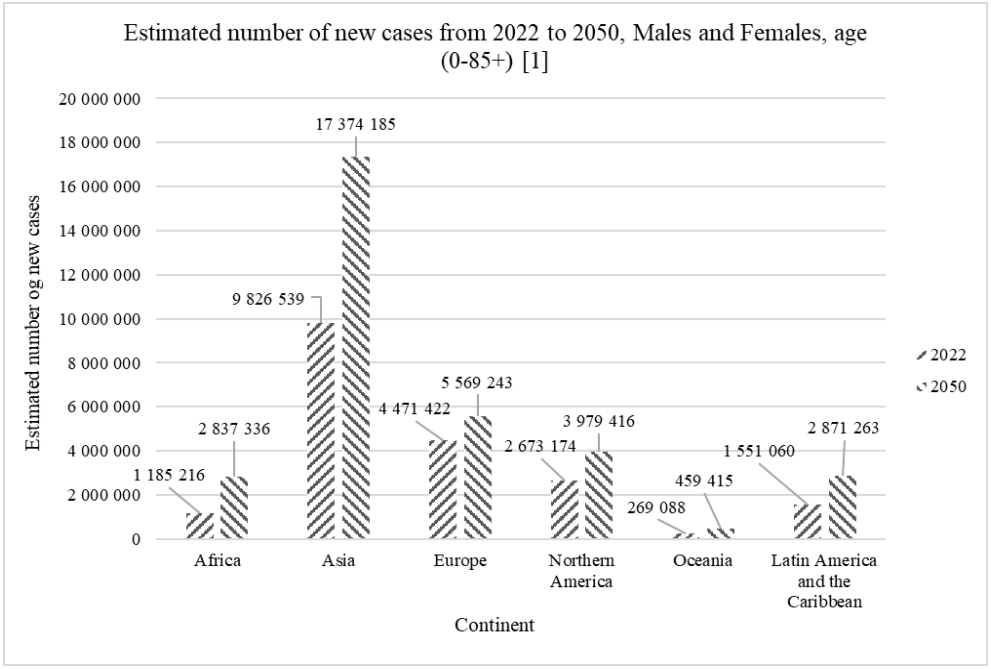
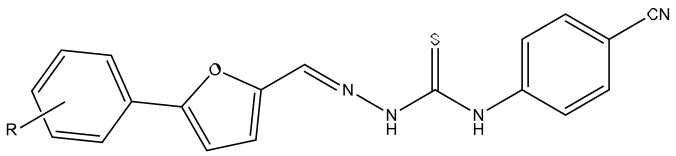


Figure 1. Estimated number of new cases from 2022 to 2050 [1]

In this context, the chemistry of coordination compounds acquires a particular importance, being capable of forming innovative molecular systems with promising pharmacological properties. Metal complexes present physico-chemical and biological properties different from the free ligand, sometimes even considerably surpassing its biological activity [2]. They, especially those of transition metals, have the capacity to interact with various essential biomolecules, such as DNA or proteins, and to induce oxidative processes at the cellular level [3]. Due to these characteristics, complexes with organic ligands represent a promising direction in the development of anticancer and antimicrobial agents.

Copper(II) presents an important role in chemistry due to its essential role in biological processes and its redox properties. This metal ion is involved in numerous enzymatic reactions and electron transfer processes in living processes. Due to its capacity to alternate between different oxidation states, Cu(II) can generate reactive oxygen species (ROS), which induce oxidative stress at the level of tumour cells [3]. In addition, it can interact with DNA, inhibiting the processes of replication and transcription, which contributes to their cytotoxic effect [4]. Thus, coordination compounds of Cu(II) have a particular potential in the development of new antitumoral and antimicrobial agents.

Another important aspect is manifested by the choice of the ligand. A particular interest is given to thiosemicarbazones. They are generally obtained through the condensation reaction between thiosemicarbazide or derivatives of it and carbonyl compounds, such as aldehydes or ketones. Due to their diverse biological activities, such as antioxidant [5-6], antiviral [7], antimicrobial [8], anti-inflammatory [9], antifungal [10], antitumoral [11], they present a high interest in the field of organic and medicinal chemistry. Recent studies have also demonstrated high anticancer activity against different types of cancer. For example, they have manifested the capacity to inhibit tumour cells of lung cancer (A549) and cervical cancer (HeLa) [12].



R= 2-Cl; 3-Cl; 4-Cl; 2-NO2; 3-NO2; 4-NO2; 2,4-Cl2; 3,4-Cl2; 2,5-Cl2; 2-NO2-4-Cl.

Figure 2. Structure of the thiosemicarbazone [12].

Due to the presence of donor atoms of nitrogen and sulphur, thiosemicarbazones can form stable complexes with metal ions, present a wide range of biological activities identical to those of the free ligand [14–15]. The structural modifications of the ligand, especially substitution in the N4 position, can significantly influence the physico-chemical and biological properties of the resulting compounds. For example, the introduction of the cyclohexyl group in the N4 position of the thiosemicarbazone leads to the increase of the hydrophobic character of the molecule, which can facilitate the penetration of lipid cellular membranes [13]. This capacity is essential for the efficiency of bioactive compounds, as it allows the penetration of the compounds into the target cells and can lead to an improved biological activity.

In this article will be described the synthesis and physico-chemical characterisation of coordination compounds of Cu(II) with N^4-cyclohexylthiosemicarbazone of 2-acetylpyridine. Also, synthesised compounds were analysed for their antioxidant, antimicrobial and antifungal activity.

Materials and methods

Synthesis of precursors

Cyclohexyl isothiocyanate

To a mixture consisting of (an equivalent) cyclohexylamine, (an equivalent) triethylamine and benzene were added (an equivalent) thiophosgene. The reaction mixture was stirred for 3 hours at room temperature, followed by additional heating for 30 minutes at 40–55 °C. After a short time, the formation of a white-yellowish precipitate was observed. The solvent was distilled at reduced pressure up to approximately 70% of the initial volume. The formed precipitate was separated at reduced pressure by filtration using a Büchner funnel. The resulting solution was concentrated and purified by column chromatography on silica gel (63–200 μm). Elution with hexane was carried out until the chromatographic confirmation of the disappearance of the reaction product. Finally, the solvent was removed by distillation, obtaining a pale-yellow oil, corresponding to cyclohexyl isothiocyanate.

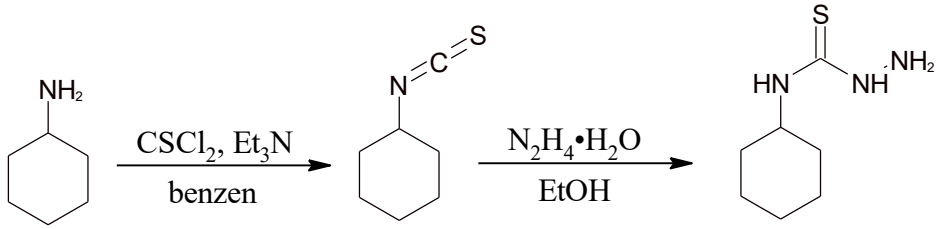


Figure 3. Synthesis scheme of N-cyclohexylhydrazinecarbothioamide from amine

N-cyclohexylhydrazinecarbothioamide

Into a conical flask were introduced (an equivalent) hydrazine monohydrate and 25 mL ethyl alcohol. The mixture was cooled in an ice-water bath. Subsequently, under stirring, were gradually added (an equivalent) cyclohexyl isothiocyanate, dissolved in a minimal amount of

ethyl alcohol. The reaction mixture was maintained under stirring for one hour at room temperature, the evolution of the reaction being monitored chromatographically.

N-cyclohexyl-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazine-1-carbothioamide or N^4-cyclohexiltiosemicarbazone of 2-acetylpyridine (HL)

A mixture consisting of (an equivalent) N-cyclohexylhydrazinecarbothioamide, (an equivalent) 1-(pyridin-2-yl)ethan-1-one, 0.5 mL glacial acetic acid and 20 mL ethanol was subjected to reflux for 7 hours, the evolution of the reaction being monitored chromatographically. After the N-cyclohexylhydrazinecarbothioamide was consumed, the solvent is partially distilled, up to approximately 70% of the initial volume. The obtained sediment being then filtered, washed with distilled water and recrystallised from ethanol. Obtained structural data coincide with the source [16].

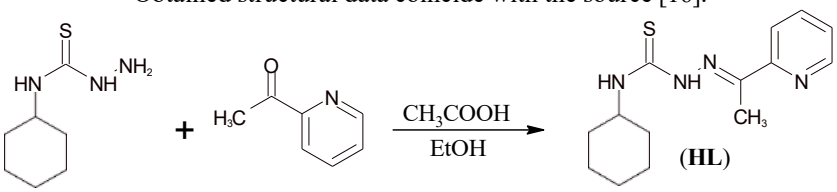


Figure 4. Synthesis scheme of thiosemicarbazone HL

Synthesis of coordination compounds

Synthesis of [Cu(HL)Br]Br (1)

The coordination compound (1) was synthesised following the general method with a 1:1 molar ratio. In a first step (1 mmol) of $CuBr_2$ were dissolved in 2 mL of ethanol, after which (1 mmol) of HL, dissolved in 3 mL of ethanol, were added with gentle heating in a water bath. The resulting mixture was homogenised and then refluxed for one hour. As a result of the reaction, a light green microcrystalline solid was formed. Obtained structural data coincide with the source [16].

Synthesis of [Cu(L)Cl] (2)

The coordination compound (2) was synthesised according to the general method with a 1:1 molar ratio. Thus, (1 mmol) of $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ were dissolved in 2 mL of ethanol, after which (1 mmol) of HL, dissolved in 3 mL of ethanol, were added with gentle heating in a water bath. The resulting mixture was homogenised and refluxed for one hour. As a result of the reaction, a green microcrystalline solid was formed. Obtained structural data coincide with the source [16].

Synthesis of [Cu(L)CH_3COO] (3)

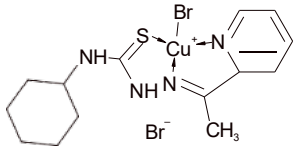
The coordination compound (3) was synthesised following the general method with a 1:1 molar ratio. For this purpose, (1 mmol) of $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ were dissolved in a mixture of 6 mL ethanol and 4 mL water, after which (1 mmol) of HL, dissolved in 3 mL ethanol, were added with gentle heating in a water bath. The resulting mixture was homogenised and refluxed for one hour. As a result of the reaction, a green microcrystalline solid was formed. Obtained structural data coincide with the source [16].

Synthesis of [Cu(L)NO_3] (4)

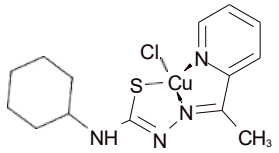
The coordination compound (4) was synthesised according to the general method with a 1:1 molar ratio. Thus, (1 mmol) of $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ were dissolved in 2 mL of ethanol, after which (1 mmol) of HL, dissolved in 3 mL of ethanol, were added with gentle heating in a water bath. The resulting mixture was homogenised and refluxed for one hour. As a result of the reaction, a green microcrystalline solid was precipitated. Obtained structural data coincide with the source [16].

Results and discusion

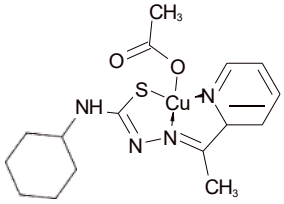
In total, one thiosemicarbazone and its precursors were obtained. On the basis of the obtained ligand, coordination compounds with different salts of Cu(II) were synthesised. The syntheses of the coordination compounds were carried out according to a standard procedure, without special synthesis conditions. Obtained structural data perfectly fits data demonstrated in source [16]. In Figure 5 are demonstrated the proposed chemical structures for the synthesised coordination compounds (**1-4**).



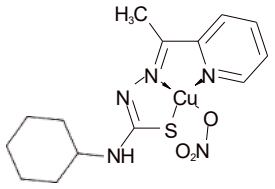
[Cu(HL)Br]Br (1)



[Cu(L)Cl] (2)



[Cu(L)CH_3COO] (3)



[Cu(L)NO_3] (4)

Figure 5. Proposed chemical structures of coordination compounds involving copper (1-4)

Antioxidant assay

Figure 6 presents the antioxidant activity of the thiosemicarbazone HL and its coordination compounds. The thiosemicarbazone HL exhibits a moderate antioxidant activity (IC_{50} = 27.4 μM), comparable to that of the standard compound Trolox (IC_{50} = 33.3 μM), whereas its complexes do not show considerable antioxidant activity under the experimental conditions.

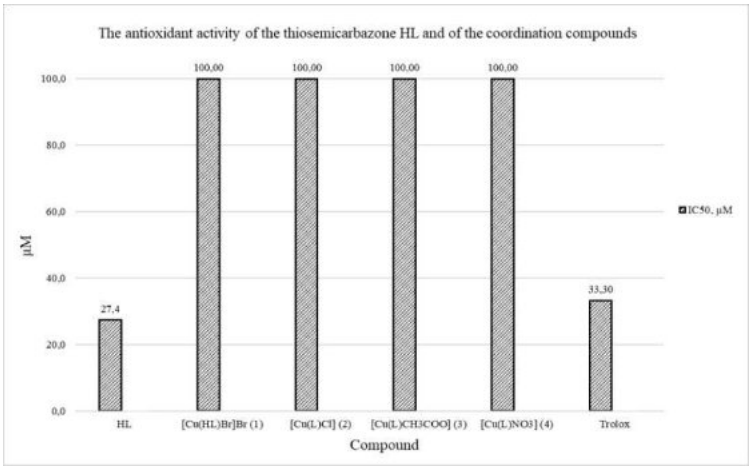


Figure 6. The antioxidant activity of the thiosemicarbazone HL and of the coordination compounds (1-4)

Antimicrobial and antifungal analysis

The antimicrobial and antifungal analysis demonstrated that the synthesised thiosemicarbazone exhibits antimicrobial activity approximately 76 times higher than the standard compound Furacilin against *S. aureus* (MIC = 0.06 μg/mL), and 20 times higher against *B. cereus* (MIC = 0.24 μg/mL) (Figure 7). Also, the thiosemicarbazone also shows moderate antifungal activity against *C. albicans* (MIC = 0.98 μg/mL). The coordination compounds of the thiosemicarbazone have lower antibacterial activity than the free ligand. However, some of them are effective against *A. baumannii*, where HL does not show activity. In general, the complexes exhibit the best activity against *S. aureus* and *C. albicans*.

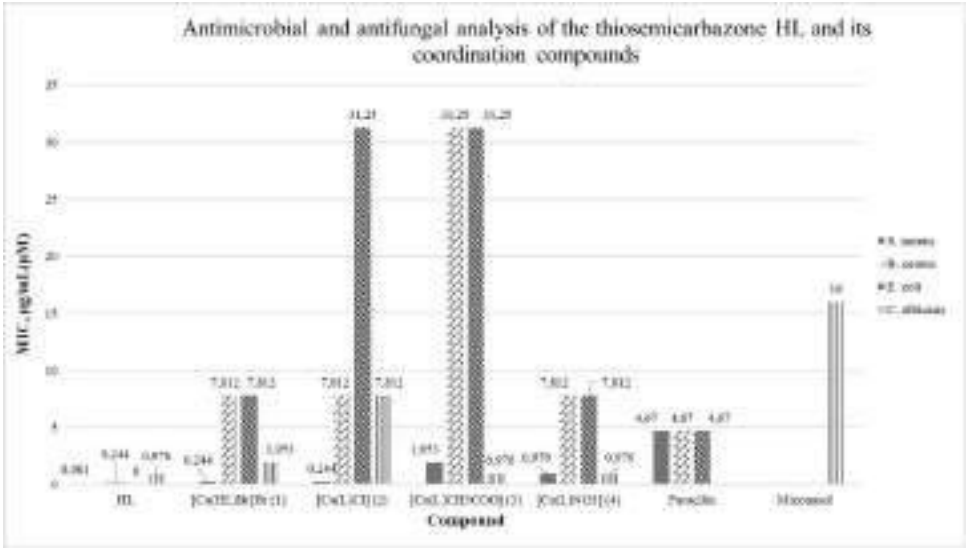


Figure 7. Antimicrobial and antifungal analysis of the thiosemicarbazone HL and its coordination compounds (1-4)

Conclusions

In total were synthesised: N^4-cyclohexylthiosemicarbazone of 2-acetylylpyridine (**HL**) and four coordination compounds based on it. The structures of the ligand and of the synthesised coordination compounds (**1-4**). Antioxidant analysis demonstrated that the coordination compounds do not exhibit considerable antioxidant activity, whereas the ligand demonstrates antioxidant properties at the level of the reference substance. Antimicrobial analysis demonstrated that the ligand HL exhibits the best activity against *S. aureus* of all investigated substances, having an MIC 75 times lower than Furacilin (Nitrofurazone). Cordination compounds **1** and **2** exhibit an MIC approximately 20 times lower than Furacilin against *S. aureus*. The ligand HL and complexes **3** and **4** exhibit similar antifungal activity against *C. albicans*, having an MIC 16 times lower than Miconazole. In the remaining cases, the investigated substances did not demonstrate a considerable effect (in comparison with reference substances).

Acknowledgment

The experimental material presented in the article was developed within the national project "Synthesis and study of new materials based on complex combinations with polyfunctional ligands and with useful properties in medicine, biology and technology" (SSMCCLP) (code: 010602); details at: https://ichem.md/SSMCCLP

References:

1. FERLAY, J., et al. Global Cancer Observatory: Cancer Tomorrow. International Agency for Research on Cancer. Available from: https://gco.iarc.who.int/tomorrow.
2. PAHONTU E., et al. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2015, Vol. 19, nr. 4, p. 865–878. DOI: https://doi.org/10.1111/jcmm.12508.
3. FILOMENI, G., et al. Pro-apoptotic Activity of Novel Isatin-Schiff Base Copper(II) Complexes Depends on Oxidative Stress Induction and Organelle-selective Damage. In: Journal of biological chemistry. 2007. DOI: https://doi.org/10.1074/jbc.M610927200.
4. FEI, B., et al. Effects of copper ions on DNA binding and cytotoxic activity of a chiral salicylidene Schiff base. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2014, Vol. 132, p. 36–44. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.01.018.
5. GARBUZ, Olga et al. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. Molecules. 2025, Vol. 30, nr. 9, p. 2077. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules30092077.
6. CIURSIN, A., RUSNAC, R., GULEA, A. 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
7. PADMANABHAN, P., et al. Antiviral activity of Thiosemicarbazones derived from α-amino acids against Dengue virus. Journal of Medical Virology. 2016, Vol. 89, nr. 3, p. 546–552. DOI: https://doi.org/10.1002/jmv.24655.
8. MOHAMED, N., MOHAMED, R., SEOUDI, R. Synthesis and characterization of some novel antimicrobial thiosemicarbazone O-carboxymethyl chitosan derivatives. International Journal of Biological Macromolecules. 2013, Vol. 63, p. 163–169. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.044.
9. JACOB, I., et al. Anti-inflammatory activity of novel thiosemicarbazone compounds indole-based as COX inhibitors. Pharmacological Reports. 2021, Vol. 73, nr. 3, p. 907–925. DOI: https://doi.org/10.1007/s43440-021-00221-7.
10. PAIVA, R., et al. Antifungal activities of thiosemicarbazones and semicarbazones against mycotoxigenic fungi. Ciência e Agrotecnologia. 2014, Vol. 38, nr. 6, p. 531–537. DOI: https://doi.org/10.1590/s1413-70542014000600001.
11. SHAKYA, B., YADAV, P. Thiosemicarbazones as a Potent Anticancer Agents and Their Modes of Action. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2019, Vol. 19. DOI: https://doi.org/10.2174/1389557519666191029130310.
12. SEVER, B. et al. Design, synthesis and in vitro evaluation of new thiosemicarbazone derivatives as potential anticancer agents. Journal of research in pharmacy. 2018, Vol. 23, nr. 1, p. 16–24. DOI: https://doi.org/10.12991/jrp.2018.104.
13. PÎNTEA, A., CIURSIN, A., RUSNAC, R., GULEA, A. 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
14. LIBERTA, A., și WEST, D. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. Biometals. 1992, Vol. 5, nr. 2, p. 121–126. DOI: https://doi.org/10.1007/bf01062223.
15. AL-AMIERY, A., KADHUM, A., MOHAMAD, A. Antifungal and Antioxidant Activities of Pyrrolidone Thiosemicarbazone Complexes. Bioinorganic Chemistry and Applications. 2012, Vol. 2012, p. 1–6. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/795812.
16. RUSNAC, R. Designul și sinteza compușilor biologic activi ai unor metale 3d cu tiosemicarbazone N(4)-substituite ale derivaților 2-formilpiridinei. Autoreferat al tezei de doctor în științe chimice. Chișinău, 2022.

Authors:



Iulia GRIBANOVA, master's student, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: gribanova.iulia@usm.md



Andrei CIURSIN, PhD student, specializing in coordination chemistry, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: ciursin.andrei@usm.md
ORCID: 0000-0002-3160-4582



Roman RUSNAC, Dr., senior scientific researcher/university lecturer, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: roman.rusnac@usm.md
ORCID: 0000-0002-5713-5251



Aurelian GULEA, Academician, Doctor Habilitate, University Professor, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

CZU: 544.142.3:546.562:547.497.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.16

COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CU TIOSEMICARBAZONA ȘI 4-FENILTIOSEMICARBAZONA 2,4-DIHIDROXIBENZALDEHIDEI ȘI SULFANILAMIDE

Maria BÎRCĂ, Aliona COTOVAIA, Victor ȚAPCOV,
Olga GARBUZ, Alexandra RANEȚCHI, Aurelian GULEA

Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

Compușii coordinativi ai metalelor 3d cu liganzi micști, de exemplu, o tiosemicarbazonă a aldehidei sau cetonei biologic active și încă un ligand, care este deja un medicament, prerezintă interes științific. Astfel, au fost sintetizați 12 compuși coordinativi de cupru(II) cu tiosemicarbazona (H_2L^1) sau 4-feniltiosemicarbazona (H_2L^2) 2,4-dihidroxibenzaldehidei și sulfanilamide precum streptocida (Sf^1), sulfacetamida (Sf^2), norsulfazol (Sf^3), etazol (Sf^4), sulfadiazina (Sf^5), sulfadimezina (Sf^6), pentru care în baza datelor analizei elementale și a spectroscopiei de absorbție în domeniul IR s-a stabilit compoziția $[CuSf^{1-6}L^{1-2}] \cdot nH_2O$. Studiul proprietăților antioxidative a arătat, că substanțele inițiale nu prezintă activitate antioxidantă, în timp ce compușii complecși finali prezintă activitate antioxidantă în intervalul concentrațiilor de inhibare semimaximală cuprinse între 3,45 - 63,03 μmol/L. Complecșii cu etazolul și streptocida manifestă o activitate antioxidantă mai pronunțată decât Troloxul, utilizat în biochimie ca substanță de referință.

Cuvinte-cheie: tiosemicarbazonă, sulfanilamide, 2,4-dihidroxibenzaldehidă, tiosemicarbazidă, 4-feniltiosemicarbazidă, antioxidanți, ligand, complex, sinteză, proprietăți.

COORDINATION COMPOUNDS OF COPPER(II) WITH THIOSEMICARBAZONE AND 4-PHENYLTHIOSEMICARBAZONE 2,4-DIHYDROXYBENZALDEHYDES AND SULFANILAMIDES

Abstract

Coordination compounds of 3d metals with mixed ligands, for example, a thiosemicarbazone of a biologically active aldehyde or ketone and another ligand that is already a drug, are of scientific interest. Thus, 12 coordination compounds of copper(II) with thiosemicarbazone (H_2L^1) or 4-phenylthiosemicarbazone (H_2L^2) of 2,4-dihydroxybenzaldehyde and sulfanilamides such as streptocide (Sf^1), sulfacetamide (Sf^2), norsulfazole (Sf^3), etazole (Sf^4), sulfazine (Sf^5), and sulfadimezine (Sf^6) were synthesized, for which the composition was established as $[CuSf^{1-6}L^{1-2}]\cdot nH_2O$ ased on the data of elemental analysis and IR absorption spectroscopy. The study of antioxidant properties showed that the initial substances do not exhibit antioxidant activity, while the compounds of the final complexes exhibit antioxidant activity in the range of half-maximal inhibition concentrations from 3.45 to 63.03 μmol/L. Complexes with etazol and streptocide exhibit a more pronounced antioxidant activity than Trolox, used in biochemistry as a reference substance.

Keywords: thiosemicarbazone, sulfanilamides, 2,4-dihydroxybenzaldehyde, thiosemicarbazide, 4-phenylthiosemicarbazide, antioxidants, ligand, complex, synthesis, properties.

Introducere

Sulfanilamidele (denumite și sulfamide sau sulfonamide) reunesc o clasă de antibiotice sintetice bacteriostatice, în a căror structură se regăsește grupa funcțională sulfonamidă. Această clasă de substanțe medicamentoase a avut cel mai mare succes chimioterapeutic datorită activități antimicrobiene ridicate și spectrului larg de acțiune asupra cocilor gram-pozitivi și gram-negativi. Ele au o acțiune în general bacteriostatică (dar în concentrații mari ele devin bactericide), împiedică multiplicarea și scad vitalitatea microorganismelor și astfel cauzează

moartea lor. În deceniile, care au urmat descoperirii sulfanilamidei, au fost sintetizați mii de derivați pentru a găsi compuși mai eficienți, cu proprietăți mai diverse și mai puțin toxici. Unele din ele, ca streptocida, norsulfazolul, sulfazina, sulfadimezina, etazolul, sulfapiridazina, sulfadimetoxina etc. se absorb relativ ușor și se acumulează rapid în sânge și organe în concentrații bacteriostatice sau penetrează barierele histohematice [1]. Astfel, și azi se menține un interes considerabil pentru compușii coordinativi ai metalelor 3d cu liganzi micști ce conțin o tiosemicarbazonă biologic activă, și un ligand care este un medicament ca o sulfanilamidă. S-a stabilit, că activitatea acestor preparate depinde de natura atomului central, a ligandului chelant și a sulfanilamidei conținute în complex. Prin urmare, sinteza de noi compuși coordinativi cu liganzi micști de acest tip continuă să prezinte un interes pentru noi studii.

Metode și materiale aplicate

Sinteza compușilor coordinativi de cupru(II), ce conțin tiosemicarbazona 2,4-dihidroxibenzaldehidei (H_2L^1) și sulfanilamide (Sf^{1-6}) se realizează conform schemei din fig.1.

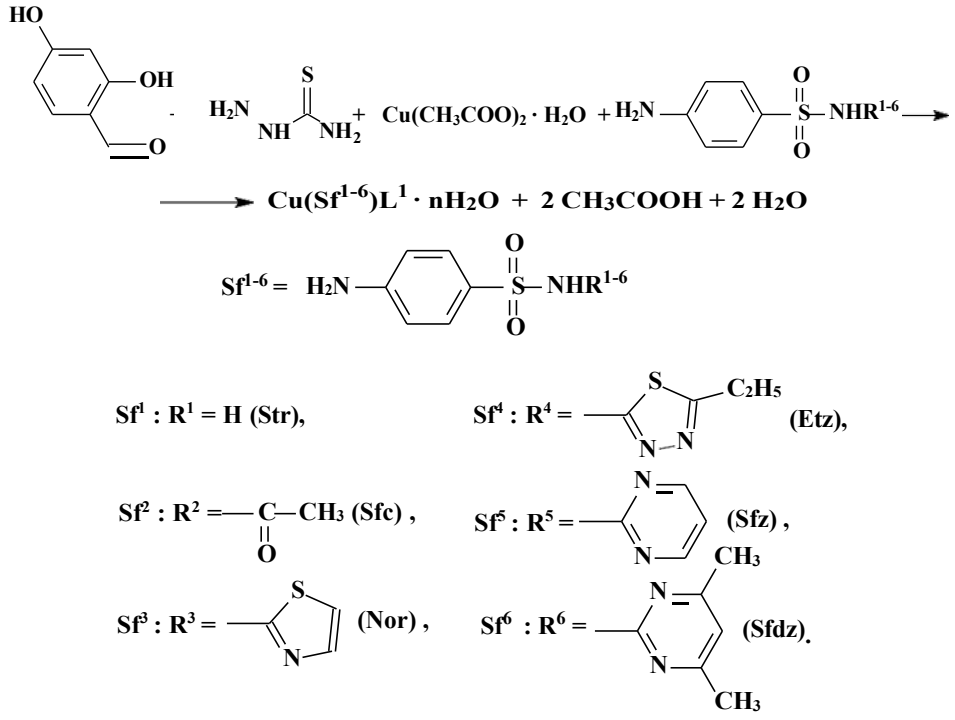
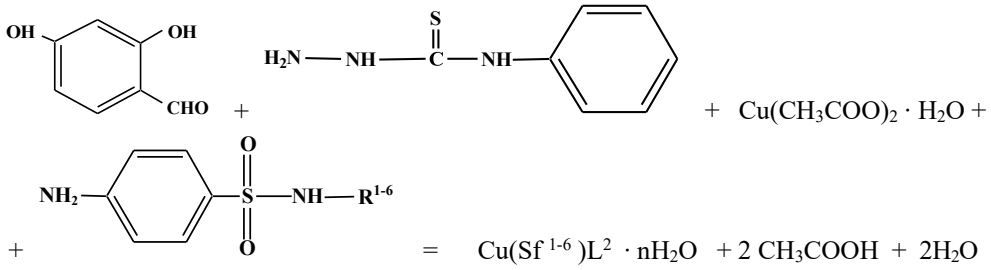
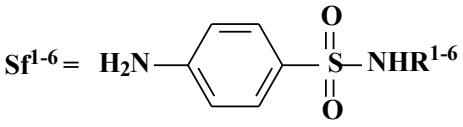


Figura 1. Schema de sinteza a compușilor coordinativi I -VI

Pentru a sintetiza compușii I -VI s-a utilizat următoarea metodă: la 2,2 mmol de 2,4-dihidroxibenzaldehidă se adăugă 2,2 mmol de tiosemicarbazidă și 2,2 mmol de $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ în 30 mL de etanol. Amestecul rezultat se agită și se încălzește timp de 20 de minute până la dizolvarea precipitatului. Apoi, în mediul de reacție se adăugă 2,2 mmol de sulfanilamida (Sf^{1-6}) respectivă. Conținutul balonului se agită și se încălzește timp de aproximativ 60 de minute. După răcirea soluției până la temperatura camerei substanța maro rezultată a fost filtrată, spălată cu etanol și uscată la aer până la o masă constantă.



unde:



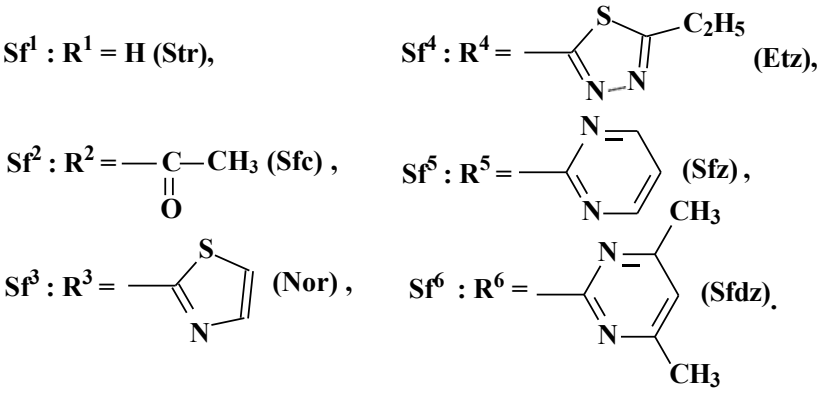


Figura 2. Schema de sinteză a compușilor coordinativi VII-XII

Pentru a sintetiza compușii VII-XII s-a utilizat următoarea metodă: laa 1,45 mmol de 2,4-dihidroxibenzaldehidă s-au adăugat 1,45 mmol de 4-feniltiosemicarbazidă și 1,45 mmol de $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ în 20 mL de etanol. Amestecul rezultat a fost agitat și încălzit timp de 30 de minute până la dizolvarea precipitatului. Apoi, la amestec s-au adăugat câte 1,45 mol de sulfanilamida respectivă (Sf^{1-6}). Conținutul balonului a fost agitat și încălzit timp de aproximativ 60 de minute. După răcire până la temperatura camerei, substanța maro rezultată a fost filtrată, spălată cu etanol și uscată la aer până la o masă constantă.

Rezultate obținute și discuții

Compușii coordinativi ai metalelor de tranziție cu liganzi micști ca tiosemicarbazonele aldehidelor sau cetonelor și un alt ligand, cunoscut deja ca un medicament sunt biologic activi. Anterior, în laboratorul de cercetare „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică" USM, au fost sintetizați compuși coordinativi ai cuprului(II) cu liganzi micști ca tiosemicarbazona aldehidei salicilice și sulfanilnamide [2]. S-a stabilit, că aceste substanțe manifestă o activitate antimicrobiană și antifungică ridicată, inhibă creșterea și proliferarea celulelor canceroase HL-60 de leucemie mieloidă umană și au, de asemenea, o activitate antioxidantă selectivă [3]. În acest sens, prezintă un interes studierea modului în care introducerea unei grupe hidroxil în poziția 4 a fragmentului saliciliden al tiosemicarbazonelor, care contribuie la creșterea

solubilității substanțelor, va afecta compoziția, structura, proprietățile fizico-chimice și biologice ale complecșilor sintetizați.

Pentru atingerea obiectivului stabilit, s-a efectuat sinteza template a compușilor coordinativi. În acest scop, acetatul de cupru(II) și sulfanilamida corespunzătoare, luate într-un raport molar de 1:1, au fost adăugate la o soluție alcoolică de 2,4-dihidroxibenzaldehidă și tiosemicarbazidă sau 4-feniltiosemicarbazidă, luate în același raport molar de 1:1. Reacțile decurg cu un randament de 50-60% în 45-60 de minute.

Compoziția substanțelor obținute a fost stabilittă pe baza datelor de analiză elementală la metal și apă. Conținutul de cupru a fost determinat prin descompunerea unei probe de complex, folosind un amestec de acizi sulfuric și azotic concentrați, urmată de neutralizarea amestecului rezultat cu o soluție de amoniac și titrarea unei părți alicote cu Trilon-B în prezența indicatorului murexid. Cantitatea de apă a fost determinată gravimetric prin încălzirea unei probe de complex într-o etuvă de uscare la 105ºC timp de 1 oră. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Caracteristica compușilor coordinativi sintetizați

Nr.	Compusul coordinativ	η, %	Formula brută	Conținutul de cupru, %		Conținutul de apă, %	
				Exper.	Calc.	Exper.	Calc.
I	$[Cu(Sf^1)L^1]\cdot 3H_2O$	58	$CuC_{14}H_{21}N_5O_7S_2$	13,32	12,82	10,32	10,82
II	$[Cu(Sf^2)L^1]\cdot 2H_2O$	56	$CuC_{16}H_{20}N_5O_7S_2$	13, 19	12,26	7,29	6,89
III	$[Cu(Sf^3)L^1]\cdot 4H_2O$	52	$CuC_{17}H_{24}N_6O_8S_3$	11, 15	10,66	11,6	12,00
IV	$[Cu(Sf^4)L^1]\cdot 2H_2O$	57	$CuC_{18}H_{21}N_7O_6S_2$	11, 22	10,79	6,47	6,07
V	$[Cu(Sf^5)L^1]\cdot 2H_2O$	51	$CuC_{20}H_{27}N_7O_7S_2$	12, 14	11,09	8,86	9,36
VI	$[Cu(Sf^6)L^1]\cdot 3H_2O$	59	$CuC_{18}H_{25}N_7O_7S_3$	11,37	10,58	8,53	8,93
VII	$[Cu(Sf^1)L^2]\cdot 2H_2O$	52	$CuC_{20}H_{23}O_6N_5S_2$	12,32	11,49	5,96	6,46
VIII	$[Cu(Sf^2)L^2]\cdot 4H_2O$	55	$CuC_{22}H_{29}O_9N_5S_2$	11,15	10,07	11,74	11,34
IX	$[Cu(Sf^3)L^2]\cdot 3H_2O$	58	$CuC_{23}H_{26}O_7N_6S_3$	10,65	9,73	7,71	8,21
X	$[Cu(Sf^4)L^2]\cdot 3H_2O$	54	$CuC_{24}H_{29}O_7N_7S_3$	10,28	9,32	8,36	7,86
XI	$[Cu(Sf^5)L2]\cdot 4H_2O$	56	$CuC_{24}H_{29}O_8N_7S_2$	10,46	9,54	10,23	10,73
XII	$[Cu(Sf^6)L^2]\cdot 3H_2O$	53	$CuC_{26}H_{31}O_7N_7S_2$	10,33	9,40	8,33	7,93

Spectrele IR au fost înregistrate în domeniul 4000-400 cm^{-1}. S-a stabilit, că în complecșii studiați, tiosemicarazonele H_2L^{1-2}, obținute pe matricea ionilor de cupru(II) funcționeaza ca liganzi tridentați, dublu deprotonați, legându-se la atomul central prin atomul de oxigen fenolic din poziția 2, azotul azometinic, atomul de sulf tiolic în forma tiolică deprotonată, formând metalocicluri cu cinci și șase atomi. Acest lucru este confirmat de dispariția benzilor de absorbție δ(OH), ν(NH), ν(C=S) în spectrele IR ale substanțelor studiate, care în spectrele 2,4-dihidroxibenzaldehidei, tiosemicarbazidei și 4-feniltiosemicarbazideidei se observă la 1245, 1240; 1540, 1535 și 1125, 1120 cm^{-1}. În spectrele de absorbție acomplecșilor studiați banda de absorbție ν(C-S) se regăsește în domeniul 750-740 cm^{-1}, iar banda ν(C=N) se deplasează cu 20-25 cm^{-1} spre domeniul de frecvențe mai joase în comparație cu poziția ν(C=N), caracteristică tiosemicarbazonelor libere. În compușii coordinativi această bandă de absorbție este scindată în două componente. În domeniul 1570, 1560 cm^{-1}, în spectrele tuturor compușilor se observă o bandă de absorbție, caracterictică vibrațiilor de valență a >C=N-N=C<. Această caracteristică a spectrelor IR indică enolizarea tiosemicarbazonei sub influența ionilor de acetat, care acționează ca acceptor de protoni. În domeniul 600-405 cm^{-1} în spectrele tuturor substanțelor se observă o serie de noi benzi de absorbție, care, conform datelor din literatură, se atribuie la ν(Cu-N), ν(Cu-O) și ν(Cu-S). Sulfanilamidele studiate în complecși se comportă ca liganzi monodentați, coordinând la generatorul de complex prin atomul de azot al grupării amine în cazul streptocidei

(Sf^1) și sulfacetamidei (Sf^2), atomii de azot tiazolici sau tiodiazolici în cazul norsulfazolului (Sf^3) și etazolului (Sf^4) și prin azotul piridazinic în cazul sulfadiazinei (Sf^5) și sulfadimezinei (Sf^6).

În baza cercetărilor efectuate și prin analogie cu datele din literatură, se poate presupune schema de distribuție a legăturilor chimice pentru substanțele sintetizate, prezentată în fig.3.

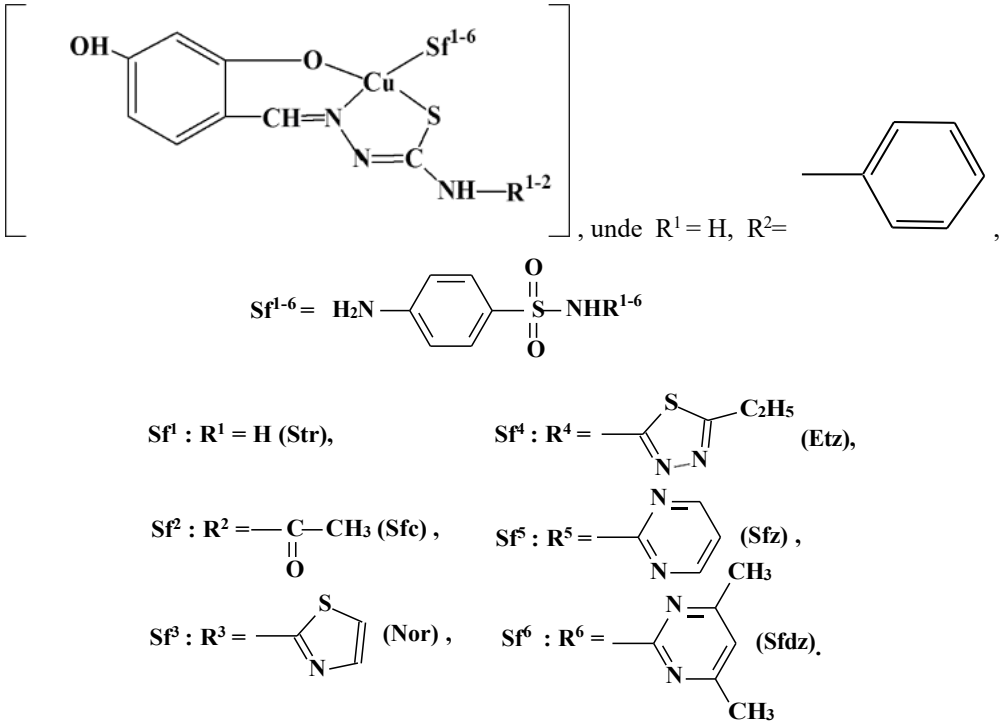


Figura 3. Schema distribuției legăturilor chimice în compușii coordinativi

În ultimii ani experții în biochimie acordă o atenție deosebită studiului activității antioxidante, datorită faptului, că radicalii liberi formați în diverse procese metabolice nu sunt întotdeauna neutri în corpul uman. Radicalii liberi sunt specii instabile, cu electroni neîmperecheați, rezultați din metabolism sau factori externi (poluare, tutun), care provoacă stresul oxidativ și îmbătrânirea celulară prin atacarea celulelor sănătoase. Activitatea antioxidantă constă în neutralizarea acestora prin donarea de electroni, protejând corpul de boli cronice precum cancerul sau diabetul [4]. Substanțele capabile să transforme radicalii liberi într-o formă inactivă se numesc antioxidanți. Cel mai des, în practica medicală se utilizează extracte din produse naturale (ceai, sucuri de fructe), care conțin vitaminele E și C. Cu toate acestea, cantitatea de antioxidanți din aceste produse naturale este limitată, deci au o eficiență scăzută. Troloxul, un analog al vitaminelor E și C, este utilizat ca standard pentru determinarea activității antioxidante a substanțelor naturale și sintetice în analiza biochimică.

Rezultatele studiului activității antioxidante a substanțelor sintetizate sunt prezentate în Tabelul 2, din care reiese că precursorii nu manifestă activitate antioxidantă (concentrația semimaximală de inhibare (IC_{50}) este cuprinsă în intervalul 58,85 - 100 μmol/L, în timp ce toți compușii complecși prezintă proprietăți antioxidante în intervalul de concentrație de 3,45 - 63,03 μmol/L.

Tabelul 2. Proprietățile antioxidative a liganzilor și compușilor I -VI

№	Substanța	M, g/mol	C, μM	(ABTS) % inh	SD	IC_{50}, μM	SD
1	Trolox					15.6	0.4
2	2,4-dihidroxibenzaldehida	138	100	55,54	0,88	58,85	5,29
			10	32,63	0,63		
			1	17,67	0,29		
3	tiosemicarbazona 2,4-dihidroxibenzaldehidei (H_2L^1)	291	100	88,29	0,26	12,85	0,12
			10	43,54	0,26		
			1	8,71	0,19		
4	streptocidă (Sf^1)	172	100	12,17	0,26	≥100	
			10	6,08	0,29		
			1	5,71	0,19		
5	$[Cu(Sf^1)L^1] \cdot 3H_2O$	445	100	87,21	0,14	10,20	0,21
			10	51,08	0,62		
			1	8,38	0,25		
6	sulfacetamidă (Sf^2)	214	100	10,33	0,31	≥100	
			10	7,04	0,14		
			1	4,00	0,25		
7	$[Cu(Sf^2)L^1] \cdot 2H_2O$	486	100	82,04	0,31	31,05	0,84
			10	18,42	0,75		
			1	4,54	0,07		
8	Sulfadiazină (Sf^5)	250	100	16,71	0,07	≥100	
			10	17,25	0,12		
			1	16,04	0,14		
9	$[Cu(Sf^5)L^1] \cdot 2H_2O$	523	100	92,04	0,29	19,60	0,62
			10	26,92	1,13		
			1	8,67	0,31		
10	sulfadimezină (Sf^6)	278	100	11,42	0,47	≥100	
			10	6,54	0,14		
			1	5,46	0,19		
11	$[Cu(Sf^6)L^1] \cdot 3H_2O$	551	100	60,33	0,64	63,03	2,58
			10	15,54	0,95		
			1	4,38	0,25		
12	norsulfazol (Sf^3)	255	100	40,13	0,63	≥100	
			10	19,42	0,19		
			1	13,50	0,00		
13	$[Cu(Sf^3)L^1] \cdot 4H_2O$	528	100	64,04	0,75	53,16	3,05
			10	17,38	1,57		
			1	5,50	0,22		
14	etazol (Sf^4)	284	100	9,58	0,07	≥100	
			10	11,58	0,72		
			1	12,00	0,33		
15	$[Cu(Sf^4)L^1] \cdot 2H_2O$	557	100	85,42	0,14	3,45	0,21
			10	78,33	1,51		
			1	20,08	0,76		

După cum se poate observa din rezultatele prezentate în tabelul 2, în unele cazuri, compușii complecși sintetizați au o activitate inferioară Troloxului, iar în unele cazuri îl depășesc. De exemplu, complexul CuL^1Etz este de 4,5 ori mai activ decât Troloxul, iar complexul cu streptocidă depășește activitatea Troloxului de 1,5 ori, în cazul altor sulfonamide, Troloxul le

depășește. Astfel, aceste rezultate arată că concentrația semimaximală de inhibare (IC_{50}) a complecșilor este influențată de natura sulfanilamidelor și se modifică conform seriei: $Sf^4 > Sf^1 > Sf^6 > Sf^2 > Sf^3 > Sf^5$.

Complexul $[Cu(Sf^4)L^1]\cdot 2H_2O$ prezintă interes pentru practica medicală în vederea unor cercetări ulterioare.

Concluzii

1. Au fost identificate condițiile pentru sinteza a 12 compuși coordinativi ai cuprului(II) cu liganzi micști care conțin tiosemicarbazona sau 4-feniltiosemicarbazona 2,4-dihidroxibenzaldehidei (H_2L^{1-2}) și sulfanilamide precum streptocida (Sf^1), sulfacetamida (Sf^2), norsulfazol (Sf^3), etazol (Sf^4), sulfadiazina (Sf^5) și sulfadimezina (Sf^6) cu compoziția $[CuSf^{1-6}L^{1-2}] \cdot nH_2O$, unde n = 2-4.

2. Analiza comparativă a spectrelor IR ale precursorilor și a compușilor complecși sintetizați a arătat că tiosemicarbazonele H_2L^{1-2} se comportă ca liganzi tridentați dublu deprotonați, coordinându-se cu atomul central prin intermediul oxigenului fenolic, azotului azometinic și atomului de sulf, formând metalocicluri cu cinci și șase membri. Sulfanilamidele se comportă ca liganzi monodentați, coordinând prin atomul de azot.

3. Studiul proprietăților antioxidante a arătat, că substanțele organice inițiale nu prezintă activitate antioxidantă, în timp ce compușii complecși prezintă activitate antioxidantă cu concentrațiile semimaximale de inhibare cuprinse în intervalul 3,45 - 63,03 μmol/L, care depinde de natura sulfanilamidei și se modifică conform șirului: etazol > streptocidă > sulfadimezină > sulfacetamidă > norsulfazol > sulfadiazină.

Notă

Lucrarea dată a fost efectuată în cadrul subprogramei „Sinteza și studiul materialelor noi în baza combinațiilor complexe cu liganzi polifuncționali și cu proprietăți utile în medicină, biologie și tehnică” (SSMCCLP) (cod: 010602).

Referințe:

1. Cionga, E., Avram, L. Medicamente chimioterapice, secțiunea Sulfamide cu acțiune bacteriostatică. Cluj-Napoca: Dacia, 1978, 95–138.
2. Cotovaia, A., Țapcov, V., Darii, A., Gulea, A. Saliciliden-4-etiltiosemicarbazidații de Cu(II) care conțin sulfanilamide. In: Conferința științifică națională cu participare internațională „Integrare prin cercetare şi inovare”. 10–11 noiembrie 2022, Universitatea de Stat din Moldova.
3. Gulea, A., Lozan-Tirsu, C., Tapcov, V., Rudic, V. Antimicrobial effect of copper coordination compounds containing sulphanilamides and 4-phenylthiosemicarbazone pyridine-2-carboxyaldehyde. In: 1er Colloque Franco-Roumain de Chimie Medicinale. 07–08 octobre 2010, Iaşi: Univ. Alexandru Ioan Cuza, 48.
4. Garbuz, O., Gudumac, V., Toderas, I., Gulea, A. Antioxidant properties of synthetic compounds and natural products. Action mechanisms. Chișinău: CEP USM, 2023, 298 p. ISBN: 978-9975-62-516-6.

Date despre autori:



Maria BÎRCĂ, doctor în chimie, conferențiar universitar, cercetător științific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: maria.birca@usm.md
ORCID: 0000-0001-5041-6520



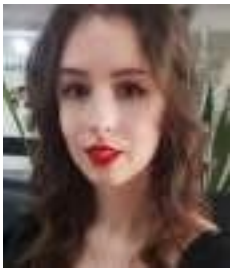
Aliona COTOVAIA, doctor în chimie, conferențiar universitar, cercetător științific superior, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: cotovaia@gmail.com
ORCID: 0000-00025299-2887



Victor ȚAPCOV, doctor în chimie, conferențiar universitar, cercetător științific coordonator, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: vtsapkov@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1732-3116



Olga Garbuz, doctor în ştiinţe biologice,
Laboratorul de Sistematică și Filogenetică Moleculară,
Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Alexandra RANEȚCHI, licențiat în chimia biofarmaceutică, Universitatea de Stat din Moldova,
e-mail: cbf20ranetchi.alexandra@gmail.com
ORCID: 0009-0009-4386-7038



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

CZU: 548.736.3 + 547.587.11 https://doi.org/10.59295/mabt2026.17

4-AMINOSALICYLIC ACID – 4-ACETYLPYRIDINE COCRYSTAL: SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS

Anastasia GOROBET, Marina S. FONARI, Lilia CROITOR

Institute of Applied Physics, Moldova State University, Academy str, 5 MD2028, Chisinau, Moldova

Abstract

A new cocrystal of pharmaceutically relevant 4-aminosalicylic acid (ASA) with 4−acetylpyridine (AP) was obtained by solvent co-crystallization from methanol and characterized. The ASA−AP binary product crystallizes in the monoclinic space group P21/n, with a = 7.032(2), b = 15.2527(19), c = 12.7106(14) Å; β = 105.48(2), V = 1313.8(4) Å3, Z = 4. The ASA and AP molecules are present in a 1:1 molar ratio in the asymmetric unit. Classical O−H···N and non-classical C−H···O hydrogen bonds stabilize the supramolecular architecture through the interplay of homomeric and heteromeric supramolecular motifs. The acid–pyridine O–H···N hydrogen bond plays a key role in the formation of the supramolecular assembly. In addition, Hirshfeld surface analysis provides deeper insight into the distribution of intermolecular interactions in the cocrystal.

Keywords: cocrystal, 4-aminosalicylic acid, 4-acetylpyridine, hydrogen bonding, crystal structure, Hirshfeld surface analysis.

Introduction

Cocrystals are homogeneous crystalline materials composed of two or more distinct neutral molecules in a definite stoichiometric ratio, connected through non-covalent interactions such as hydrogen bonds [1, 2]. One of the main advantages of cocrystals is their ability to modify physicochemical properties without covalent modification of the constituent molecules, allowing regulation of solubility, dissolution rate, stability, and other material characteristics [1, 2]. 4-Aminosalicylic acid (ASA, also known as para-aminosalicylic acid) is an antibiotic primarily used to treat tuberculosis (TB) by inhibiting folic acid synthesis, and a local anti-inflammatory agent for inflammatory bowel disease (IBD). It is also used in combination with other antituberculosis medications (e.g., isoniazid) to treat multi-drug-resistant TB [3]. The inspection of literature sources revealed the thought-provoking examples of ASA cocrystals obtained by different cocrystallization techniques. André et al. reported the multicomponent ASA solids as solvates and molecular salts with dioxane, morpholine and piperazine obtained by grinding/kneading and solution methods [4]. Polymorphic modifications were observed for the ASA cocrystals with sulfadimidine (SD) prepared via liquid-assisted milling or the spray drying [5]. The variation in stoichiometry was reported for the ASA cocrystals with the anticonvulsant drug carbamazepine (CBZ) that led to dramatic decrease of the CBZ rate of conversion from anhydrous to the hydrated form, and as a consequence, to approximately 1.5 times solubility improvement [6]. To optimize the low solubility of ASA that strictly limits its absorption and clinical application, Tang et al. reported the ASA-nicotinamide (NCT) cocrystal obtained by the grinding method that demonstrated the solubility increase by more than 20 times for the cocrystal [7]. The influence of solution composition and solvent on the cocrystallization outcome, and the applicability of the ΔpKa rule was shown on a set of ASA multicomponent solids with various pyridine-based compounds [8]. The literature sources reveal no principal restrictions in using liquid or low melting compounds as coformers [9-14]. Pyridine derivatives are frequently used as coformers due to the strong hydrogen-bond-acceptor ability of the pyridine nitrogen. 4-Acetylpyridine (AP), a liquid under ambient conditions, is suitable as a coformer. Additionally, AP exhibits a wide range of biological activities, including antiproliferative effects against human cancer cell lines in trans-[$PtCl_2$(4-acetylpyridine)$_2$] complexes [15].

In this paper, we applied a cocrystal strategy to combine 4-aminosalicylic acid (ASA) with 4-acetylpyridine (AP), to obtain the corresponding cocrystal, ASA-AP.

Results and Discussion

Synthesis and Crystallization. The starting reagents, 4-aminosalicylic acid (ASA) and 4-acetylpyridine (AP) were obtained from commercial suppliers and used without further purification. A mixture of 4-acetylpyridine (0.011 mL, 0.1 mmol) and 4-aminosalicylic acid (15.3 mg, 0.1 mmol) was dissolved in 10 mL of methanol. The reaction mixture was refluxed at 60 °C for 4 h to give a clear solution. After filtration, the solution was left to evaporate slowly at room temperature, yielding crystals ASA-AP suitable for single crystal X-ray diffraction.

X-ray study. The single crystal X-ray data were collected at room temperature on an Xcalibur E diffractometer equipped with a CCD area detector and a graphite monochromator utilizing MoK_{α} radiation at room temperature. Structure solution, refinement, and data output were carried out with the SHELXTL program [16]. The crystal structure was refined as a two-component twin. Non-hydrogen atoms were refined in anisotropic approximation. The hydrogen atoms were placed in geometrically calculated positions with reference to C–O distances and C–N–C angles that corresponded to the neutrality of the cocrystal components. The X–ray data and the details of the refinement for ASA-AP are summarized in Table 1. Complete information about the crystal structure and molecular geometry is available in CIF file deposited in the Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC deposition number 2539113. These data can be obtained free of charge via https://www.ccdc.cam.ac.uk/deposit, or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

Table 1. Crystal data and structure refinement details for ASA-AP cocrystal.

Compound	ASA-AP
Empirical formula	$C_{14}H_{14}N_2O_4$
Formula weight	274.27
Temperature, K	295(2)
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1/n$
Unit cell dimensions	
a, Å	7.032(2)
b, Å	15.2527(19)
c, Å	12.7106(14)
b, °	105.48(2)
*V*olume, Å^3	1313.8(4)
Z	4
D(calcd), g/cm^3	1.387
μ, mm^{-1}	0.103
F(000)	576
Reflections collected	8466
Independent reflections	2381 [*R*(int) = 0.0762]
Data / restraints / parameters	2381 / 3 / 191
Goodness-of-fit on F^2	0.951
Final *R* indices [$I>2\sigma(I)$] R_1, wR_2	0.0800, 0.1944
R indices (all data), R_1, wR_2	0.1595, 0.2440

The cocrystal ASA−AP crystallizes in the centrosymmetric monoclinic space group $P2_1/n$. The ASA and AP molecules are present in a 1:1 molar ratio and occupy general positions in the unit cell. Both molecules have planar skeletons. The twisted angle between the phenyl ring and

the carboxylic group in ASA is 1.97(4)°, while the twisted angle between the acetyl group and the pyridine ring in AP is 2.88(5)°. The planar conformation of ASA is stabilized by the intramolecular OH···O hydrogen bond, O(3)–H(3A)···O(1) (H···O, O···O 1.87, 2.579(4) Å) in the form of $S_1^1(6)$ H-bonded graph set (Fig. 1a, Table 2). The neutrality of both components in cocrystal is justified by the molecular geometries, namely, by non-equalised C–O bond distances, C(1)–O(1) 1.227(5) and C(1)–O(2) 1.324(5) Å, with the H atom localized near the carboxylic group and the elongated C–O(H) bond compared with the C=O bond of the carbonyl group. The molecules form linear binary adduct via robust acid-base $R_2^2(7)$ supramolecular synthon originated from association of one OH···N and one CH···O hydrogen bond (Table 2), which is the main structure-directing force typical for the acid-pyridine-base cocrystals [8]. This $R_2^2(7)$ H-bonded pattern is roughly planar, arranging ASA and AP molecules nearly in the same plane, as indicated by an ASA/AP interplanar angle of 1.94(2)°. The ASA molecules, related by the two-fold screw axis, also exhibit a self-association homomeric H-bonded motif. They form the H-bonded chain *via* N(1)-H…O(2) hydrogen bond, while the second amino H-atom participates in an acid-base N(1)-H…O(4) H-bond involving the carbonyl oxygen atom of the AP coformer, resulting in a stair-case double tape motif with chains lying in planes separated by 1.665 Å (Fig. 1b). These H-bonded tapes pack in a stacking arrangement, forming columns with alternating ASA and AP molecules. The π-π stacking is efficient, with $Cg_1 \ldots Cg_2$ separations alternating as 3.840(4) and 3.850(4) Å (Fig. 1 c, d).

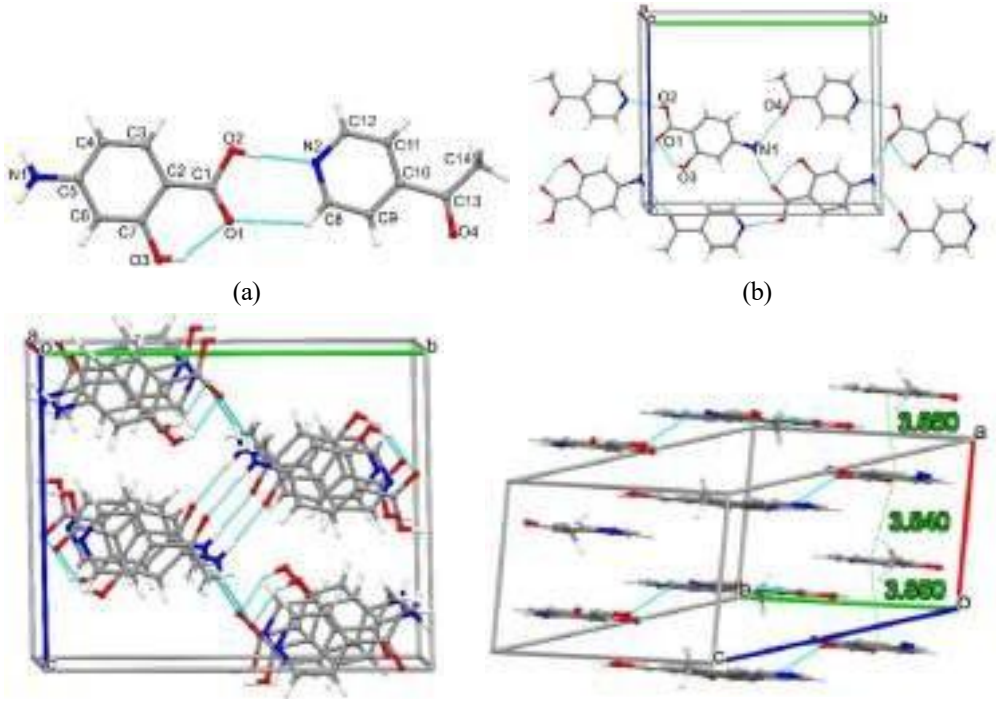
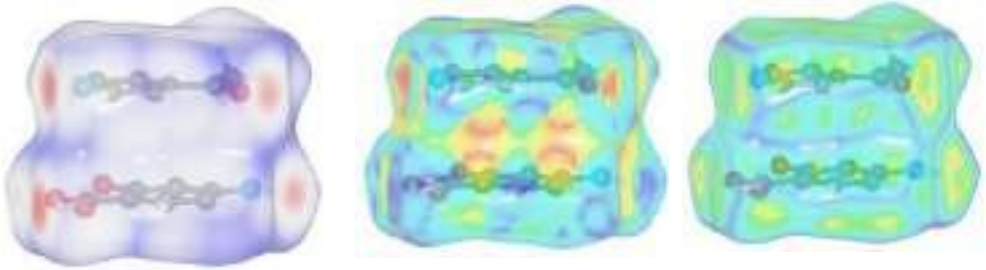


Figure 1. Crystal structure of ASA-AP cocrystal. (a) View of formula unit; (b) H-bonded tape running along the b-axis; (c) view of stacking columns along the a-axis; (d) crystal packing with indication of Cg1…Cg2 distances.

Table 2. Hydrogen bonds for ASA-AP cocrystal [Å and °].

Donor-H···Acceptor	d(D-H)	d(H···A)	d(D···A)	∠(DHA)	Symmetry transformations for acceptor
N(1)–H(1N)···O(1)	0.86(2)	2.51(4)	3.232(6)	143(6)	1/2-*x*, *y*+1/2, 3/2-*z*
N(1)–H(2N)···O(4)	0.86(2)	2.11(2)	2.963(6)	174(6)	1-*x*, 1-*y*, 1-*z*
O(2)–H(2)···N(2)	0.82	1.86	2.682(4)	175.7	1-*x*, -*y*, 1-*z*
O(3)–H(3A)···O(1)	0.82	1.87	2.579(4)	144.1	*x*, *y*, *z*
C(8)–H(8)···O(1)	0.93	2.47	3.176(6)	132.4	1-*x*, -*y*, 1-*z*

Hirshfeld surface analysis of the ASA-AP cocrystal. The Hirshfeld surface (HS) [17] analysis and the two-dimensional (2D) fingerprint plots [18], generated using the CrystalExplorer21 [19] program which have been successfully applied for analysis of cocrystals [12, 13], were applied to investigate both the qualitative and quantitative contributions of intermolecular interactions in the crystal structure of the ASA-AP cocrystal. In order to evaluate the effect of cocrystal formation on intermolecular interactions, the obtained contact contributions were additionally compared with those calculated for the individual components, 4-aminosalicylic acid (ASA) and 4-acetylpyridine (AP). The HS mapped over the normalized contact distance (d_{norm}), shows several pronounced red spots corresponding to short intermolecular contacts (Fig. 2a). These regions mainly indicate strong hydrogen bonds of the O–H···N and N–H···O types formed between the functional groups of the two molecular components of the cocrystal, which play a key role in stabilizing the crystal structure. The representation of the HS using the shape index function reveals alternating red and blue triangular regions characteristic of aromatic stacking interactions (Fig. 2b). These patterns suggest the presence of weak π···π interactions between the aromatic rings of the molecules, which additionally contribute to the supramolecular organization of the crystal. Curvedness (Fig. 2c), specified as the "sharpness" of a surface, clearly indicates the relatively large flat regions (green) for both contributing molecules separated by dark blue edges. The extended flat areas in ASA and AP are in line with the X-ray observations for the favorable planar stacking arrangement of molecules in the ASA-AP cocrystal.



(a) (b) (c)

Figure 2. Hirshfeld surface mapped with (a) dnorm, (b) shape index, and (c) curvedness for ASA-AP.

The decomposition of the 2D fingerprint plots reveals main types of intermolecular contacts in ASA-AP cocrystal (Fig. 3).

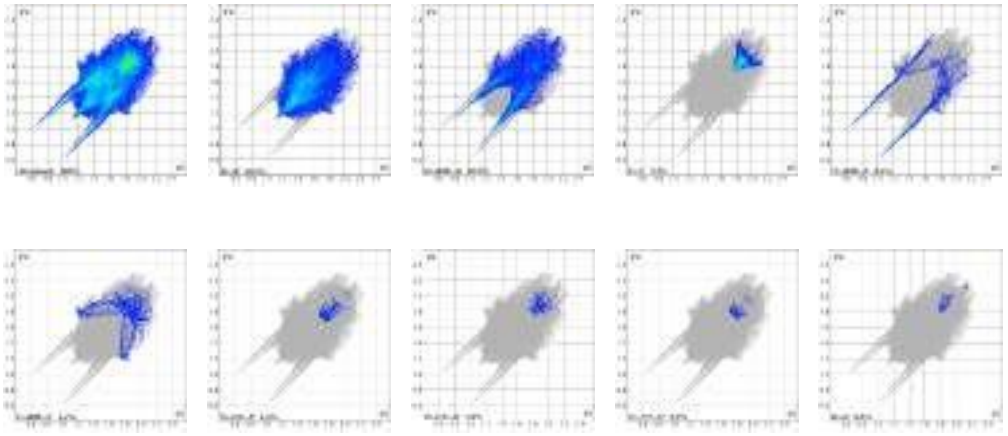


Figure 3. Overall 2D plots of intermolecular contacts distribution in ASA-AP cocrystal.

The largest contribution to the total HS area arises from H···H contacts, which account for approximately 48.9% of the total interactions in the cocrystal, compared with 39.5% in pure ASA and 45.4% in AP, reflecting the predominance of van der Waals interactions in the crystal packing. The O···H/H···O contacts, mainly associated with hydrogen bonds involving the hydroxyl, carbonyl, and amino groups of the ASA molecule, contribute about 29.9% to the total surface in the cocrystal, in comparison with 34.0% in ASA and 17.4% in AP. The slightly lower contribution relative to pure ASA suggests that some homomeric ASA hydrogen bonds are replaced by heteromeric interactions between ASA and AP molecules in the cocrystal. The N···H/H···N contacts account for approximately 6.4% of the Hirshfeld surface in the ASA-AP cocrystal, whereas they represent 0.7% in ASA and 14.0% in AP. This contribution reflects the formation of heteromeric hydrogen bonds involving the pyridine nitrogen atom of AP and the hydrogen-bond donor groups of ASA, including the characteristic O–H···N acid–pyridine interaction responsible for the formation of the R_2^2 (7) supramolecular heterosynthon observed in the crystal structure. A smaller contribution is observed for C···C contacts, which represent approximately 7.3% of the total HS in the cocrystal, compared with 12.4% in ASA and 8.2% in AP, indicating π···π interactions between cyclic moieties. These interactions are consistent with the stacking columns of alternating ASA and AP molecules observed in the crystal packing. Additionally, H···C/C···H contacts contribute approximately 4.4% to the total surface in the cocrystal, compared with 6.6% in ASA and 10.0% in AP, and may be associated with weak C–H···π interactions. Minor contributions arise from other intermolecular contacts such as N···O/O···N (0.6% in the cocrystal; 0% in ASA; 0.6% in AP), O···O (0.3% in the cocrystal; 0.5% in ASA; 0% in AP), and O···C/C···O interactions (1.0% in the cocrystal; 3.4% in ASA; 3.2% in AP) (Fig. 4)

Overall, the comparative Hirshfeld surface analysis indicates that the crystal packing of the ASA-AP cocrystal is dominated by H···H and O···H/H···O interactions, while the presence of significant N···H/H···N contacts reflects the formation of heteromolecular hydrogen bonds between the acid and pyridine functional groups. These interactions play a decisive role in directing the supramolecular assembly, whereas π···π stacking and weaker contacts provide additional stabilization of the crystal structure.

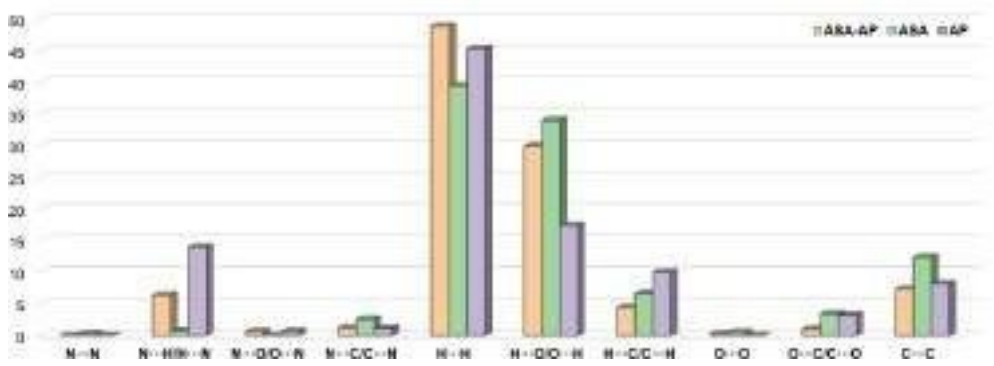


Figure 4. Distribution of intermolecular contacts in ASA-AP cocrystal in comparison with ASA and AP pure forms.

In conclusion, new cocrystal, ASA-AP, was obtained by cocrystallization from methanol. The robust acid···pyridine supramolecular heterosynthon occurs even in the presence of other competing H-bonding functional groups. The H-bonds in the crystal generate infinite supramolecular tapes, with the components arranged in nearly planar fashion, while π-π stacking interactions between these arrays stabilise the parallel stacking patterns. Hirshfeld surface analysis further confirmed the importance of these intermolecular interactions, showing that H···H, O···H/H···O, and N···H/H···N contacts dominate the crystal packing, while π···π and weaker interactions provide additional stabilization of the structure.

Acknowledgement

The authors thank the Subprogram 011202 financed by the Ministry of Education and Research of R. Moldova.

References

1. Physicohemical Properties. Crystal Growth and Design, 2009, 9, 2950-2967, https://doi.org/10.1021/cg900129f
2. DUGGIRALA, N. K., PERRY, M. L., ALMARSSON, Ö., ZAWOROTKO, M. J., Pharmaceutical Cocrystals: Along the Path to Improved Medicines. Chem. Commun., 2016, 52, 640-655, https://doi.org/10.1039/C5CC08216A.
3. DONALD, P. R., DIACON, A. H. Para-aminosalicylic acid: the return of an old friend. The Lancet. Infectious Diseases, 2015, 15, 1091–1099, doi:10.1016/s1473-3099(15)00263-7.
4. ANDRÉ, V., BRAGA, D., GREPIONI, F., DUARTE, M. T. Crystal Forms of the Antibiotic 4-Aminosalicylic Acid: Solvates and Molecular Salts with Dioxane, Morpholine, and Piperazine, Cryst. Growth Des. 2009, 9, 5108–5116, https://doi.org/10.1021/cg900495s.
5. GROSSJOHANN, C.; SERRANO, D. R.; PALUCH, KRZYSZTOF J.; O'CONNELL, P.; VELLA-ZARB, L.; MANESIOTIS, P.; MCCABE, T.; TAJBER, L.; CORRIGAN, O. I.; HEALY, A. M. Polymorphism in sulfadimidine/4- aminosalicylic acid cocrystals: solid-state characterization and physicochemical properties. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015, 104, 1385-1398, https://doi.org/10.1002/jps.24345
6. DROZD, K. V., MANIN, A. N., PERLOVICH, G. L., Novel drug–drug cocrystals of carbamazepine with para-aminosalicylic acid: screening, crystal structures and comparative study of carbamazepine cocrystal formation thermodynamics. CrystEngComm, 2017, 19, 4273-4286, https://doi.org/10.1039/C7CE00831G
7. TANG, Y., ZHANG, L., HUANG, Y., YANG, D. Characterizing the structure of a p-aminosalicylic acid and nicotinamide drug cocrystal via terahertz spectroscopy. CrystEngComm, 2026, 28, 1091-1104, https://doi.org/10.1039/D5CE01165E

8. GOSWAMI, P. K., THAIMATTAM, R., RAMANAN, A. Crystal engineering of multicomponent crystal forms of p-aminosalicylic acid with pyridine based coformers, Cryst. Growth Des. 2016, 16, 1268–1281, https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.cgd.5b01308
9. DRAGUTA, S., YAKOVENKO, A. A., FONARI, M. S., TIMOFEEVA, T. V. Unusual Chemical Ratio, Z′ Values, and Polymorphism in Three New N-Methyl Aminopyridine−4-Nitrophenol Adducts. Cryst. Growth Des., 2014, 14, 3423−3433, https://doi.org/10.1021/cg500360f
10. EJARQUE, D., CALVET, T., BARDIA, M. F., PONS, J. Virtual assessment achieved two binary cocrystals based on a liquid and a solid pyridine derivative with modulated thermal stabilities, CrystEngComm, 2023, 25, 4798-4811, https://doi.org/10.1039/D3CE00608E
11. DAISY RANI, T., RAJKUMAR, M., CHANDRAMOHAN, A. Synthesis, crystal structure, thermal, mechanical and laser damage threshold studies of an NLO active organic molecular adduct: 4-Acetylpyridine:4-aminobenzoic acid. Mater. Lett. 2018, 222, 118-121, https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.03.195
12. THOMAS, L. H., CRAIG, G. A., GUTMANN, M. J., PARKIN, A., SHANKLAND, K., WILSON, C. C. Conformational polymorphism of the molecular complex of 3-fluorobenzoic acid with 4-acetylpyridine. CrystEngComm, 2011, 13, 3349-3354, https://doi.org/10.1039/C1CE05139C
13. SRIJANA, P. J., KARTHICK, T., NARAYANA, B., SAROJINI, B. K., WONG, Q. A., QUAH, C. K. LIKHITHA U. 4 - Acetylpyridine - succinic acid cocrystal: Synthesis, X-ray structure, DFT and Hirshfeld surfaces analysis, Molecular Crystals and Liquid Crystals, 2024, 768, 47-62, https://doi.org/10.1080/15421406.2023.2300908
14. SINGH, M., ANTHAL, S., SRIJANA, P. J., NARAYANA, B., SAROJINI, B. K., LIKHITHA, U., KAMAL, R. K. Novel supramolecular co-crystal of 3-aminobenzoic acid with 4-acetyl-pyridine: Synthesis, X-ray structure, DFT and Hirshfeld surface analysis. Journal of Molecular Structure, 2022, 1262, 133061 https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133061
15. RAKIĆ, G. M., GRGURIĆ-ŠIPKA, S., KALUCEROVIC, G. N., GÓMEZ-RUIZ, S., BJELOGRLIĆ, S. K., RADULOVIĆ, S. S., TEŠIĆ, Ž. LJ. Novel trans-dichloridoplatinum(II) complexes with 3- and 4-acetylpyridine: Synthesis, characterization, DFT calculations and cytotoxicity. European Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 44, 1921-1925, https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.11.004
16. SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. Acta Crystallographica, 2008, A64, 112–122, https://doi.org/10.1107/S0108767307043930.
17. HIRSHFELD, F. L. Bonded-Atom Fragments for Describing Molecular Charge Densities. Theoretica Chimica Acta, 1977, 44, 129-138. https://doi.org/10.1007/BF00549096
18. SPACKMAN, M. A. AND JAYATILAKA, D. Hirshfeld Surface Analysis. CrystEngComm, 2009, 11, 19-32. https://doi.org/10.1039/B818330A
19. WOLFF, S. K., GRIMWOOD, D. J., MCKINNON, J. J., TURNER, M. J., JAYATILAKA, D., SPACKMAN, M. A. CrystalExplorer, University of Western Australia, Australia. 2012.

Authors:



Anastasia GOROBET, Scientific Researcher,
Institute of Applied Physics, Moldova State University, Chisinau, Moldova
E-mail: nasteagorobet@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6850-1456



Marina S. FONARI, PhD in chemistry, leading scientific worker, Institute of Applied Physics, Moldova State University, Chisinau, Moldova
E-mail: fonari.xray@gmail.com
ORCID: 0000-0002-2508-5368



Lilia CROITOR, PhD in chemistry, leading scientific worker, Institute of Applied Physics, Moldova State University, Chisinau, Moldova
E-mail: croitor.lilia@gmail.com
ORCID: 0000-0003-0757-7358

CZU: 547.789.1:539.2 https://doi.org/10.59295/mabt2026.18

RODANINA ȘI DERIVAȚI EI: INVESTIGAȚII STRUCTURALE

Aliona VITIU, Paulina BOUROȘ

Institutul de Fizică Aplicată USM, Chișinău, Republica Moldova

Resumat

Investigațiile prezentate vizează analiza structurală a rodaninei și a derivaților acesteia, obținuți prin reacții de substituție sau condensare cu diverși compuși carbonilici, precum și a compușilor metalici corespunzători. Studiul este realizat pe baza datelor disponibile în Baza de Date Structurale Cambridge. Având în vedere numărul relativ redus al compușilor metalici formați cu acești liganzi organici, analiza se concentrează atât asupra compușilor metalelor de tranziție și post-tranziționale, cât și metalelor alcaline. O atenție deosebită a fost acordată elucidării modului de coordinare a liganzilor în compușii metalici.

Cuvinte-cheie: rodanina, derivați ai rodaninei, compuși coordinativi, inclusiv clusteri și polimeri coordinativi, structură moleculară.

RHODANINE AND ITS DERIVATIVES: STRUCTURAL INVESTIGATIONS

Abstract

The presented investigations concern the structural analysis of rhodanine and its derivatives, obtained by substitution or condensation with various carbonyl compounds, as well as metal compounds with them, carried out based on the results from the Cambridge Structural Database. Due to the limited number of metal compounds formed with these organic ligands, the analysis focuses on transition and post-transition metal compounds, as well as those containing alkali metals. Particular attention has been given to elucidating the coordination mode of the ligands within the metal compounds.

Keywords: rhodanine, rhodanine derivatives, coordination compounds, including clusters and coordination polymers, molecular structure.

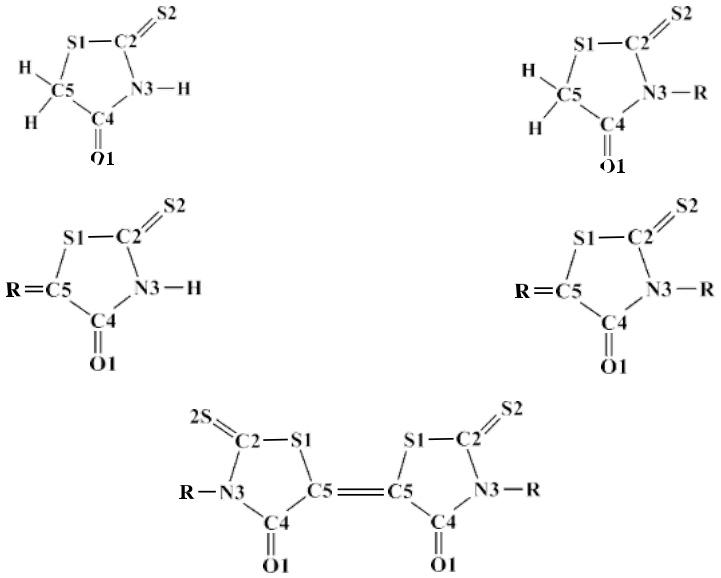
Introducere

Chimia rodaninei și a diverșilor săi derivați prezintă un interes deosebit, aceștea fiind o clasă importantă de compuși heterociclici cu un set foarte variat de atomi donori. O analiză a datelor din Baza de Date Structurale Cambridge (BDSC) [1] evidențiază că diversificarea derivaților rodaninei se realizează prin câteva căi: 1) substituția atomului de hidrogen de pe lângă atomul de azot; 2) reacții de condensare a rodaninei cu compuși carbonilici, antrenând gruparea $-CH_2$; 3) autocondensarea derivaților; 4) combinații ale mecanismelor reacționale menționate anterior (Schema 1).

Discuția rezultatelor

Rezultatele din literatura de specialitate relevă interesul constant pentru sinteza și studiul proprietăților farmaceutice ale rodaninei, cât și a derivaților acesteia. Importanța acestei clase de compuși este susținută de existența unui medicament consacrat, Epalrestat, inhibitor al aldozo-reductazei, utilizat în tratamentul neuropatiei periferice diabetice, a cărui structură conține nucleul de rodanină ca fragment de bază. Ca exemplu, în [2] sunt prezentați un șir de compușii organici, inclusiv și pe baza de rodanină, care au fost testați *in vivo* referitor la activitatea antidiabetică. Această lucrare de cercetare relevă sinteza simplă și eficientă a derivaților dispirolidinici regio- și stereocontrolați ai rodaninei, despre care s-a constatat că prezintă proprietăți antidiabetice atractive la șobolanii Wistar masculi. Mai mult, rezultatele obținute indică faptul că acești derivați prezintă o eficacitate superioară comparativ cu rosiglitazona în

ameliorarea stărilor asociate stresului metabolic, ceea ce subliniază potențialul lor terapeutic ridicat.



Schema 1. Formula de structură a rodaninei și derivaților ei.

În [3] sunt prezentați un șir de derivați, având nu doar C5-substituenți ai rodanine, cât și cei ce conțin și substituenți pe lângă atomul de azot. Investigațiile antimicrobiene ale acestor compuși au evidențiat o inhibare semnificativă a creșterii unui spectru larg de bacterii Gram-pozitive și tulpini multirezistente la medicamente. Pe lângă acestea, s-a demonstrat că introducerea unei grupări de acid fenilpropionic în poziția N3 a heterociclului, în cadrul compușilor hibrizi, contribuie semnificativ la amplificarea proprietăților antimicrobiene, evidențiind astfel un potențial promițător pentru dezvoltarea unor noi agenți antibacterieni. În [4] este prezentată sinteza rodaninei și a compușilor complecși de fier, cupru și zinc cu ea și screening-ul antimicrobian pentru aceștia. Rezultatele concentrațiilor minime de inhibitorii (CMI) pentru rodanină și compușii metalici împotriva microorganismelor arată că aceștea sunt activi împotriva *S. epidermides*, *B. subtilis*, *P. aruginosa* și *C. albicans*. De asemenea, s-a evidențiat că atât rodanina, cât și derivații săi în combinație cu diferite metale prezintă activitate biologică, efectul farmacologic fiind amplificat în cazul administrării sub formă de complecși metalici.

Rodanina și derivatul ei, acidul rodanin-3-acetic (RdaH), s-au dovedit a fi candidați promițători pentru componentele celulelor solare sensibilizate cu coloranți [5]. O serie de noi coloranți organici, cuprinzând grupări carbazol, iminodibenzil și fenotiazină ca donori de electroni și ciclul de rodanină ca grupări acceptoare de electroni, au fost obținuți și investogați pentru utilizare în celulele solare sensibilizate cu coloranți [6]. Un studiu detaliat în fază gazoasă al atașării disociative de electroni (ADE) la rodanină și derivatul său de acid 3-acetic în intervalul de energie 0–14 eV a fost efectuat cu un spectrometru de masă magnetică în condiții de rezoluție energetică medie (0.4 eV) a fasciculului de electroni incident și sensibilitate ridicată [7]. Prezenta investigație arată că spectrele ADE atât pentru RdH, cât și pentru RdaH arată, de asemenea, randamente mici de anioni moleculari la energie zero, iar cele mai intense canale de disociere ale anionului molecular RdaH sunt lente, astfel încât o injectare rapidă a sarcinii negative din

colorantul excitat în banda de conducție a TiO_2 ar putea contribui, de asemenea, la prevenirea descompunerii.

Una dintre cele mai importante domenii ale chimiei coordinative rămâne asamblarea moleculelor, care conțin mai mult de un atom metalic, pentru a produce materiale polinucleare, inclusiv polimerice, care prezintă o gamă largă de proprietăți utile. În unele cazuri, pentru a obține materiale polimerice, la formarea lor sunt antrenați un șir de anioni anorganici sau molecule organice care pot acționa ca liganzi cu funcție punte.

Această lucrare este consacrată unei analize structurale aprofundate a rodaninei, a derivaților săi, precum și a compușilor metalici formați de aceștia. Baza de date BDSC cuprinde un total 319 rezultate relevante, care oferă informații detaliate privind structura moleculară și cristalină a rodaninei și a unui număr considerabil de derivați ai acesteia. Dintre aceste înregistrări, doar 20 se referă la compuși metalici ai rodaninei și ai derivaților săi, evidențiind astfel o reprezentare relativ limitată a acestor sisteme în cadrul bazei de date analizate.

Structura moleculară a RdH, experiment repetat la temperatura 173 K, este prezentată în [8] (Fig. 1a). În cristal aceste molecule sunt legate în dimeri supramoleculari prin legaturi de hidrogen N-H...S cu formarea sintonilor $R^2_2(8)$. Printre compușii metalici cu Rd se pot menționa doar doi, unul fiind un cluster bimetalic de Pb(II) [9], celalat – un polimer coordinativ de Cu(I) cu antrenarea suplimentară a ionului I^- [10] (Fig. 1b, c). Dacă în stuctura planară dimerică a Pb(II) cu Rd monodeprotonat ligandul acționează ca unul bidentat-chelat, implicând la coordinare setul de atomi donori N3, S2 cu formarea unității neobișnuite Pb_2^{2+}, atunci în polimerul coordinativ de Cu(II) Rd coordinează monodentat prin atomul S2, funcția de ligand-punte fiind indeplinită de anionul anorganic I^-.



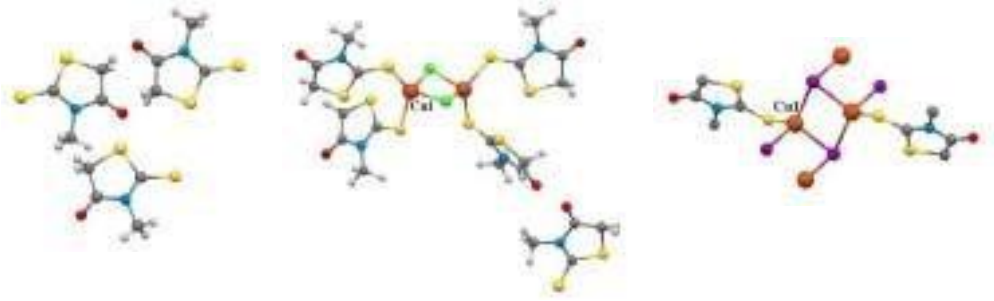
a (RHODIN01) b (UZIZAF) c (VICJUM)

Figura 1. a) Structura moleculară a rodaninei; b) Structura moleculară a complexului dinuclear de Pb(II); c) Fragment din structura polimerului unidimensional de Cu(II).

Un număr mare de derivați ai rodaninei sunt cei care conțin substituenți doar în poziția N3 cu formula generală R-N3-Rd. Unul din acești compuși este 3-metil-N-Rd [11], structura cărui este prezentată în Fig. 2a. Cu acest derivat al RdH în BDSC sunt prezentați doi compuși metalici, unul fiind un compus monomeric dinuclear al Cu(I), în care ca liganzii-punte acționează doi anioni Cl^-, iar la acești atomi de metal coordineaza monodentat prin atomul S2 câte doi liganzii 3-metil-N-Rd [12]. Structura acestui compus complex este prezentată în Fig. 2b. Cu acest ligand și având I^- ca contrion a fost obținut un polimer coordinativ, în care funcția punte este determinată de anionul anorganic [13]. Spre deosebire de polimerul coordinativ din [10], în ultimul polimerul are la bază un commplex dinuclear metalic, deci, ca urmare structura acestui este în formă de panglică (Fig. 2c).

Unii din cei mai investigați derivați ai rodaninei sunt acizii rodanin-3-carboxilici. În [14] este prezentată structura acidului rodanin-3-acetic (RdaH) și a celor doi omologi ai săi, acizii rodanin-3-propionic și rodanin-3-butiric. Structura RdaH este prezentată în Fig. 3. Cu ultimul în

BDSC au fost depistați mai mulți compuși complecși formați. În primul rând se pot menționa compușii mononucleari monomerici de Ni(II), Co(II) și Zn(II) cu formulele $[Ni(Rda)_2(H_2O)_4]$, $[Co(Rda)_2(H_2O)_4]$ și $[Zn(Rda)_2(H_2O)_4]$, respectiv [15]. Din Fig. 4a-c se evidențiează, că la fiecare atom de metal din acești trei complecși doi liganzi Rda monodeprotonați coordinează monodentat prin unul din atomii de O din gruparea carboxilică, poliedrul de coordinare fiind completat de molecule de apa.



a (POPMAJ) b (VICJOG) c (MIRHCUI)

Figura 2. a) Structura moleculară a 3-metil-N-rodaninei; b) structura moleculară a complexului dinuclear de Cu(II) cu acest ligand; c) Fragment din structura polimerului coordinativ unidimensional de Cu(II).



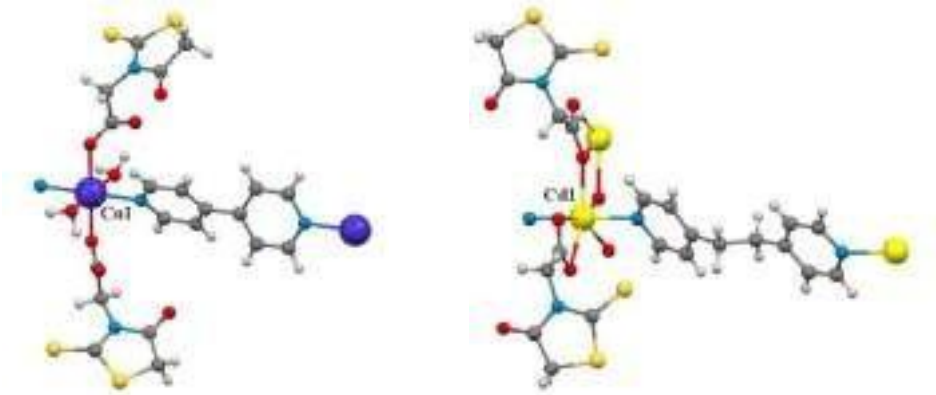
Figura 3. Structura moleculară a acidului rodanin-3-acetic (UMIQEO).



a (MEKBIR) b (MEKBEN) c (MEKBOX)

Figura 4. Structura moleculară a compușilor cu Rda: a) a complexului de Ni(II); b) a complexului de Co(II); c) a complexului de Zn(II).

Formarea polimerilor coordinativi cu antrenarea liganzilor monodeprotonați Rda a fost posibilă doar la utilizarea liganzilor suplimentari exo-bidentați din clasa bipiridinelor. Aici se pot menționa cei doi compuși cu formulele $[Co(Rda)_2(Bpy)(H_2O)_2]_n$ și $[Cd(Rda)_2(Bpe)]_n$ [15]. Daca în polimerul coordinativ al Co(II) cei doi liganzi Rda coordinează monodentat ca și în cazul compușilor mononucleari menționați, atunci în compusul de Cd(II) cei doi liganzi Rda coordinează diferit (Fig. 5a,b).

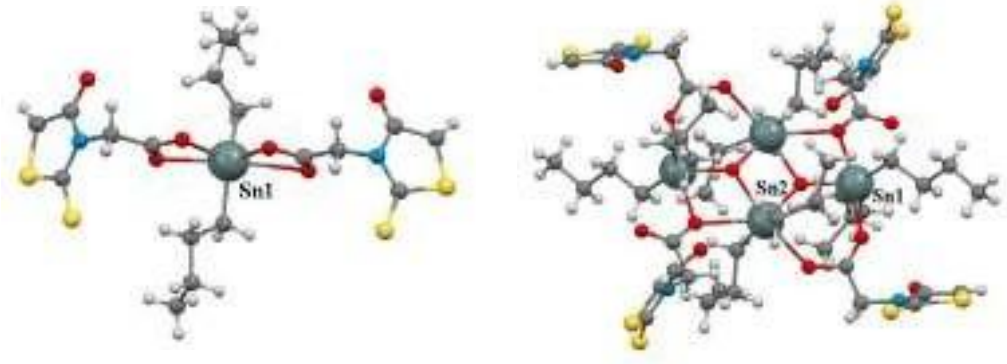


a (MEKCAK) b (MEKCEO)

Figura 5. Structura fragmentelor polimerilor coordinativi cu Rda și liganzi suplimentari din clasa bipiridinelor: a) a polimerului de Co(II); b) a polimerului de Cd(II).

Ca urmare în cristal se evidențiază formarea fragmentelor binucleare centrosimetrice $[Cd(Rda)_2)]_2$, în care doi liganzi organici coordinează tridentat-punte: bidentat-chelat la un atom metalic și monodentat la celălalt, iar ceilalți doi bidentat-chelat la un atom metalic, toți cei patru liganzi implicând doar atomii de oxigen din grupările carboxilice.

În compușii mono-, tetra- și hexanucleari de Sn(IV) ligandul Rda implică deja la coordinare ambii atomi de oxigen din gruparea carboxilică a ligandului Rda [16] (Fig. 6a,b). Un alt substituent mai voluminos cu alt tip de atomi donori utilizat la crearea derivaților a impus antrenarea atomului S2 la coordinare, mod stabilit în compusul complex al Pd(II) [17] (Fig. 7).



a (KAYFAS) b (KAYFIA)

Figura 6. Structura moleculară a complecșilor mono- și tetranucleari de Sn(IV) cu ligandul Rda.

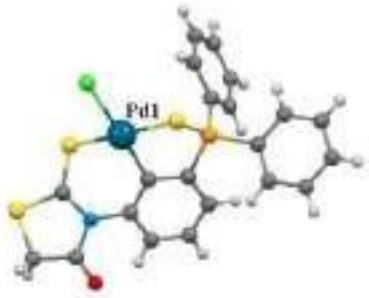
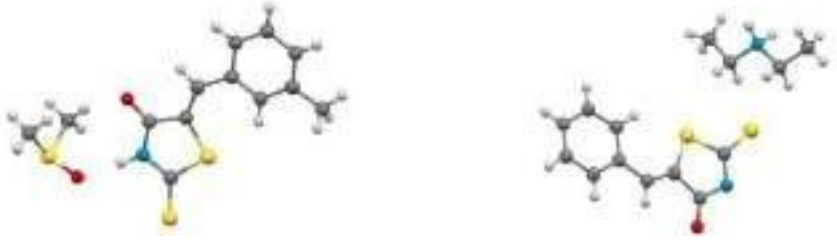


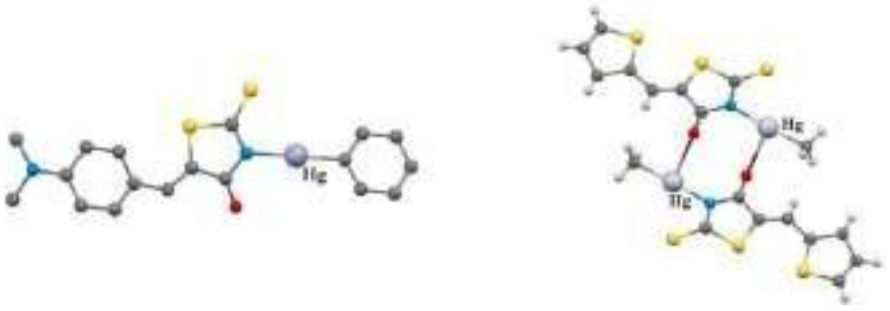
Figura 7. Structura moleculară a complexului de Pd(II) cu derivat al rodaninei cu formula generală R-N3-Rd (SEKSAG01)

Un alt tip de derivați ai rodanii au fost obținuți la condensare cu diferiți compuși corbonilici cu formula generală R=C5-RdaH. Assem Barakat și autorii [18,19] au reușit să obțină un șir de compuși de acest tip în care aceste molecule organice au fost stabilizate în cristal impreună cu molecule de solvent sau chiar sub formă de săruri organice (Fig. 8a, b). În BDSC au fost depistați doi compuși metalici, în care acest tip de derivați monodeprotonați ai rodaninei implică la coordinare la atomul de metal central de miercur atomul de azot [20] (Fig. 9). Un mod neobișnuit de coordinare a fost stabilit și în compusul taliului cu așa tip de derivat al rodaninei (R =CHPh-$N(Me)_2$ [21], în care acest ligand coordinează bidentat la doi atomi de metal diferiți antrenând deja setul de atomi donori N,O (Fig. 10).



a (VIZFED) b (XISCOT)

Figura 8. a) Structura unui cocristal al derivatului rodaninei cu formula (R=C5-RdaH).(DMSO); b) Structura derivatului monodeprotonat al rodaninei din sarea organică.



a (RETWOC) b (RETXOD)

Figura 9. Structura a doi compuși cu Hg(II) și derivați monodeprotonați ai rodaninei cu formula R=C5-Rda. a) complex mononuclear; b) complex binuclear.

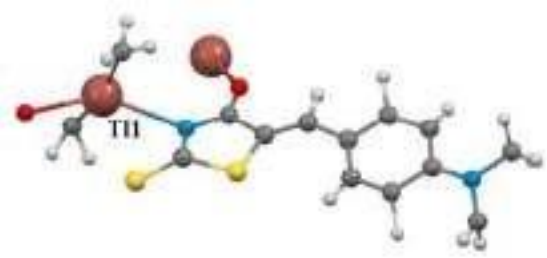


Figura 10. Fragment din polimerul coordinativ al taliului cu un derivat al rodaninei R=C5-RdaH (R =CHPh-N(Me)$_2$ (WACLER).

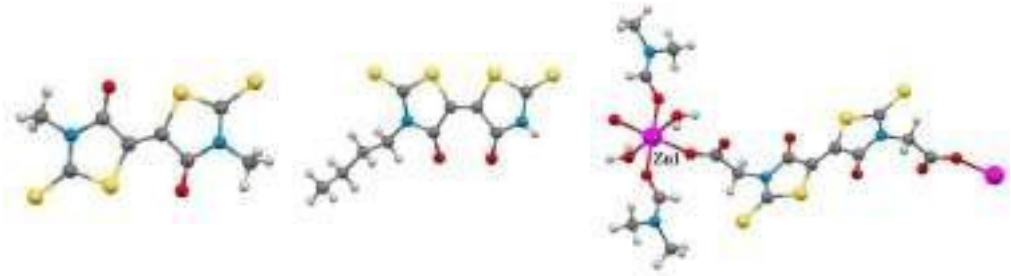
O altă clasă de derivați ai rodaninei și cea mai mare la număr este cea, în care compușii organici sunt obținuți atât prin substituția atomului de hidrogen de pe langă atomul de azot N3, cât și la condensare cu diferiți compuși corbonilici implicând gruparea metilenică C5 cu formula generală R1-(N3)-Rd-(C5)-R2. Ca exemplu aici poate fi prezentat derivatul RdaH - acidul (Z)-5-(2-Naftilmetilen)-4-oxo-2-tioxo-1,3-tiazolidin-3-acetic cristalizat cu molecule de cristalizare de dimetilsulfoxid [22], sau chiar structura epalrestatului (ONO-2235) [23], Fig. 11a, b. Cu părere de rău compuși complecși în care în calitate de liganzi coordinați să fie așa tip de derivați ai rodaninei în BDSC nu au fost depistați. Aici se pot menționa doar compuși în care aceste molecule să acționeze ca anioni organici în sfera externă, cationii fiind aquacomplecși de Na^+ sau Li^+ [24].



a (POVGOW) b (SALVIK)

Figura 11. Structura derivaților rodaninei cristalizați cu molecule de solvatare având formula generală Rda-(C5)-R1: a) R1- naftilmetilen; b) R1 - 2-metil-3-fenilprop-2-enilidene (epalrestat).

Un rezultat interesant ține de crearea birodanidelor și derivaților ei, deci a materialelor în care două fragmente de RdH se condensează prin C5 și duc la formarea compușilor cu formula generala R1-Rd-Rd-R2/R1, în care R1 si R2/R2=R1 sunt substituenți de pe lângă atomii N3. Acesta clasă de derivați sunt de asemenea untr-un număr însemnat. Printre acești compuși se pot menționa ca cei mai simpli, în care R- metil, etil, propil și butil [25] (Fig. 12a) sau compusul în care R1=H, R2 - butil [26] (Fig. 12b). Aici se poate menționa unicul compus coordinativ al metalului de tranziție cu așa tip de derivați, polimerul coordinativ de Zn(II), având formula $[Zn(5,5'\text{-Rda-Rda})(Dmf)_2(H_2O)_2]_n$ (Fig. 12c) [15].



a (MEDVID) b (BACWIP) c (MEKBUD)

Figura 12. a) Strucura uni derivat simetric al rodaninei cu formula CH_3-N3-Rd-Rd-N3-CH_3; b) Strucura uni derivat asimetric al rodaninei cu formula RdH-Rd-N3-C_4H_9; c) Fragment din structura polimerului coordinativ al Zn(II) cu derivatul 5,5'-Rda-Rda.

Concluzie

Analiza riguroasă a rezultatelor din BDSC demonstrat că, în pofida prezenței setului de atomi donori O,N,S caracteristic rodaninei, acest ligand cu greu este antrenat la formarea compușilor complecși în calitate de ligand monodentat sau exo-bidentat. În compușii metalici identificați rodanina sau derivații ei antrenează la coordinare atomul S2 în trei compuși, doar atomul N3 – în doi compuși, în câte un compus – setul de atomi donori N3,O1 sau N3,S2,respectiv, iar în ceilalți 9 – doar atomii de oxigen din substituentul de acetat. Mai mult, includerea prin substituție ori condesare a fragmentelor ce conțin atomi donori suplimentari la crearea derivaților rodaninei nu conduce la o îmbunătățire semnificativă a capacității acestora de a forma compuși complecși.

Mulțumire

Rezultatele incluse în acest studiu au fost realizate în cadrul subprogramului de cercetare cu titlul "Proiectarea și fabricarea de materiale inteligente cu proprietăți avansate magnetice, de adsorbție, luminiscente și biologic active" (cod: 011202).

Referințe:

1. Allen, F. H. The Cambridge Structural Database: A Quarter of a Million Crystal Structures and Rising. *Acta Crystallogr. B*, 2002, 58, 380–388. DOI: 10.1107/S0108768102003890.
2. Murugan, R., Anbazhagan, S., Lingeshwaran, L., Sriman Narayanan, S. Synthesis and in vivo antidiabetic activity of novel dispiropyrrolidines through [3+2] cycloaddition reactions with thiazolidinedione and rhodanine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, 44(8), 3272–3279. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.03.035.
3. Jin, X., Zheng, C.-J., Song, M.-X., Wu, Y., Sun, L.-P., Li, Y.-J., Yu, L.-J., Piao, H.-R. Synthesis and antimicrobial evaluation of L-phenylalanine-derived C5-substituted rhodanine and chalcone derivatives containing thiobarbituric acid or 2-thioxo-4-thiazolidinone. *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, 56, 203–209. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.08.026.
4. Kshirsagar, V., Gandhe, S., Gautam, M. D. Synthesis and Antimicrobial Screening for Rhodanine Complexes of Iron, Copper and Zinc. *Asian J. Chem.*, 2008, 20(6), 4955–4956.
5. Liang, M., Xu, W., Cai, F., Chen, P., Peng, B., Chen, J., Li, Z. New Triphenylamine-Based Organic Dyes for Efficient Dye-Sensitized Solar Cells. *J. Phys. Chem. C*, 2007, 111(11), 4465–4472. DOI: 10.1021/jp067930a.
6. Wu, T. Y., Tsao, M. H., Chen, C., Su, S. G., Chang, C. W., Wang, H. P., Lin, Y. C., Sun, I. W. Synthesis and characterization of three organic dyes with various donors and rhodanine ring acceptor for use in dye-sensitized solar cells. *J. Iran. Chem. Soc.*, 2010, 7, 707–720. DOI: 10.1007/BF03246061.

7. Pshenichnyuk, S. A., Modelli, A. Complex fragmentation pathways of rhodanine and rhodanine-3-acetic acid upon resonant capture of low-energy electrons. *Int. J. Mass Spectrom.*, 2010, 294, 93–102. DOI: 10.1016/j.ijms.2010.05.025.
8. Ng, S. W. Redetermination of rhodanine at 173 K. *Acta Crystallogr. E*, 2007, 63, o1363–o1364. DOI: 10.1107/S1600536807007374.
9. Marzec, K. M., Gawel, B., Zborowski, K. K., Lasocha, W., Proniewicz, L. M., Malek, K. Insight into coordination of dilead unit by molecules of 4-thiazolidinone-2-thione: Structural and computational studies. *Inorg. Chim. Acta*, 2011, 376(1), 581–589. DOI: 10.1016/j.ica.2011.07.030.
10. Moers, F. G., Smits, J. M. M., Beurskens, P. T. Crystal structure of bis-(rhodanine)copper(I) iodide, C6H6CuIN2O2S4. *J. Crystallogr. Spectrosc. Res.*, 1986, 16, 101–106. DOI: 10.1007/BF01566050.
11. Jabeen, S., Palmer, R. A., Potter, B. S., Helliwell, M., Dines, T. J., Chowdhry, B. Z. Low Temperature Crystal Structures of Two Rhodanine Derivatives, 3-Amino Rhodanine and 3-Methyl Rhodanine: Geometry of the Rhodanine Ring. *J. Chem. Crystallogr.*, 2009, 39, 151–156. DOI: 10.1007/s10870-008-9427-6.
12. Moers, F. G., Beurskens, P. T., Noordik, J. H., Smits, J. M. M. Crystal structure of di-μ-chlorobis{[bis(3-methylrhodanine)]copper(I)}-3-methylrhodanine. *J. Crystallogr. Spectrosc. Res.*, 1986, 16, 107–113. DOI: 10.1007/BF01566051.
13. Moers, F. G., Bosman, W. P. J. H., Beurskens, P. T. Crystal structure of 3-methylrhodaninecopper(I) iodide. *J. Cryst. Mol. Struct.*, 1972, 2, 23–29. DOI: 10.1007/BF01198365.
14. Tejchman, W., Skórska-Stania, A., Żesławska, E. The Crystal Structures of Three Rhodanine-3-Carboxylic Acids. *J. Chem. Crystallogr.*, 2016, 46, 181–187. DOI: 10.1007/s10870-016-0644-0.
15. Vitiu, A., Coropceanu, E., Bourosh, P. Coordination Compounds of Transition Metals with Rhodanine-3-Acetic Acid. *Russ. J. Coord. Chem.*, 2021, 47, 717–729. DOI: 10.1134/S1070328421110063.
16. Zhang, R., Sun, J., Ma, Ch. Structural chemistry of mononuclear, tetranuclear and hexanuclear organotin(IV) carboxylates from the reaction of di-n-butyltin oxide or diphenyltin oxide with rhodanine-N-acetic acid. *J. Organomet. Chem.*, 2005, 690(19), 4366–4372. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2005.07.005.
17. Aleksanyan, D. V., Churusova, S. G., Dubasova, E. V., Ananyev, I. V., Artyushin, O. I., Peregudov, A. S., Klemenkova, Z. S., Denisov, G. L., Kozlov, V. A. Experimental and computational insights into the direct cyclopalladation of different unsymmetrical, yet closely related pincer ligands with thione sulfur donors. *Polyhedron*, 2023, 233, 116303. DOI: 10.1016/j.poly.2023.116303.
18. Barakat, A., Ghabbour, H. A., Al-Majid, A. M., Said, M. M., El Tamany, E. S. H., Fun, H.-K. Crystal structure of (Z)-5-(4-chlorobenzylidene)-2-thioxothiazolidin-4-one —dimethylsulfoxide (1:1), C12H12ClNO2S3. *Z. Kristallogr. New Cryst. Struct.*, 2016, 231(1), 319–320. DOI: 10.1515/ncrs-2015-0167.
19. Barakat, A., Al-Majid, A. M., Mabkhot, Y. N., Ghabbour, H. A., Fun, H.-K. Crystal structure of (Z)-5-(3-methylbenzylidene)-2-thioxothiazolidin-4-one, C13H15NO2S3. *Z. Kristallogr. New Cryst. Struct.*, 2016, 230(3), 257–258. DOI: 10.1515/ncrs-2015-0022.
20. Casas, J. S., Castellano, E. E., Macías, A., Playá, N., Sánchez, A., Sordo, J., Varela, J. M., Vázquez-López, E. M. Methyl- and phenylmercury(II) complexes of 5-(4′-dimethylaminobenzylidene)rhodanine (HDABRd) and 5-(2′-thiophenomethylene)rhodanine (HTRd). The crystal and molecular structure of [HgPh(DABRd)] and [HgMe(TRd)]. *Polyhedron*, 2001, 20(15–16), 1845–1850. DOI: 10.1016/S0277-5387(01)00752-5.
21. Casas, J. S., Macias, A., Playá, N., Sanchez, A., Sordo, J., Varela, J. M. Synthesis, spectroscopic properties and X-ray structure of dimethyl(p-dimethylaminobenzylidenerhodaninato)thallium(III). *Polyhedron*, 1992, 11(17), 2231–2235. DOI: 10.1016/S0277-5387(00)83701-8.
22. Tranqui, D., Fresneau, P., Cussac, M. (Z)-5-(2-Naphthylmethylene)-4-oxo-2-thioxo-1,3-thiazolidine-3-acetic Acid Dimethyl Sulfoxide Solvate. *Acta Crystallogr. C*, 1998, 54, 1501–1503. DOI: 10.1107/S0108270198004600.
23. Ishida, T., In, Y., Inoue, M., Ueno, Y., Tanaka, C., Hamanaka, N. Structural elucidation of epalrestat (ONO-2235), a potent aldose reductase inhibitor, and isomerization of its double bonds. *Tetrahedron Lett.*, 1989, 30(8), 959–962. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)95290-0.

24. Nüesch, F., Grätzel, M., Nesper, R., Shklover, V. Crystal and molecular structures of 3-acetyl-5-[2-(3-ethyl-2-benzothiazolidene)]ethylidenerhodanine and its lithium and sodium salts. Layered organic–inorganic structures. *Acta Crystallogr. B*, 1996, 52, 277–286. DOI: 10.1107/S0108768195008263.
25. Iijima, K., Gal, Y. L., Higashino, T., Lorcy, D., Mori, T. Birhodanines and their sulfur analogues for air-stable n-channel organic transistor. *J. Mater. Chem. C*, 2017, 5, 9121–9127. DOI: 10.1039/C7TC02886E.
26. Sumimoto, Y., Iijima, K., Yoo, D., Kawamoto, T., Gal, Y. L., Lorcy, D., Mori, T. Structures and transistor properties of extended and unsymmetrical birhodanines. *CrystEngComm*, 2020, 22, 6920–6926. DOI: 10.1039/D0CE01133A.

Date despre autori:



Aliona VITIU, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific coordonator în Laboratorul Metode Fizice de Studiere a Solidului "T. Malinowski" al Institutului de Fizică Aplicată al Universității de Stat din Moldova, Chişinău, Republica Moldova
e-mail: vitiualiona@gmai.com
ORCID: 0009-0006-4051-5617



Paulina BOUROȘ, doctor în ştiinţe chimice, conferenţiar cercetător, cercetător ştiinţific coordonator în Laboratorul Metode Fizice de Studiere a Solidului "T. Malinowski" al Institutului de Fizică Aplicată al Universității de Stat din Moldova, Chişinău, Republica Moldova
E-mail: pavlina.bourosh@ifa.md; bourosh.xray@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3418-531X

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

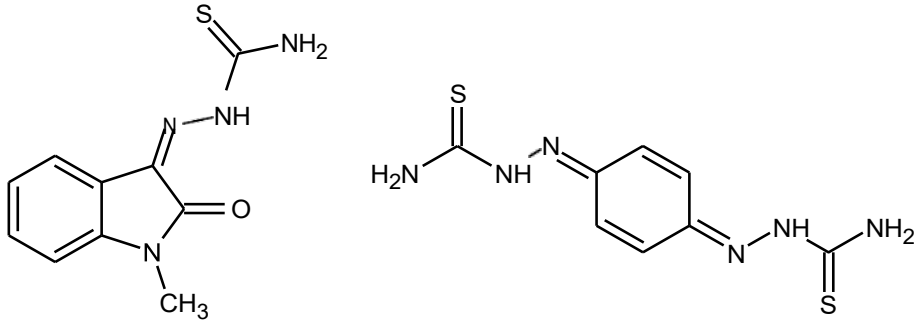
Abstract

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.

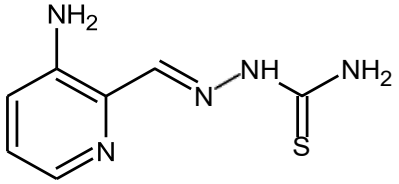
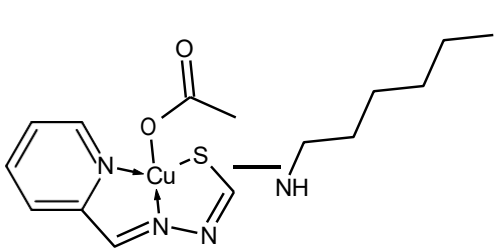


Figura 2. Formula de structură a Triapinei

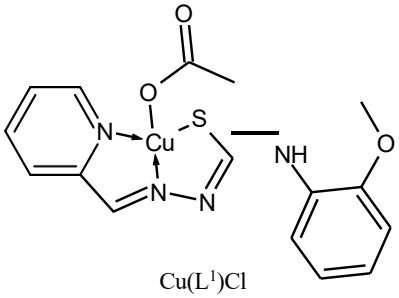
Una dintre cele mai de perspectivă tiosemicarbazone în ziua de azi este Triapina. Ea este cunoscută datorită efectului său anticancer. Ea acționează ca inhibitor al ribonucleotid reductazei și la momentul de față se află în testările clinice [12]. Fiind inhibitorul ribonucletid reductazei, activitatea 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.

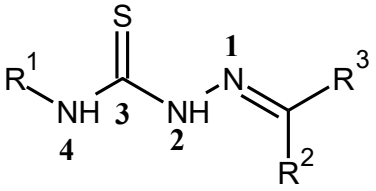
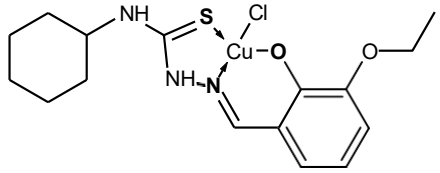
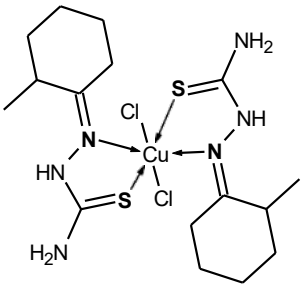


Figura 4. Schema de numerotare a tiosemicarbazonelor, cu roșu este indicat numărul de poziție a atomilor de bază

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.

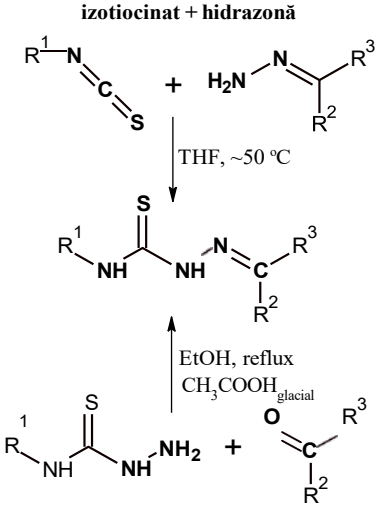


Figura 6. Schema generală de sinteză a tiosemicarbazonelor prin metodele clasice

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

CZU: 577.217:615.277.3:616-006 https://doi.org/10.59295/mabt2026.20

ROLUL MICRO-ARN ÎN RECONFIGURAREA HOMEOSTAZIEI ACIDO-BAZICE ȘI A REPROGRAMĂRII METABOLICE ÎN CANCER

Cristea DANIEL[1], Veronica SARDARI[1], Dionisie CEBOTARI[1], Evgheni GRUSAC[1], Olga GARBUZ[2], Lilia TACU[3], Aurelian GULEA[4]

[1]Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[2] Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
[3] Catedra de Patologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[4] Laboratorul de Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutului de Chimie al Universității de Stat din Moldova

Rezumat

MicroARN-urile (miARN) reprezintă regulatori esențiali ai expresiei genice, implicați profund în reprogramarea metabolică și adaptarea micro-mediului tumoral. În contextul cancerului, dezechilibrele acido-bazice și acumularea lactatului determină un mediu extracelular acid și intracelular alcalin, favorabil progresiei tumorale. Scopul studiului a constat în elucidarea mecanismelor biochimice cu implicarea miARN-urilor în reglarea transportorilor de protoni, a enzimelor implicate în homeostazia pH-ului și a proceselor metabolice asociate efectului Warburg. A fost realizată o analiză narativă a literaturii recente privind interacțiunile dintre miARN, metabolismul tumoral și microambientul acid. Rezultatele evidențiază interdepența miARN-urilor ca modulatori ai expresiei proteinelor precum transportori de monocarboxilați (MCT), antiport Na^+/H^+ (NHE1) și anhidrazele carbonice, influențând direct echilibrul acido-bazic și progresia cancerului, aceste procese reprezintă biomarkeri promițători și ținte terapeutice inovatoare în oncologia metabolică.

Cuvinte-cheie: microARN, cancer, dezechilibru acido-bazic, metabolism tumoral, glicoliză aerobă, microambient tumoral, transportori de protoni, anhidrază carbonică, lactat, epigenetică.

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are essential regulators of gene expression, deeply involved in metabolic reprogramming and adaptation of the tumor microenvironment. In the context of cancer, acid-base imbalances and lactate accumulation determine an acidic extracellular and alkaline intracellular environment, favorable to tumor progression. The aim of the study was to elucidate the biochemical mechanisms involving miRNAs in the regulation of proton transporters, enzymes involved in pH homeostasis and metabolic processes associated with the Warburg effect. A narrative review of recent literature on the interactions between miRNAs, tumor metabolism and the acidic microenvironment was performed. The results highlight the interdependence of miRNAs as modulators of protein expression such as monocarboxylate transporters (MCT), Na^+/H^+ antiport (NHE1) and carbonic anhydrases, directly influencing acid-base balance and cancer progression, these processes represent promising biomarkers and innovative therapeutic targets in metabolic oncology.

Keywords: microRNA, cancer, acid-base imbalance, tumor metabolism, aerobic glycolysis, tumor microenvironment, proton transporters, carbonic anhydrase, lactate, epigenetics.

Introducere

Cancerul este recunoscut în prezent ca o patologie complexă, caracterizată nu doar prin instabilitate genomică, ci și printr-o reprogramare metabolică profundă și o reorganizare funcțională a micro-mediului tumoral. În acest context, conceptul de micromediu tumoral a devenit central în înțelegerea progresiei neoplazice, evidențiind faptul că celulele canceroase nu

acționează izolat, ci într-un sistem dinamic format din celule stromale, celule imune, matrice extracelulară și factori biochimici [1,2].

Unul dintre cele mai relevante procese implicate în această reorganizare este modificarea metabolismului energetic, cunoscută sub denumirea de efect Warburg. Acesta constă în preferința celulelor tumorale pentru glicoliza aerobă, chiar și în prezența oxigenului, ceea ce conduce la o producție crescută de lactat [3]. Această acumulare de lactat determină acidifierea mediului extracelular și contribuie la formarea unui gradient de pH caracteristic cancerului: un mediu extracelular acid și un mediu intracelular alcalin [4].

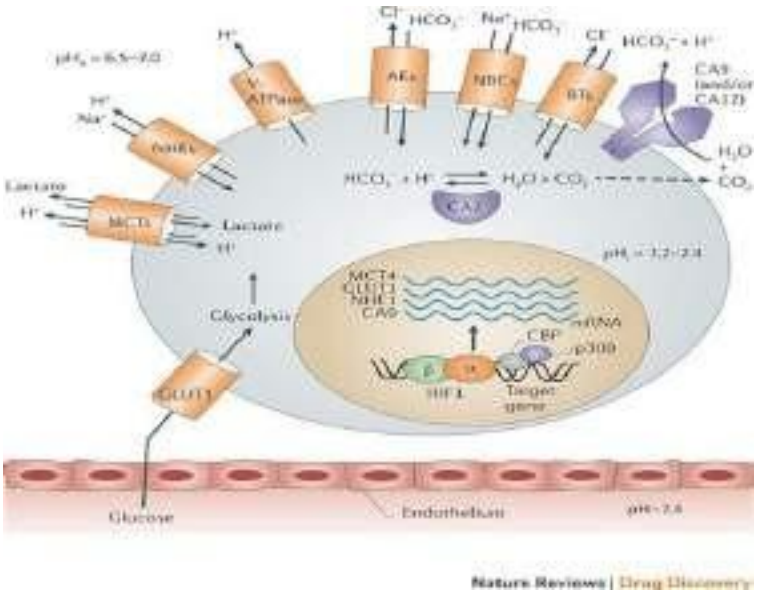


Figura 1. Proteine implicate în reglarea pH-ului într-o celulă tumorală [18].

Figura prezintă diverse proteine implicate în reglarea pH-ului în interiorul tumorilor, inclusiv: transportori de monocarboxilați (MCT), care transportă acid lactic și alți monocarboxilați formați prin degradarea glicolitică a glucozei; antiport Na^+/H^+ (NHE); ATPaza vacuolară a pompei de protoni a membranei plasmatice (V-ATPaza); schimbători de anioni (AE); co-transportori de $Na^+/HCO3^-$(NBC); și anhidraze carbonice (CA2, CA9 și/sau CA12). Transportorul de glucoză GLUT1 (care este suprareglat în majoritatea tumorilor) transportă glucoza în celulele tumorale. pH-ul intracelular al tumorii (pHi) este ușor alcalin, în timp ce pH-ul extracelular (pHe) este ușor acid. Transportor bicarbonat $HCO3^-$ (BT); CBP, proteină ciclică de legare a elementului sensibil la AMP (CREB); HIF1, factor de transcripție 1 inductibil de hipoxie; p300, histon acetiltransferază p300.

Această inversare a homeostaziei acido-bazice nu este un simplu efect secundar al metabolismului tumoral, ci și un mecanism activ care induce proliferarea celulară, invazia tisulară și rezistența la tratament [5]. Acidifierea mediului extracelular favorizează activarea enzimelor proteolitice și degradarea matricei extracelulare, favorizând metastazarea [6]. În paralel, mediul acid contribuie la inhibarea răspunsului imun antitumoral, generând un efect imunosupresor favorabil progresiei bolii [7].

În ultimii ani, cercetările au evidențiat rolul esențial al microARN-urilor (miARN) în reglarea fină a expresiei genice și în coordonarea proceselor biologice implicate în cancer. miARN-urile sunt molecule mici de ARN necodant, care acționează prin legarea de ARN-ul mesager și inhibarea traducerii sau inducerea degradării acestuia [8]. Aceste molecule au fost

implicate în controlul proliferării, diferențierii, apoptozei și metabolismului celular, fiind considerate reglatori centrali ai homeostaziei celulare.

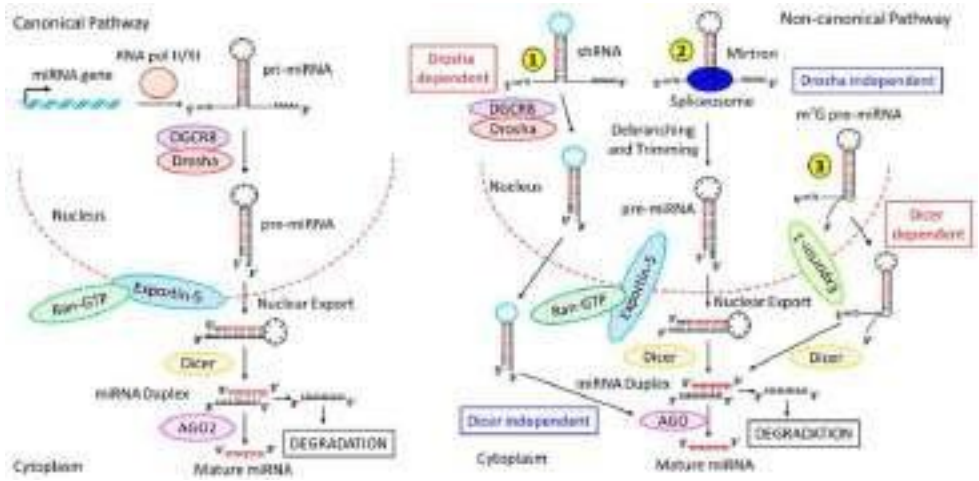


Figura 2. Căi de biogeneză ale microARN-urilor [19].

Figura ilustrează principalele căi de biogeneză ale microARN-urilor. În panoul din stânga este prezentată calea canonică, în care pri-miARN-urile transcrise de ARN polimeraza II/III sunt procesate de complexul Drosha–DGCR8 în pre-miARN, exportate în citoplasmă prin Exportina-5 și maturate secvențial de Dicer și AGO2. Panoul din dreapta prezintă căile non-canonice, care includ trei căi alternative: o cale dependentă de Drosha, dar independentă de Dicer, în care AGO2 finalizează maturarea; calea mirtronilor, generați prin splicing și procesați ulterior de Dicer și AGO1–4; și o cale în care pre-miARN-urile cu cap m^7G sunt exportate prin Exportina-1 și maturate de Dicer și proteinele AGO1–4.

Un aspect deosebit de important este faptul că miARN-urile participă activ la reglarea echilibrului acido-bazic în celulele tumorale. Studiile recente estimează că acestea controlează expresia unor proteine-cheie implicate în transportul ionilor și al protonilor, precum antiport Na^+/H^+ de tip 1 (NHE1), transportorii de monocarboxilați (MCT1 și MCT4) și pompele protonice de tip V-ATPază [9,10]. Prin modularea acestor mecanisme, miARN-urile contribuie la menținerea gradientului de pH caracteristic tumorilor și la adaptarea celulelor la condiții de stres metabolic.

Deasemenea, miARN-urile influențează activitatea unor enzime esențiale implicate în reglarea pH-ului, cum ar fi anhidrazele carbonice (CA IX și CA XII), care catalizează conversia bioxidului de carbon în bicarbonat și protoni [11]. Aceste enzime sunt exprimate semnificativ în condiții de hipoxie și contribuie la acidifierea microambientului tumoral, fiind implicate în progresia cancerului și în rezistența la tratament [12].

Legătura dintre miARN-uri și metabolismul tumoral este, de asemenea, profundă. miARN-urile reglează expresia enzimelor glicolitice, a transportorilor de glucoză și a factorilor de transcripție implicați în răspunsul la hipoxie, precum HIF-1α [13]. Astfel, acestea contribuie la menținerea efectului Warburg și la adaptarea celulelor tumorale la condiții energetice variabile. Un alt aspect esențial este implicarea miARN-urilor în procesele de invazie și metastazare. Prin modularea expresiei metaloproteinazelor și a proteinelor implicate în tranziția epitelio-mezenchimală (EMT), miARN-urile influențează capacitatea celulelor tumorale de a migra și de a forma metastaze în țesuturile îndepărtate [14]. Acidifierea mediului extracelular, reglată indirect de miARN-uri, amplifică aceste procese prin facilitarea degradării matricei extracelulare.

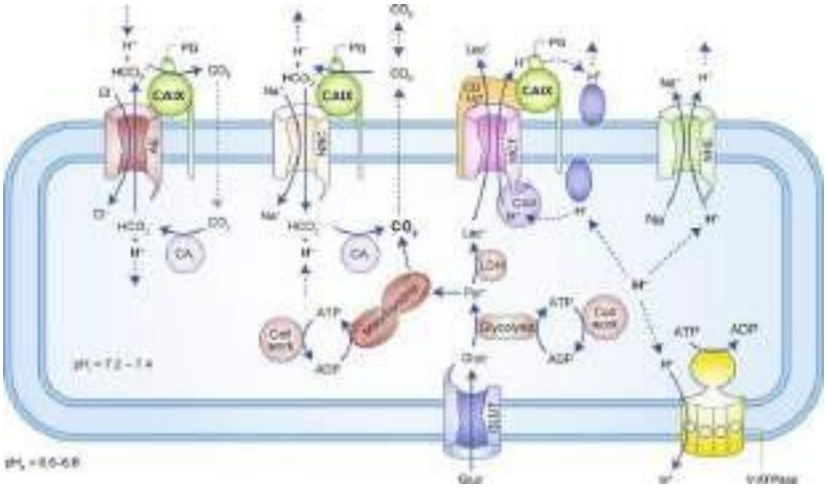


Figura 3. Reglarea pH-ului tumoral prin transportori acido/bazici și anhidraze carbonice [20].

Figura ilustrează mecanismele prin care celulele tumorale își reglează pH-ul prin interacțiunea coordonată dintre transportorii acido/bazici și anhidrazele carbonice. Metabolismul celular generează acizi atât prin glicoliză anaerobă, care produce lactat și H^+ exportați de transportorii MCT, cât și prin respirație mitocondrială, care produce CO_2 ce se hidrolizează în HCO_3^- și H^+. CO_2 poate difuza pasiv sau prin canale specializate, iar menținerea unui pH intracelular favorabil necesită transportori suplimentari, precum NHE1 și V-ATPaza, care elimină protoni, și cotransportorii NBC, care reimportă HCO_3^- pentru tamponare. Anhidrazele carbonice extracelulare, în special CAIX și CAXI, catalizează hidroliza CO_2 la suprafața celulară, generând HCO_3^- și H^+ în microambient. HCO_3^- poate fi difuzat în spațiul extracelular, fie reimportat prin NBC. Cotransportorii anionici Cl^-/HCO_3^- (AE) pot funcționa atât ca importatori de HCO_3^- pentru tamponare, cât și ca exportatori pentru reglarea compoziției ionice în timpul migrației celulare. Activitatea multor transportori este facilitată de interacțiunea cu anhidrazele carbonice intracelulare și extracelulare, CAII și CAIX, care produc sau elimină rapid HCO_3^- și facilitează transferul protonilor, acționând ca receptori de protoni în complexele cu MCT.

În ceea ce privește interacțiunea cu sistemul imun, miARN-urile contribuie la crearea unui microambient imunosupresor prin reglarea metabolismului lactatului și a pH-ului [15]. Lactatul acumulat inhibă activitatea limfocitelor T și a celulelor natural killer (NK), reducând activitatea răspunsului imun antitumoral. Această interacțiune complexă evidențiază rolul central al axei miARN–metabolism–pH în progresia cancerului. Din perspectivă clinică, miARN-urile prezintă un interes deosebit datorită stabilității lor în fluidele biologice și a posibilității de a fi utilizate ca biomarkeri noninvazivi. miARN-urile circulante, în special cele transportate prin exozomi, reflectă starea metabolică și biochimică a tumorii, inclusiv dezechilibrele acido-bazice [16]. Acest aspect deschide perspective importante pentru diagnosticul precoce și monitorizarea răspunsului la tratament.

În plus, miARN-urile reprezintă potențiale ținte terapeutice. Strategiile bazate pe inhibitori de miARN sau pe mimetice de miARN pot modula expresia genică într-un mod specific, influențând direct metabolismul tumoral și echilibrul acido-bazic [17]. În combinație cu terapiile care vizează transportorii de protoni sau metabolismul lactatului, aceste abordări pot contribui la dezvoltarea unor tratamente mai eficiente și personalizate. MicroARN-urile reprezintă componenta esențială în rețeaua complexă care conectează metabolismul tumoral, homeostazia acido-bazică și progresia cancerului. Înțelegerea acestor interacțiuni oferă o perspectivă integrativă asupra biologiei tumorale și deschide noi direcții pentru cercetare și intervenție terapeutică.

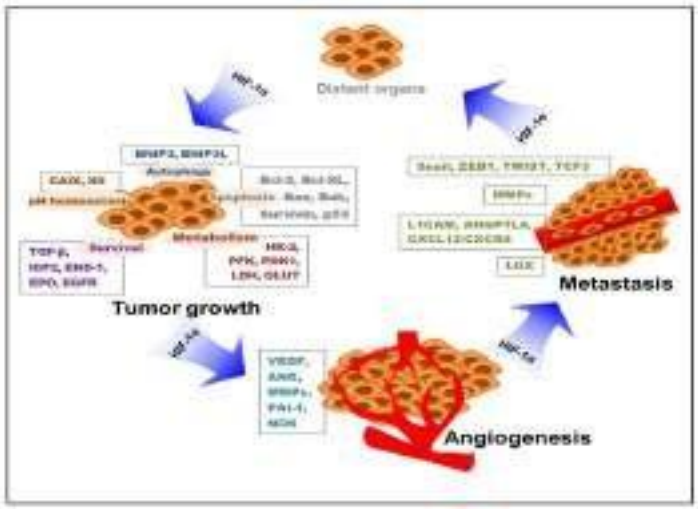


Figura 4. Rolul HIF-1 în creșterea tumorală, angiogeneză și metastazare [21].

Figura prezintă principalele funcții ale factorului inducibil al hipoxiei (HIF-1) în progresia tumorală, incluzând reglarea metabolismului, angiogenezei și metastazării. Sub acțiunea hipoxiei, HIF-1 activează o gamă largă de gene țintă implicate în supraviețuirea celulară (BNIP3, BNIP3L), adaptarea metabolică (HK-2, PFK, PDK1, LDH, GLUT), reglarea pH-ului tumoral (CAIX, CAXII), precum și în proliferare și semnalizare (EGFR, IGF2, TGF-β, END-1, EPO). În plus, HIF-1 stimulează angiogeneza prin VEGF, ANG și NOS, și favorizează invazia și metastazarea prin MMP, PAI-1, L1CAM, ANGPTL4, CXCL12/CXCR4 și LOX. Împreună, aceste căi contribuie la creșterea agresivității tumorale și la adaptarea celulelor canceroase la microambientul hipoxic.

Scopul studiului a constat în elucidarea modului în care microARN-urile modulează rețelele moleculare implicate în menținerea homeostaziei acido-bazice și în reprogramarea metabolică a celulelor tumorale, cu accent pe mecanismele prin care acești mici regulatori post-transcripționali influențează adaptarea la hipoxie, progresia tumorală și rezistența la tratament. Prin integrarea datelor biochimice și moleculare, cercetarea urmărește să deschidă noi perspective pentru dezvoltarea strategiilor de terapie personalizată în oncologie, prin identificarea microARN-urilor ca potențiali biomarkeri și ținte terapeutice.

Materiale și metode

Studiul de față a fost conceput sub forma unei analize narative extinse, având ca obiectiv investigarea rolului microARN-urilor în reconfigurarea homeostaziei acido-bazice și în reprogramarea metabolică a celulelor tumorale. Alegerea acestui tip de studiu a fost justificată de caracterul emergent al subiectului, în special în ceea ce privește implicarea microARN-urilor ca reglatori post-transcripționali în adaptarea la hipoxie, progresia tumorală și rezistența la tratament, precum și de necesitatea integrării datelor provenite din multiple domenii interdisciplinare, inclusiv biochimie, biologie moleculară și oncologie. Procesul de selecție a literaturii științifice a fost realizat utilizând baze de date internaționale recunoscute, precum PubMed, PubMed Central (PMC), ScienceDirect, BioMed Central și MDPI. Au fost incluse exclusiv articole publicate în perioada 2016–2026, pentru a asigura actualitatea și relevanța informațiilor analizate, cu un accent deosebit pe studiile publicate după anul 2018, când rolul microARN-urilor în reglarea metabolismului tumoral și a homeostaziei acido-bazice a fost intens investigat.

Criteriile de includere au vizat studii originale, articole de tip review, meta-analize și lucrări experimentale care au analizat direct relația dintre microARN-uri, metabolismul tumoral, reglarea pH-ului și procesele de adaptare celulară. Au fost selectate articole care au investigat atât modele *in vitro* (linii celulare tumorale), cât și modele *in vivo* (studii pe animale și date clinice), pentru a permite o analiză comparativă și o înțelegere integrată a fenomenelor studiate. În același timp, au fost excluse studiile cu relevanță limitată pentru tema cercetării, articolele cu metodologie insuficient descrisă sau cele care nu prezentau date biochimice relevante. Analiza datelor a fost realizată printr-o abordare narativă descriptivă, urmărindu-se identificarea relațiilor dintre principalele procese biochimice implicate. Au fost examinate mecanismele prin care microARN-urile reglează expresia transportorilor ionici (precum NHE1, V-ATPaza, AE și NBC), modularea enzimelor implicate în metabolismul lactatului și impactul asupra microambientului tumoral. În paralel, au fost analizate mecanismele moleculare prin care microARN-urile influențează reprogramarea metabolică, cu accent pe glicoliza aerobă (efectul Warburg), adaptarea la hipoxie și reglarea expresiei genice.

Sinteza informațiilor a fost realizată prin corelarea datelor biochimice cu implicațiile clinice potențiale, urmărindu-se identificarea unor direcții relevante pentru cercetările viitoare. Această abordare integrativă a permis nu doar descrierea fenomenelor studiate, ci și evidențierea importanței microARN-urilor ca biomarkeri și ținte terapeutice în dezvoltarea unor strategii inovatoare de terapie personalizată în cancer.

Rezultatele obținute și discuții

Analiza datelor din literatura de specialitate evidențiază faptul că microARN-urile(miARN) reprezintă regulatori centrali ai reconfigurării micro-mediului tumoral, influențând simultan homeostazia acido-bazică și reprogramarea metabolică. Aceste molecule acționează ca regulatori centrali în rețele complexe de semnalizare, modulând expresia proteinelor implicate în transportul protonilor, metabolismul energetic și adaptarea celulară la stresul hipoxic [1,3].

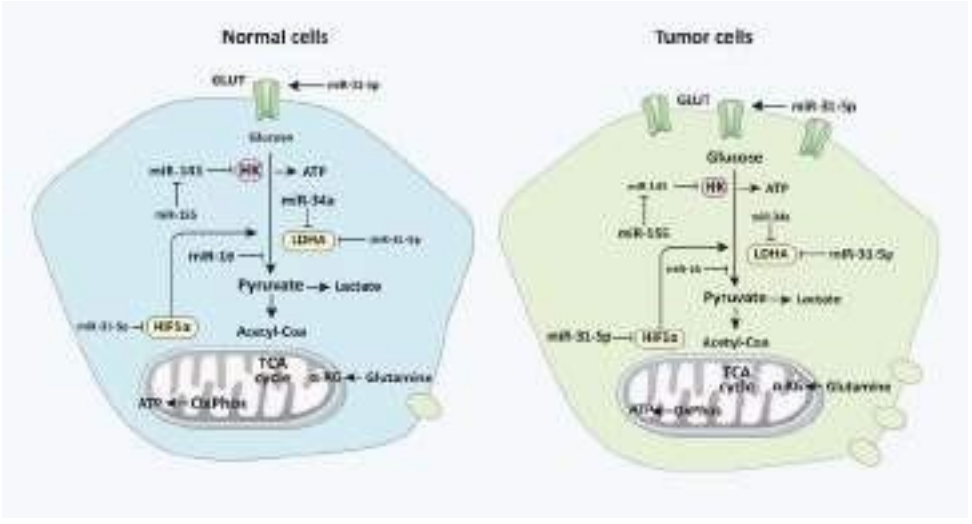


Figura 5. Reglarea metabolismului glucozei de către microARN-uri în celulele normale în comparație cu celulele maligne [22].

Figura ilustrează modul în care microARN-urile reglează căile metabolice ale glucozei în celulele normale, aflate în stare de repaus, comparativ cu celulele tumorale și cele intens proliferative. Sunt reprezentate principalele căi alternative de producere a energiei și proporția lor relativă în fiecare tip de celulă.

Un rezultat major este legătura directă dintre expresia miARN-urilor și reglarea transportorilor de protoni și lactat. Studiile analizate indică că anumite miARN-uri, precum miR-21 și miR-155, sunt exprimate semnificativ în condiții de hipoxie și stimulează indirect activitatea transportorilor de tip MCT4 și NHE1 [9,13]. Această reglare determină o creștere a exportului de protoni și lactat, contribuind la acidifierea mediului extracelular și la menținerea unui pH intracelular favorabil proliferării celulare.

În paralel, s-a observat că miARN-urile influențează expresia anhidrazelor carbonice, în special a CA IX și CA XII, enzime esențiale în reglarea echilibrului acido-bazic. Aceste enzime catalizează conversia bioxidului de carbon în bicarbonat și protoni, contribuind la tamponarea pH-ului intracelular și la acidifierea mediului extracelular [11]. Stimularea acestor enzime, reglată parțial de miARN-urile dependente de HIF-1α, este asociată cu caracterul invaziv tumoral și cu capacitatea crescută de adaptare la hipoxie. Un alt rezultat important este implicarea miARN-urilor în menținerea efectului Warburg. Studiile evidențiază că miARN-urile reglează expresia enzimelor glicolitice, inclusiv hexokinaza 2 (HK2) și lactat dehidrogenaza A (LDHA), favorizând conversia glucozei în lactat [2,12]. Această reprogramare metabolică nu doar că asigură producția rapidă de energie, dar generează și intermediari necesari biosintezei celulare.

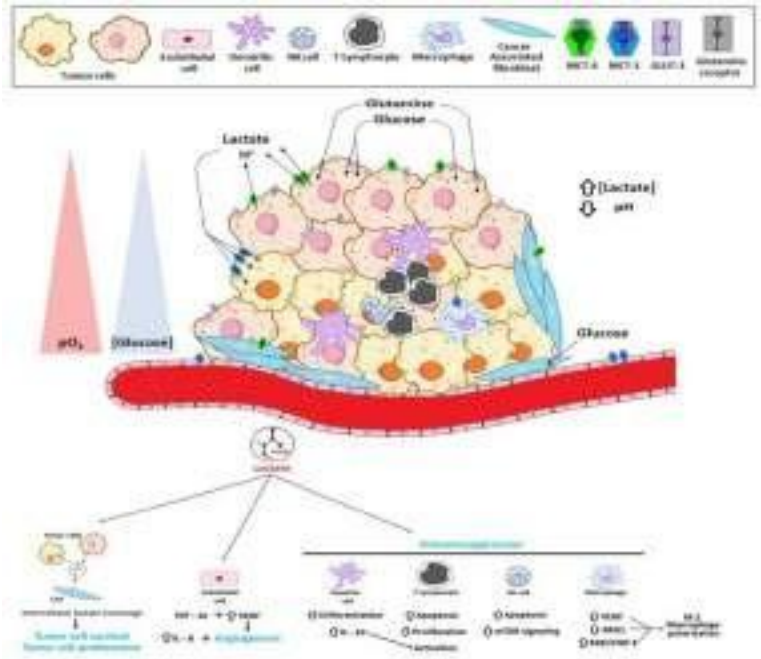


Figura 6. Efectele lactatului asupra microambientului tumoral (TME) [23].

Figura ilustrează modul în care lactatul secretat de celulele tumorale și stromale remodelează microambientul tumoral. Acumularea lactatului duce la acidifierea TME și generează o rețea de transport a lactatului între celulele tumorale și cele stromale, care asigură adaptarea și proliferarea tumorală. În plus, lactatul stimulează angiogeneza prin activarea celulelor endoteliale și contribuie la evadarea imună prin modularea funcției mai multor tipuri de celule imune infiltrate. Astfel, lactatul devine un metabolit-cheie în promovarea progresiei tumorale și a rezistenței la răspunsul imun.

În ceea ce privește consecințele biochimice, rezultatele indică faptul că axa miARN–pH joacă un rol esențial în procesele de invazie și metastazare. Acidifierea mediului extracelular, reglată indirect de miARN-uri, activează metaloproteinazele matriceale (MMP), facilitând

degradarea matricei extracelulare și migrarea celulară [14]. Deasemenea, miARN-urile influențează expresia proteinelor implicate în tranziția epitelio-mezenchimală (EMT), contribuind la formarea unui fenotip invaziv.

De asemenea, rezultatele evidențiază rolul miARN-urilor în remodelarea microambientului pre-metastatic. Prin reglarea secreției de exozomi și a conținutului acestora, miARN-urile pot influența țesuturile la distanță, creând condiții pentru formarea metastazelor. Această comunicare intercelulară este amplificată de condițiile de hipoxie și acidoză, care stimulează eliberarea de vezicule extracelulare care conțin cantități mare de miARN-uri.

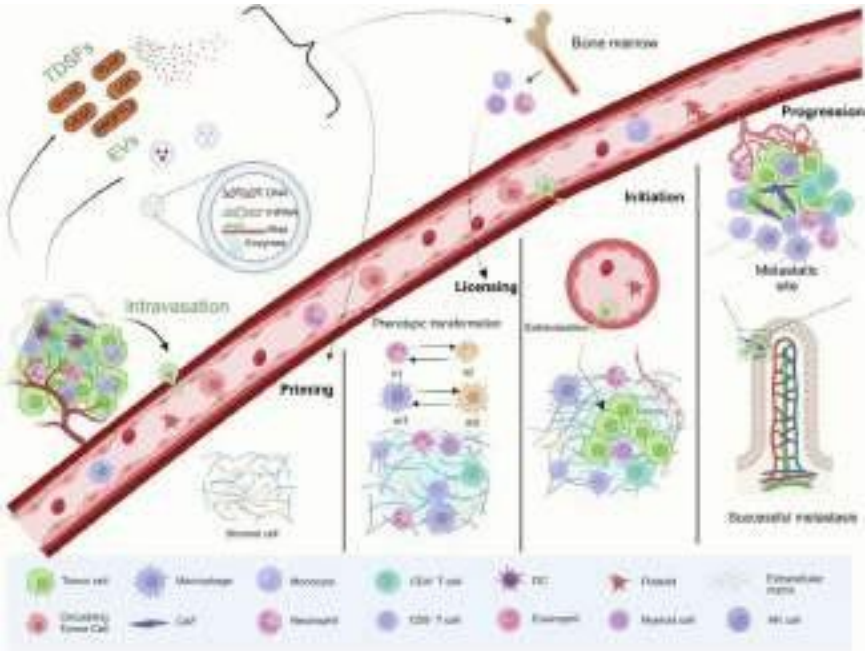


Figura 7. De la tumora primară la formarea microambientului pre-metastatic: secvența evenimentelor în dezvoltarea metastazelor [24].

Figura prezintă calea progresivă a metastazării, de la tumora primară până la formarea microambientului pre-metastatic și crearea metastazelor la distanță. Pe măsură ce tumora evoluează, microambientul tumoral se remodelează și devine din ce în ce mai complex, incluzând diverse tipuri celulare reprezentative. Tumora primară eliberează celule, vezicule extracelulare, factori solubili și componente matriciale care pregătesc organele țintă pentru colonizare, generând un micro-mediu pre-metastatic favorabil. Celulele tumorale circulante care ajung în aceast mediu găsesc un microambient condiționat pentru viabilitate, fixare și proliferare, contribuind astfel la formarea microambientului tumoral al metastazei la distanță.

Un alt aspect major identificat este interacțiunea dintre miARN-uri, acidoză și sistemul imun. Studiile indică faptul că mediul acid, susținut de activitatea miARN-urilor, inhibă funcția limfocitelor T citotoxice și a celulelor NK, reducând eficiența răspunsului imun [15]. Anumite miARN-uri modulează expresia citokinelor și a receptorilor imunologici, contribuind la crearea unui microambient imunosupresor. Din perspectivă clinică, rezultatele indică faptul că miARN-urile circulante, în special cele transportate prin exozomi, pot fi utilizate ca biomarkeri ai dezechilibrelor acido-bazice și ai stării metabolice tumorale [16]. Nivelurile acestora în sânge sau alte fluide biologice reflectă activitatea metabolică a tumorii și pot fi biomarkeri pentru diagnostic și prognostic. În același timp, s-a evidențiat faptul că acidoza tumorală contribuie la

rezistența la tratament. Mediul acid determină acumularea medicamentelor chimioterapice în compartimentele extracelulare sau în vezicule intracelulare acide, reducând eficacitatea acestora [17]. miARN-urile implicate în reglarea pH-ului amplifică acest efect, contribuind indirect la dezvoltarea rezistenței terapeutice.

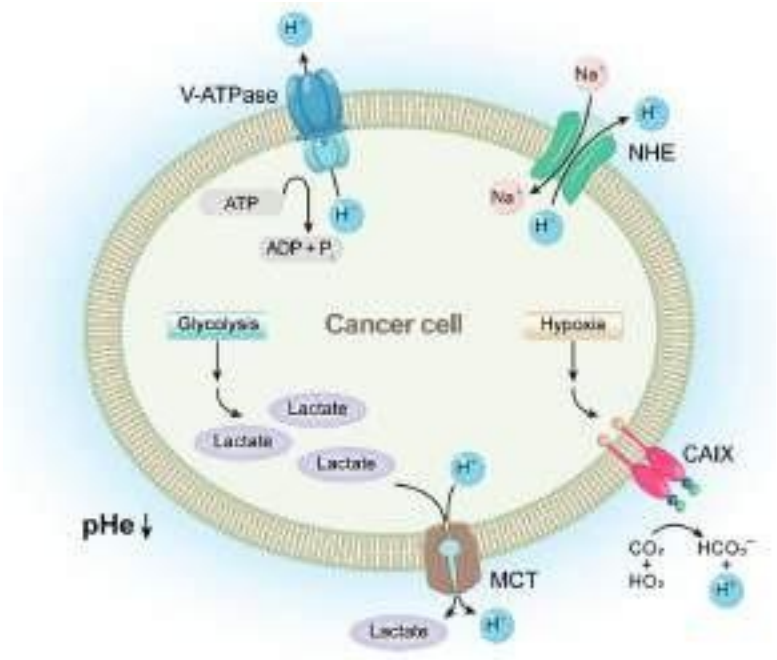


Figura 8. Acidifierea extracelulară indusă de celulele canceroase [25].

Figura ilustrează mecanismele prin care celulele canceroase acidifică spațiul extracelular (pHe). Exportul de protoni este realizat în principal prin antiport Na^+/H^+ (NHE) și prin transportorii de monocarboxilați (MCT), care exportă lactatul împreună cu H+. Anhidraza carbonică IX (CAIX), localizată la suprafața celulară, catalizează conversia CO_2 în HCO_3^- și H+, contribuind suplimentar la acidifierea microambientului tumoral. Aceste procese coordonate mențin un pH extracelular scăzut, favorabil invaziei, metastazării și supraviețuirii celulelor maligne.

În ansamblu, rezultatele evidențiază faptul că microARN-urile coordonează un sistem integrat care conectează metabolismul energetic, reglarea pH-ului și progresia tumorală. Aceste molecule acționează simultan asupra mai multor niveluri funcționale, de la expresia genică până la interacțiunile celulare și răspunsul imun, consolidând rolul lor central în biologia cancerului. Rezultatele obținute evidențiază faptul că microARN-urile (miARN) reprezintă un element central în reconfigurarea micro-mediului tumoral, acționând ca verigi de legătură între metabolismul celular, reglarea homeostaziei acido-bazice și mecanismele de progresie tumorală. Această interdependență complexă confirmă faptul că abordarea cancerului trebuie să depășească modelul tradițional centrat exclusiv pe mutații genetice, integrând dimensiunea metabolică și epigenetică a bolii.

Un alt aspect relevant este rolul miARN-urilor în controlul transportului de protoni și al gradientului de pH. Datele analizate evidențiază că reglarea expresiei transportorilor precum MCT și NHE1 de către miARN-uri nu este un proces izolat, ci face parte dintr-o rețea adaptativă indusă de condițiile microambientului tumoral, în special hipoxia [9,13]. În acest context, activarea factorului HIF-1α reprezintă un punct major de convergență, deoarece acesta

modulează simultan expresia genelor implicate în glicoliză și a anumitor miARN-uri hipoxic-dependente. Această dublă reglare amplifică capacitatea celulelor tumorale de a menține un pH intracelular optim, chiar și în condiții de stres metabolic sever.

Din perspectivă critică, este important de subliniat că majoritatea studiilor existente se bazează pe modele experimentale *in vitro*, ceea ce ridică întrebări privind aplicabilitatea directă a rezultatelor în context clinic. De exemplu, expresia miARN-urilor poate varia semnificativ între diferite tipuri tumorale și chiar între regiuni distincte ale aceleiași tumori, reflectând heterogenitatea intratumorală [1,3]. Această variabilitate limitează generalizarea concluziilor și subliniază necesitatea unor studii clinice bine standardizate. Un alt element esențial este relația dintre miARN-uri și efectul Warburg. Rezultatele indică faptul că miARN-urile nu doar asigură glicoliza aerobă, ci contribuie activ la stabilizarea acesteia prin reglarea enzimelor-cheie și a transportorilor de glucoză. Această observație sugerează că, metabolismul tumoral este controlat la mai multe niveluri, inclusiv post-transcripțional, ceea ce complică intervențiile terapeutice [12]. Terapiile care vizează exclusiv enzimele glicolitice au rezultate limitate, deseori ele nu țin cont de nivelul superior de reglare reprezentat de miARN-uri.

În ceea ce privește consecințele biochimice, rolul miARN-urilor în facilitarea invaziei și a metastazării este susținut de dovezi sigure. Acidifierea mediului extracelular, reglată indirect de aceste molecule, creează condiții optime pentru activarea metaloproteinazelor și degradarea matricei extracelulare [14]. Totuși procesul metastatic este multifactorial, iar pH-ul reprezintă doar unul dintre factorii determinanți. Interacțiunea dintre miARN-uri, semnalizarea inflamatorie și mecanismele mecanice ale migrației celulare necesită o analiză mai profundă. Un aspect deosebit de interesant este implicarea miARN-urilor în remodelarea nișei pre-metastatice prin intermediul exozomilor. Această formă de comunicare intercelulară sugerează existența unui sistem de „pregătire la distanță” a țesuturilor pentru colonizarea tumorală.

Interacțiunea dintre acidoza tumorală și sistemul imun reprezintă un alt punct critic. Rezultatele confirmă faptul că, mediul acid inhibă activitatea celulelor imune efectoare, contribuind la evadarea tumorală [15]. Totuși, mecanismele exacte prin care miARN-urile modulează această interacțiune nu sunt pe deplin elucidate. De exemplu, nu este clar în ce măsură efectele observate sunt directe (prin reglarea genelor implicate în imunitate) sau indirecte (prin modificarea metabolismului și a pH-ului). Această lacună reprezintă o direcție importantă pentru cercetări viitoare. Din punct de vedere clinic, utilizarea miARN-urilor ca biomarkeri este promițătoare, dar nu lipsită și de provocări. Deși stabilitatea acestora în fluidele biologice și specificitatea relativă sunt actuale pentru diagnostic, variabilitatea expresiei și influența factorilor externi pot limita precizitatea testelor [16].

În ceea ce privește implicațiile terapeutice, rezultatele susțin ideea că țintirea axei miARN–pH–metabolism ar putea reprezenta o strategie eficientă. Terapiile combinate, care includ inhibitori ai transportorilor de protoni și modulatoare ale miARN-urilor, au potențialul de a acționa simultan asupra mai multor niveluri ale biochimiei tumorale. Cu toate acestea, asigurarea eficientă și specifică a terapiilor bazate pe miARN rămâne o provocare tehnologică semnificativă. Dintr-o perspectivă generală, considerăm că una dintre cele mai importante concluzii ale acestei analize este necesitatea unei abordări integrative în oncologie. Cancerul nu poate fi înțeles sau tratat eficient prin prisma unui singur mecanism. Interacțiunea dintre metabolism, epigenetică, semnalizare celulară și microambient trebuie abordată ca un sistem complex, în care miARN-urile joacă un rol de coordonare.

Concluzii

Analiza realizată asupra rolului microARN-urilor în reconfigurarea homeostaziei acido-bazice și a metabolismului tumoral evidențiază o interdependență profundă între mecanismele epigenetice, biochimice și fiziopatologice care stau la baza progresiei cancerului. Datele

analizate confirmă faptul că miARN-urile nu reprezintă doar regulatori ai expresiei genice, ci și factori centrali în organizarea și menținerea microambientului tumoral. Unul dintre cele mai importante aspecte evidențiate este capacitatea miARN-urilor de a controla echilibrul acido-bazic prin reglarea directă sau indirectă a transportorilor de protoni și a enzimelor implicate în tamponarea pH-ului. Prin modularea expresiei proteinelor precum antiporter Na^+/H^+ de tip 1 (NHE1), transportorului monocarboxilat (MCT) și anhidrazele carbonice, miARN-urile contribuie la menținerea unui gradient de pH caracteristic tumorilor, favorizând alcalinizarea intracelulară și acidifierea mediului extracelular. Această inversare a pH-ului nu este un fenomen pasiv, ci un mecanism adaptativ esențial pentru angiogeneza și proliferarea celulelor canceroase.

În același timp, rezultatele subliniază rolul miARN-urilor în inducerea reprogramării metabolice de tip Warburg. Prin reglarea enzimelor glicolitice și a transportorilor de glucoză și lactat, miARN-urile contribuie la menținerea unui metabolism orientat către producția rapidă de energie și intermediari biosintetici. Acest tip de metabolism nu doar că influențează creșterea tumorală, dar generează și condițiile biochimice necesare pentru modificarea micro-mediului, inclusiv acumularea lactatului și ulterior acidifierea acestuia. Un alt element esențial evidențiat este implicarea miARN-urilor în procesele de invazie și metastazare. Acidifierea mediului extracelular, asigurată de activitatea acestor molecule, facilitează activarea metaloproteinazelor și degradarea matricei extracelulare, contribuind la migrarea celulelor tumorale. În paralel, miARN-urile reglează expresia proteinelor implicate în tranziția epitelio-mezenchimală, influențând dobândirea unui fenotip invaziv și la formarea microambientului pre-metastatic. Interacțiunea dintre miARN-uri, metabolism și sistemul imun reprezintă un alt aspect major evidențiat în cadrul acestui studiu. Mediul acid, generat prin mecanisme reglate de miARN-uri, inhibă funcția celulelor imune efectoare, favorizând evadarea tumorală. Această relație complexă demonstrează că dezechilibrele acido-bazice nu afectează doar celulele tumorale, ci și influențează întregul micro-mediu celular, inclusiv răspunsul imun.

Din perspectivă clinică, rezultatele susțin potențialul miARN-urilor ca biomarkeri pentru diagnostic și prognostic. Stabilitatea acestora în circulația sistemică și capacitatea de a reflecta starea metabolică a tumorii le conferă un avantaj semnificativ față de alți markeri biologici. În același timp, utilizarea miARN-urilor ca ținte terapeutice deschide noi direcții în oncologia de precizie, permițând intervenții la nivel molecular asupra mecanismelor care asigură progresia cancerului. Cu toate acestea, aplicarea clinică a acestor descoperiri este încă limitată de o serie de factori, inclusiv heterogenitatea tumorilor, variabilitatea expresiei miARN-urilor și dificultățile legate de asigurarea eficientă a terapiilor bazate pe miARN.

Un aspect esențial care reiese din această analiză este necesitatea adoptării unei abordări integrative în studiul cancerului. Interacțiunea dintre metabolism, epigenetică și microambientul tumoral nu poate fi înțeleasă în mod izolat. miARN-urile reprezintă un exemplu al modului în care aceste niveluri de reglare sunt interconectate, acționând ca mediatori între semnalizarea metabolică și expresia genică. În perspectivă, dezvoltarea strategiilor terapeutice care vizează simultan metabolismul tumoral și reglarea epigenetică ar putea reprezenta o direcție majoră în tratamentul cancerului. Combinațiile terapeutice care includ inhibitori ai transportorilor de protoni, ai metabolismului lactatului și terapii bazate pe miARN-uri au potențialul de a îmbunătăți semnificativ eficiența tratamentelor existente.

În concluzie, microARN-urile reprezintă elemente fundamentale în structura moleculară a microambientului tumoral, având un rol esențial în reglarea homeostaziei acido-bazice și a metabolismului celular. Înțelegerea aprofundată a acestor mecanisme oferă o bază solidă pentru dezvoltarea unor strategii inovatoare de diagnostic și tratament, contribuind la avansarea oncologiei moderne către un model integrativ și personalizat.

Referințe:

1. Pavlova N.N., Thompson C.B. The emerging hallmarks of cancer metabolism. Cell Metab; 2016; 23(1):27–47.
2. Liberti M.V., Locasale J.W. The Warburg effect: how does it benefit cancer cells? Trends Biochem Sci; 2016; 41(3):211–218.
3. Vander Heiden M.G., Cantley L.C., Thompson C.B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science; 2009; 324(5930):1029–1033.
4. Webb B.A., Chimenti M., Jacobson M.P., Barber D.L. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression. Nat Rev Cancer; 2011; 11(9):671–677.
5. Parks S.K., Chiche J., Pouysségur J. pH control mechanisms of tumor survival. Nat Rev Cancer; 2013; 13(9):611–623.
6. Estrella V., Chen T., Lloyd M., et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives invasion. Cancer Res; 2013; 73(5):1524–1535.
7. Fischer K., Hoffmann P., Voelkl S., et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. Blood; 2007; 109(9):3812–3819.
8. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell; 2004; 116(2):281–297.
9. Calin G.A., Croce C.M. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer; 2006; 6(11):857–866.
10. Halestrap A.P. The monocarboxylate transporter family. J Physiol; 2012; 590(11):2819–2830.
11. [11] Pastorekova S., Gillies R.J. The role of carbonic anhydrase IX in cancer. Cancer Metastasis Rev; 2019; 38(1):65–77.
12. Schito L., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors: master regulators of cancer progression. Trends Cancer; 2016; 2(12):758–770.
13. Faubert B., Solmonson A., DeBerardinis R.J. Metabolic reprogramming in cancer. Science; 2017; 356(6337):eaal738.
14. Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. J Clin Invest; 2009; 119(6):1420–1428.
15. Fischer K., Hoffmann P., Voelkl S., et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. Blood; 2007; 109(9):3812–3819.
16. Schwarzenbach H., Nishida N., Calin G.A., Pantel K. Clinical relevance of circulating microRNAs in cancer. Nat Rev Clin Oncol; 2014; 11(3):145–156.
17. Raghunand N., He X., Van Sluis R., et al. Enhancement of chemotherapy by manipulation of tumor pH. Br J Cancer; 1999; 80(7):1005–1011.
18. Neri, D., Supuran, C. Interferarea cu reglarea pH-ului în tumori ca strategie terapeutică. Nat Rev Drug Discov 10 , 767–777 (2011). https://doi.org/10.1038/nrd3554
19. Das, K., & Rao, L. V. M. (2022). The Role of microRNAs in Inflammation. International Journal of Molecular Sciences, 23(24), 15479. https://doi.org/10.3390/ijms232415479
20. Becker, H.M. Carbonic anhydrase IX and acid transport in cancer. Br J Cancer 122, 157–167 (2020). https://doi.org/10.1038/s41416-019-0642-z
21. Bui, B. P., Nguyen, P. L., Lee, K., & Cho, J. (2022). Hypoxia-Inducible Factor-1: A Novel Therapeutic Target for the Management of Cancer, Drug Resistance, and Cancer-Related Pain. Cancers, 14(24), 6054. https://doi.org/10.3390/cancers14246054
22. Alshahrani, S. H., Ibrahim, Y. S., Jalil, A. T., Altoum, A. A., Achmad, H., Zabibah, R. S., Gabr, G. A., Ramírez-Coronel, A. A., Alameri, A. A., Qasim, Q. A., Karampoor, S., & Mirzaei, R. (2022). Metabolic reprogramming by miRNAs in the tumor microenvironment: Focused on immunometabolism. Frontiers in oncology, 12, 1042196. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1042196
23. Pérez-Tomás, R., & Pérez-Guillén, I. (2020). Lactate in the Tumor Microenvironment: An Essential Molecule in Cancer Progression and Treatment. Cancers, 12(11), 3244. https://doi.org/10.3390/cancers12113244
24. Wang, Y., Jia, J., Wang, F. et al. Pre-metastatic niche: formation, characteristics and therapeutic implication. Sig Transduct Target Ther 9, 236 (2024). https://doi.org/10.1038/s41392-024-01937-7

25. Hwang, J. S., Kim, S. G., Shin, T. H., Jang, Y. E., Kwon, D. H., & Lee, G. (2022). Development of Anticancer Peptides Using Artificial Intelligence and Combinational Therapy for Cancer Therapeutics. Pharmaceutics, 14(5), 997. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14050997

Date despre autori:



Cristea DANIEL, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cristeadaniel447@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0613-3933



Veronica SARDARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, asistent universitar, cercetător științific superior.
e-mail: veronica.sardari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-1047-9145



Dionisie CEBOTARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cebotaridionisie@gmail.com
ORCID: 0009-0005-1955-1261



Evgheni GRUSAC, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: grusak16@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0719-3882



Olga Garbuz, doctor în ştiinţe biologice,
Laboratorul de Sistematică și Filogenetică Moleculară,
Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Lilia TACU, Catedra de Patologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
e-mail: lilia.tacu@usmf.md
ORCID: 0000-0003-0940-2527



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

CZU: 547.233:547.655.6:615.277.3 https://doi.org/10.59295/mabt2026.21

EXPLORAREA REACȚIEI MANNICH PENTRU SINTEZA MONOTOPĂ A UNOR DERIVAȚI AI 2-HIDROXI-1,4-NAFTOCHINONEI NATURALE CU PROPRIETĂȚI ANTICANCER

Danil FELDMAN[1], Elena GORINCIOI[1], Maria SUCIU[2], Dmitri BILAN[1], Jalba ANGELA[1], Natalia SUCMAN[1], Gheorghe DUCA[1], Nicoleta-Elena DINA[2], Fliur MACAEV[1]

[1]Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova;
[2]Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare, Cluj-Napoca, România

Rezumat

Acest studiu explorează sinteza aminonaftochinonelor derivate din lawsonă, cu potențial înalt de activitate anticancer, prin intermediul reacției monotop Mannich. A fost obținută o serie compusă din nouă baze Mannich derivate din lawsonă, cinci dintre care fiind substanțe noi, pornind de la 2-hidroxi-1,4-naftochinonă, butilamină/benzilamină și diferite benzaldehide, în condiții blânde, în etanol, la temperatura camerei, cu izolarea convenabilă a produșilor de e prin precipitare. Compușii cristalini sintetizați au fost identificați prin caracteristici individuale, precum: punctul de topire, analiza elementală și spectroscopia FT-IR. A fost evaluată citotoxicitatea bazelor Mannich preparate asupra liniei celulare A375 de melanom malign uman prin teste endpoint de tip MTT și LDH. Compușii au prezentat efecte biologice dependente de concentrație, cu creșterea activității mitocondriale la doze mici și pierderea viabilității celulelor la concentrații mai mari. Aceste rezultate evidențiază valoarea reacției Mannich ca metodă simplă de obținere a unor structuri de bază bioactive diverse derivate din lawsonă și susțin investigarea ulterioară a bazelor Mannich ale lawsonei.

Cuvinte-cheie: reacția Mannich, 2-hidroxi-1,4-naftochinone, lawsonă, sinteză monotop, anticancer.

EXPLORATION OF THE MANNICH REACTION FOR ONE POT SYNTHESIS OF SOME DERIVATIVES OF NATURAL 2-HYDROXY-1,4-NAPHTOQUINONE ENDOWED WITH ANTICANCER PROPERTIES

Abstract

This study explores the synthesis of lawsone-derived aminonaphthoquinones with potential anticancer activity *via* the one-pot Mannich reaction. A series of nine lawsone Mannich bases, five of them being novel, were obtained from 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, butylamine/benzylamine, and various benzaldehydes under mild conditions in ethanol at room temperature, with convenient isolation by precipitation. The synthesized compounds were characterized by melting point, elemental analysis, and FT-IR spectroscopy. Their cytotoxicity toward the human malignant melanoma cell line A375 was evaluated using MTT and LDH endpoint assays. The compounds showed concentration-dependent biological effects, with increased mitochondrial activity at lower doses and loss of cell viability at higher concentrations. These results highlight the value of the Mannich reaction as a simple route to diverse lawsone-derived bioactive scaffolds, and support further investigation of lawsone Mannich bases.

Introducere

Reacția Mannich este un exemplu clasic al unei reacții de aminoalchilare, în care o amina, o aldehida și un nucleofil, de obicei un compus carbonilic enolizabil, se combina formând un compus de tip β-amino carbonilic, deseori numit baza Mannich. Din punct de vedere al mecanismului reacției, aceasta presupune capturarea ionului de iminiu: în primul rând, amina si aldehida se combină, formând un ion de iminiu, al cărui carbon electrofil este atacat de un nucleofil cu capacitatea de a ataca un ion de iminiu. După transferul de protoni, se formează un compus β-amino carbonilic, care este produsul reacției. Reacția Mannich prezinta interes pentru

sinteza organică, fiindcă compușii de tip β-amino carbonil pot fi supuși unei game largi de transformări chimice, furnizând aminoalcooli, enone, compuși heterociclici și a. Datorită acestei flexibilități sintetice, reacția Mannich este utilizată frecvent in chimia farmaceutică. Reacția Mannich produce o legătura carbon-carbon si o grupare aminica pe lângă o grupare carbonil într-o singură transformare și cu o eficiență înaltă, asigurând un loc remarcabil in arsenalul unui chimist sintetician, mai mult de o suta de ani după descoperirea acesteia. Prima observație a acestui tip de transformări a fost raportata de Tollens și von Marle in 1903, dar potențialul si generalitatea reacției au fost dezvoltate de Carl Mannich, care a publicat rezultatele cercetării in 1912 [1]. Reacția Mannich clasică care presupune interacțiunea unui compus carbonilic cu o aldehidă și o amină a fost dezvoltata într-o familie întreagă de reacții, utilizând diferiți nucleofili [2]. Cercetări mai recente se concentrează pe reacții Mannich asimetrice, în care diferiți catalizatori chirali controlează enantioselectivitatea [3].

Naftochinonele sunt compuși structural înrudiți cu naftalina, caracterizați prin prezența sistemului tipic biciclic și grupa funcțională chinonică [4]. Doua familii principale de naftochinone sunt cunoscute: 1,2-naftochinonele si 1,4-naftochinonele, dintre care 1,4-naftochinonele prezinta interes sporit din punct de vedere al biologiei si chimiei farmaceutice. Utilitatea lor se bazează pe proprietățile chimice: naftochinonele sunt compuși electrofili și redox activi, participând ușor la reacții redox cu transfer de 1 sau 2 electroni. Activitatea lor biologică se caracterizează de obicei prin generarea speciilor reactive de oxigen (ROS), inhibarea enzimelor si proprietăți de acceptor Michael. Naftochinonele sunt foarte răspândite ca produse naturale si metaboliți secundari in plante, fungi si bacterii, unde au rol de protecția împotriva patogenilor si ca compuși de semnalizare. O familie recunoscuta de naftochinone sunt vitaminele grupului K, fiind bazate pe un schelet de 2-metil-1,4-naftochinonă [5]. Date recente poziționează 1,4-naftochinonele drept molecule cruciale responsabile pentru activitatea antimicrobiană și antitumorală [6].

Lawsona (2-hidroxi-1,4-naftochinona) este un compus natural, recunoscută ca și un colorant portocaliu, fiind componentul principal al hennei (*Lawsonia inermis*). Din punct de vedere al structurii, gruparea hidroxilică modifică proprietățile scheletului naftochinonic, contribuind la aciditatea, formarea legăturilor de hidrogen, proprietățile coordinative și reactivitatea acesteia, in comparație cu naftochinonele nesubstituite. Aceste proprietăți conferă lawsonei calitatea de sinton sintetic versatil, de exemplu, pentru construirea heterociclurilor și a altor derivați bioactivi. Derivații lawsonei prezintă activitate antimicrobiană, antifungică, antiparazitică, antiinflamatorie si anticancer [7].

Bazele Mannich ale lawsonei prezinta interes sporit pentru farmaceutica, manifestând activitate antiparasitică, anticancer și a. [8]. Acestea prezintă derivați aminoalchilati ai lawsonei, sintetizați prin funcționalizarea 2-hidroxi-1,4-naftochinonei cu o amina și o aldehida. Din punct de vedere al condițiilor de sinteză, bazele Mannich derivate din lawsonă pot fi obținute utilizând reacția Mannich monotopă, în etanol, la temperatura camerei, urmând o cale sintetică relativ facilă pe baza protocolului descris [9].

Scopul acestei lucrări a fost realizarea reacției Mannich, în condiții de chimie verde, pornind de la lawsona disponibilă, pentru prepararea unor baze Mannich, derivate de la această 2-hidroxi-1,4-naftochinonă naturală, inclusiv, a unor compuși nedescriși în literatură și studiul proprietăților anticancer a substanțelor obținute.

Metode și materiale

Reactivii utilizați au fost de calitate analitică (Sigma Aldrich), fiind folosiți fără purificare suplimentară. Evaporarea solvenților a fost efectuată la presiune redusă. Spectrele IR au fost înregistrate pe un spectrofotometru Spectrum 100 FT-IR (Perkin-Elmer, Waltham, MA, SUA) utilizând accesoriul universal de eșantionare ATR. Toate produsele au fost analizate prin analiză

elementală (analizor Elemental Vario EL) (Santa Clara, CA, SUA). Punctele de topire (necorectate) au fost determinate pe un aparat Boetius (Dresda, Germania). Reacțiile au fost monitorizate prin TLC pe plăci de silicagel, utilizând CH_2Cl_2:MeOH (9:1 + 1% Et_3N; v/v, Et_3N față de total) ca fază mobilă.

Sinteza bazelor Mannich

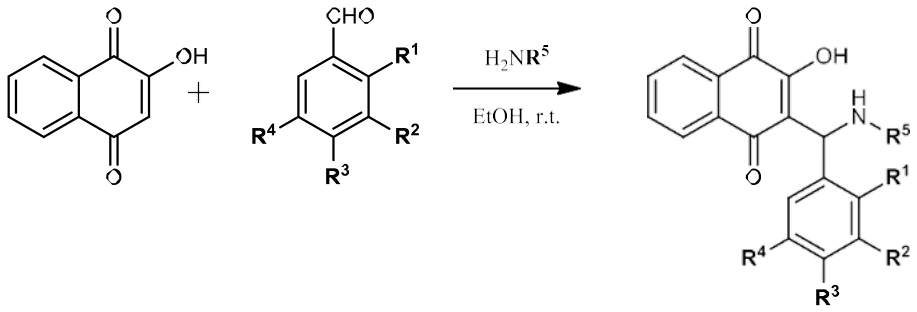
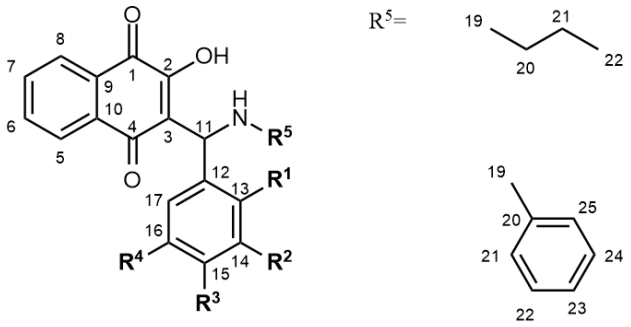


Figura 1. Schema generală a sintezei bazelor Mannich

La o suspensie de 2-hidroxi-1,4-naftochinona (1.7 mmol, 1.0 equiv.) în etanol (5 mL) a fost adăugată butilamina (1.8 mmol, 1.1 equiv). După 10 minute de agitare la temperatura camerei a fost observată dizolvarea completă si schimbul de culoare, care atestă formarea lawsonatului intermediar. Aldehida respectiva (2.0 mmol, 1.2 equiv) a fost adăugată și agitarea a fost continuata 12 ore la întuneric (balonul de reacție a fost acoperit cu folie de aluminiu). Precipitatul format a fost colectat prin filtrare *in vacuo*, spălat cu un volum minim de etanol și eter etilic, apoi uscat la presiune scăzută. Pentru unii dintre compuși a fost necesară recristalizarea din etanol fierbinte.



$R^1 = R^2 = R^4 = H$; $R^3 = NO_2$; R^5 = Bu, **MF-BD-396**
R^1 = OH; $R^2 = R^3 = R^4 = H$; R^5 = Bu, **MF-BD-397**
$R^1 = R^2 = R^4 = H$; $R^3 = NO_2$; R^5 = Bn, **MF-BD-398**
R^1 = OH; $R^2 = R^3 = H$; $R^4 = NO_2$; R^5 = Bu, **MF-DIF-48**
R^1 = OH; $R^2 = R^3 = H$; R^4 = Cl; R^5 = Bu, **MF-DIF-49**
R^1 = OH; $R^2 = R^3 = H$; R^4 = Br; R^5 = Bu, **MF-DIF-50**
$R^1 = R^2 = R^4 = H$; R^3 = OMe; R^5 = Bu, **MF-DIF-51**
$R^1 = R^4 = H$; R^2 = OMe; R^3=OH; R^5 = Bu, **MF-DIF-53**
$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$; R^5 = Bu, **MF-DIF-54**

Figura 2. Structurile compușilor obținuți

2-((butilamino)(4-nitrofenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-BD-396**)

Randament: 65%; cristale oranj; p. top. 172 °C. (lit. 172 °C) [9].

IR (ATR, ν max/cm⁻¹): 3666, 3070, 2960, 1675, 1590, 1519, 1258.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{20}N_2O_5$: C, 66.31; H, 5.30; N, 7.36%. Găsit: C, 66.12; H, 5.48; N, 7.49%.

2-((butilamino)(2-hydroxi)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-BD-397**)

Randament: 76%; cristale oranj; p. top. 136-137 °C. (lit. 137-138 °C) [9].

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 3668, 3071, 2959, 2746, 1677, 1589, 1526, 1271

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{21}NO_4$: C, 71.78; H, 6.02; N, 3.99%. Găsit: C, 71.85; H, 5.99; N, 3.94%.

2-((benzilamino)(4-nitrofenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-BD-398**)

Randament: 90%; cristale oranj; p. top. 138-139 °C. (lit. 139-140 °C) [9].

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 3422, 3064, 2971, 2901, 1682, 1589, 1516, 1282

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{24}H_{18}N_2O_5$: C, 69.56; H, 4.38; N, 6.76%. Găsit: C, 69.36; H, 4.30; N, 6.68%.

2-((butilamino)(2-hidroxi-5-nitrofenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 48**).

Randament: 46%; cristale oranj; p. top. 161-162 °C.

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 696, 714, 733, 743, 817, 836, 868, 909, 936, 982, 1086, 1128, 1219, 1287, 1334, 1429, 1475, 1488, 1525, 1591, 1682, 2433, 2558, 2968, 3077, 3667.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{20}N_2O_6$: C, 63.63; H, 5.09; N, 7.07 . Găsit: C, 63.46; H, 5.10; N, 7.06.

2-((butilamino)(5-chloro-2-hidroxifenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 49**).

Randament: 22%; cristale oranj; p. top. 156-157 °C.

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 661, 697, 734, 795, 822, 858, 883, 910, 942, 978, 1111, 1166, 1228, 1262, 1280, 1326, 1373, 1418, 1473, 1500, 1524, 1591, 1678, 2436, 2556, 2962, 3203, 3666.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{20}ClNO_4$: C, 65.37; H, 5.22; N, 3.63; Cl, 9.19. Găsit: C, 65.27; H, 5.23; N, 3.64.

2-((5-bromo-2-hidroxifenil)(butilamino)metil)-3- hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 50**).

Randament: 85%; cristale oranj; p. top. 154-155 °C.

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 696, 734, 821, 881, 976, 1106, 1166, 1228, 1264, 1281, 1326, 1373, 1416, 1473, 1497, 1523, 1589, 1678, 2435, 2557, 2961, 3184.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{20}BrNO_4$: C, 58.62; H, 4.68; N, 3.26; Br, 18.57. Găsit: C, 58.46; H, 4.69; N, 3.25.

2-((butilamino)(4-metoxifenil)metil)-3- hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 51**).

Randament: 66%; cristale oranj deschis; p. top. 149-151 °C.

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 696, 739, 769, 798, 846, 990, 1041, 1157, 1187, 1229, 1251, 1396, 1423, 1475, 1509, 1582, 1677, 2961, 3116, 3667.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{22}H_{23}NO_4$: C, 72.31; H, 6.34; N, 3.83. Găsit: C, 72.45; H, 6.35; N, 3.84.

2-((butilamino)(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 53**).

Randament: 58%; cristale oranj; p. top. 148-150 °C.

IR (ATR, νmax/cm⁻¹): 663, 695, 735, 769, 819, 851, 1037, 1127, 1207, 1250, 1268, 1323, 1367, 1443, 1518, 1588, 1676, 2724, 2931, 2957, 3255, 3661.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{22}H_{23}NO_5$: C, 69.28; H, 6.08; N, 3.67. Găsit: C, 69.45; H, 6.07; N, 3.66.

2-((butilamino)(fenil)metil)-3-hidroxinaftalen-1,4-dionă (**MF-DIF 54**).

Randament: 95%; cristale oranj; p. top. 142-143 °C. (lit. 143-144 °C) [9].

IR (ATR, νmax/cm^{-1}): 701, 734, 885, 989, 1154, 1233, 1276, 1371, 1386, 1508, 1528, 1587, 1678, 2323, 2933, 2960, 3664.

Anal. Elem.: Calc. pentru $C_{21}H_{21}NO_3$: C, 75.20; H, 6.31; N, 4.18; O, 14.31. Găsit: C, 75.23; H, 6.31; N, 4.19.

Biotestări

Linia celulară A375 a fost cultivată în DMEM cu 4,5 g/L glucoză, suplimentat cu 10% ser fetal bovin, 1% Pen-Strep și 1% L-glutamină. La atingerea fazei exponențiale de creștere a celulelor, acestea au fost însămânțate în plăci cu 96 de godeuri, la o densitate de 13 × 10.000 celule/godeu, și lăsate să crească timp de 24 de ore. Ulterior, celulele au fost expuse materialelor timp de 24 de ore, la concentrații cuprinse între 0,5 și 100 μM, folosindu-se ca martori DMSO (0,1%) și Tween 20 (10%) ca martori de metodă, iar celulele netratate ca martor de viabilitate.

Pentru metoda MTT: celulele au fost incubate cu o soluție de MTT de 0,5 mg/mL timp de 1,5 ore, apoi produsul a fost solubilizat cu 2-propanol, iar absorbția a fost citită la 560 nm folosind un spectrofotometru ELISA. Viabilitatea (activitatea mitocondrială) a fost calculată procentual în raport cu martorul netratat.

Pentru metoda LDH: mediile de cultură celulară au fost incubate cu o soluție de NADH în PBS timp de 5 minute, apoi plăcile au fost citite la 490 nm în spectrofotometru. Viabilitatea (eliberarea LDH) a fost calculată așa cum a fost descris anterior în Suciu *et al*., 2021 [10].

Rezultate și discuții

În cadrul acestei lucrări, bazele Mannich derivate din lawsonă au fost obținute utilizând reacția Mannich monotopă, în condiții de chimie sustenabilă, folosind etanolul ca solvent, la temperatura camerei, conform protocolului descris [9]. Produsul reacției s-a precipitat din amestecul de reacție, ceea ce facilitează izolarea ușoară a acestuia, așa după cum este descris în literatură [9]. Regioselectivitatea reacției este înaltă, datorită faptului că poziția C-3 este activată puternic, producând motivul structural al 3-aminometil lawsona, care se regăsește frecvent in literatura. Se știe, că combinația nucleului redox activ lawsonei cu substituentul aminometil permite modularea proprietăților fizicochimice si biologice, cum ar fi lipofilicitatea, aciditatea, capacitatea de a forma legături de hidrogen, si disponibilitate celulara [8, 9]. Bioactivitatea bazelor Mannich ale lawsonei este atribuită atât caracterului electrofil si activității redox al lawsonei, generării speciilor ROS, cat și influentei fragmentului Mannich asupra interacțiunilor intermoleculare și proprietăților fizicochimice. Interdependenta acestor factori complică studiul relației structura-activitate a acestor compuși, dar accesibilitatea lor sintetică și diversitatea structurala le fac atractivi pentru studii de chimie medicinala si coordinativa [8,9,11].

Compușii cristalini prezentați în lucrare, inclusiv cinci compuși necitați în literatură, au fost caracterizați pe baza punctelor de topire, analizei elementale si spectrelor FT-IR.

Spectrele FT-IR ale compușilor sintetizați prezintă o bandă largă de absorbție în regiunea de 3660 cm^{-1}, corespunzând grupării hidroxil (–OH) și aminei secundare (–NH) a bazei Mannich a lawsonei, care sunt implicate în legături de hidrogen extinse. Banda observată în intervalul 3180-3255 cm^{-1} este atribuită vibrațiilor de întindere a legăturilor C–H aromatice. Mai multe benzi slabe care apar între 2400 și 2900 cm^{-1} sunt atribuite atât grupărilor C–H aromatice, cât și celor alifatice. O bandă de absorbție puternică tipică pentru gruparea carbonil (C=O) este observată în jurul valorii de 1677–1680 cm^{-1}. Banda de vibrație de deformare a grupei N–H este detectată la aproximativ 1530 cm^{-1}. Banda puternică de întindere C–O la aproximativ 1280 cm^{-1} este caracteristică pentru gruparea naftochinonică. În MF-DIF-48, care conține o grupare nitro, vibrațiile de întindere simetrice și asimetrice ale grupării NO_2 sunt observate la 1334 și, respectiv, 1591 cm^{-1}. Vibrațiile de întindere caracteristice pentru legăturile C–Cl se găsesc în regiunea de amprentă a compusului MF-DIF-49, apărând ca benzi de intensitate slabă până la medie în regiunea 661-822 cm^{-1}. În derivatul bromurat MF-DIF-50, vibrația de întindere care identifică

legătura C-Br a fost găsită la 695 cm^{-1}. Prezența substituentului O-CH_3 în bazele Mannich derivate din lawsonă: MF-DIF-51 și MF-DIF-53 a fost atestată de întinderea asimetrică C-O-C observată ca o bandă intensă la 1250 cm^{-1}, în timp ce întinderea simetrică a avut loc la frecvențe mai mici, în jurul valorii de 1037–1150 cm^{-1}. Pentru compuși cunoscuți, spectrele IR corespund acelor din literatura [9].

Evaluarea activității anticancer s-a realizat pe baza rezultatelor testelor endpoint de viabilitate, evaluate prin metodele MTT și LDH pe linia celulară A375 (melanom malign uman). Acestea au arătat un răspuns dependent de concentrație. Probele au fost solubilizate în DMSO, la o concentrație de lucru de 0,1 mM. În testul **MTT**, în intervalul de concentrații 0,5–100 μM, toate probele au determinat o creștere a activității mitocondriale la concentrații ≤10 μM, valorile atingând 200–300% față de martor (Figura 3).

La concentrații ≥25 μM, toate probele au redus activitatea mitocondrială, viabilitatea celulară scăzând la cel mult 80% și, în unele cazuri, până la 5%. Unele probe (MF-DIF-397, MF-DIF-48, MF-DIF-49, MF-DIF-50, MF-DIF-51 și MF-DIF-53) au indus moarte celulară completă începând de la concentrația de 50 μM, indicând o afectare citotoxică severă. DMSO în concentrație de 0,1% nu a prezentat toxicitate, însă la 1% a redus viabilitatea celulară la aproximativ 50%.

În testul **LDH**, în același interval de concentrații (0,5–100 μM), concentrațiile ≤10 μM nu au determinat leziuni membranare semnificative, respectiv nu au indus eliberare detectabilă de LDH (Figura 4). La concentrații ≥25 μM, s-a observat o creștere a eliberării LDH de până la 30 mU/mL/min pentru probele MF-DIF-397, MF-DIF-48, MF-DIF-49, MF-DIF-50 și MF-DIF-53, ceea ce sugerează moartea celulară prin necroză. DMSO, atât la 0,1%, cât și la 1%, nu a indus necroză.

Concluzii

Rezultatele obținute confirmă succesul sintezei și caracterizării bazelor Mannich derivate din lawsonă, pe baza reacției monotop Mannich, în condiții ecologic prietenoase. Pentru compușii cunoscuți, MF-BD-396, MF-BD-397 și MF-BD-398, MF-DIF-54 caracteristicile fizico-chimice ale compușilor sintetizați de noi corespund cu cele descrise [9], iar celelalte cinci substanțe prezentate în articol sunt caracterizate pentru prima dată. Spectrele FT-IR evidențiază prezența tuturor grupărilor funcționale caracteristice și variațiile structurale introduse prin substituenți aromatici, datele de analiză elementală confirmând structurile compușilor. Datele spectroscopiei ^{1}H și ^{13}C RMN vor completa caracterisiticile individuale fizico-chimice ale compușilor noi. Analiza biologică a demonstrat că acești compuși prezintă un profil citotoxic dependent de concentrație asupra liniei celulare de melanom malign uman (A375), cu o stimulare a activității mitocondriale la concentrații scăzute și o reducere semnificativă a viabilității la concentrații mai mari. Corelarea rezultatelor MTT și LDH sugerează că mecanismul de moarte celulară implică atât procese apoptotice, cât și necrotice, în funcție de doză și structură. În ansamblu, datele susțin ipoteza că nucleul aminonaftochinonic reprezintă determinantul principal al bioactivității, în timp ce variațiile substituentului aromatic modulează răspunsul biologic. Aceste observații, împreună cu potențialul de coordonare metalică și proprietățile redox ale compușilor, evidențiază relevanța acestor derivați ca platforme promițătoare pentru dezvoltarea noilor agenți bioactivi în chimia medicinală.

Pe de altă parte, condițiile blânde ale acestei reacții monotop, timpul scurt de sinteză și posibilitatea izolării facile a produselor de reacție, prezintă reacția Mannich cu pornire de la lawsonă deosebit de accesibilă pentru lucrări practice didactice. În plus, caracterizarea rapidă prin FT-IR, corelată cu evaluări preliminare de bioactivitate, oferă un cadru integrat pentru ilustrarea relației structură–proprietăți și a conceptelor fundamentale din chimia organică și medicinală.

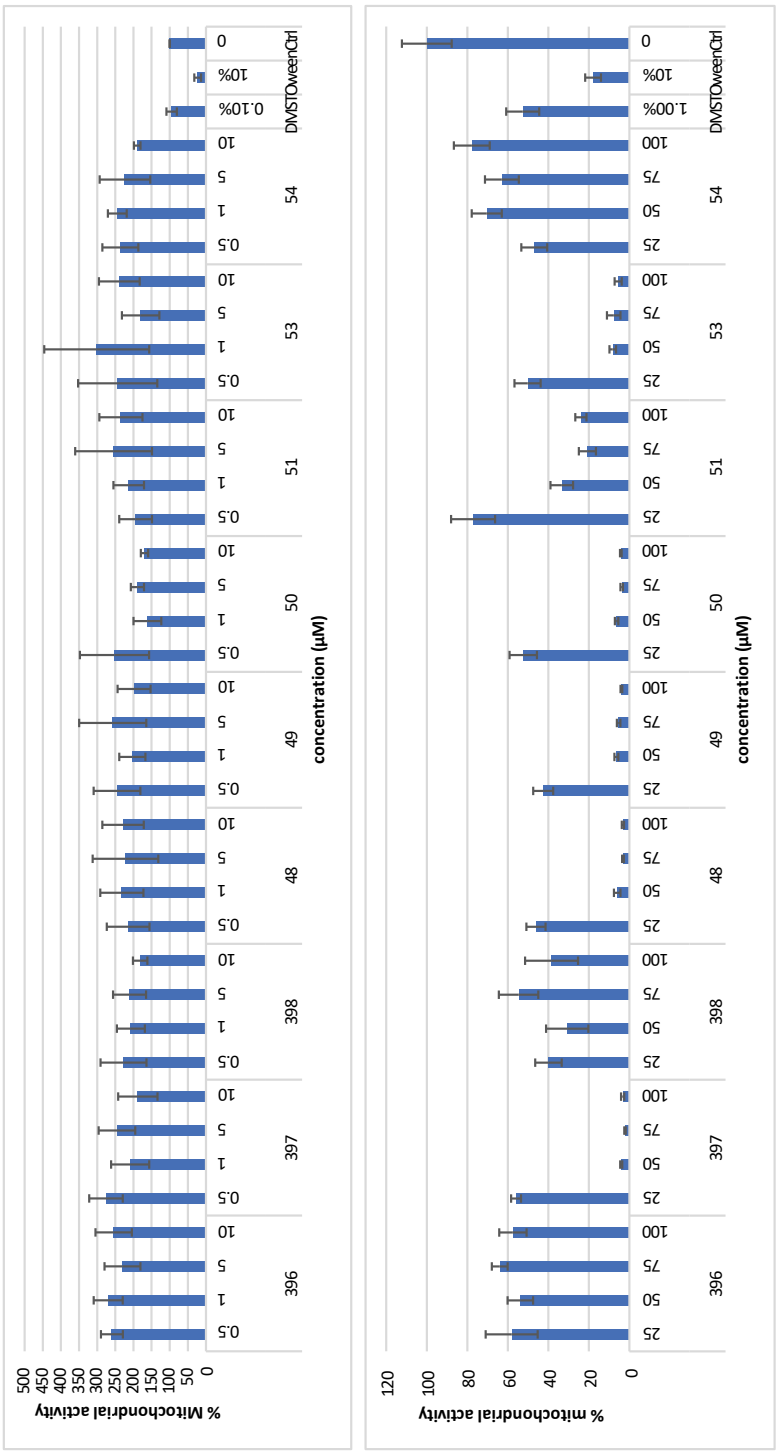


Figura 3. Rezultatele testelor MTT

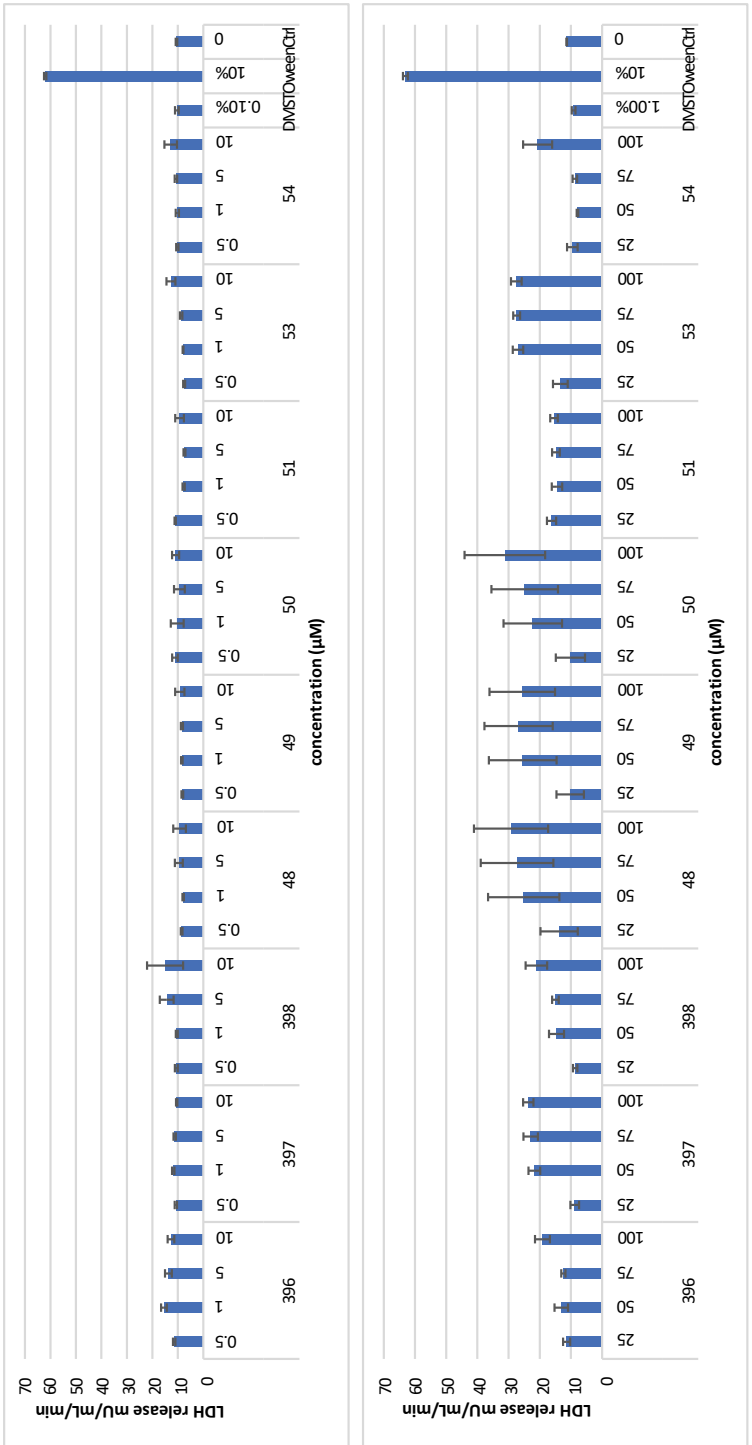


Figura 4. Rezultatele testelor LDH

În perspectivă, prezența mai multor situsuri donatoare potențiale în bazele Mannich descrise ale lawsonei le conferă acestora capacitatea de a chela metale de tranziție. Coordinarea metalică poate modifica semnificativ comportamentul redox si proprietățile fizicochimice ale scheletului de bază, și in numeroase cazuri raportate în literatură, poate intensifica efectele citotoxice si/sau antimicrobiene [11]. Prin urmare, sinteza și caracterizarea complecșilor metalici ai prezentei serii de derivați reprezintă o direcție logică și promițătoare pentru studii ulterioare.

Nota bene:

D.F., E.G. și D.B. exprimă multumire pentru sprijinul acordat din partea Ministerului Educației și Cercetării din Republica Moldova, pentru finanțarea proiectului *„ Studiul chimic al metaboliților secundari din sursele naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ în baza lărgirii diversității moleculare cu funcționalitate multiplă (MetNatVal)”* (cod 010601) , precum și dnei Dr. Eugenia Stîngaci pentru discuții utile. F.Z.M. și N.S. doresc să își exprime recunoștința pentru sprijinul acordat printr-un grant din partea Ministerului Educației și Cercetării, CNCS-UEFISCDI și NARD din Moldova, proiectul cu numărul PN-IV-PCB-RO-MD-2024-0011, în cadrul PNCDI IV.

N.E.D și M.S. țin să multumească Ministerului Educației și Cercetării din România pentru sprijinul financiar acordat programului “Nucleu” în cadrul Planului Național de Cercetare, Dezvoltare și Inovare 2022-2027, Romania, proiectul nr. 27N/03.01.2023, codul component PN 23 24 01 02.

Referințe:

1. MANNICH, C., KRÖSCHE, W. "Ueber ein Kondensationsprodukt aus Formaldehyd, Ammoniak und Antipyrin". In: *Archiv der Pharmazie* (in German), 1912, nr. 250(1), pp. 647–667. DOI: doi:10.1002/ardp.19122500151
2. CORES, Á., CLERIGUÉ, J., OROCIO-RODRÍGUEZ, E., MENÉNDEZ, J.C. Multicomponent Reactions for the Synthesis of Active Pharmaceutical Ingredients. In: *Pharmaceuticals,* 2022, nr. 15(8), p.1009. DOI: https://doi.org/10.3390/ph15081009
3. CÓRDOVA, A. The direct catalytic asymmetric Mannich reaction. In: *Acc Chem Res.* 2004, nr. 37(2), pp. 102-112. DOI: 10.1021/ar0302311
4. GROLIG, J., WAGNER, R. *Naphthoquinones. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Weinheim: Wiley-VCH. DOI:10.1002/14356007.a17_067. ISBN 978-3-527-30673-2.
5. MARRIOTT, B.P., BIRT, D.F., STALLINGS, V.A., YATES, A.A. eds. *Vitamin K. Present Knowledge in Nutrition*, Eleventh Edition. London, United Kingdom: Academic Press (Elsevier), 1997, pp. 137–154. doi:10.1002/9781119946045.ch15. ISBN 978-0-323-66162-1.
6. NAVARRO-TOVAR, G., VEGA-RODRÍGUEZ, S., LEYVA, E., LOREDO-CARRILLO, S., de LOERA, D., LÓPEZ-LÓPEZ, L.I. The Relevance and Insights on 1,4-Naphthoquinones as Antimicrobial and Antitumoral Molecules: A Systematic Review. In: *Pharmaceuticals*, 2023, nr. 16(4), p. 496. DOI: https://doi.org/10.3390/ph16040496.
7. NAIR, A., SEKAR, M., GAN, S.H., KUMARASAMY, V., SUBRAMANIYAN, V., WU, Y.S., MAT RANI, N.N.I., RAVI, S., WONG, L.S. Lawsone Unleashed: A Comprehensive Review on Chemistry, Biosynthesis, and Therapeutic Potentials. In: *DDDT*, 2024, 18, pp. 3295–3313, DOI:10.2147/DDDT.S463545.
8. MAHAL, K., AHMAD, A., SCHMITT, F., LOCKHAUSERBÄUMER, J., STARZ, K., PRADHAN, R., PADHYE, S., SARKAR, F.H., KOKO, W.S., SCHOBERT, R., et al. Improved Anticancer and Antiparasitic Activity of New Lawsone Mannich Bases. In: *Eur. J. Med. Chem*., 2017, 126, pp. 421–431, DOI:10.1016/j.ejmech.2016.11.043.
9. NEVES, A.P., BARBOSA, C.C., GRECO, S.J., VARGAS, M.D., VISENTIN, L.C., PINHEIRO, C.B., MANGRICH, A.S., BARBOSA, J.P., COSTA, G.L.D. Novel Aminonaphthoquinone Mannich Bases Derived from Lawsone and Their Copper(II) Complexes: Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity. In: *J. Braz. Chem. Soc.*, 2009, 20, pp. 712–727, DOI:10.1590/S0103-50532009000400015.

10. SUCIU, M., PORAV, S., RADU, T., ROSU, M.C., LAZĂR, M.D., MACAVEI, S., SOCACI, C. Photodynamic Effect of Light Emitting Diodes on E. Coli and Human Skin Cells Induced by a Graphene-Based Ternary Composite. In: *J. Photochem. Photobiol. B,* 2021, 223, pp. 112298. DOI:10.1016/j.jphotobiol.2021.112298.
11. OLYAEI, A., SADEGHPOUR, M., KHALAJ, M. Mannich bases derived from lawsone and their metal complexes: synthetic strategies and biological properties. In: *RSC Adv*. 2020, 10, pp. 30265–30281, DOI:10.1039/D0RA05717G.

Date despre autori:



Danil FELDMAN, inginer chimist, Institutul de Chimie, USM
e-mail: cbf.21.feldman.danil@gmail.com
ORCID: 0009-0003-5402-9861



Elena GORINCIOI, cercetător științific coordonator, Institutul de Chimie, USM
e-mail: elena.gorincioi@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-5087-2777



Maria SUCIU, Cercetător științific III
e-mail: maria.suciu@itim-cj.ro
ORCID: 0000-0001-5449-9108



Dmitri BILAN, Institul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: dumitru.bilan@sti.usm.md
ORCID: 0000-0003-4283-2510



Jalba ANGELA, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: jalbaangela79@gmail.com
ORCID: 0009-0003-3120-8760



Natalia SUCMAN, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: natalia_sucman@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-8733-3040



Gheorghe DUCA, dr. habilitat, prof., academician AȘM Șef laborator
e-mail: ggduca@gmail.com
ORCID: 0000-0001-7265-6293



Nicoleta-Elena DINA, Cercetător științific II - Șef echipă
e-mail: nicoleta.dina@itim-cj.ro
ORCID: 0000-0002-0435-2105



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 547.913:635.711:543.42 https://doi.org/10.59295/mabt2026.22

STUDIU AL COMPOZIȚIEI ULEIURILOR ESENȚIALE A DOUĂ SPECII DE CIMBRU: SATUREJA SUBSPICATA BARTL. EX. VIS. ȘI SATUREJA MONTANA L. PRIN SPECTROSCOPIE ÎN INFRAROȘU

Diana ȘEPELI

Institutul de Chimie al USM

Rezumat

Uleiurile esențiale de *Satureja subspicata bartl. ex. vis.* și *Satureja montana L.* au fost izolate și studiate. Componentele predominante sunt carvacrolul, al cărui conținut variază de la 49,73% până la 37,22%, și p-cimenul - de la 27,15% până la 6,94%. De asemenea, au fost detectați terpenoizi: γ-terpinen, alcoolul nerol, aldehidele (E)-citral și (Z)-citral; sescviterpene: (+)-β-bisabolen, β-cariofilen, germacren B și germacren D. Spectroscopia IR a fost utilizată pentru a studia compoziția uleiurilor esențiale. Întreaga compoziție a uleiurilor esențiale a fost studiată utilizând GC-MS, datele acesteia fiind utilizate pentru descifrarea spectrelor IR. În spectrele IR s-au găsit benzi de absorbție ale p-cimenului și carvacrolului, legate de grupările funcționale OH, C-H, -CH_3, -$CH(CH_3)_2$, C-C (vibrațiile scheletice ale hidrocarburilor ciclice și aciclice), C-O, C=O (aldehidele și cetonele) și C=C (alchenele). Cea mai mare diferență în spectrele IR se observă în regiunea de 1620 - 1670 cm^{-1}, responsabilă de prezența aldehidelor în uleiuri.

Cuvinte-cheie: spectroscopie IR, cimbru, carvacrol, p-cimen, terpenoids, ulei esențial.

STUDY OF THE COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS OF TWO SPECIES OF SAVORY: SATUREJA SUBSPICATA BARTL. EX. VIS. AND SATUREJA MONTANA L. BY INFRARED SPECTROSCOPY

Abstract

The essential oils of *Satureja subspicata bartl. ex. vis.* and *Satureja montana L.* were isolated and studied. The predominant components are carvacrol, the content of which varies from 49.73% to 37.22%, and p-cymene, from 27.15% to 6.94%. Terpenoids were also detected: γ-terpinene, the alcohol nerol, aldehydes (E)-citral and (Z)-citral; sesquiterpenes: (+)-β-bisabolene, β-caryophyllene, germacrene B and germacrene D. IR spectroscopy was used to study the composition of the essential oils. The full composition of the essential oils was studied using GLC-MS, the data from which were used to interpret of IR spectra. The IR spectra revealed absorption bands of p-cymene and carvacrol, which correspond to the functional groups OH, C-H, CH3, -CH(CH3)2, C-C (skeletal vibrations of cyclic and acyclic hydrocarbons), C-O, C=O (aldehydes and ketones), and C=C (alkenes). The greatest difference in the IR spectra is observed in the range of 1620–1670 cm-1, which is responsible for the presence of aldehydes in the oils.

Keywords: IR spectroscopy, *Satureja*, carvacrol, p-cymene, terpenoids, essential oil.

Introducere

Uleiurile esențiale (UE) sunt cele mai importante produse pentru multe industrii și medicină. Sunt un amestec complex de substanțe cu structuri variate.

Scopul cercetării noastre a fost analizarea uleiurilor esențiale de cimbru de munte violet (*Satureja subspicata Bartl. ex. Vis.)* și cimbru de munte (*Satureja montana L.),* cultivate în Republica Moldova la Institutul Grădinii Botanice din Republica Moldova, utilizând spectroscopia IR și o analiză comparativă a compoziției acestora folosind date GC-MS.

Uleiurile esențiale de *Satureja subspicata Bartl. ex. Vis și Satureja montana L.* reprezintă o sursă potențială de ingrediente antimicrobiene pentru industria alimentară și farmaceutică. Ele au fost obținute prin distilare într-un aparat Neo-Clevenger [1,2].

Spectroscopia IR este considerată insuficientă pentru analiza amestecurilor și compușilor complexi. Prin urmare, datele GC-MS au fost utilizate pentru a studia spectrele IR, oferind informații complete despre compoziția uleiului esențial. Analiza GC-MS a uleiurilor esențiale a fost efectuată pe un instrument Agilent Technologies 7890A cu un detector cuadripol selectiv de masă Agilent Technologies MSD 5975C [3]. Analiza GC-MS a uleiurilor esențiale a relevat prezența:

1 - 36 componente *în S. subspicata* - 95,07% (din cantitatea totală de uleiuri esențiale);
2 - 27 componente în *S. subspicata* (formă nouă) - 96,05%;
3 - 26 componente în *S. montana* - 98,16%;
4 - 16 componente în *S. montana* (lotul original 2015) - 97,91%.

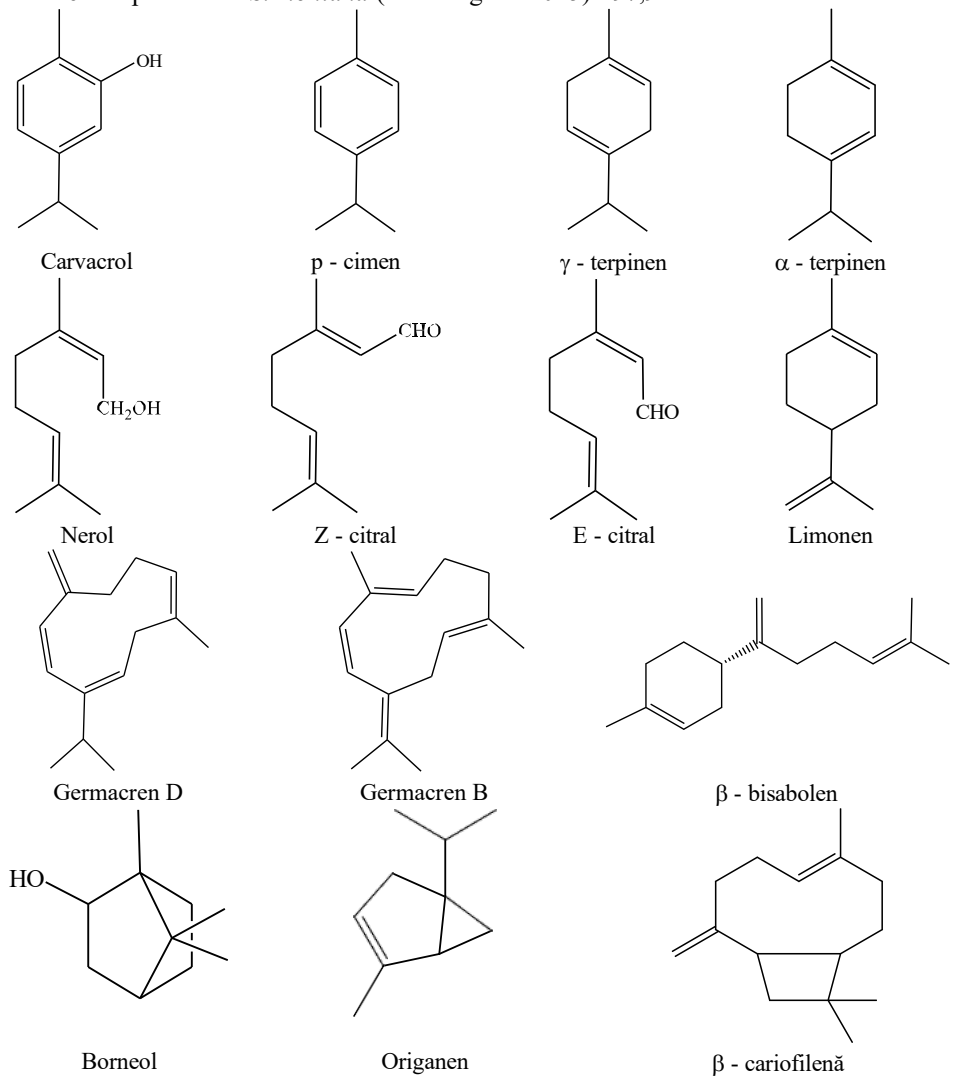


Figura 1. Structura chimică a componentelor principale ale uleiurilor esențiale de *Satureja subspicata bartl.* ex. vis. și *Satureja montana L.*

Conform analizei GC-MS componetul de bază al uleiului esențial de *S. subspicata* **(1)** este terpenul fenolic carvacrolul (47,56%), urmat de hidrocarburile monoterpenice: p-cimen (6,94%) și γ-terpinen (5,54%); nerol (2,15%); aldehidele (E)-citral (7,23%) și (Z)-citral (5,73%); sesquiterpene (+)-β-bisabolen (5,80%), β-cariofilenă (2,61%), germacren B (1,78%) și germacren D (1,42%). Compoziția uleiului esențial al unei alte specii de cimbru, *Satureja subspicata Bartl. ex Vis*., o formă nouă **(2),** este diferită. Aceasta conține carvacrol 37,22%, p-cimen (11,90%), γ-terpinen (5,50%), alcool nerolic (4,34%), (E)-citral (10,83%), (Z)-citral (9,49%), (+)-β -bisabolen (5,23%) și β -cariofilen (2,27%). Cimbrul *Satureja montana L.* **(3)** se caracterizează, de asemenea, printr-un conținut ridicat de carvacrol (45,13%), p-cimen (17,03%), γ -terpinen (13,35%), α-terpinen (2,49%), limonen (1,69%), origanen (1,45%), alcool borneolic (1,21%), β-cariofilenă (3,96%), (+)-β-bisabolen (1,43%). O altă specie de cimbru de munte *Satureja montana L.* (lotul original din 2015) **(4),** conține carvacrol (49,73%), p-cimen (27,15%), γ - terpinen (7,75%), α - terpinen (2,08%), borneol (1,36%), β - cariofilen (3,34%). Aldehidele sunt absente în uleiurile esențiale ale celor două specii de cimbru de munte studiate.

Metode și materiale aplicate

Pentru descifrarea spectrelor IR și atribuirea benzilor grupurilor funcționale corespunzătoare, au fost utilizate diverse baze de date electronice cu spectre IR ale substanțelor individuale, atlase spectrale IR și alte lucrări de referință privind spectroscopia IR [4-8]. Spectrele IR au fost descifrate pe baza caracteristicilor spectrale ale principalelor componente conținute în uleiurile esențiale.

Spectrele au fost înregistrate pe un spectrometru Spectrum 100 FT-IR (Perkin Elmer, SUA) cu transformată Fourier și un dispozitiv de reflexie internă totală atenuată (ATR). La înregistrarea spectrelor IR, analitul (o picătură de ulei esențial) este plasat în contact direct cu un cristal de ZnSe (încorporat în dispozitiv) și fixat în poziție folosind un dispozitiv de prindere. Radiația IR este apoi trecută prin cristal la un unghi special selectat, a cărui intensitate este înregistrată la ieșirea cristalului. Intervalul de înregistrare a spectrului IR a fost de 4000–650 cm^{-1} [9, 10].

Rezultate obținute și discuții

Principalele componente ale uleiului esențial de S. Subspicata sunt terpenele aromatice carvacrol (5-izopropil-2-metilfenol, CAS 499-75-2) și p-cimen (5-izopropiltoluen, CAS 99-87-6). Spectrele IR ale acestor substanțe conțin benzi de absorbție legate de grupările funcționale OH, C-H, CH_3, $-CH(CH_3)_2$, C-C (vibrațiile scheletice ale hidrocarburilor ciclice și aciclice), C-O. [6, 8].

Din spectrele IR este clar că acești compuși și grupările funcționale înrudite cu acești compuși sunt prezente în uleiurile esențiale studiate, izolate din diferite tipuri de cimbru (*Satureja*) (Fig. 2-3).

Uleiurile esențiale de *Satureja subspicata* **(1)** și **(2)** conțin o cantitate mare de componente care conțin gruparea aldehidică: mirtanal, 2,2-dimetilocta-3,4-dienal, Z-citral și E-citral. Conținutul lor total este de 13,57% pentru 1 și 21,36% pentru 2. Spectrele IR ale acestor două uleiuri esențiale prezintă un vârf intens în regiunea de 1661 cm^{-1}, care este legat de absorbția grupării C=O a aldehidelor și cetonelor și a alchenelor C=C (Fig. 2).

În spectrele IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja montana* (**3**) și (**4**), intensitățile vârfurilor în aceeași regiune de 1655 și 1621 cm^{-1} sunt foarte scăzute (Fig. 3). În aceste uleiuri, conținutul de compuși aromatici în suma p-cimenului și carvacrolului este de 62,16% - **3** și 76,88% - **4**. Nu există componente care să conțină o grupare aldehidă. Prin urmare, se poate concluziona că cea mai mare diferență în spectrele IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja subspicata* și *Satureja montana* se observă în regiunea 1620 - 1670 cm^{-1}, responsabilă de prezența aldehidelor în uleiuri (Fig. 2-3).

Interpretarea unor benzi de absorbție IR ale uleiurilor esențiale studiate este prezentată în Tabelul 1.

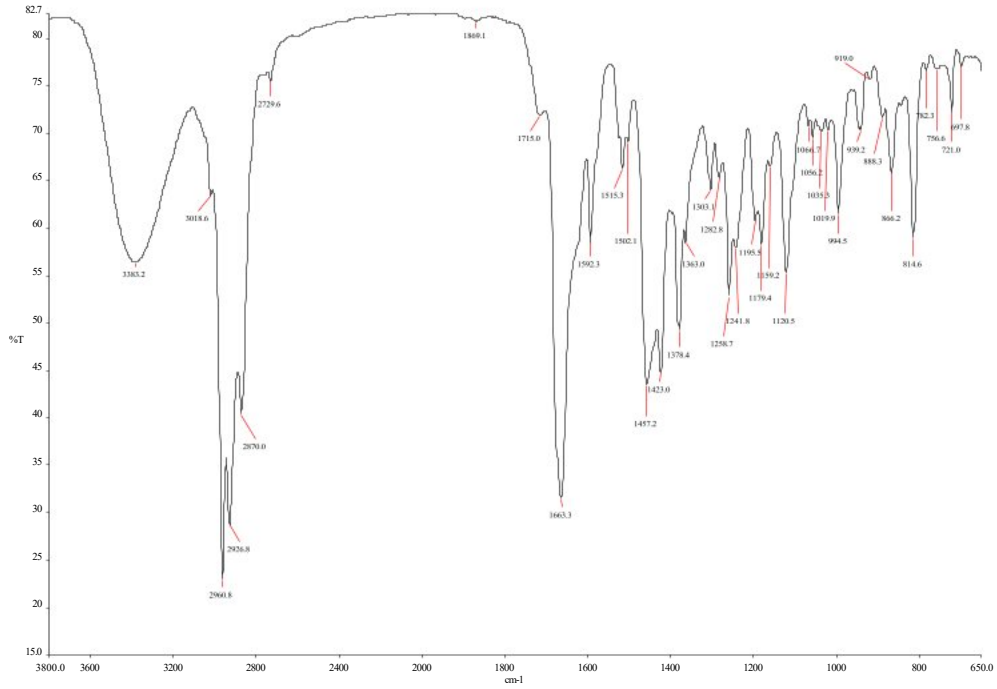


Figura 2. Spectrul IR al uleiului esențial de Satureja subspicata Bartl. ex Vis. (formă nouă) (2).

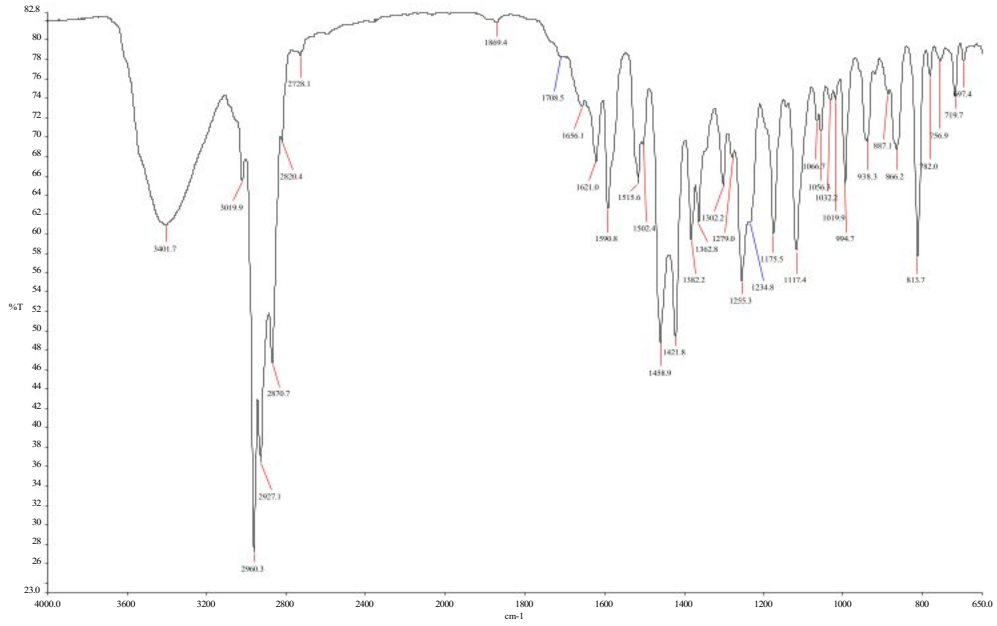


Figura 3. Spectrul IR al uleiului esențial de *Satureja montana L.* (3).

Tabelul 1. Interpretarea unor benzi de absorbție ale spectrelor IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja subspicata Bartl. ex Vis.* și *Satureja montana L.*

Denumirea uleiului esențial	Fragmente structurale	Maxime de absorbție, cm-1	Tipuri de oscilații
S. subspicata (mostrele 1 și 2)	C-H C-H (inel aromatic)	3019, 2961, 2927, 2870, 1457, 1423, 1056, 815	ν δ
	C-H (-C(CH3)3)	1179	δ
	-CH2-CH2-CH2-	2927, 2870, 1457, 721	ν δ
	-CH2-	994	δ
	-CH3	2961, 2870, 1457, 1378	ν δ
	≡C-CH3, >C(CH3)2, -C(CH3)3	2961, 2927, 2870, 1457, 1378	ν δ
	R – OH R : alchil, fenil	3383 1303, 1282, 1241, 721	ν δ
	C-O (alcooli, eteri)	1257	ν
	C=O (grupare ceto – aldehidă –COH sau >C=O)	2729, 1715, 1663	ν δ
	-C=C- (alchene)	1663	ν
	C-C (inel aromatic)	1592, 1515, 1502, 1457	δ
Satureja montana (mostrele 3 și 4)	C-H C-H (inel aromatic)	3020, 2960, 2927, 2870, 1459, 1421, 1175, 1117, 1056, 1020, 994, 814	ν δ δ
	C-H (-C(CH3)3)	1175	δ
	-CH2-	994	δ
	-CH3	2960, 2870, 1459, 1382	ν δ
	≡C-CH3, >C(CH3)2, -C(CH3)3	2960, 2927, 2870, 1459, 1382	ν δ
	O-H (Ar – OH)	3401 1302, 1279, 720	ν δ
	C-O (alcooli, eteri)	1255	ν
	-C=C- (alchene)	1655, 1621	ν
	C-C (inel aromatic)	1591, 1515, 1459	δ

Concluzii

Au fost izolate și studiate uleiuri esențiale din două soiuri de cimbru de munte violet și două soiuri de cimbru de munte. Componentele predominante au fost carvacrolul și p-cimenul. De asemenea, au fost detectate terpenoidele γ-terpinen, alcoolul nerol, aldehidele (E)-citral și (Z)-citral, precum și sescviterpenele (+)-β-bisabolen, β-cariofilen, germacren B și germacren D.

Evaluarea posibilității de analiză uleiurilor esențiale folosind spectroscopia IR a relevat că, deși această metodă nu oferă informații complete, este totuși una dintre cele mai bune metode analitice pentru amestecuri complexe de substanțe, cum ar fi uleiurile esențiale. Această lucrare propune o abordare pentru studierea compoziției uleiurilor esențiale folosind spectroscopia IR cu transformare Fourier cu atașament ATR în intervalul de lungimi de undă 4000-650 cm^{-1}.

Cea mai mare diferență în spectrele IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja subspicata* și *Satureja montana* se observă în intervalul 1620–1670 cm^{-1}, acesta fiind responsabil pentru

prezența aldehidelor în uleiuri. Spectrele IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja subspicata* prezintă un vârf intens la 1661 cm^{-1}, atribuit absorbției grupării C=O a aldehidelor și cetonelor și C=C a alchenelor. În spectrele IR ale uleiurilor esențiale de *Satureja montana*, intensitățile vârfurilor la 1655 și 1621 cm^{-1} sunt foarte scăzute, deoarece nu există componente care să conțină o grupare aldehidă.

Referinţe:

1. СИДОРОВ, И.И., ТУРЫШЕВА, Н.А., ФАЛЕЕВА, Л.П., ЯСЮКЕВИЧ, Е.И. Технология натуральных эфирных масел и синтетических душистых веществ. Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1984. 368с. УДК: 665.52.011(075). Disponibil: https://djvu.online/file/TZUqhlUWyJO0w [Accesat: 25.03.2026]
2. TEPE, B., CILKIZ, M.A. Pharmacological and phytochemical overview on Satureja. In: Pharmaceutical Biology, 2016, vol. 54, nr. 3, pp. 375-412. ISSN 1388-0209. DOI: 10.3109/13880209.2015.1043560.
3. DRAGALIN, I., ARICU, A., CIOCARLAN, N., CIOCARLAN, A., CODITA, V. GC-MS analysis of the essential oil of Satureja subspicata Bartl. ex Vis. of Moldovan origin. In: Chemistry Journal of Moldova, 2016, nr. 11(2), pp. 105-108. ISSN 1857-1727. DOI: 10.19261/cjm.2016.11(2).06
4. ТАРАСЕВИЧ, Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. Москва: МГУ имени М.В. Ломоносова, 2012. 54с. Disponibil: http://www.chem.msu.su/rus/teaching/tarasevich/Tarasevich_IR_tables_29-02-2012.pdf [Accesat: 25.03.2026]
5. ВАСИЛЬЕВ, А.В., ГРИНЕНКО, Е.В., ЩУКИН, А.О., ФЕДУЛИНА, Т.Г. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений: Учебное пособие. Санкт-Петербург: СПбГЛТА, 2007. 54с. Disponibil: https://studfile.net/preview/3167118/ [Accesat: 25.03.2026]
6. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Japan. 2026. Disponibil: https://sdbs.db.aist.go.jp [Accesat: 25.03.2026]
7. NIST Chemistry WebBook, SRD 69. The National Institute of Standards and Technology of the U.S. Department of Commerce, USA. 2025. Disponibil: https://webbook.nist.gov/chemistry/#Documentation [Accesat: 25.03.2026]
8. SAMEIN, N.M., KAMEL, F.H. Extraction of compounds from thyme leaves and their antimicrobial activity. In: Diyala Agricultural Sciences Journal, 2019, vol. 11, nr. 2, pp. 18–24. ISSN 2073-9524. DOI:https://doi.org/10.52951/dasj.19110203
9. БЁККЕР Ю. Спектроскопия. Москва: Техносфера, 2009. 527 с. ISBN 978-5-94836-220-5 (в пер.).
10. ЕЖЕВСКАЯ, Т.Б., БУБЛИКОВ, А.В. Пробоподготовка и методы исследования различных объектов на ИК фурье-спектрометре с приставками, включая ИК микроскоп и МНПВО, при проведении криминалистических экспертиз. В: Эксперт-криминалист, 2006, №4, сс. 28-34. ISSN 2072-442X.

Date despre autori:



Diana ȘEPELI
Institutul de Chimie al USM
e-mail: dianashepel@gmail.com
ORCID: 0000-0002-0192-1085

CZU: 616-006:577.346:547.466.64:615.28 https://doi.org/10.59295/mabt2026.23

METABOLISMUL GLUTATIONULUI ÎN CANCER

Evgheni GRUSAC[1], Veronica SARDARI[1], Dionisie CEBOTARI[1], Nadejda RAILEAN[2], Olga GARBUZ[2], Olga TAGADIUC[1], Aurelian GULEA[3]

[1]Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[2] Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie
[3] Laboratorul de Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutului de Chimie al Universității de Stat din Moldova

Rezumat

În ultimele decenii s-a demonstrat un nivel crescut de glutation redus (GSH) în diferite tipuri de cancer, asociindu-se cu rezistența la chimioterapie. S-a relevat că GSH menține speciile reactive de oxigen (ROS) la nivel fiziologic prin activarea căii factorului nuclear eritroid 2-legat de factorul 2 (NRF2), suprimând apoptoza, necroptoza, ferroptoza, autofagia. Multe medicamente clasice anticancerigene își exercită efectele terapeutice prin generarea de ROS. Compușii coordinativi ai Cu cu liganzi specializați (tiosemicarbazone, izotiozemicarbazone și derivați ai piridinei) sintetizați de echipa Academicianului Aurelian Gulea, reprezintă un domeniu promițător de cercetare în oncologie, manifestând proprietăți antiprolifrative cu indicele selectivității mai înalt decât cel al chimioterapicelor clasice. Dintr-o parte cuprul (Cu) posedă capacitate de depleție a glutationului, iar din altă parte liganzii specializați au proprietăți antioxidante substituind funcția glutationului, fără activarea NRF2. Astfel acești compuși pot depăși rezistența la chimioterapice, prin reducerea metabolismului glutationului în cancer. Obiectul studiilor ulterioare reprezintă investigarea afinității acestor compuși coordinativi ai Cu către glutation și alte preparate chimioterapeutice.

Cuvinte-cheie: ROS, GSH, metionina, NRF2, Cu, tiosemicarbazone, izotiozemicarbazone, derivați ai piridinei, rezistența la chimioterapice.

THE GLUTATHIONE METABOLISM IN CANCER

Abstract

Elevated levels of reduced glutathione (GSH) have been reported in various types of cancers in recent decades and are associated with chemotherapy resistance. GSH maintains reactive oxygen species (ROS) at physiological levels through activation of the nuclear factor erythroid 2–related factor 2 (NRF2) pathway, thereby suppressing apoptosis, necroptosis, ferroptosis, and autophagy. Many conventional anticancer drugs exert their effects by generating ROS. Copper coordination compounds with specialized ligands (thiosemicarbazones, isothiosemicarbazones, and pyridine derivatives), synthesized by the research team of Academician Aurelian Gulea, represent a promising approach in oncology, exhibiting high antiproliferative activity and selectivity. Copper can induce glutathione depletion, while the ligands display antioxidant properties that may substitute GSH function, without activating NRF2. These compounds may overcome chemotherapy resistance by reducing glutathione metabolism in cancer. Further studies are needed to evaluate the interaction of these Cu coordination compounds with glutathione and other chemotherapeutic agents.

Keywords: ROS, GSH, methionine, NRF2, copper, thiosemicarbazones, isothiosemicarbazones, pyridine derivatives, chemotherapy resistance.

Introducere

Studiile științifice asupra glutationului (γ-glutamil-cisteinil-glicină; GSH) a contribuit în mod semnificativ la dezvoltarea biochimiei și a științelor nutriționale în ultimii 125 de ani. În mod specific, aceste studii au condus la formularea teoriei radicalilor liberi în bolile umane și în

procesul de îmbătrânire, precum și la dezvoltarea terapiilor nutriționale menite să îmbunătățească statusul GSH în diverse condiții patologice [1].

În ultimele decenii s-a relevat un nivel crescut de GSH și de alți antioxidanți detectați în diferite tipuri de cancer (de exemplu melanom, hepatocarcinom, cancerul măduvei osoase, cancer mamar, colon, pancreas, plămân, ovar, cavitate orală, cap și gât), ce pot contribui la progresia neoplazică și pot asigura dobândirea rezistenței la medicamente [2,3]

Celulele canceroase mențin adesea concentrația intracelulară de GSH de 1–10 mM, fiind de 1000 de ori mai mare decât nivelul extracelular, care variază aproximativ între 2 și 20 μM [4]. S-a demonstrat că GSH și alți antioxidanți mențin speciile reactive de oxigen (ROS) la nivel fiziologic, stimulând supraviețuirea și proliferarea celulară (tranziția din faza G0 în G1 a ciclului celular) prin activarea căilor de semnalizare redox (de exemplu protein kinaza B (Akt), protein kinaza mitogen activată (MAPK) și protein kinaza C (PKC)) și prin suprimarea morții celulare (apoptoză, necroptoză, ferroptoză, autofagie) indusă de concentrații suprafiziologice de ROS [2,5] .

În condiții fiziologice, speciile reactive de oxigen (ROS) sunt generate predominant de mitocondrii prin transferul de electroni mediat de transportori precum flavin-adenin-dinucleotidul (FAD), nicotinamid-adenin-dinucleotidul (NAD), coenzima Q și citocromul c [6]. Spre deosebire de celulele normale, celulele canceroase necesită un nivel mai ridicat de ROS pentru a susține metabolismul intensificat și proliferarea accelerată [5]. Prin urmare, echilibrul redox este perturbat, ceea ce duce la o producție crescută de ROS (H_2O_2, O_2^-, OH^-, radical peroxil lipidic, peroxinitrit) din cauza mai multor factori, inclusiv activarea oncogenelor, glicoliza aerobă (efectul Warburg), hipoxia și disfuncția mitocondrială [1,3,7].

Nivelul scăzut și moderat de ROS este în general recunoscut ca stimulând mitoza și având efect benefic asupra creșterii celulare, participând în sinteza hormonilor (tiroxina), exercitând efecte antibacteriene, în timp ce nivelul excesiv de ROS poate provoca rupturi și mutații ale ADN-ului, anomalii ale rupturilor duble ale ADN-ului, conducând în final la stres oxidativ [5,8].

Multe medicamente anticancerigene își exercită efectele terapeutice prin generarea de ROS, în timp ce nivelul crescut de GSH neutralizează aceste ROS, diminuând astfel citotoxicitatea medicamentelor și favorizând chemorezistența [9].

Scopul studiului a constat de a elucida mecanismele biochimice a metabolismului glutationului cu scop de a explica selectivitatea și efectele antiproliferative a compușilor coordinativi ai Cu.

Metode şi materiale aplicate

A fost realizată o analiză a literaturii din perioada 2016–2026, utilizând 30 de articole, incluzând date din ScienceDirect, PubMed Central, Biomed Central, MedScape și Google Scholar la solicitarea următoarelor cuvinte-cheie: ROS, GSH, metionina, NRF2, cupru (Cu), tiosemicarbazone, izotiozemicarbazone, derivați ai piridinei, rezistența la chimioterapice.

Criteriile care au stat la baza includerii surselor bibliografice au fost: relevanța informațiilor prezentate, actualitatea publicațiilor, pertinența față de tema analizată și perioada de apariție a acestora. La tema dată am analizat surse scrise în limba română, engleză și rusă.

Criterii de excludere a surselor bibliografice: studii clinice cu rezultate neconcludente, publicații cu acces închis.

Rezultate obţinute şi discuţii

Glutationul redus (GSH) reprezintă principalul tampon antioxidant intracelular împotriva stresului oxidativ, acționând ca captator de radicali liberi și ca agent detoxifiant în celule. GSH este prezent la concentrații milimolare, în principal în citosol, unde reprezintă peste 70–85% (1–15 mM) din conținutul intracelular total [5].

În condiții fiziologice, forma redusă a glutationului (GSH) este predominantă, iar raportul dintre GSH și glutationul oxidat (disulfidic) (GSSG) în citosol este estimat la aproximativ 10000:1 – 50000:1 [5]. GSH se mai găsește și în reticulul endoplasmatic, matricea nucleară și peroxizomi [3]. Distribuția sa între diferitele compartimente intracelulare este esențială pentru reglarea homeostaziei redox, expresiei genice, semnalizării celulare și proliferării [2]. Rezerva de glutation mitocondrial (mGSH) reprezintă doar 10–15% din cel total, având concentrații similare cu cele ale GSH citosolic. Acesta pătrunde în matricea mitocondrială prin intermediul a doi transportori de anioni: transportorul dicarboxilat (DCC) și transportorul 2-oxoglutarat (OGC) [5,7]. În mitocondrii, GSH reacționează cu speciile reactive de oxigen (ROS) și previne apoptoza [7]. Raportul GSH:GSSG în reticulul endoplasmatic (RE) este mult mai mic, de aproximativ 1–15:1. Un mediu puternic oxidant este necesar pentru ca reticulul endoplasmatic să își îndeplinească funcțiile, care includ biosinteza proteinelor, plierea, translocarea, glicozilarea și formarea legăturilor disulfidice [5]. În plus, un raport ridicat de GSH/GSSG în nucleu asigură sinteza dezoxiribonucleotidelor din ribonucleotide și menținerea grupărilor tiolice (-SH) ale proteinelor, necesare pentru biosinteza acizilor nucleici și repararea ADN-ului [7]. Aproximativ 15% din glutationul total celular poate fi legat de proteine. Cu excepția bilei, care poate conține până la 10 mmol/L de GSH, concentrația extracelulară de GSH este relativ scăzută (de exemplu 2–20 μmol/L în plasmă) [1].

Procesele de sinteză, transport, utilizare și metabolizare ale glutationului sunt strict controlate pentru a menține homeostazia intracelulară a glutationului și echilibrul redox [5]. GSH este implicat, de asemenea, în:

3. transportul și metabolismul cuprului și fierului,
4. homeostazia oxidului nitric,
5. metabolismul estrogenilor, leucotrienelor, prostaglandinelor și nucleotidelor,
6. repararea ADN-ului,
7. modularea apoptozei [2].

Sinteza GSH are loc predominant în hepatocitele perivenoase, iar rinichiul, plămânii și intestinul sunt principalii consumatori ai GSH derivat din ficat [1]. În primul rând, rata sintezei GSH este determinată în mare măsură de concentrațiile a trei aminoacizi: acid glutamic, cisteină și glicină, dintre care cisteina este cea mai importantă [3]. Producția și captarea cisteinei sunt reglate prin ciclul γ-glutamilic, prin transsulfurarea substraturilor aminoacizilor, prin transportorul de aminoacizi excitatori 3 (EAAT3), prin transportorii alanină–serină–cisteină 1 și 2 (ASCT1/2) și prin antiportorul cistină/glutamat independent de sodiu, cunoscut ca sistemul Xc− sau xCT, codificat de gena Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11). γ-glutamil transferaza (GGT) este o enzimă legată de membrană care catalizează degradarea GSH extracelular, favorizând formarea glutamatului și a cisteinei, necesare pentru sinteza GSH intracelular [3,7]. În al doilea rând, GSH este sintetizat prin două etape dependente de ATP:

- mai întâi, γ-glutamil-cisteina este formată din glutamat și cisteină prin acțiunea γ-glutamil-cistein ligazei (GCL), enzima limitantă a vitezei reacției;
- apoi, glutation sintetaza (GS) catalizează adăugarea glicinei pentru formarea GSH.

Gruparea tiol (-SH) a cisteinei conferă GSH proprietăți nucleofile și reducătoare puternice, permițându-i să neutralizeze electrofilii și radicalii liberi [4]. În al treilea rând, dacă GSH este oxidat la GSSG, acesta poate fi regenerat prin acțiunea glutation reductazei (GR) și a nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfatului redus (NADPH) [2].

Prin urmare, principalii regulatori ai sintezei glutationului în celulele canceroase sunt ROS, care reduc raportul GSH/GSSG și activează calea factorului nuclear eritroid 2-related factor 2 (NRF2), implicată în reglarea mai multor gene antioxidante, în special a celor care codifică enzimele implicate în sinteza GSH, precum GCL, GR, glutation peroxidaza (GPX) și glutation-S transferaza (GST) [2,10]. De asemenea, s-a raportat că NRF2 și factorul inductibil de hipoxie

1α (HIF-1 α) pot modula nivelul de GSH prin stimularea expresiei SLC7A11, care codifică antiportorul cistină/glutamat xCT [2]. A fost relevată reglarea similară prin oxidarea cisteinei și ciclul γ-glutamilic [11].

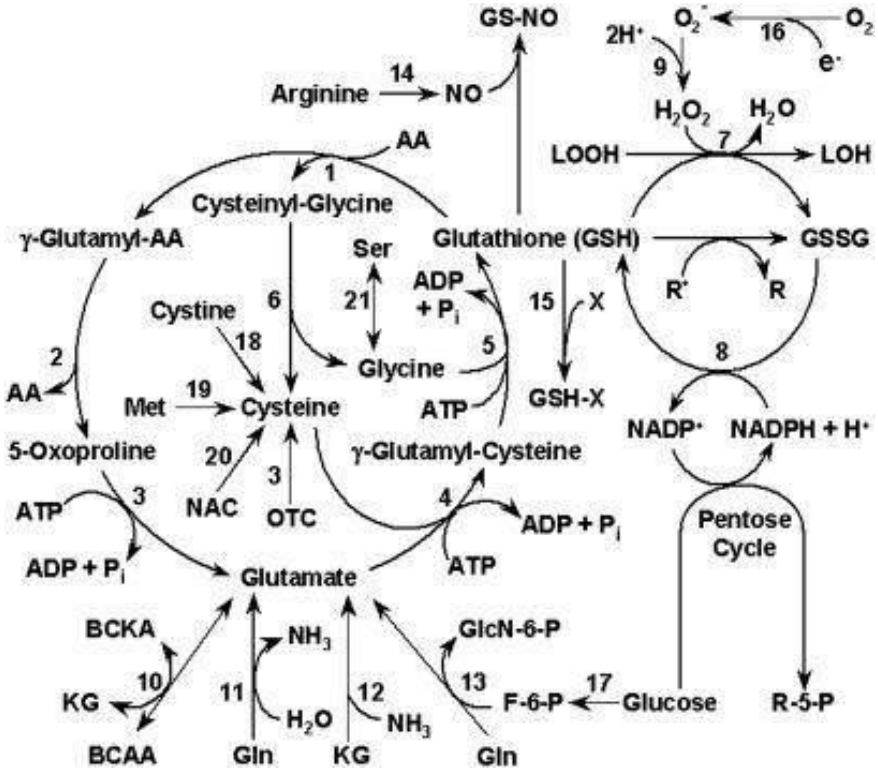


Figura 1. Metabolismul glutationului [1].

Deci, în contextul creșterii metabolismului glutationului și al suprimării morții celulare (apoptoză, necroptoză, ferroptoză, autofagie) în celulele tumorale, au fost investigate multiple strategii de depleție a glutationului, care pot fi grupate în patru direcții principale:

1. eliminarea aportului de precursori necesari sintezei GSH,
2. inhibarea sintezei și regenerării GSH,
3. consumul rezervelor de GSH,
4. stimularea efluxului de GSH [12].

Este cunoscut faptul că, metalele grele pot determina depleția GSH. De exemplu, ionii de cupru pot conduce la diminuarea nivelului de GSH prin două mecanisme: reglarea negativă directă prin reacția redox dintre Cu^{2+} și GSH intracelular, precum și prin activarea reacției de tip Fenton în timpul tranziției dintre stările Cu^{+} și Cu^{2+} [13,14].

De asemenea, acumularea crescută de Cu determină cuproptoză, în principal prin stres proteotoxic mitocondrial mediat de ferredoxina 1 (FDX1), care implică destabilizarea și degradarea proteinelor cu clusteri fier–sulf (Fe–S), modificări ale lipoilării (LA) și agregarea enzimelor implicate în reglarea ciclului acizilor tricarboxilici (TCA) mitocondrial, precum dihidrolipoamid branched chain transacylase E2 (DBT), glycine cleavage system protein H (GCSH), dihidrolipoamide S-succinyltransferase (DLST) și dihidrolipoamide S-acetyltransferase (DLAT) [15]. În plus, cuprul poate determina:

- piroptoză, prin activarea căii inflamazomului NLRP3 (NOD-Like Receptor Family Pyrin Domain Containing 3);
- apoptoză, prin interacțiunea cu proteina supresoare tumorală p53;
- paraptoză, prin inhibarea activității proteazomului și favorizarea acumulării de proteine pliate incorect [16].

Prin urmare, nanomaterialele pe bază de cupru au fost utilizate pe scară largă ca nanomedicamente potențiale în terapia anticancerigenă [13]. Doxorubicina și medicamentele anticancerigene pe bază de platină se numără printre cei mai potenți agenți chimioterapeutici aprobați de Food and Drug Administration (FDA) și sunt utilizați pe scară largă, însă utilizarea lor clinică este adesea limitată de efectele sale adverse severe, din cauza indicelui scăzut de selectivitate (SI) – raportul dintre valorile concentrației inhibitorii maximale medii (IC_{50}) pentru celulele normale și cele canceroase, care variază între 0,05 și 1,8. Pe de altă parte, compușii de cupru sunt considerați alternative promițătoare, datorită biocompatibilității și rolului important pe care îl îndeplinesc în sistemele biologice [17]. În ultimii 10 ani, în Laboratorul de Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, din cadrul Institutului de Chimie al Universității de Stat din Moldova, au fost sintetizați compuși coordinativi de către echipa Academicianului Aurelian Gulea, care conțin în principal metale de tranziție (Cu, Zn, Cr, Fe, Co) și liganzi organici complecși, precum tiosemicarbazone, izotiosemicarbazone și derivați ai piridinei [17–21].

Diversitatea structurală a tiosemicarbazonelor joacă un rol esențial în determinarea activității lor anticancerigene și antioxidante. Variațiile substituenților și modul de aranjare a grupărilor funcționale influențează semnificativ eficacitatea biologică a acestor compuși [17]. Compușii coordinativi de Cu(II) care conțin derivați de piridină ai N4-metoxifenil-tiosemicarbazonelor au demonstrat activitate antiproliferativă ridicată împotriva celulelor leucemiei promielocitare (HL-60), cu valori ale IC_{50} între 0,01 și 0,06 μM și un indice de selectivitate de până la 5000 [18]. Unele complexe de Cu(II) cu N4,S-dialil-izotiosemicarbazone au prezentat indici de selectivitate foarte mari (280 și 154) și activitate antiproliferativă ridicată împotriva liniei celulare de cancer pancreatic uman BxPC-3 [14]. De asemenea, două complexe de Cu(II) cu izotiosemicarbazone substituite la S au prezentat indici de selectivitate între 150 și 280 pentru aceeași linie celulară de cancer pancreatic (BxPC-3) [19]. Într-un alt studiu, compușii coordinativi cu metale de tranziție precum Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(III) și Fe(III) pe bază de tiosemicarbazone și izotiosemicarbazone au prezentat indici de selectivitate de până la 1300 și 2400, ceea ce îi fac candidați promițători pentru tratamentul cancerului [17].

Rezultatele cercetărilor indică faptul că coordonarea tiosemicarbazonelor cu Cu(II) le îmbunătățește proprietățile antiproliferative, însă acești compuși prezintă uneori o selectivitate suboptimă, chiar dacă aceasta este mai mare decât cea a doxorubicinei și cisplatinei. În plus, pe lângă capacitatea de depleție a GSH, compușii metal–tiosemicarbazonă prezintă și activitate antioxidantă, având potențialul de a substitui biosinteza GSH fără activarea căii NRF2 și de a depăși rezistența la chimioterapie prin reprogramare metabolică [17,18,22]. Diferite studii referitor la compușii coordinativi de Cu (II) au relevat influența variată a lor asupra activității enzimelor glutation-dependente: glutation reductazei (GR), glutation peroxidazei (GPO), glutation-S transferazei (GST), tioredoxin reductazei (TrxR) și glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (G-6-PDH) [23–27]. Important de menționat că într-un studiu din 2021 toți 4 compuși coordinativi de Cu (II) evaluați (CMJ-23, CMJ-33, CMD-8, CMD-4) au manifestat descreșterea activității G-6-PDH ceea ce poate duce la blocarea uneia dintre căile metabolice importante de utilizare a glucozei – calea pentozo-fosfatului, reducând resursele metabolice necesare pentru menținerea proceselor anabolice ale celulei tumorale, o funcție a căii pentozo-fosfat fiind producerea de NADPH necesar pentru sinteza glutationului redus [26]. La fel calea pentozo-fosfatului este reglată de NRF2 [28]. Mai mult în-trun studiu *in vivo* din 2024 s-a confirmat că compușii coordinativi de Cu (inclusiv CMD-8 și CMJ-33) pot diminua GSSG în eritrocite, astfel

crescând rata GSH/GSSG, care regleză expresia NRF2 [11, 29]. Pentru a depăși rezistența la medicamente determinată de GSH, cisplatina este adesea administrată în combinație cu unul sau mai multe remedii medicamentoase pentru a elucida un posibil efect sinergic. Prin urmare, rămâne important de investigat afinitatea complexelor metal–tiosemicarbazonă pentru GSH și alte preparate chimioterapeutice [30].

Concluzii

Compușii coordinativi ai Cu cu liganzi specializați (tiosemicarbazone, izotiozemicarbazone și derivați ai piridinei) sintetizați de echipa Academicianului Aurelian Gulea reprezintă un domeniu promițător de cercetare în oncologie, manifestând proprietăți antiprolifrative cu indicele selectivității mai înalt decât cel al chimioterapicelor clasice. Dintr-o parte cuprul manifestă capacitate de depleție a glutationului, iar din altă parte liganzii specializați au proprietăți antioxidative substituind funcția glutationului, fără activarea factorului nuclear eritroid 2-legat de factorul 2 (NRF2),. Astfel compușii coordinativi ai Cu cercetați pot depăși rezistența la chimioterapice, prin reducerea metabolismului glutationului în cancer. Obiectul studiilor ulterioare reprezintă investigarea afinității acestor compuși coordinativi ai Cu pentru glutation și alte preparate chimioterapeutice.

Referințe:

1. WU, G., FANG, Y. Z., YANG, S., LUPTON, J. R., & TURNER, N. D. Glutathione metabolism and its implications for health. In: *The Journal of nutrition*, 2004, nr. *134*(3), pp. 489–492. https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489
2. VALENTI, G.T., TRASSO, B., TRAVERSO, N., DOMENICOTTI, C., MARENGO, B. (2023). Glutathione in cancer progression and chemoresistance: an update. In: *Redox Experimental Medicine*, 2023, nr. 2023(1), pp. 1-25 https://doi.org/10.1530/REM-22-0023.
3. KALININA, E. Glutathione-Dependent Pathways in Cancer Cells. In: *International Journal of Molecular Sciences,* 2024, nr. 15, p. 8423. https://doi.org/10.3390/ijms25158423.
4. El SADDA, R.R. Glutathione responsive nanomedicine leverages tumor redox imbalance for targeted cancer theranostics. In: *Discover Oncology,* 2026, nr. 17(288), pp. 1-37. https://doi.org/10.1007/s12672-026-04456-9
5. LV, H., ZHEN, C., LIU, J., YANG, P., HU, L., & SHANG, P. Unraveling the Potential Role of Glutathione in Multiple Forms of Cell Death in Cancer Therapy. In: *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2019,* Collections: Redox Homeostasis and Cancer, art. 3150145. https://doi.org/10.1155/2019/3150145
6. RANI R., MALIK P., MUKHERJEE T.K. Receptor for Advanced Glycation End Products as a Mediator of Inflammation and Oxidative Stress. In: *Glycosylation and Glycation in Health and Diseases*, 2025, cap. 6, pp.240-285. https://doi.org/10.2174/9789815322521125010008
7. BANSAL, A., & SIMON, M. C. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance. In: *The Journal of cell biology*, 2018, nr. *217*(7), pp. 2291–2298. https://doi.org/10.1083/jcb.201804161
8. ГУЛЯ А.П., ГУДУМАК В.С., ГАРБУЗ О.С., ЧЕБОТАРЬ Д.Ю., СПЫНУ И.К., ПЫРВУ О.И., САРДАРЬ В.В., ТАГАДЮК О.К., ГОСТЕВ И.В., СПЫНУ К.И., СКОФЕРЦА П.Г. Антипролиферативная и антиоксидантная активности нитрато-[4-(3,4-диметилфенил)-2-(2-оксо-3-метоксибензилиден) гидразинкарботиоамидо] меди. In: *International Research Journal*, 2018, nr. 2(68), pp. 19-22. https://doi.org/10.23670/IRJ.2018.68.005.
9. JIA, X., ZHANG, Q., WANG, Z., CAO, J., SONG, A., LAN, C., & HU, Y. Integrative single-cell RNA sequencing and bulk RNA sequencing reveals the characteristics of glutathione metabolism and protective role of GSTA4 gene in pancreatic cancer. In: *Frontiers in immunology*, 2025, nr. *16*, art. 1571431. https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1571431
10. KALANTARI, L., GHOTBABADI, Z. R., GHOLIPOUR, A., EHYMAYED, H. M., NAJAFIYAN, B., AMIRLOU, P., YASAMINEH, S., GHOLIZADEH, O., & EMTIAZI, N. A state-of-the-art review on the NRF2 in Hepatitis virus-associated liver cancer. In: *Cell communication and signaling: CCS*, 2023, nr. *21*(1), p. 318. https://doi.org/10.1186/s12964-023-01351-6

11. PANTEA, V., PAVLOVSCHI, E., SARDARI, V., PROTOPOP, S., MACARI, V., AMBROS, A., CURLAT, S., TIMERCAN, T., TAGADIUC, O. Investigating the *in vivo* effects of copper coordination compounds with thiosemicarbazones on erythrocyte redox balance. In: *Journal of Experimental and Molecular Biology*, 2025, nr. 26(2), pp. 1-11. https://doi.org/10.47743/jemb-2025-236.
12. ROY, N., PAIRA, P. Glutathione Depletion and Stalwart Anticancer Activity of Metallotherapeutics Inducing Programmed Cell Death: Opening a New Window for Cancer Therapy. In: *ACS omega*, 2024, nr. *9*(19), pp. 20670–20701. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08890
13. LIU, P., HAO, L., LIU, M., & HU, S. Glutathione-responsive and -exhausting metal nanomedicines for robust synergistic cancer therapy. In: *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2023, nr. *11*, art. 1161472. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1161472
14. GRAUR, V., USATAIA, I., GRAUR, I., GARBUZ, O., BOUROSH, P., KRAVTSOV, V., LOZAN-TIRSU, C., BALAN, G., FALA, V., GULEA, A. Novel Copper(II) Complexes with N4,S-Diallylisothiosemicarbazones as Potential Antibacterial/Anticancer Drugs. In: *Inorganics*, 2023, nr. 11(5), p. 195. https://doi.org/10.3390/inorganics11050195.
15. ZHANG, C., HUANG, T., LI, L. Targeting cuproptosis for cancer therapy: mechanistic insights and clinical perspectives. In: *Journal of hematology & oncology*, 2024, nr. *17*(1), p. 68. https://doi.org/10.1186/s13045-024-01589-8
16. XUE, Q., KANG, R., KLIONSKY, D. J., TANG, D., LIU, J., & CHEN, X. Copper metabolism in cell death and autophagy. In: *Autophagy*, 2023, nr. *19*(8), pp. 2175–2195. https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2200554
17. GARBUZ, O., CEBAN, E., ISTRATI, D., RAILEAN, N., TODERAS, I., GULEA, A. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. In: *Molecules 2025, nr. 30, p. 2077*. https://doi.org/10.3390/molecules30092077.
18. RUSNAC, R., GARBUZ, O., KRAVTSOV, V., MELNIC, E., ISTRATI, D., TSAPKOV, V., POIRIER, D., GULEA, A. Novel Copper(II) Coordination Compounds Containing Pyridine Derivatives of N4-Methoxyphenyl-Thiosemicarbazones with Selective Anticancer Activity. In: *Molecules*. 2024, nr. 29(24), p. 6002. https://doi.org/10.3390/molecules29246002.
19. GRAUR, V., USATAIA, I., GARBUZ, O., GULEA, A. Novel Copper(II) Complexes with S-Substituted Isothiosemicarbazone as Highly Selective Anticancer Compounds against BxPC-3 Cell Line. In: *Medical Sciences Forum 2022, nr. 14, p. 33*. https://doi.org/10.3390/ecmc2022-13253.
20. USATAIA, I., GRAUR, V.O., GRAUR, I., GARBUZ, O., GULEA, A. Selective anticancer activity of mixed-ligand copper(II) complexes with salicylaldehyde 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. In: *Medicine, molecular and environmental sciences 2025: From chemistry to medicine – 35 years of Moldo-Romanian scientific collaboration*, 10-15 noiembrie 2025, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: CEP USM, 2025, p. 110. ISBN (pdf) 978-9975-62-925-6. https://doi.org/10.19261/medmol25
21. GARBUZ, O., RUSNAC, R., RAILYAN, N., TSAPKOV, V. I., TODERASH, I., GULEA, A. Thiosemicarbazones and Copper Complexes: Advances in Selective Anticancer Therapy. In: *Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine*, Ed. 11, 11 februarie 2025, Chișinău. Iași-Chișinău-Lviv: 2025, Ediția 11, pp. 346-347. ISSN 2558-894X.
22. MIRZAEI, S., ZARRABI, A., HASHEMI, F., ZABOLIAN, A., SALEKI, H., AZAMI, N., HAMZEHLOU, S., FARAHANI, M. V., HUSHMANDI, K., ASHRAFIZADEH, M., KHAN, H., & KUMAR, A. P. Nrf2 Signaling Pathway in Chemoprotection and Doxorubicin Resistance: Potential Application in Drug Discovery. In: *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2021, nr. *10*(3), p. 349. https://doi.org/10.3390/antiox10030349
23. CADONI, E., VALLETTA, E., CADDEO, G., ISAIA, F., CABIDDU, M. G., VASCELLARI, S., & PIVETTA, T. Competitive reactions among glutathione, cisplatin and copper-phenanthroline complexes. In: *Journal of inorganic biochemistry*, 2017, nr. *173*, pp. 126–133. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.05.004
24. ANDRONACHE, L., SARDARI, V., GUDUMAC, V. Influenţa compuşilor biologic activi autohtoni asupra activităţii enzimelor glutationice în serul sangvin în ciroza hepatică experimentală. In: *Anale ştiinţifice ale Universităţii de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu". Probleme medico-biologice şi farmaceutice,* 2011, nr. 12(1), pp.212-216.

25. ANDRONACHE, Lilia, PANTEA, Valeriana, GULEA, Aurelian, SVET, Inna, GHINDA, Serghei, PRIVALOVA, Elena, SMESNOI, Valentina and GUDUMAC, Valentin. Expression of glutation enzymes in splenic tissue is influenced by thiosemicarbazide derivatives. In: *Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Medical Sciences*, 2022, nr. 71(3), p. 206–209. https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.3-71.10.
26. ANDRONACHE, Lilia. *Influenţa unor compuşi biologici activi autohtoni asupra ciclului glutationic în normă şi patologia hepatică experimentală*: autoreferatul tz. de doct. în șt. chimice. Chișinău, 2016, p. 26
27. ПАНТЯ В., ГУЛЯ А., ЦАПКОВ В., АНДРОНАКЕ Л., ГРАУР В., ШВЕЦ И. АНДРОНАКЕ Л. Новые гетероциклические шиффовые основания и их медные комплексы вызывают изменения в глютатионовой системе эритроцитов. In: *Международный научно-исследовательский журнал*, 2021, nr. 12(114), pp. 130-136. ISSN 2227-6017 https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.114.12.058
28. PANTEA, Valeriana, PAVLOVSCHI, Ecaterina, MACARI, Vasile, TAGADIUC, Olga. Effects of copper (II) thiosemicarbazones on pro-oxidant and antioxidant system markers in in vivo erythrocytes. In: *Journal Farmacia*, 2025, vol. 73, nr 3, pp. 759-768. ISSN 0014-8237, eISSN 2065-0019. https://www.doi.org/10.31925/farmacia.2025.3.22
29. PANTEA, V., PAVLOVSCHI, E., SARDARI, V., TAGADIUC, O., GUDUMAC, V. Assessment of the thiol-disulfide system in erythrocytes in vivo under the influence of copper coordination compounds with thiosemicarbazone. In: *7th International Conference on Emerging Technologies in Materials Engineering EMERGEMAT,* 30-31 october 2024, Bucharest, Romania, 2024, Vol. 7, p. 192.
30. MENG, Qingfei, ZHANG, Yanghe, HAO, Shiming, SUN, Huihui, LIU, Bin, ZHOU, Honglan, WANG, Yishu and XU, Zhi Xiang. Recent findings in the regulation of G6PD and its role in diseases. In: *Frontiers in Pharmacology*, 2022, nr. 13, pp. 1-13. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.932154.

Date despre autori:



Evgheni GRUSAC, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: grusak16@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0719-3882



Veronica SARDARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, asistent universitar, cercetător științific superior.
e-mail: veronica.sardari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-1047-9145



Dionisie CEBOTARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cebotaridionisie@gmail.com
ORCID: 0009-0005-1955-1261



Nadejda RAILEAN, Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie. Universitatea de Stat din Moldova
Cercetător științific
e-mail: nadejdarailean@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-7818-9200



Olga Garbuz, doctor în ştiinţe biologice,
Laboratorul de Sistematică și Filogenetică Moleculară,
Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Olga TAGADIUC,
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor habilitat în ştiinţe medicale, profesor universitar
e-mail: olga.tagadiuc@usmf.md
ORCID: 0000-0002-5503-8052



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

CZU: 547.484.22:546.561`131:615.28 https://doi.org/10.59295/mabt2026.24

SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTICANCER PROPERTIES OF PYRUVAMIDE 4-ALLYLTHIOSEMICARBAZONES AND THEIR COPPER(II) CHLORIDE COMPLEXES

Ianina GRAUR

Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova

Rezumat

A fost sintetizată o serie de 4-aliltiosemicarbazone ale piruvamidelor (**HL$^{1–6}$**) și compușii cu clorură de cupru(II) (**1**–**6**). Structurile și compozițiile lor au fost caracterizate utilizând analiza elementală, spectroscopia RMN ^{1}H și ^{13}C, și spectroscopia FTIR. Compușii au fost testați pentru activitate antiproliferativă împotriva liniilor celulare de cancer uman THP-1, PC-3 și HT-29, și asupra liniei celulare epiteliale normale hTERT-RPE1. Complecșii de cupru(II) au prezentat o activitate anticancer mai mare comparativ cu tiosemicarbazonele corespunzătoare. Dintre acestea, compușii **1** și **3** au demonstrat cele mai promițătoare efecte, depășind în unele cazuri activitatea medicamentului de referință doxorubicină. Indicii lor de selectivitate pentru celulele de leucemie umană THP-1, în raport cu celulele normale hTERT-RPE1, au fost mai mari de 10. Activitățile biologice studiate au fost puternic influențate de natura substituentului de la atomul de azot în piruvamidă, evidențiind potențialul semnificativ pentru optimizarea suplimentară a piruvamidelor substituite în vederea creșterii eficacității anticancer.

Cuvinte-cheie: Tiosemicarbazone; acidul piruvic; compușii cuprului(II); activitatea anticancer; linie celulară TPH-1; linie celulară PC-3; linie celulară HT-29; linie celulară hTERT-RPE1.

SINTEZA ȘI EVALUAREA PROPRIETĂȚILOR ANTICANCER ALE 4-ALILTIOSEMICARBAZONELOR ALE PIRUVAMIDELOR ȘI ALE COMPLECȘILOR LOR CU CLORURĂ DE CUPRU(II)

Abstract

A series of pyruvamide 4-allylthiosemicarbazones (**HL$^{1–6}$**) and their copper(II) chloride complexes (**1**–**6**) were synthesized. Their structures and compositions were characterized using elemental analysis, ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy, and FTIR spectroscopy. The compounds were tested for antiproliferative activity against human cancer cell lines TPH-1, PC-3, HT-29, as well as the normal epithelial cell line hTERT-RPE1. The copper(II) complexes showed greater anticancer activity compared to the thiosemicarbazones. Among them, complexes **1** and **3** exhibited the most promising effects, in some cases exceeding the activity of the reference drug doxorubicin. Their selectivity indices for human leukemia THP-1 cells relative to normal hTERT-RPE1 cells were above 10. The observed biological activities were strongly influenced by the nature of the substituent at the nitrogen atom of the pyruvamide moiety, indicating significant potential for further optimization of substituted pyruvamides to enhance anticancer efficacy.

Keywords: Thiosemicarbazone; pyruvic acid; copper(II) complexes; anticancer activity; TPH-1 cell line; PC-3 cell line; HT-29 cell line; hTERT-RPE1 cell line.

Introduction

Thiosemicarbazones and their metal complexes are known for their broad range of applications, spanning from analytical chemistry to pharmacology and even nuclear medicine [1]. Owing to the presence of amide, imine, and thione functional groups, these compounds can act as polydentate ligands, which explains why a large number of their metal complexes have been synthesized and thoroughly characterized [2]. In recent years, increasing interest has also

been directed toward thiosemicarbazones due to their diverse biological activities, including antifungal, antiviral, antibacterial, and anticancer effects [3-5].

Cancer remains a central focus in the life sciences, as it has long been one of the leading causes of death throughout human history. Rather than a single disease, it represents a broad group of disorders characterized by the uncontrolled proliferation and dissemination of abnormal cells. The proper functioning of any organism depends on a finely regulated balance between cell growth and cell death; disruption of this equilibrium can result in abnormal tissue development, ultimately leading to tumor formation and potentially fatal cancer.

The biological activity of thiosemicarbazones has been investigated since 1956, when was first reported the antitumor effects of thiosemicarbazones derived from 2-formylpyridine. It has been established that the nature of the substituent at the 4N position significantly affects biological activity, while the acidic character of the 3NH group enables deprotonation, allowing the ligand to adopt an anionic form and extend conjugation across the thiosemicarbazone framework. This extended conjugation is believed to contribute to enhanced antitumor properties [6-7].

Moreover, metal complexes of thiosemicarbazones have attracted attention as promising anticancer and chemotherapeutic agents. Their activity is often associated with the inhibition of ribonucleotide diphosphate reductase, a key enzyme essential for DNA biosynthesis and cell division, thereby suppressing the growth of various types of cancer [8-9].

The objective of this study was to synthesize a series of pyruvamide 4-allylthiosemicarbazones (Figure 1) along with their copper(II) chloride complexes, and to evaluate their anticancer activity towards human cancer cell lines TPH-1, PC-3, HT-29, and normal epithelial cell line hTERT-RPE1.

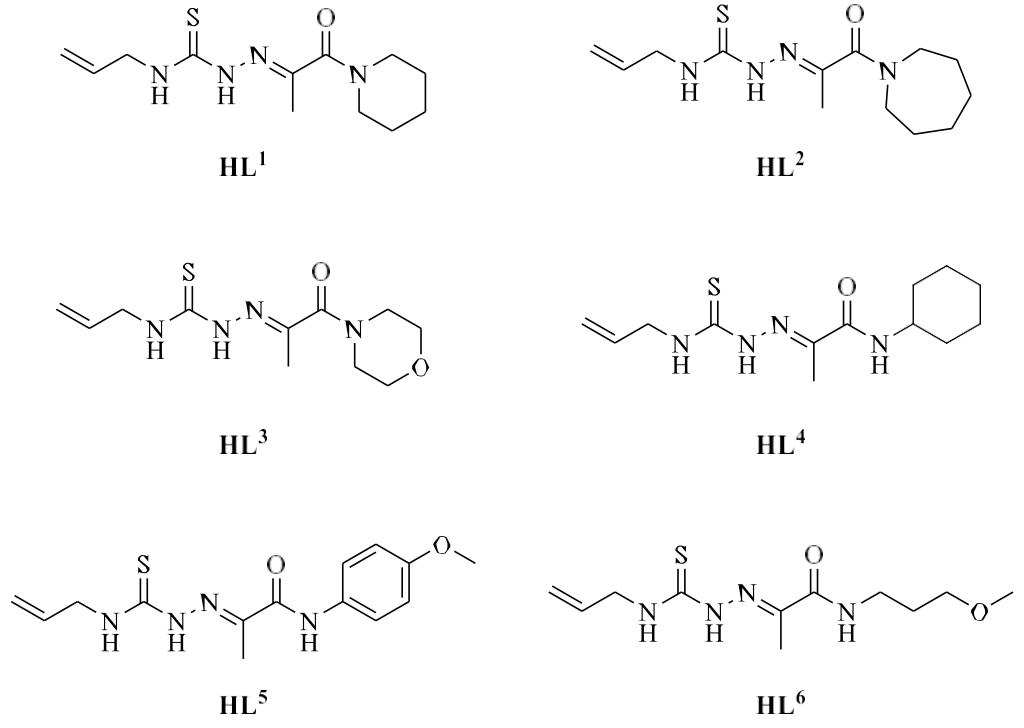


Figure 1. The structural formula of HL^{1-6}

Materials and methods

3-Isothiocyanatoprop-1-ene, hydrazine hydrate, pyruvic acid, oxalyl chloride, sodium carbonate, dichloromethane, dimethylformamide, cyclohexanamine, azepane, 3-methoxypropan-1-amine, piperidine, morpholine, 4-methoxyaniline, tributylamine, acetone, copper(II) chloride dihydrate were obtained from Sigma-Aldrich. The ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX-400 using $CDCl_3$ as a solvent. FTIR spectra were obtained on a Bruker ALPHA FTIR spectrophotometer at room temperature in the range of 4000-400 cm^{-1}. The analysis on copper(II) metal was performed similarly to the literature procedures [10]. The resistance of solutions of complexes in methanol (20°C, c 0.001 M) was measured using an R-38 rheochord bridge.

Synthesis of 4-allylthiosemicarbazones ***HL$^{1-6}$***

General procedure of synthesis ***HL$^{1-6}$***

Initially, pyruvic acid (8.80 g, 0.100 mol) was dissolved in 5 mL of CH_2Cl_2 and transferred into a round-bottom flask. A separate solution of oxalyl chloride (15.24 g, 0.120 mol) in 10 mL CH_2Cl_2 was then added slowly to the cooled mixture (0 °C) under continuous stirring. After addition, a few drops of dimethylformamide were introduced as a catalyst, and the flask was equipped with a condenser fitted with a calcium chloride drying tube. The reaction mixture was kept under heating and stirring for approximately 1.5 hours, resulting in the formation of a yellow oily intermediate.

In a separate vessel, a mixture containing corresponding amine (0.100 mol), sodium carbonate (10.60 g, 0.100 mol) or tributylamine (18.5 g, 0.100 mol) in a case of 4-methoxyaniline, and 10 mL CH_2Cl_2 was cooled to 0 °C with stirring. The freshly prepared 2-oxopropanoyl chloride was added dropwise to this suspension, after which the reaction was allowed to proceed at room temperature for an additional hour. The final mixture was filtered, washed several times with water (3 × 100 mL), and the resulting material was air-dried, yielding the crude product as a yellow, mobile oil. In the case of synthesis with 4-methoxyaniline after filtration, the light gray residue was obtained. For further purification, the substance was recrystallized in acetone to obtain a white solid.

Then the obtained pyruvamide (20.0 mmol) was dissolved in 25 mL of ethanol, after which *N*-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide (20.0 mmol) was added. The reaction mixture was stirred and heated for 1 hour. The pale-yellow product was separated by filtration, washed with a little ethanol, and left to air-dry.

3-(Piperidin-1-yl)propane-2,3-dione 4-allylthiosemicarbazone ***HL^{1}***

Pale yellow solid. Yield: 83%; mp 137-139 °C. FW: 268.38 g/mol; Anal Calc. for $C_{12}H_{20}N_4OS$: C, 53.70; H, 7.51; N, 20.88; S, 11.95; found: C, 53.60; H, 7.42; N, 20.79; S, 11.87%. FTIR data (cm^{-1}): 3315, 3288 (NH), 1632 (C=O), 1620 (C=N), 1362 (C=S). ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.71 (br., 1H; NH); 7.46 (br., 1H; NH); 5.89 (m., 1H; CH); 5.20 (m., 2H; CH_2); 4.30 (m., 2H; NH-CH_2); 3.50 (m., 2H; $CH_{2piperidine}$); 2.11 (s., 3H; CH_3); 1.62 (m. 6H; $CH_{2piperidine}$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.20 (C=S); 165.33 (C=O); 143.47 (C=N); 132.88 (CH=CH_2), 117.37 (CH_2=), 46.93 (C_{allyl}); 45.54, 45.51, 26.02, 24.44, 20.35 ($C_{piperidine}$); 14.19 (CH_3). The characteristics of the obtained substance correspond with the data reported in the literature [11].

3-(Azepan-1-yl)propane-2,3-dione 4-allylthiosemicarbazone ***HL^{2}***

Pale yellow solid. Yield: 78%; mp 106-107 °C. FW: 282.40 g/mol; Anal Calc. for $C_{13}H_{22}N_4OS$: C, 55.29; H, 7.85; N, 19.84; S, 11.35; found: C, 55.20; H, 7.78; N, 19.76; S, 11.28%. FTIR data (cm^{-1}): ν(N–H) 3286, 3166; ν (C=O) 1643; ν (C=N) 1624; ν (C=S) 1362. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.73 (br s, 1H; NH); 7.42 (br s, 1H; NH); 5.89 (m, 1H; CH); 5.22 (m, 2H; CH_2=C); 4.30 (m, 2H; NH-CH_2); 3.50 (t, 2×2H; $CH_{2(hexamethyleneimine)}$-N); 2.11 (s, 3H; CH_3); 1.8-1.5 (m, 4×2H; $CH_{2(hexamethyleneimine)}$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.29 (C=S); 166.76

(C=O); 143.93 (C=N); 132.86 (CH=CH_2); 117.44 (CH_2=); 46.98 (C_{allyl}); 47.76, 45.38, 28.30, 27.00, 20.34 ($C_{(hexamethyleneimine)}$); 14.10 (CH_3).

3-(Morpholin-4-yl)propane-2,3-dione 4-allylthiosemicarbazone ***HL³***

Pale yellow solid. Yield: 78%; mp 138-139 °C. FW: 270.35 g/mol; Anal Calc. for $C_{11}H_{18}N_4O_2S$: C, 48.87; H, 6.71; N, 20.72; S, 11.86; found: C, 48.78; H, 6.63; N, 20.63; S, 11.78%. FTIR data (cm^{-1}): ν(NH) 3282, 3200; ν (C=O) 1636; ν (C=N) 1619; ν (C=S) 1360. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.75 (br s, 1H; NH); 7.39 (br s, 1H; NH); 5.89 (m, 1H; CH); 5.21 (m, 2H; CH_2); 4.30 (m, 2H; NH–CH_2); 3.76–3.56 (m, 4×2H; $CH_{2(morpholine)}$); 2.11 (s, 3H; CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.30 (C=S); 165.51 (C=O); 142.32 (C=N); 132.83 ($CH_{(allyl)}$); 117.50 ($CH_{2(allyl,sp^2)}$); 66.72 ($CH_2O_{(morpholine)}$); 46.95 ($CH_{2(allyl,sp^3)}$ and $CH_2N_{(morpholine)}$); 14.13 (CH_3). The characteristics of the obtained substance correspond with the data reported in the literature [12].

N-cyclohexyl-2-oxopropanamide 4-allylthiosemicarbazone ***HL⁴***

Pale yellow solid. Yield: 80%; mp 193-195 °C. FW: 282.40 g/mol; Anal Calc. for $C_{13}H_{22}N_4OS$: C, 55.29; H, 7.85; N, 19.84; S, 11.35; found: C, 55.20; H, 7.78; N, 19.76; S, 11.28%. FTIR data (cm^{-1}): ν(N–H) 3329, 3288, 3176; ν (C=O) 1640; ν (C=N) 1614; ν (C=S) 1365. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.61 (br s, 1H, NH-CO); 7.49 (br s, 1H, NH); 6.64 (d, 1H, NH); 5.95 (m, 1H, CH_{allyl}); 5.31-5.18 (m, 2H, CH_2=C); 4.35 (t, 2H, CH_2); 3.79 (m, 1H, $CH_{(Cy)}$); 2.11 (s, 3H, CH_3); 1.97-1.07 (m, 10H, 5×$CH_{2(Cy)}$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.21 (C=S); 162.28 (C=O); 142.95 (C=N); 132.98 (CH=CH_2); 117.30 (CH_2=); 48.69 (CH-NH); 47.11 (CH_2-NH); 33.00, 25.45, 24.89 ($CH_{2(Cy)}$); 10.67 (CH_3).

N-(4-methoxyphenyl)-2-oxopropanamide 4-allylthiosemicarbazone ***HL⁵***

Pale yellow solid. Yield: 80%; mp 154-156 °C. FW: 306.38 g/mol; Anal Calc. for $C_{14}H_{18}N_4O_2S$: C, 54.88; H, 5.92; N, 18.29; S, 10.47; found: C, 54.80; H, 5.86; N, 18.21; S, 10.39%. FTIR data (cm^{-1}): ν(N–H) 3357, 3305, 3198; ν (C=O) 1644; ν (C=N) 1615; ν (C=S) 1361. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.70 (br s, 1H; NH); 8.66 (br s, 1H; NH); 7.84 (br s, 1H; NH); 7.44 (d, 2H, $CH_{(aromatic)}$); 6.86 (d, 2H, $CH_{(aromatic)}$); 5.96 (m, 1H; $CH_{(allyl)}$); 5.32-5.20 (m, 2H, CH_2=C); 4.36 (t, 2H, CH_2); 3.80 (s, 3H, OCH_3); 2.13 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.03 (C=S); 161.34 (C=O); 156.85, 129.95, 122.45, 144.20 ($C_{(aromatic)}$); 142.48 (C-CH_3); 132.95 ($CH_{(allyl)}$); 117.56 (CH_2=); 55.53 (CH_3O); 47.29 (CH_2-CH); 10.42 (CH_3-C).

N-(3-methoxypropyl)-2-oxopropanamide 4-allylthiosemicarbazone ***HL⁶***

Pale yellow solid. Yield: 80%; mp 94-93 °C. FW: 272.37 g/mol; Anal Calc. for $C_{11}H_{20}N_4O_2S$: C, 48.51; H, 7.40; N, 20.57; S, 11.77; found: C, 48.42; H, 7.30; N, 20.48; S, 11.68%. FTIR data (cm^{-1}): ν(N–H) 3319, 3270, 3160; ν (C=O) 1644; ν (C=N) 1618; ν (C=S) 1363. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 8.69 (br s, 1H, NH-CO); 7.67 (br s, 1H, NH); 7.60 (br s, 1H, NH); 5.92 (m, 1H, CH_{allyl}); 5.26 (d, 1H, CH_2=C, J=16.4 Hz); 5.20 (d, 1H, CH_2=C, J=9.8 Hz); 4.35 (m, 2H, CH_2); 3.51 (t, 2H, CH_2); 3.42 (m, 2H, CH_2); 3.31 (s, 3H, OCH_3); 2.10 (s, 3H, CH_3); 1.80 (qnt, 2H, CH_2). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 178.25 (C=S); 163.21 (C=O); 142.31 (C-CH_3); 132.92 (CH_{allyl}); 117.47 (CH_2=); 72.32 (CH_2-O); 58.89 (CH_3-O); 47.21 (CH_2-CH_{allyl}); 38.72 (CH_2-NH); 28.54 (CH_2); 10.48 (CH_3-C).

Synthesis of copper(II) coordination compounds ***1-6***

General procedure of synthesis

A solution of 4-allylthiosemicarbazone **HL$^{1-6}$** (1.00 mmol) in ethanol was combined with an ethanol solution of copper(II) chloride dihydrate (1.00 mmol). Upon mixing, a green solid gradually appeared. The formed compound was isolated by filtration, rinsed with a small volume of ethanol, and then allowed to dry.

*[Cu(L^1)Cl] (**1**)* Green solid. Yield: 82%. Anal. Calc. for $C_{12}H_{19}ClCuN_4OS$ (366.37 g mol^{-1}): Cu, 17.34; found: Cu, 17.28. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3219, ν(C=O) 1621, ν(C=N) 1574, ν(C–S) 791. χ(CH_3OH): 95 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

*[Cu(L^2)Cl] (**2**)* Green solid. Yield: 88%. Anal. Calc. for $C_{13}H_{21}ClCuN_4OS$ (380.40 g mol^{-1}): Cu, 16.71; found: Cu, 16.61. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3237, ν(C=O) 1626, ν(C=N) 1575, ν(C–S) 775. χ(CH_3OH): 94 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

*[Cu(L^3)Cl] (**3**)* Green solid. Yield: 72%. Anal. Calc. for $C_{11}H_{17}ClCuN_4O_2S$ (368.34 g mol^{-1}): Cu, 17.25; found: Cu, 17.17. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3310, ν(C=O) 1625, ν(C=N) 1578, ν(C–S) 771. χ(CH_3OH): 79 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

*[Cu(L^4)Cl] (**4**)* Green solid. Yield: 87%. Anal. Calc. for $C_{13}H_{21}ClCuN_4OS$ (380.40 g mol^{-1}): Cu, 16.71; found: Cu, 16.62. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3364, 3330, ν(C=O) 1613, ν(C=N) 1585, ν(C–S) 774. χ(CH_3OH): 83 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

*[Cu(L^5)Cl] (**5**)* Green solid. Yield: 78%. Anal. Calc. for $C_{14}H_{17}ClCuN_4O_2S$ (404.37 g mol^{-1}): Cu, 15.71; found: Cu, 15.61. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3314, 3332, ν(C=O) 1614, ν(C=N) 1560, ν(C–S) 772. χ(CH_3OH): 70 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

*[Cu(L^6)Cl] (**6**)* Green solid. Yield: 89%. Anal. Calc. for $C_{11}H_{19}ClCuN_4O_2S$ (370.36 g mol^{-1}): Cu, 17.16; found: Cu, 17.07. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3311, 3331, ν(C=O) 1617, ν(C=N) 1581, ν(C–S) 769. χ(CH_3OH): 88 Ω^{-1} cm^{-2} mol^{-1}.

Anticancer activity

Cell Culture

Human cancer cell lines TPH-1, PC-3, HT-29, and normal epithelial cell line hTERT-RPE1 were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). Cancer cell lines TPH-1, PC-3, and HT-29 were maintained in Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 medium (Sigma, Saint Louis, MO, USA), while the hTERT-RPE1 normal cell line was cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) supplemented with L-glutamine (2 mM), penicillin (100 IU/mL), streptomycin (100 μg/mL), and 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS). The cell cultures were maintained at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO_2. The culture medium was refreshed every 2–3 days.

MTS-method

IC_{50} values for the tested compounds were determined on HT-29, THP-1, PC-3, and hTERT-RPE1 cell lines. Cells (1×10^4 per well) were seeded in 96-well plates and incubated for 24 h at 37°C (5% CO_2). The compounds, dissolved in DMSO and diluted in culture medium, were added and incubated with the cells for 48 h. Cell viability was assessed using the MTS assay, followed by absorbance measurement at 490 nm. IC_{50} values were calculated using GraphPad Prism 6 software.

Results and discussion

Synthesis and characterization

Six 4-allylthiosemicarbazones of pyruvamide derivatives **HL^{1-6}** were obtained in two stages (Figure 2). In the first stage, pyruvic acid reacted with oxalyl chloride and the corresponding amine in dichloromethane. In the second stage, the resulting pyruvic acid amides reacted with 4-allylthiosemicarbazide in ethanol at a 1:1 molar ratio. The composition and structure of the resultant thiosemicarbazones was proved using ^1H and ^{13}C NMR spectroscopies.

Copper(II) complexes **1-6** were synthesized by reaction between ligands **HL^{1-6}** with copper(II) chloride dihydrate in ethanol at a 1:1 molar ratio (Figure 3). Based on elemental analysis, the following general formulas were proposed for the synthesized copper(II) complexes: [Cu(L^{1-6})Cl] (**1-6**). The molar conductivity values measured for complexes **1-6** are within the range of 70–95 $\Omega^{-1}\cdot cm^2\cdot mol^{-1}$, indicating that in solution these complexes behave as 1:1 electrolyte.

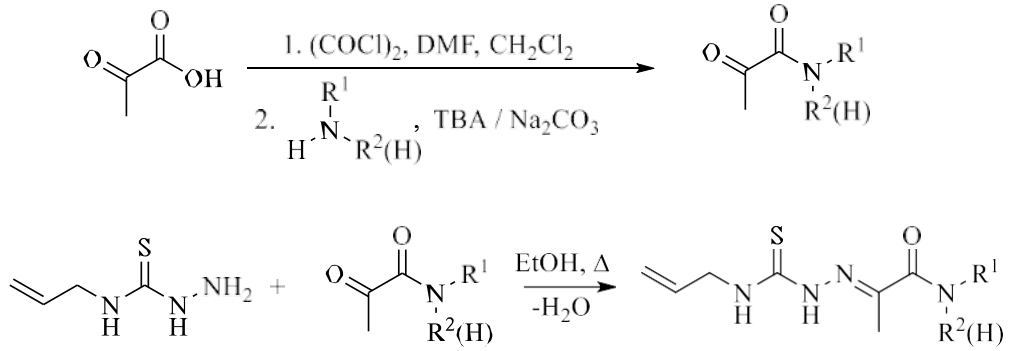


Figure 2. Synthesis of pyruvamide 4-allylthiosemicarbazones HL^{1-6}

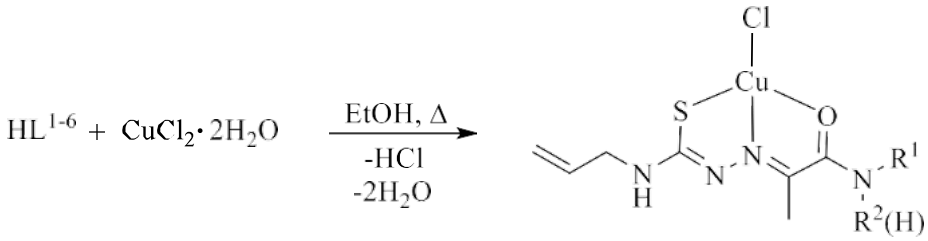


Figure 3. General scheme of the synthesis of copper(II) chloride complexes 1-6

Spectroscopic studies

To confirm the coordination of the ligand to the copper atom in the complexes and to determine the coordination mode, a comparative analysis of the FTIR spectra of 4-allylthiosemicarbazones **HL^{1-6}** and their copper(II) complexes **1-6** was performed. In the spectra of the complexes, the disappearance of one absorption band characteristic of the NH group is observed, indicating deprotonation of the ligand upon complex formation. The absorption bands corresponding to the remaining NH groups are shifted to the lower-frequency region. In addition, the absorption bands characteristic of the C=O and C=N groups are also shifted to lower frequencies. In the FTIR spectra of the copper(II) complexes **1-6**, the disappearance of absorption bands characteristic of the ν(C=S) group and the appearance of a new ν(C–S) absorption band are observed, which confirms the transition of the ligands to the thiol form in the complexes.

Anticancer activity

The antiproliferative activity of the studied substances was tested on the human leukemia THP-1 cell line at concentrations of 10, 1, and 0.1 μM. The results, expressed as the percentage of cell proliferation inhibition at these concentrations, as well as the calculated half-maximal inhibitory concentration values (IC_{50}), are presented in Table 1.

The antiproliferative activity of thiosemicarbazones is influenced by the substituent at the nitrogen atom of the pyruvamide fragment, increasing in the order: **HL^5** < **HL^4** < **HL^6** < **HL^1** < **HL^2** ≈ **HL^3**. Compounds **HL^2** and **HL^3** inhibit cell proliferation by more than 50% (IC_{50} = 3.85 ± 0.36 μM and 2.79 ± 0.28 μM, respectively). In all cases, copper(II) complexes are more active than the corresponding ligands. All complexes except **4** reduce THP-1 cell proliferation by over 50% at 10 μM, with activity increasing as follows: **4** < **5** < **1** < **6** < **2** < **3**. Complexes **2** and **3** are the most active, with complex **3** (IC_{50} = 0.14 ± 0.01 μM) showing 2.3 fold higher activity than doxorubicin (IC_{50} = 0.32 ± 0.06 μM).

Table 1. Antiproliferative activities of the synthesized compounds against human leukemia THP-1 cell line at three concentrations.

Compound	Inhibition of cell proliferation, (%)			IC_{50}, μM
	10 μM	1 μM	0.1 μM	
HL^1	39.9±0.6	24.0±0.4	3.9±0.9	>10
1	87.8±0.1	39.9±0.2	29.7±0.9	0.95±0.02
HL^2	53.8±1.3	48.5±0.1	10.5±0.1	3.85±0.36
2	79.8±1.0	49.3±1.2	33.8±1.0	0.66±0.08
HL^3	53.7±1.0	51.0±0.1	28.8±0.2	2.79±0.28
3	88.6±0.2	62.0±0.4	49.6±0.9	0.14±0.01
HL^4	29.9±1.6	28.7±3.0	26.2±7.9	>10
4	37.2±3.7	16.8±1.3	9.0±2.5	>10
HL^5	24.7±1.0	3.7±2.1	2.2±0.2	>10
5	53.0±6.0	35.9±0.5	42.3±2.4	5.64±1.50
HL^6	37.2±1.9	31.1±2.3	9.6±0.1	>10
6	71.9±1.0	43.1±1.6	42.7±0.1	0.69±0.04
Doxorubicin	98.3±0.4	75.0±6.7	24.7±0.8	0.32±0.06

Activity was also tested against PC-3 cells, which were generally less sensitive to the compounds (Figure 4).

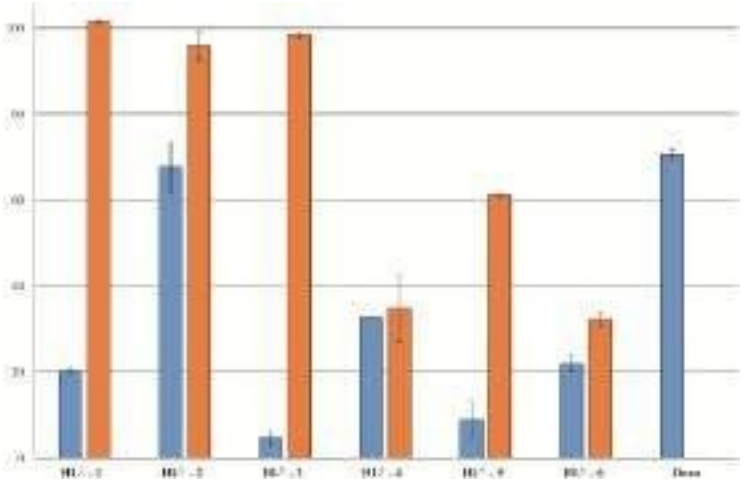


Figure 4. Antiproliferative activity of the synthesized thiosemicarbazones and their copper(II) complexes against the human prostate cancer PC-3 cell line at 10 μM

Similar to the results for the THP-1 cell line, the copper(II) complexes show greater antiproliferative activity against PC-3 cells than the corresponding thiosemicarbazones. At 10 μM, only five compounds **HL^2** and complexes **1**, **2**, **3**, and **5**—reduce cell proliferation by more than 50%. Their inhibition data and IC_{50} values are presented in Table 2.

Among the tested compounds, complex **1** is the most active one against the PC-3 cell line; however, it is nearly twofold less active than doxorubicin, which exhibits an IC_{50} value of 0.83±0.66 μM.

The antiproliferative activity was further investigated against the human colorectal cancer HT-29 cell line. The percentages of inhibition at a concentration of 10 μM are shown in Figure 5.

Table 2. Antiproliferative activities of selected synthesized compounds against the human prostate cancer PC-3 cell line at three concentrations.

Compound	Inhibition of cell proliferation, (%)			IC_{50}, μM
	10 μM	1 μM	0.1 μM	
1	101.5±0.4	24.3±3.4	25.8±1.5	1.58±0.06
HL^2	67.7±5.6	36.6±9.2	33.9±5.2	2.17±1.28
2	95.9±3.4	28.3±3.0	24.8±2.0	1.61±0.22
3	98.4±0.7	5.0±6.1	3.7±1.7	2.95±1.08
5	61.0±0.5	7.7±5.0	5.4±2.3	7.02±0.68

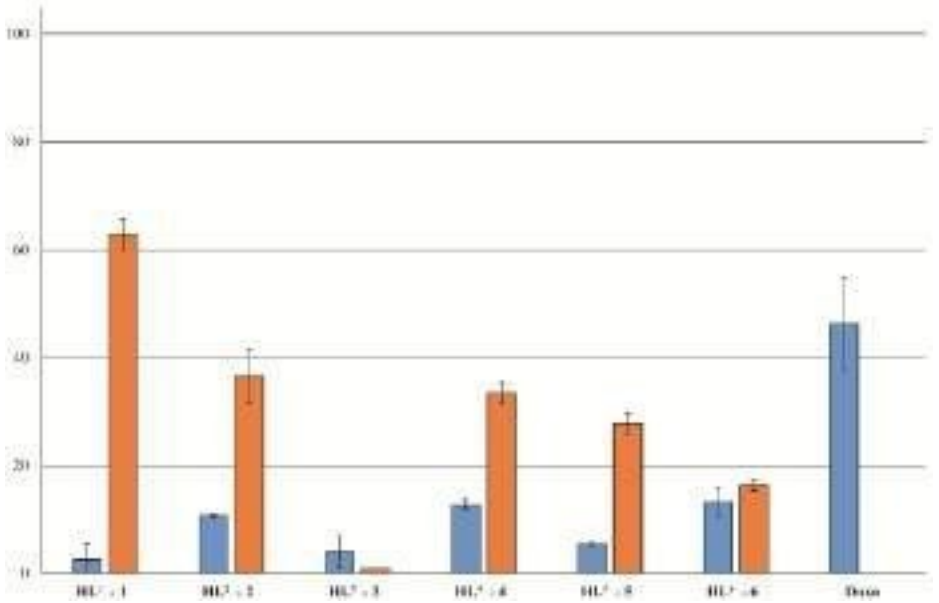


Figure 5. Antiproliferative activity of the synthesized thiosemicarbazones and their copper(II) complexes against the human colorectal cancer HT-29 cell line at 10 μM

Complex 1 is the only compound that inhibits the proliferation of this cancer cell line by more than 50%, outperforming doxorubicin in this respect. Its IC50 value toward the HT-29 cell line, calculated from inhibition data at three concentrations (10 μM – 62.9 ± 2.9%; 1 μM – 4.3 ± 2.8%; 0.1 μM – 1.8 ± 0.9%), is 7.20 ± 0.02 μM. This value is approximately three times lower than that of doxorubicin (23.65 ± 5.11 μM), which shows the following inhibition levels: 100 μM – 62.6 ± 3.7%; 10 μM – 46.2 ± 8.5%; 1 μM – 14.6 ± 5.7%. Given that complexes 1 and 3, bearing piperidine and morpholine moieties in the pyruvamide fragment, exhibited the most notable antiproliferative activity, their selectivity toward cancer cells relative to normal cells was further assessed using the hTERT-RPE1 normal cell line. The corresponding results are shown in Figure 6.

Complex **3** reduces the proliferation of the normal cell line by more than 50% at a concentration of 10 μM, suggesting a relatively high level of cytotoxicity toward non-cancerous cells, with an IC_{50} value of 5.59 ± 0.23 μM. Accordingly, its selectivity indices (SI), calculated as the ratio between IC_{50} values for normal and cancer cells, are: SI (THP-1) = 40 and SI (PC-3) = 1.9. In comparison, complex 1 demonstrates a weaker inhibitory effect on normal cells (IC_{50} > 10 μM), with selectivity indices of: SI (THP-1) > 10, SI (PC-3) > 6, and SI (HT-29) > 1.3.

Meanwhile, doxorubicin shows relatively low toxicity toward normal cells, with an IC_{50} value of 55.5 ± 4.9 μM. Its selectivity indices are significantly higher: SI (THP-1) = 170, SI (PC-3) = 66, and SI (HT-29) = 2.3.

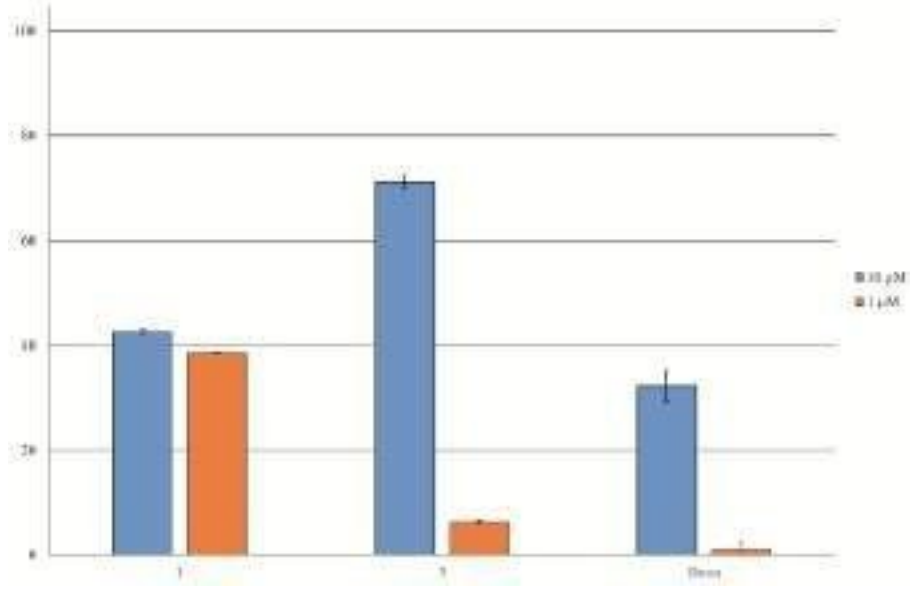


Figure 6. Antiproliferative activity of complexes 1 and 3 against normal hTERT-RPE1 cell line at 10 and 1 μM

Conclusion

This work reports the synthesis and characterization of six 4-allylthiosemicarbazones derived from substituted pyruvamides and their corresponding copper(II) complexes.

Biological evaluation showed that the copper(II) complexes possess higher antiproliferative activity than the free thiosemicarbazones, with activity strongly influenced by the substituent in the pyruvamide fragment. Complexes containing azepane, piperidine, and morpholine groups exhibited the most pronounced effects. Although some compounds surpassed doxorubicin in antiproliferative activity, their selectivity indices remained lower. Overall, the results highlight the key role of substituent variation and support further optimization of pyruvamide derivatives to improve activity and selectivity.

Acknowledgment

This work was fulfilled with the financial support of the subprogram 010602 of the institutional project.

References:

1. Jamal, S., Iqbal, A., Rahman, K., Tahmeena, K. Thiosemicarbazone Complexes as Versatile Medicinal Chemistry Agents: A Review. *J. Drug Deliv. Ther.*, 2019, 9(3), 689-703. DOI: 10.22270/jddt.v9i3.2888.
2. Padhye, S., Kauffman, G. Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. *Coord. Chem. Rev.*, 1985, 63, 127-160. DOI: 10.1016/0010-8545(85)80022-9.
3. Korkmaz, G. A review of recent research on the antimicrobial activities of thiosemicarbazone-based compounds. *J. New Results Sci.*, 2024, 13(1), 61-83. DOI: 10.54187/jnrs.1464723.
4. Moharana, A., Dash, R., Subudhi, B. Thiosemicarbazides: updates on antivirals strategy. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2020, 20(20), 2135-2152. DOI: 10.2174/1389557520666200818212408.

5. Bajaj, K., Buchanan, R., Grapperhaus, C. Antifungal activity of thiosemicarbazones, bis(thiosemicarbazones), and their metal complexes. *J. Inorg. Biochem.*, 2021, 225, 111620. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111620.
6. Hu, W., Zhou, W., Xia, C., Wen, X. Synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, 16(8), 2213-2218. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.01.048.
7. Kalinowski, D., Quach, P., Richardson, D. Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment. *Future Med. Chem.*, 2009, 1(6), 1143-1151. DOI: 10.4155/fmc.09.80.
8. Ma, Z., Shao, J., Bao, W., Qiang, Z., Xu, J. A thiosemicarbazone copper(II) complex as a potential anticancer agent. *J. Coord. Chem.*, 2015, 68(2), 277-294. DOI: 10.1080/00958972.2014.979811.
9. Bai, X., Zheng, Y., Qi, J. Advances in thiosemicarbazone metal complexes as anti-lung cancer agents. *Front. Pharmacol.*, 2022, 13, 1018951. DOI: 10.3389/fphar.2022.1018951.
10. Leovac, V., Vojinović, L., Mesaroš-Sečenji, K., Češljević, V. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands, part 46: Synthesis and physico-chemical characterization of mixed ligand cobalt(III)-complexes with salicylaldehyde semi-, thiosemi-an. *J. Serb. Chem. Soc.*, 2003, 68, 919-927. DOI: 10.2298/JSC0312919L.
11. Graur, I., Bespalova, T., Graur, V., Tsapkov, V., Garbuz, O., Melnic, E., Bourosh, P., Gulea, A. A new thiosemicarbazone and its 3d metal complexes: Synthetic, structural, and antioxidant studies. *J. Chem. Res.*, 2023, 47(6). DOI: 10.1177/17475198231216422.
12. Graur, I., Graur, V., Cadin, M., Garbuz, O., Bourosh, P., Melnic, E., Lozan-Tirsi, C., Balan, G., Tsapkov, V., Fala, V., Gulea, A. 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*, 2024, 29(16), 3903. DOI: 10.3390/molecules29163903.

Date despre autori:



Ianina GRAUR, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: ulchina.ianina@usm.md
ORCID: 0000-0002-3345-7539

CZU: 547.584:546.47:544.6.076.327 https://doi.org/10.59295/mabt2026.25

STUDIUL FTALOCIANINELOR DE ZINC ÎN CALITATE DE MATERIALE ELECTROACTIVE PENTRU ELECTROZI Zn^{2+}-SELECTIVI

Mariana DÎRU[1,2], Tamara POTLOG[1], Ion LUNGU[1], Andreea BEJENARI[2]

[1] LCȘ „Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică", Institutul de Fizică Aplicată,
[2]Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

În articol sunt prezentate rezultatele studiului ftalocianinei de zinc și tetracarboxiftalocianinei de zinc în calitate de ionofori ai electrozilor cu matrice polimerică, senzitivi la prezența ionilor de zinc. Pe baza acestor compuși au fost asamblați doi electrozi ion-selectivi: EIS_1 și EIS_2. Electrozii manifestă o funcție cationică cu respectarea funcției Nernst în domeniul de concentrații $10^{-2} – 10^{-5}$ mol/L, cu un timp de răspuns de 10 - 20 secunde. Constantele potențiometrice de selectivitate indică o interferență mai pronunțată asupra măsurărilor potențiometrice din partea ionilor de aluminiu. Senzorii au fost testați în calitate de electrozi indicator în titrări potențiometrice a probelor model ce conțineau ioni Zn^{2+}, iar rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării acestora pentru determinarea punctului de echivalență cu o bună precizie.

Cuvinte-cheie: ftalocianină de zinc, electrod ion selectiv, potențiometrie.

STUDY OF ZINC PHTHALOCYANINES AS ELECTROACTIVE MATERIALS FOR Zn^{2+}-SELECTIVE ELECTRODES

Abstract

The article presents the results of the study of zinc phthalocyanine and zinc tetracarboxyphthalocyanine as ionophores of polymer matrix electrodes sensitive to the presence of zinc ions. Based on these compounds, two ion-selective electrodes were assembled: EIS_1 and EIS_2. The electrodes exhibit a cationic function in compliance with the Nernst function in the concentration range $10^{-2} – 10^{-5}$ mol/L, with a response time of 10 - 20 seconds. The potentiometric selectivity constants indicate a more pronounced interference on the potentiometric measurements from aluminum ions. The sensors were tested as indicator electrodes in potentiometric titrations of model samples containing Zn^{2+} ions, and the results obtained indicate the possibility of using them to determine the equivalence point with good accuracy.

Keywords: zinc phthalocyanine, ion selective electrode, potentiometry.

Introducere

Ionii de zinc se găsesc în diverse probe reale, de ex. în preparatele farmaceutice: comprimate efervescente ZINKIT, pudră pentru copii, comprimate de gluconate de zinc ș. a. Farmacopeea Europeană recomandă metoda de titrare complexonometrică pentru determinarea conținutului de zinc în preparate medicamentoase [1]. Titrarea clasică se bazează pe fixarea punctului de echivalență cu utilizarea indicatorilor de culoare, iar titrarea potențiometrică se bazează pe utilizarea electrozilor senzitivi la prezența ionilor de zinc. A doua metodă prezintă rezultate cu o precizie mai mare fiindcă este eliminată eroarea de indicator. Electrozi Zn^{2+}-senzitivi au la bază o substanță ion-activă, care se caracterizează prin solubilitate foarte mica în apă, stabilitate înaltă și ionizare cu asigurarea prezenței în matrice a ionului la care este sensibil electrodul. În acest scop au fost studiați și aplicați compuși coordinativi, baze Schiff și substanțe organice (pro liganzi) care pot forma compuși coordinativi cu ionii la care sunt sensibili electrozii [2-5]. Acest studiu a pornit de la ipoteza utilizării ftalocianinelor de zinc în calitate de materiale electroactive pentru electrozi Zn^{2+}-senzitivi.

Metode și materiale aplicate

Reactivi, apartaj și accesorii

Reactivii organici şi anorganici de calitate superioară (97,00-99,99%) au fost procuraţi de la companiile „Sigma-Aldrich”, „Acros Organics” sau „Alfa Aesar”, fiind folosiţi în procesul experimental fără o purificare prealabilă.

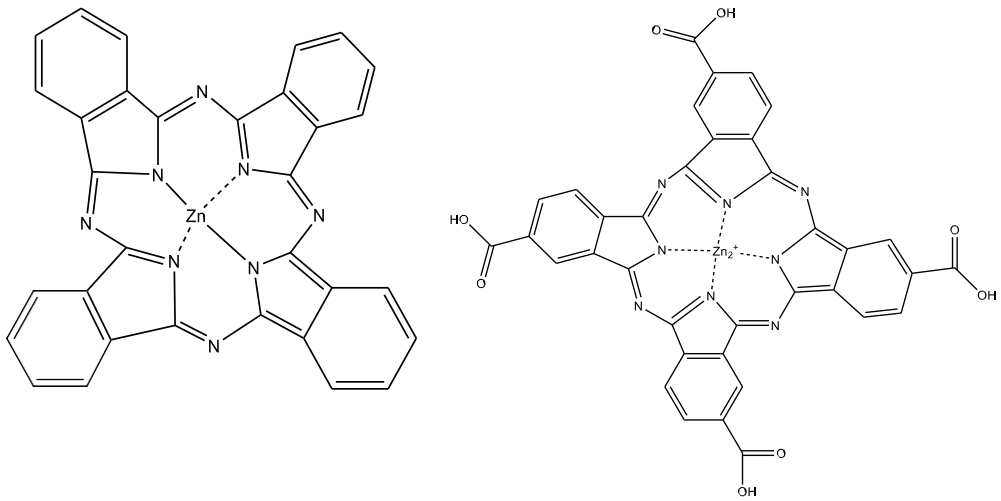
Măsurarea tensiunii electromotoare (TEM) pentru soluţiile de Zn^{2+} cu diferite concentraţii s-a efectuat cu ajutorul unui pH-metru-milivoltmetru 3310 JENWAY. În calitate de electrod de referinţă a fost utilizat electrodul de Ag/AgCl, iar cei indicator – confecţionaţi în acest studiu. Reprezentarea schematică a celulei electrochimice pentru sistemul dat este:

Ag, AgCl/ KCl (3 mol/L)/ soluţia analizată/ membrana PVC/ Zn^{2+} (0,100 mol/L), KCl (0,005 mol/L)/ AgCl, Ag [2].

Prepararea membranei polimerice şi asamblarea electrozilor [3-5]

O probă de clorură de polivinil (PVC) cu masa de 0,300 g se dizolvă prin agitare în tetrahidrofuran și spre sfârșit se adaugă 0,600 g plastifiant - eterul 2-nitrofeniloctilic (NE). După omogenizarea amestecului se adaugă 0,020 g de material electroactiv – ftalocianina de zinc pentru EIS_1 și 2,9,16,23-tetracarboxiftalocianina de zinc pentru EIS_2. Sistemele obţinute se toarnă într-o capsulă Pettri cu diametrul de 50 mm şi se lasă pentru 24 de ore, timp suficient pentru evaporarea tetrahidrofuranului. La expirarea acestui timp se formează un film subţire cu grosimea de ~0,5 mm, de culoare verde, din care se taie discuri cu diametrul 12 mm, care se încleie cu o soluţie de polimer în tetrahidrofuran la capătul tubului polimeric pregătit anterior (tub din PVC). Senzorii confecționați, EIS_1 și EIS_2, au fost precondiționați în soluție de sulfat de zinc cu concentraţia de 0,1 mol/L timp de 24 de ore. Cavitatea tubului suport al fiecărui senzor s-a umplut cu o soluţie internă care conţine 2,0 mL de $ZnSO_4$ de 0,1 mol/L şi 0,2 mL de KCl de 0,005 mol/L.

Rezultate obținute și discuții



a b

Figura 1. Formulele de structură ale ftalocianinei de zinc (a) și 2,9,16,23-tetracarboxiftalocianina de zinc (b)

Ftalocianinele de zinc (figura 1) sunt substanțe cu o stabilitate chimică și termică destul de înaltă [6], aceste proprietăți au stat la baza inițierii studiului din această lucrare.

Pentru electrozii EIS_1 și EIS_2, care au în calitate de ionofori ftalocianinele prezentate în figura 1, au fost determinați parametrii funcționali: funcția, domeniul de concentrații în care se respectă funcția Nernst, limita de detecție, timpul de răspuns, constante potențiometrice de selectivitate, domeniul optim de pH de funcționare.

Senzorii EIS_1 și EIS_2 au fost calibrați utilizând soluții standard de Zn^{2+}, iar curbele de calibrare (figura 2, figura 3) indică o funcție cationică, au aspect descendent, cu respectarea funcției Nernst în domeniul de concentrații 10^{-2} – 10^{-5} mol/L, limita de detecție de ordinul 10^{-5} mol/L și timpul de răspuns 10 - 20 secunde. Apariția potențialului la interfețele membrană ↔ soluție se datorează echilibrului:

$$Zn^{2+}_{\text{(soluție externă)}} \leftrightarrow Zn^{2+}_{\text{(membrană polimerică)}} \leftrightarrow Zn^{2+}_{\text{(soluție internă).}}$$

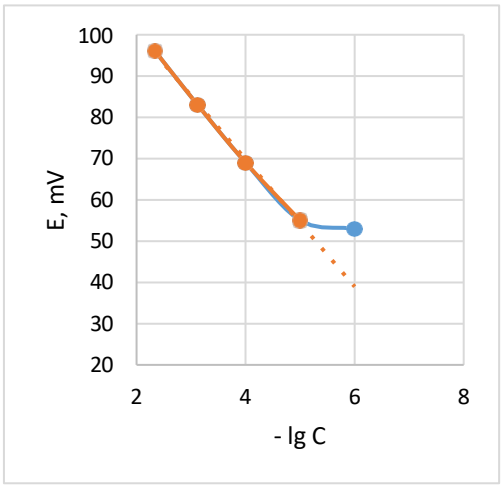


Figura 2. Curba de calibrare pentru EIS_1

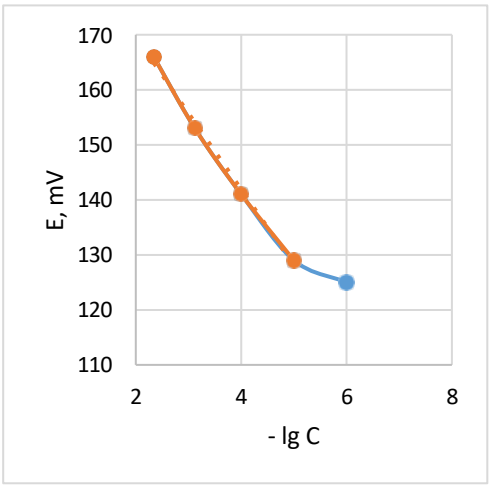


Figura 3. Curba de calibrare pentru EIS_2

Constantele potențiometrice de selectivitate au fost determinate prin metoda soluțiilor separate [7]. Metoda constă în măsurarea diferenței de potențial a celulei într-o soluție ce conține doar ionul primar A, în acest caz Zn^{2+}, apoi în altă soluție ce conține doar ionul interferent B.

Calculele se efectuează după formula:

$$\log K^{pot}_{A.B} = \frac{(E_B - E_A)\cdot Z_A}{0.059} + \left(1 - \frac{Z_A}{z_B}\right) lg a_A$$

E_A, E_B – diferențele de potențial înregistrate în soluția ionului analizat (la care este sensibil EIS) și cel interferent;

a_A, a_B – activitatea ionului analizat și cel interferent;

Z_A, Z_B – sarcina ionului analizat și cel interferent.

Rezultatele obținute (tabelul 1), indică o selectivitate înaltă în raport cu ionii de sodiu și potasiu. Interferență mai pronunțată se atestă, pentru ambii electrozi, în prezența ionilor de aluminiu.

Constantele potențiometrice de selectivitate au fost determinate în raport cu cationii prezenți în unele preparate farmaceutice: ionul de sodiu – în soluție fiziologică, ionul de potasiu – în soluții utilizate pentru tratarea dezechilibrelor hidrolitice, ionii de magneziu și aluminiu – în medicamente antiacide, ionul de calciu – în medicamente utilizate pentru prevenirea carențelor de calciu.

Tabelul 1. Constantele potențiometrice de selectivitate pentru EIS_1 și EIS_2

Ionul interferent	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Al^{3+}
$K_{A/B}^{pot}$, EIS_1	$2{,}75 \cdot 10^{-6}$	$2{,}57 \cdot 10^{-6}$	$8{,}52 \cdot 10^{-4}$	$6{,}16 \cdot 10^{-4}$	$1{,}90 \cdot 10^{-4}$
$K_{A/B}^{pot}$, EIS_2	$7{,}58 \cdot 10^{-6}$	$9{,}77 \cdot 10^{-6}$	$1{,}34 \cdot 10^{-4}$	$7{,}94 \cdot 10^{-4}$	$1{,}29 \cdot 10^{-4}$

Un parametru foarte important pentru analizele potențiometrice în sisteme apoase este pH-ul. Ionii de zinc hidrolizează, iar pH-ul soluțiilor este influiențat de natura anionilor, de valoarea produsului de solubilitate a hidroxidului de zinc și de concentrația cationilor de zinc. În sursa [8] sunt prezentate intervalele de pH de formare a hidroxidului de zinc în funcție de concentrația ionilor. Astfel, pentru $[Zn^{2+}] = 10^{-1}$ mol/L, domeniul de pH de formare a hidroxidului $Zn(OH)_2$ este 6,2 - 12,0, pentru $[Zn^{2+}] = 10^{-3}$ mol/L, pH = 7,2 – 12,0, iar pentru $[Zn^{2+}] = 10^{-5}$ mol/L, pH = 8,4 – 11,8. Aceste valori ne indică domeniile de pH de utilizare a electrozilor Zn^{2+}-selectivi; la concentrația 0,1 mol/L, în domeniul de pH al soluțiilor 2,0 – 6,2, la un pH mai mic de 2,0 are loc degradarea fizico-chimică a membranei polimerice, iar la un pH mai mare de 6,2 în sistemul apos sunt prezente speciile Zn^{2+}, $Zn(OH)^+$ și $Zn(OH)_2$ și nu va fi posibilă determinarea potențiometrică cantitativă a conținutului total de zinc. Odată cu micșorarea concentrației ionilor de zinc se mărește domeniul optim de pH de funcționare a electrozilor, când $[Zn^{2+}] = 10^{-3}$ mol/L vom avea domeniul optim de pH de funcționare cuprins în intervalul 2,0 – 7,2, iar pentru $[Zn^{2+}] = 10^{-5}$ mol/L – pH = 2,0 – 8,4.

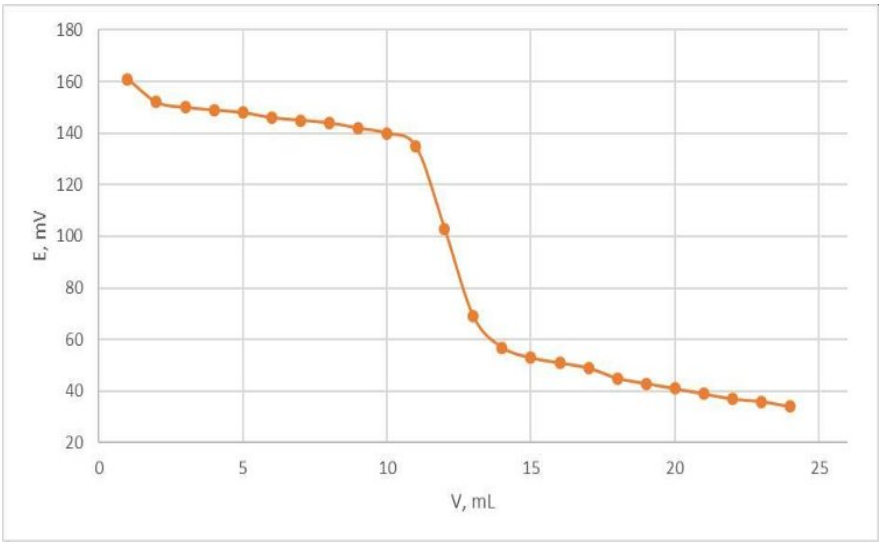


Figura 4. Curba integrală de titrare a soluției model ce conține ioni de zinc cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/L, utilizând în calitate de electrod indicator EIS_2

Electrozii asamblați au fost testați în calitate de indicatori în titrarea potențiometrică a soluțiilor standard ce conțineau ioni de zinc cu soluție standard de hidroxid de sodiu. Metoda titrării potențiometrice constă în măsurarea variației forței electromotoare în funcție de volumul de titrant adăugat. Celula potențiometrică este alcătuită dintr-un electrod indicator (electrod ion-selectiv) și un electrod de referință. Curba de tritrare (figura 4) indică un salt de titrare semnificativ, cu un potențial cuprins în intervalul 140 mV – 60 mV, iar această variație confirmă o precizie înaltă a determinării punctului de echivalență.

Valorile parametrilor funcționali nu indică o diferență semnificativă pentru EIS_1 și EIS_2, deci, la modificare ionoforului din matricea polimerică (ftalocianina de zinc cu 2,9,16,23-tetracarboxiftalocianina de zinc) nu se produc modificări majore în activitatea senzorilor.

Concluzii

Au fost preparate membrane polimerice, pe bază de clorură de polivinil, utilizând în calitate de ionofori ftalocianina de zinc și 2,9,16,23-tetra(carboxi)ftalocianină de zinc. Din membranele polimerice preparate au fost asamblați senzori potențiometrici și precondiționați în soluții ce conțineau ioni de Zn^{2+}, EIS_1 și EIS_2. În urma prelucrării rezultatelor experimentale obținute în procesul de calibrare s-a constatat că senzorii manifestă o funcție cationică, cu respectarea funcției Nernst în domeniul de concentrații: 10^{-2} – 10^{-5} mol/L, cu un timp de răspuns 10 - 20 secunde. Senzorii au fost testați în calitate de electrozi indicatori în titrare potențiometrică a soluției model de sulfat de zinc cu soluție de hidroxid de sodiu. Curbele de titrare indică posibilitatea determinării punctului de echivalență cu o precizie înaltă.

Mulțumiri

Această lucrare a fost susținută financiar de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova, USM, subprogramul „Proiectarea Arhitecturilor Supramoleculare pe Bază de Derivați de Ftalocianină Metalică-Nanoparticule Funcționalizate cu Aplicații în Medicină” #011209.

Referințe:

1. European Pharmacopoeia 7.0, Monographs T-Z.
2. DÎRU, M., VÎLCU, E. Electrod fluor-selectiv. In: Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii), nr. 6 (106), 2017, ISSN 1814-3237 /ISSNe 1857-498X, pp. 93-96, CZU: 543.257.1:546.76.
3. ISA, I., NOOR, S., JUAHIR, Y., HASHIM, N., AHMAD, M., KAMARI, A., MOHAMED, A., AB GHANI, S., WARDANY, N. Zinc(II) Selective Electrode based on Polymeric Membrane of 2,6-Diacetylpyridinebis(benzenesulfonylhydrazide) Ligand. In: International Journal of Electrochemical Science, 2014, vol. 9, pp. 4512-4522. https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)08109-9
4. GUPTA, V., GOAYAL, R., KHAYAT, M., KUMAR, P., BACHHETI, N. A new Zn(II)-selective potentiometric sensor based on 4-tert-butylcalix[4]arene in PVC matrix. In: Talanta, 2006, vol. 9, pp. 1149–1155. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.12.040.
5. CHANDRA, S., SINGH, D. Zinc(II) selective poly(vinyl chloride) membrane ISE using a macrocyclic compound 1,12,14-triaza-5,8-dioxo-3(4),9(10)-dibenzoylcyclopentadeca-1,12,14-triene as neutral carrier. In: Journal of Saudi Chemical Society, 2010, vol. 14, pp. 55-60. https://doi.org/10.1016/j.jscs.2009.12.009
6. VASILJEVIĆ, B., PREKODRAVAC, J., RANĐELOVIĆ, M., MITROVIĆ, J., BOJIĆ, A., KATNIĆ, S., MOMČILOVIĆ, M., MARINKOVIĆ, D. Enhanced thermal stability and excellent electrochemical and photocatalytic performance of needle-like form of zinc-phthalocyanine. In: Ceramics International, 2024, vol. 50, pp. 49459-49469. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2024.09.290
7. EGOROV, V., ZDRACHEK, E., NAZAROV, V. Potentiometric Selectivity Coefficients: Problems of Experimental Determination. In: Journal of Analytical Chemistry, 2014, Vol. 69, No. 6, pp. 535–541. https://doi.org/10.1134/S1061934814060057
8. POVAR, I., PINTILIE, B., SPÎNU, O. Aplicații practice la reacțiile în sisteme omogene și eterogene apoase (Echilibre chimice complexe). Chișinău: CEP USM, 2021, 280 p. ISBN 978-9975-158-99-2.

Date despre autori:



Mariana DÎRU, dr., conf. univ., Departamentul Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: mariana.diru@usm.md
ORCID: 0000-0003-1410-7821



Tamara POTLOG, dr., conf. univ., cercetător științific coordonator, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: tpotlog@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1243-9371



Ion LUNGU, dr., cercetător științific superior, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: ion.lungu@usm.md; ionlungu.usm@gmail.com
ORCID: 0000-0002-7117-672X



Andreea BEJENARI, studentă an. III, programul 0500.2 Chimie biofarmaceutică, Departamentul Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: abejenari09@gmail.com

CZU: 546.733:547.496.3:577.1:638.15 https://doi.org/10.59295/mabt2026.26

BIOLOGICAL ACTIVITY OF TRIS-[*N*-(PROP-2-EN-1-YL)HYDRAZINE-CARBOTHIOAMIDE]COBALT(III) CHLORIDE

Olga GARBUZ[1], Vasilii GRAUR[2], Nadejda RAILEAN[1], Victor TSAPKOV[2], Veronica SARDARI[3], Donald POIRIER[4], Jenny ROY[4], Ion TODERAS[1], Aurelian GULEA[2]

[1]Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
[2]Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
[3]Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", MD-2004 Chisinau, Moldova
[4]Laboratory of Medicinal Chemistry, CHU de Québec Research Center, Université Laval, Québec, QC G1V4G2, Canada;

Abstract

This study investigates the biological activity of the coordination compound tris-[*N*-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]-cobalt(III) chloride, $[Co(TSC)_3]Cl_3$. The antioxidant activity of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ was evaluated by its ability to inhibit the ABTS radical, with IC_{50} of 7.3 µmol/L. The toxicity of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ toward *Daphnia magna* was relatively low, with LC_{50} of 56.3 µmol/L. Experiments with bees of the *Apis mellifera* species showed that the complex increases the total antioxidant status (TAS) in the hemolymph of adult bees and larvae by 5 and 8 times, respectively. The IC_{50} values for the antioxidant effect were 2.5 mg/mL in adult bee hemolymph and 1.3 mg/mL in larval hemolymph, which are lower than the corresponding control values of 13.6 mg/mL and 10.0 mg/mL. The stimulatory effect of the tested complex on TAS exceeded that of ascorbic acid by up to five times. In addition, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ exhibited high acaricidal activity against *Varroa destructor*, with LC_{50} of 0.2 µmol/L.

Keywords: tris-[*N*-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]-cobalt(III) chloride; antioxidant activity; total antioxidant status; biological activity.

ACTIVITATEA BIOLOGICĂ A COMPLEXULUI CLORURĂ DE TRIS[N-(PROP-2-EN-1-IL)HIDRAZINECARBOTHIOAMIDĂ]COBALT(III)

Rezumat

Acest studiu investighează activitatea biologică a complexului clorură de tris-[N-(prop-2-en-1-il)hidrazinecarbothioamidă]cobalt(III), [Co(TSC)3]Cl3. Activitatea antioxidantă a complexului [Co(TSC)3]Cl3a fost evaluată prin capacitatea de inhibare a radicalului ABTS, obținându-se o valoare a IC50 de 7,3 µmol/L. Toxicitatea complexului față de Daphnia magna a fost relativ scăzută, cu o valoare a LC50 de 56,3 µmol/L. Experimentele efectuate pe albinele din specia Apis mellifera au arătat că acest complex crește statusul antioxidant total (TAS) în hemolimfa albinelor adulte și a larvelor de 5, respectiv 8 ori. Valorile IC50 pentru efectul antioxidant au fost de 2,5 mg/mL în hemolimfa albinelor adulte și de 1,3 mg/mL în hemolimfa larvară, fiind mai mici decât valorile corespunzătoare ale martorului, de 13,6 mg/mL și 10,0 mg/mL. Efectul stimulator al complexului testat asupra TAS a depășit efectul acidului ascorbic de până la cinci ori. În plus, [Co(TSC)3]Cl3 a prezentat o activitate acaricidă ridicată împotriva Varroa destructor, cu o valoare a LC50 de 0,2 µmol/L.

Cuvinte-cheie: clorură de tris-[N-(prop-2-en-1-il)hidrazinecarbothioamidă]cobalt(III); activitate antioxidantă; status antioxidant total; activitate biologică.

Introduction

The European honey bee (*Apis mellifera*) plays a key role in the pollination of natural ecosystems and agricultural crops, and is also the foundation of beekeeping. Maintaining their health and productivity is directly linked to the effectiveness of their antioxidant system, which

neutralizes reactive free radicals generated by high metabolic activity. Insects, including bees, produce significant amounts of free radicals, making them particularly vulnerable to oxidative stress. Its development disrupts cellular function, promotes disease, and reduces colony viability [1–5].

A significant factor in increasing oxidative stress is the infestation of the parasitic mite *Varroa destructor*, which feeds on hemolymph and damages key bee tissues. This leads to increased free radical generation, overload of antioxidant systems, accelerated aging, and decreased immunity, which can ultimately lead to colony collapse.

Assessing antioxidant activity (AOA) is an important indicator of the functional state of the antioxidant defenses of bees and their larvae [6–10]. An important characteristic is the total antioxidant status (TAS) of *Apis mellifera*, reflecting the combined activity of both enzymatic and non-enzymatic antioxidants [11–12]. Dietary supplements based on ascorbic acid are widely used to increase TAS; however, their relatively weak antioxidant activity limits their practical effectiveness.

In recent years, the attention of researchers has shifted to transition metal compounds and their coordination complexes, which can significantly enhance antioxidant protection [13–20]. However, the use of such complexes in beekeeping remains poorly studied, and the literature data are contradictory: some studies indicate a pronounced protective effect, while others note potential toxicity or low efficacy [21–25]. This emphasizes the need to develop new substances that combine high antioxidant activity and low toxicity.

This study examined the antioxidant activity of the hemolymph of adult bees and *Apis mellifera* larvae, and assessed the effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on antioxidant defense. The complex was shown to exhibit antioxidant properties, suppressing free radical activity and increasing the effectiveness of the antioxidant system after addition to bee feed. These properties indicate that $[Co(TSC)_3]Cl_3$ is a promising agent for stimulating TAS and enhancing resistance.

Furthermore, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ exhibits pronounced acaricidal activity against *Varroa destructor*, opening the door to the development of multifunctional apiculture products that combine antioxidant support and protection against varroatosis.

Materials and methods

Chemicals and reagents

All chemicals were of analytical grade and used as received. Cobalt(II) chloride hexahydrate ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$, Merck) was employed without additional purification. Allyl isothiocyanate, 50–60% (w/w) aqueous solution of hydrazine, and hydrochloric acid were obtained from Sigma-Aldrich. The ligand, 4-allylthiosemicarbazide (TSC), was synthesized by the reaction of a four-fold excess of 50–60% hydrazine solution with allyl isothiocyanate according to the published procedure. The composition of the complex was verified by elemental analysis on a Perkin Elmer 2400 elemental analyzer, and its molar conductivity in 1 mM methanol solution was measured with an R-38 conductometric bridge at 20 °C.

Synthesis of $[Co(TSC)_3]Cl_3$

$[Co(TSC)_3]Cl_3$ was synthesized by dissolving 4-allylthiosemicarbazide (TSC, 3.94 g, 30 mmol) in 25 mL of hot ethanol (55 °C). Cobalt(II) chloride hexahydrate (2.38 g, 10 mmol) was added to the solution, followed by 0.83 mL of 37% (w/w) hydrochloric acid (10 mmol). The reaction mixture was stirred for 1 h at 55 °C under continuous air bubbling. After cooling to room temperature, the resulting brown precipitate was filtered, washed with cold ethanol, and dried in vacuo. The yield of the complex was 87%. Elemental analysis and conductivity data were consistent with the formula $C_{12}H_{27}Cl_3CoN_9S_3$.

Enriched feeding technique on *Apis mellifera* colonies

Biological trials were conducted on colonies of Apis mellifera. The coordination compound $[Co(TSC)_3]Cl_3$ was added to a sugar syrup (50% sugar, 50% water) at concentrations of 0.2 mg/L and 0.6 mg/L. The feeding was carried out at the beginning of spring, when nectar and pollen sources were limited.

The experiments were performed on three groups of 10 hives each. The control group (I) received plain sugar syrup without the complex. The experimental groups (II and III) were fed syrup fortified with $[Co(TSC)_3]Cl_3$ at concentrations of 0.2 mg/L (2 mg per hive) and 0.6 mg/L (6 mg per hive), respectively. The syrup (100 mL per frame) was poured into a container placed in the upper part of the hive and was replaced every two days over a period of two weeks.

Determination of antioxidant activity (ABTS assay)

Antioxidant activity was assessed by the ABTS radical cation scavenging method, modified from the procedure described by Re et al. The radical cation was generated by reacting ABTS (2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) with potassium persulfate in the dark at 25 °C for 12–20 h. The stock solution was diluted with ethanol (pH adjusted to 6.5) to obtain an absorbance of 0.70 ± 0.01 at 734 nm. Aliquots of test solutions (20 µL) were mixed with 180 µL of the working ABTS solution in a 96-well microplate, and the decrease in absorbance at 734 nm was recorded after 30 min of incubation at 25 °C using a Synergy H1 microplate reader (BioTek). The percent inhibition (I, %) of ABTS was calculated from the difference in absorbance between control and sample wells, and IC_{50} values were derived from dose-response curves.

Determination of antioxidant activity (DPPH assay)

The DPPH radical scavenging assay was performed according to Brand-Williams et al. with minor modifications. A 0.002% (w/v) methanolic DPPH solution was adjusted to an absorbance of 0.70 ± 0.01 at 517 nm. Test solutions (20 µL) were mixed with 180 µL of DPPH working solution in a 96-well microplate, briefly shaken, and incubated for 30 min at 25 °C. Absorbance at 515 nm was measured on the same microplate reader. The percent inhibition (I, %) of DPPH was calculated analogously to the ABTS assay, and IC_{50} was obtained by nonlinear fitting of the dose-response data.

Assessment of *Varroa destructor* infestation

The level of *Varroa destructor* infestation was evaluated using the powdered-sugar method. Bees (300 individuals, approximately 30 g) harvested from a well-developed brood frame were placed in a jar with a perforated lid, and 10 g of powdered sugar was added. After gently shaking the jar for 2 min, mites fell through the perforations onto a light-coloured surface, while the bees were returned to the colony. The mites were counted, and the number per 100 bees (10 g) was calculated by dividing the total count by 3 and expressing the result as a percentage. The level of brood infestation was estimated by inspecting 100 larvae per colony.

Statistical analysis

Antioxidant-assay results are presented as mean ± standard deviation (SD) of triplicate determinations. IC_{50} values were calculated from dose-response curves using the least-squares fit method. The acaricidal effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ was characterized by the percentage reduction in Varroa destructor infestation relative to the control group and by the median lethal concentration (LC_{50}) determined using GraphPad software. All data were evaluated statistically, and differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

The total antioxidant status (TAS)

Properties of the complex $[Co(TSC)_3]Cl_3$

A new cobalt(III) coordination compound, tris-[*N*-(prop-2-en-1-yl)hydrazine-carbothioamide]cobalt(III) chloride ($[Co(TSC)_3]Cl_3$), has been developed to regulate the total

antioxidant status (TAS) of *Apis mellifera* hemolymph. The compound was synthesized in ethanol from 4-allylthiosemicarbazide (TSC), cobalt(II) chloride hexahydrate, and hydrochloric acid in a 3:1:1 molar ratio under air bubbling. The composition and structure of the complex were confirmed by elemental analysis and molar conductivity, with a value of 312 $\Omega^{-1}\cdot cm^2\cdot mol^{-1}$ in a 0.001-mol/L methanol solution at 20 °C, corresponding to a 1:3-type electrolyte, i.e., $[Co(TSC)_3]^{3+}$ and three Cl^- ions in the outer sphere.

In the Toxicity Screen assay with *Daphnia magna*, a relatively low LC_{50} of 56.3 ± 3.1 µmol/L was observed, indicating that the complex can be considered potentially safe for use in biological systems of bees.

The activity of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ toward free radicals was evaluated in model systems using the ABTS assay. The ABTS test showed that $[Co(TSC)_3]Cl_3$ exhibits high antioxidant activity, exceeding that of the standard compounds Trolox and ascorbic acid.

Table 1 presents the IC_{50} values for $[Co(TSC)_3]Cl_3$ and the reference antioxidants.

Table 1. Comparative antioxidant activity of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ and reference compounds in the ABTS radical-scavenging assay, expressed as IC_{50}

Compound	IC_{50}, µmol/L
Trolox	33.3 ± 0.3
Ascorbic acid (vitamin C)	14.0 ± 0.3
$[Co(TSC)_3]Cl_3$	7.3 ± 0.3

As can be seen, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ requires approximately five times lower concentration than Trolox and twice lower concentration than ascorbic acid to achieve 50% inhibition of ABTS, which indicates a high antioxidant efficiency of the complex.

Effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on the TAS of bee and larval hemolymph

To evaluate the influence of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on total antioxidant status (TAS), biological samples of Apis mellifera (hemolymph of adult bees and larvae) were used. The samples were collected in sterile containers and stored under cooling conditions prior to analysis. Homogenization was performed in 96% ethanol, followed by incubation at 25 °C for 2 days; the samples were then analyzed across a concentration range of 0.01–100.0 mg/mL.

In the control group (I), where bees received plain sugar syrup without the complex, the TAS values of adult-bee and larval hemolymph reflect the level of natural antioxidant protection (Table 2).

Table 2. Total antioxidant status (TAS) of hemolymph in the control group, expressed as IC_{50} in the ABTS and DPPH radical-scavenging assays

Hemolymph	ABTS ; IC_{50} (mg/mL)	DPPH; IC_{50} (mg/mL)
Adult bees	13.56 ± 0.37	13.85 ± 0.19
Larvae	9.95 ± 0.70	13.44 ± 2.95

These results indicate a significant baseline antioxidant activity in bees, especially in the ABTS assay, but this level may be insufficient to prevent cellular damage under stress and parasitic pressure.

In experimental group II, bees were fed syrup enriched with $[Co(TSC)_3]Cl_3$ at a concentration of 0.6 mg/L. In this group, the total antioxidant status (TAS) of hemolymph increased (Table 3).

Table 3. TAS in the group II (IC_{50}, mg/mL)

Hemolymph	ABTS IC_{50} (mg/mL)	DPPH IC_{50} (mg/mL)
Adult bees	2.5 ± 0.22	7.08 ± 0.34
Larvae	1.3 ± 0.12	6.70 ± 0.12

Compared with the control group, the level of antioxidant activity in adult bees increased by approximately 5.4 times, and in larvae by up to 7.8 times. This indicates a pronounced stimulating effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on the antioxidant systems of *A. mellifera* both at the adult stage and in the early stages of development.

Comparison of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ with vitamin C and its biological significance

The stimulating effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$, compared to vitamin C, is manifested in higher efficiency: according to ABTS assay data, the stimulation of TAS in adult bees reaches approximately a 5.2 times increase, and in larvae about a 4.8 times increase. This effect may be due to the ability of the cobalt complex to act as a catalyst in redox reactions, as well as to the participation of sulfur and nitrogen containing fragments of the ligand in binding and neutralizing reactive oxygen species.

Elevating TAS in hemolymph leads to reduced oxidative stress, decreased lipid peroxidation, and preservation of the structure of proteins and nucleic acids. Thus, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ exhibits a dual physiological role: as a strong antioxidant that increases the TAS of bee and larval hemolymph; as a non toxic compound with pronounced acaricidal activity.

These properties make the complex a promising candidate for the further development of agents aimed at enhancing the viability and resilience of bee colonies against environmental and parasitic stressors.

Acaricidal activity

One of the key challenges of modern beekeeping is the protection of *Apis mellifera* colonies against the parasitic mite *Varroa destructor*. Infestation with *V. destructor* affects not only the mortality of brood and adult bees, but also the functioning of their antioxidant system: under heavy infestation, the activity of key antioxidant enzymes decreases, aging processes accelerate, and the average lifespan of individuals is shortened [27–28]. Under these conditions, the search for new agents that combine high efficacy with low toxicity for bees and the environment becomes particularly relevant.

Varroa destructor mite morphology and epizootiology

The parasitic mite Varroa destructor is widely distributed in apiaries of the Republic of Moldova. Adult females measure approximately 1.1–1.8 mm in length and 1.5–2.0 mm in width. The body is strongly sclerotized, dorso-ventrally flattened, and transversely oval in shape, with a slightly convex dorsal region (idiosoma). The dorsal scutellum extends along the entire body and is covered with dense pubescence composed of thin, spirally curved setae, which facilitate the mite's movement within sealed brood cells between the larva and the cocoon. Adult individuals possess four pairs of robust, six-segmented legs, terminating in strong sucking cups.

The major epizootiological role is played by adult females (Figure 1 d): they can remain outside cells for extended periods, attaching to the bodies of bees and overwintering on adult hosts. Immature stages (protonymph, deutonymph, tritonymph) and males (Figure 1 a–f) develop primarily within sealed brood cells, where reproduction and ontogenesis of the mite take place.

In spring, the population of *V. destructor* grows exponentially, and the greatest damage is inflicted on brood during the period of active preparation of bees for honey collection. In 2025, in *Apis mellifera* colonies of the Republic of Moldova, the level of brood infestation reached

26.4% in control groups (Table 4). In individual cells up to three mites of different developmental stages were found, while their numbers on adult bees were noticeably lower.

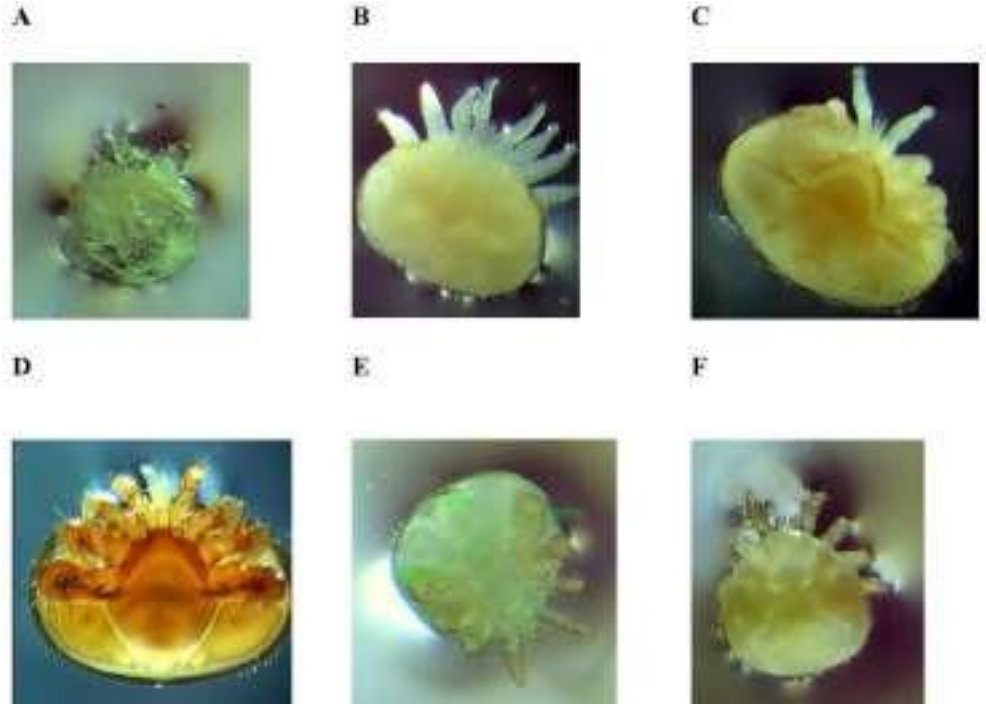


Figure 1. Microscopic images of Varroa destructor: protonymph (a), deutonymph (b), tritonymph (c), adult female (d), male ventral view (e) and dorsal view (f).

Morphometric measurements of mites collected from bee larvae showed that the average size of pale males was length L = 0.91 ± 0.15 mm and width D = 1.11 ± 0.38 mm, whereas adult females had larger dimensions of L = 1.15 ± 0.05 mm and D = 1.74 ± 0.05 mm. Incompletely sclerotized tritonymphs measured L = 1.11 ± 0.06 mm and D = 1.55 ± 0.12 mm, which corresponds to the diagnostic characters described in the keys of De-Guzman, Fernandez, and Coineau (2007).

Table 4. *Varroa destructor* infestation in the control and experimental groups.

№	Mites per 10 g bees (control)	0.2 mg/L $[Co(TSC)_3]Cl_3$	0.6 mg/L $[Co(TSC)_3]Cl_3$
1	32	4	0
2	25	3	0
3	37	4	1
4	26	2	0
5	28	1	1
6	24	5	1
7	30	1	0
8	20	2	0
9	24	2	1
10	18	3	0
M	26.4	2.7	0.4

Effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on Varroa destructor infestation

In biological studies, bees were fed sugar syrup enriched with $[Co(TSC)_3]Cl_3$ at concentrations of 0.2 and 0.6 mg/L. The control group received plain sugar syrup with no complex added. The level of infestation was assessed by the number of mites per 10 g of bees (equivalent to 100 individuals) and by the percentage of infested brood cells.

In the control group, the mean infestation level was 26.4 mites per 10 g of bees. After supplementation with $[Co(TSC)_3]Cl_3$ at 0.2 mg/L, this value decreased to 2.7, and at 0.6 mg/L it further dropped to 0.4.

To evaluate the acaricidal efficacy, the percentage reduction in infestation relative to the control group was calculated, and the median lethal concentration (LC_{50}) was determined.

At 0.2 mg/L, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ reduced the level of infestation by 89.8%, and at 0.6 mg/L by 98.5% (Table 5). The obtained LC_{50} of 0.2 µmol/L confirms the high acaricidal activity of the complex, even at very low doses.

Table 5. Reduction of Varroa destructor infestation

$[Co(TSC)_3]Cl_3$ concentration	Reduction in infestation (%)
0.2 mg/L	89.8
0.6 mg/L	98.5

Mechanism of the acaricidal action of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on Varroa destructor

The possible mechanism of the acaricidal effect of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ on *Varroa destructor* may be associated with the induction of oxidative stress and disruption of mitochondrial redox homeostasis in the mite, rather than direct interaction with classical neurotoxic targets. In other studies, redox-active cobalt(III) complexes have been shown to increase reactive oxygen species (ROS) generation, disturb mitochondrial membrane potential, and alter the activity of key antioxidant enzymes, which ultimately leads to cytotoxicity in small ectoparasitic organisms that have limited antioxidant reserves. Given the very low LC_{50} of 0.2 µmol/L observed for $[Co(TSC)_3]Cl_3$ against *V. destructor*, it is plausible that the complex, after entering the mite's hemolymph or through its cuticle, disturbs mitochondrial electron transport and increases oxidative load, thereby reducing the parasite's viability and reproductive capacity [30].

At the same time, the sulfur- and nitrogen-containing fragments of the TSC ligand may contribute to the binding and neutralization of ROS, as well as interfere with the activity of detoxification enzymes such as cytochrome P450-like systems and esterases, which are known to be involved in acaricide resistance in *V. destructor*. By combining a pronounced pro-oxidative effect on the mite with relatively low toxicity to *Daphnia magna* (LC_{50} 56.3 µmol/L) and to bees, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ appears to act as a selective stressor that preferentially targets the parasite. However, these mechanistic interpretations remain hypothetical, and confirmation of the involvement of mitochondrial pathways and specific enzyme systems in the mite will require targeted biochemical and molecular studies in *V. destructor* tissues [31].

Dual acaricidal and antioxidant role of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ in the control of Varroa destructor mite

The results indicate that $[Co(TSC)_3]Cl_3$ is a promising acaricidal agent for the control of Varroa destructor under apiary conditions. Its administration as an additive to sugar syrup leads to a marked reduction in mite populations without exerting a significant negative impact on bee viability at the studied dosages. In combination with the previously described antioxidant activity, the complex can simultaneously enhance the total antioxidant status (TAS) of the

hemolymph of adult bees and larvae, thereby increasing their resistance to infections and stressors.

Thus, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ demonstrates a dual benefit: a substantial reduction in the abundance of Varroa destructor; strengthening of the overall antioxidant defense in bees.

This makes the complex a candidate for the development of multifunctional agents aimed at sustainably improving the health and productivity of bee colonies, reducing economic losses in apiculture, and addressing the problem of chemical contamination of bee products.

The possible mechanism of action of $[Co(TSC)_3]Cl_3$, in view of its high antioxidant and acaricidal activity, may involve several factors. First, the sulfur and nitrogen atoms in the thiosemicarbazide ligands are capable of taking part in electron transfer and in direct scavenging of reactive oxygen species, including the ABTS and DPPH radicals. In an octahedral coordination, the Co(III) ion provides high kinetic stability to the complex and an optimal geometry for interaction with biomolecules, which explains the low IC_{50} values in the model antioxidant assays. At the same time, such a structure may disrupt metabolic processes in the *Varroa destructor* mite, leading to an LC_{50} of only 0.2 μmol/L, even though toxicity is low for *Daphnia magna* and for bees, indicating a selective action of the compound.

The literature describes various agents against *Varroa destructor*, including synthetic acaricides (e.g., amitraz, flumethrin, acarodectin) and organic compounds, mostly based on terpenes and fatty acids, many of which are active in the range of 1–10 μmol/L or higher [29–32]. In contrast, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ exhibits pronounced acaricidal activity at 0.2 μmol/L while maintaining low toxicity and simultaneously increasing the total antioxidant status in bee hemolymph. This combination of properties opens the perspective of developing new multifunctional agents that suppress the mite population and strengthen the host's protective systems.

The combined effect of elevated TAS and reduced *Varroa destructor* infestation allows $[Co(TSC)_3]Cl_3$ to be viewed as a dual-action regulator: on one hand, it reduces the main stress factor by suppressing the parasite, while on the other hand, it diminishes oxidative stress, protecting bee cells and tissues from damage. Such an approach meets the modern requirements of sustainable beekeeping, as it enables a reduction in the use of conventional chemical acaricides and enhances the natural resilience of bee colonies to infections and ecological stressors.

In the present study, long-term consequences of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ application were not evaluated, including possible effects on queen fecundity, brood development, and honey quality, as well as residual concentrations of the complex in bee products (honey, wax, and pollen). An important direction for future work will be the investigation of the pharmacokinetics of the compound in bee hemolymph, its distribution in different organs, and the assessment of its potential impact on resistant strains of *Varroa destructor*. In the future, it will also be advisable to study the combined use of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ with biopesticides and existing acaricides in order to increase the efficiency of varroa control and reduce the risk of resistance development.

Conclusions

In this work, a new cobalt(III) coordination compound, tris-[N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]-cobalt(III) chloride ($[Co(TSC)_3]Cl_3$), was synthesized and studied as a potential regulator of the total antioxidant status (TAS) of *Apis mellifera* hemolymph. Physicochemical investigations showed that the compound forms a stable octahedral 1:3-type electrolyte complex, highly soluble in polar solvents, and exhibiting high electrical conductivity. The antioxidant activity of the complex in model systems (ABTS and DPPH) exceeds that of standard reference compounds such as Trolox and ascorbic acid; the IC_{50} in the ABTS assay is 7.3 μmol/L, which indicates high efficiency of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ as an antioxidant.

In biological trials with bees, supplementation of sugar syrup with $[Co(TSC)_3]Cl_3$ at concentrations of 0.2 and 0.6 mg/L significantly increased the TAS of hemolymph in adult bees and larvae. The corresponding IC_{50} values in these groups decreased to 2.5 mg/mL and 1.3 mg/mL, respectively, which represents more than a 5-fold improvement over the protective effect of ascorbic acid. At the same time, the complex exhibited pronounced acaricidal activity against *Varroa destructor*, reducing bee infestation by 89.8–98.5 % at 0.2–0.6 mg/L and showing an LC_{50} of only 0.2 μmol/L, while toxicity remained relatively low in the *Daphnia magna* bioassay.

Thus, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ demonstrates a dual biological effect: on one hand, it enhances the antioxidant protection of bees, reducing oxidative stress and improving their resistance to diseases; on the other hand, it effectively suppresses the population of Varroa destructor, one of the key factors weakening and causing the collapse of bee colonies. The obtained results indicate that this cobalt complex is a promising nontoxic and highly effective agent for the comprehensive support of bee health, an increase in colony productivity, and a reduction of economic losses in apiculture. In the future, it will be advisable to continue studies on the pharmacokinetics of the compound, residual concentrations in bee products, and the possible use of $[Co(TSC)_3]Cl_3$ in combined protective schemes against Varroa destructor.

Thus, $[Co(TSC)_3]Cl_3$ demonstrates a dual biological effect: on one hand, it enhances the antioxidant protection of bees, reducing oxidative stress and improving their resistance to diseases; on the other hand, it effectively suppresses the population of *Varroa destructor*, one of the key factors weakening and causing the collapse of bee colonies. The obtained results indicate that this cobalt complex is a promising nontoxic and highly effective agent for the comprehensive support of bee health, an increase in colony productivity, and a reduction of economic losses in apiculture.

Acknowledgment

This research was funded by the subprograms 010602 and 010701 (Moldova State University).

References:

1. Brodschneider, R., Brus, J., Danihlík, J. Comparison of apiculture and winter mortality of honey bee colonies (Apis mellifera) in Austria and Czechia. Agric. Ecosyst. Environ., 2019, 274, 24–32.
2. Andy, D. J., Becker, A., Wegener, B. Coordination and integration of metabolism in insect flight. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1997, 117B, 497-512.
3. Li-Byarlay, H., Huang, M. H., Simone-Finstrom, M., Strand, M. K., Tarpy, D. R., Rueppell, O. Honey bee (Apis mellifera) drones survive oxidative stress due to increased tolerance instead of avoidance or repair of oxidative damage. *Exp. Gerontol.*, 2016, 83, 15–21.
4. Corona, M., Robinson, G. E. Genes of the antioxidant system of the honey bee: annotation and phylogeny. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15, 687-701.
5. Simone-Finstrom, M., Li-Byarlay, H., Huang, M. H., Strand, M. K., Rueppell, O., Tarpy, D. R. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees. *Sci. Rep.*, 2016, 6, 32023.
6. Garbuz, O., Graur, V., Tsapkov, V., Railean, N., Toderas, I., Gulea, A. Chloride tris[N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]-cobalt(III) as a stimulator of the total antioxidant status of Apis Mellifera. *Proceedings of the 2nd International Electronic Conference on Antioxidants*, 7–9 April 2025, MDPI: Basel, Switzerland.
7. Garbuz, O., Gudumac, V., Toderaș, I., Gulea, A. Antioxidant Properties of Synthetic Compounds and Natural Products. Action Mechanisms. Monograph; CEP USM: Chișinău, Moldova, 2023; ISBN 978-9975-62-516-6.
8. Tlak Gajger, I., Cvetkovikj, A. Antioxidant Potential of Pollen Polyphenols in Mitigating Environmental Stress in Honeybees (Apis mellifera). *Antioxidants*, 2025, 14, 1086. https://doi.org/10.3390/antiox14091086.

9. Bryś, M. S., Olszewski, K., Bartoń, M., Strachecka, A. Changes in the Activities of Antioxidant Enzymes in the Fat Body and Hemolymph of Apis mellifera L. Due to Pollen Monodiets. *Antioxidants*, 2025, 14, 69. https://doi.org/10.3390/antiox14010069.
10. Strachecka, A., Kuszewska, K., Olszewski, K., Skowronek, P., Grzybek, M., Grabowski, M., Paleolog, J., Woyciechowski, M. Activities of Antioxidant and Proteolytic Systems and Biomarkers in the Fat Body and Hemolymph of Young Apis mellifera Females. *Animals*, 2022, 12, 1121. https://doi.org/10.3390/ani12091121.
11. Elfar, S. A., Bahgat, I. M., Shebl, M. A., Lihoreau, M., Tawfik, M. M. Intraspecific Variability in Proteomic Profiles and Biological Activities of the Honey Bee Hemolymph. *Insects*, 2023, 14, 365. https://doi.org/10.3390/insects14040365.
12. Skowronek, P., Wójcik, Ł., Strachecka, A. Impressive Impact of Hemp Extract on Antioxidant System in Honey Bee (Apis mellifera) Organism. *Antioxidants*, 2022, 11, 707. https://doi.org/10.3390/antiox11040707.
13. Garbuz, O., Ceban, E., Istrati, D., Railean, N., Toderas, I., Gulea, A. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. *Molecules*, 2025, 30, 2077. https://doi.org/10.3390/molecules30092077.
14. Garbuz, O., Toderas, I., Gulea, A. Biological Properties of Some Synthetic and Natural Compounds. Correlation of Anticancer and Antioxidant Activities. Monograph = Proprietăţile Biologice ale Unor Compuşi Sintetici şi Naturali. Corelarea Activităţii Anticancer şi Antioxidante. Monografie; Tipografia Centrală: Chișinău, Moldova, 2024, 271p, ISBN 978-5-88554-387-3. [Google Scholar]
15. Graur, V. O., Mardari, A., Bourosh, P., Kravtsov, V., Usataia, I., Ulchina, I., Garbuz, O., Gulya, A. Novel Antioxidants Based on Selected 3d Metal Coordination Compounds with 2-Hydroxybenzaldehyde 4,S-Diallylisothiosemicarbazone. *Acta chimica Slovenica*, 2023, 70, 122-130. ISSN 1318-0207. DOI: https://doi.org/10.17344/acsi.2022.7885
16. Colven, R. M., Pinnell, S. R. Topical Vitamin C in aging. *Clinical Dermatology*, 1996, 14, 227-234.
17. Farjan, M., Dmitryjuk, M., Lipiński, Z., et al. Supplementation of the honey bee diet with vitamin C: The effect on the antioxidative system of Apis mellifera carnica brood at different stages. *Journal of Apicultural Research*, 2012, 51(3), 263-270.
18. Fuior, A., Colin-Duchevet, L., Cebotari, V., Noël, A., Ribaud, I., Gérard, I., Garbuz, O., Fregnaux, M., López, X., Larcher, V., Shestopalov, M. A., Solovieva, A. O., Pozmogova, T. N., Gliga, O., Railean, N., Cochard, P., Poirot, B., Charistos, L., Hatjina, F., Somogyi, A., Medjoubi, K., Gaumer, S., Gulea, A., Toderas, I., Sandoz, J.-C., Floquet, S. Feed supplementation with molybdenum complexes improves honey bee health. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 2025. https://doi.org/10.1039/d5qi00878f
19. Fuior, A., Hijazi, A., Garbuz, O., Bulimaga, V., Zosim, L., Cebotari, D., Haouas, M., Toderas, I., Gulea, A., Floquet, S. Screening of biological properties of MoV2O2S2- and MoV2O4-based coordination complexes: Investigation of antibacterial, antifungal, antioxidative and antitumoral activities versus growing of Spirulina platensis biomass. *Inorganic Biochemistry*, 2022, 226.
20. Gulea, A., Toderas, I., Garbuz, O., Ulchina, I., Graur, V., Railean, N. Biological Evaluation of a Series of Amine-Containing Mixed-Ligand Copper(II) Coordination Compounds with 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide. *Microscopy and Microanalysis*, 2022, 28(5), 1696-1702.
21. Fuior, A., Cebotari, D., Garbuz, O., Calancea, S., Gulea, A., Floquet, S. Biological properties of a new class of [Mo2O2S2]-based thiosemicarbazone coordination complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 2023, 548.
22. Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. Biology and control of Varroa destructor. *Insect Pathol.*, 2010, 103, S96–S119.
23. Bilik, S., Kratochvila, L., Ligocki, A., Bostik, O., Zemcik, T., Hybl, M., Horak, K., Zalud, L. Visual Diagnosis of the Varroa Destructor Parasitic Mite in Honeybees Using Object Detector Techniques. *Sensors*, 2021, 21, 2764. https://doi.org/10.3390/s21082764
24. Piou, V., Vilarem, C., Blanchard, S., Strub, J.-M., Bertile, F., Bocquet, M., Arafah, K., Bulet, P., Vétillard, A. Honey Bee Larval Hemolymph as a Source of Key Nutrients and Proteins Offers a Promising Medium for Varroa destructor Artificial Rearing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, 24, 12443. https://doi.org/10.3390/ijms241512443

25. Piou, V., Vilarem, C., Blanchard, S., Strub, J.-M., Bertile, F., Bocquet, M., Arafah, K., Bulet, P., Vétillard, A. Honey Bee Larval Hemolymph as a Source of Key Nutrients and Proteins Offers a Promising Medium for Varroa destructor Artificial Rearing. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(15), 12443. https://doi.org/10.3390/ijms241512443
26. Schmolke, A., Abi-Akar, F., Roy, C., Galic, N., Hinarejos, S. Simulating Honey Bee Large-Scale Colony Feeding Studies Using the BEEHAVE Model—Part I: Model Validation. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2020, 39(11), 2269-2285. DOI: 10.1002/etc.4839.
27. Abi-Akar, F., Schmolke, A., Roy, C., Galic, N., Hinarejos, S. Simulating Honey Bee Large-Scale Colony Feeding Studies Using the BEEHAVE Model—Part II: Analysis of Overwintering Outcomes. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2020, 39(11), 2286-2297. DOI: 10.1002/etc.4844.
28. Pietropaoli, M., Tlak Gajger, I., Costa, C., Gerula, D., Wilde, J., Adjlane, N., Aldea-Sánchez, P., Smodiš Škerl, M. I., Bubnič, J., Formato, G. Evaluation of Two Commonly Used Field Tests to Assess Varroa destructor Infestation on Honey Bee (Apis mellifera) Colonies. *Applied Sciences*, 2021, 11(10), 4458. https://doi.org/10.3390/app11104458
29. Garbuz, O., Graur, V., Țapcov, V., Toderas, I., Gulea, A. Chloride tris[N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide]-cobalt(III) as a stimulator of the total antioxidant activity status of hemolymph of Apis Mellifera bees and their larvae. Patent No.: MD 4905 C1, 2025.05.31.
30. Su, L., Fang, W., Zhao, X., Zhu, L., Gao, L., Chen, G. Disruption of mitochondrial redox homeostasis as a mechanism of antimony-induced reactive oxygen species and cytotoxicity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2022, 237, 113519. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.113519.
31. Lester, P. J. Integrated resistance management for acaricide use on Varroa destructor. *Front. Bee Sci.*, 2023, 1, 1297326. DOI: 10.3389/frbee.2023.1297326
32. Pietropaoli, M., Tlak Gajger, I., Costa, C., Gerula, D., Wilde, J., Adjlane, N., Aldea-Sánchez, P., Smodiš Škerl, M. I., Bubnič, J., Formato, G. Evaluation of Two Commonly Used Field Tests to Assess Varroa destructor Infestation on Honey Bee (Apis mellifera) Colonies. *Applied Sciences*, 2021, 11(10), 4458. https://doi.org/10.3390/app11104458

Authors:



Olga Garbuz, Dr., Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



Vasilii GRAUR, PhD, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: vasilii.graur@usm.md
ORCID: 0000-0001-8153-2153



Nadejda RAILEAN, Dr., Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: nadejdarailean@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-7818-9200



Victor TSAPKOV, Dr., Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: vtsapkov@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1732-3116



Veronica SARDARI, Dr., Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", MD-2004 Chisinau, Moldova
e-mail: veronica.sardari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-1047-9145



Donald POIRIER, Professor, Laboratory of Medicinal Chemistry, CHU de Québec Research Center, Université Laval, Québec, QC G1V4G2, Canada
e-mail: donald.poirier@crchudequebec.ulaval.ca
ORCID: 0000-0002-7751-3184



Jenny ROY, Dr., Laboratory of Medicinal Chemistry, CHU de Québec Research Center, Université Laval, Québec, QC G1V4G2, Canada
e-mail: jenny.roy@crchudequebec.ulaval.ca
ORCID: 0000-0002-9928-3009



Ion TODERAS, Academician, Doctor Habilitate, University Professor, Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: iontoderas@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-1599-838X



Aurelian GULEA, Academician, Doctor Habilitate, University Professor, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

CZU: 544.723:546.3:678:544.478 https://doi.org/10.59295/mabt2026.27

COMPOZITE POLIMER-COMPUȘI COORDINATIVI CA PRECURSORI PENTRU OBȚINEREA SORBENȚILOR ȘI CATALIZATORILOR NOI

Vasile GUȚANU

Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldovei

Rezumat

Teoretic, polimerii ionici reticulați care conțin grupări puternic bazice nu pot reține cationii din soluții deoarece nu conțin atomi cu sarcini negative donatori de electroni. In lucrare se arată că, totuși, în anumite condiții, acesti polimeri sunt capabili să rețină cationi din soluții. Pentru studiu s-au utilizat polimeri AV-17, Varion-AD și Purolite A-400. Acești polimeri conțin doar grupe R4N+. Se demonstrează că acești polimeri sunt capabili să rețină cationi (Fe3+, Cr3+, Al3+,(Lantanide)3+) din soluțiile de sulfat. Cercetările efectuate cu utilizarea spectroscopiei Mössbauer și SEM au arătat că reținerea cationilor de către polimeri se datorează formării în faza lor a compușilor de tipul mineralului jarosit, Prin anumite procedee, particulele de Fe-jarosit se transformă în particule ultafine de β-FeOOH în starea superparamagnetică sau masive magnetic ordonate. Compozitele polimer-metal-jarosit devin sorbenți (catalizatori) cu proprietăți selective. În cazul sorbției liganzilor polidentați în faza compozitului pot fi obținute diferite construcții ion-moleculare cu proprietăți de sorbție și antimicrobiene.

Cuvinte-cheie: polimer, sorbție, cation metalic, anion, jarosit, ligand, spectroscopie Mössbauer.

POLYMER-COORDINATIVE COMPOUNDS AS PRECURSORS FOR OBTAINING NEW SORBENTS AND CATALYSTS

Abstract

Theoretically, cross-linked ionic polymers containing strongly basic groups cannot retain cations from solutions because they do not contain negatively charged or electron-donating atoms. The paper shows that, however, under certain conditions, this type of polymer is capable of retaining certain cations from solutions. Polymers AV-17, Varion-AD and Purolite A-400 were used for the study. These polymers contain only R_4N^+groups. These polymers are capable of retaining Fe^{3+}, Cr^{3+}, Al^{3+},$(Lanthanide)^{3+}$. from sulfate solutions. Using Mössbauer spectroscopy and SEM it has shown that the retention of cations by polymers is due to the formation in their phase of compounds such as the mineral jarosite, Through certain processes, Fe-jarosite is transformed into ultrafine β-FeOOH particles in the superparamagnetic state ormassive magnetically ordered ones. Polymer-metal-jarosite composites become sorbents (catalysts) with selective properties. In the case of sorption of polydentate ligands various ion-molecular structures with sorption and antimicrobial properties can be obtained.

Keywords: polymer, sorption, metal cation, anion, jarosite, ligand, Mössbauer spectroscopy.

Introducere

Polimerii ionici reticulați, un produs de tonaj înalt al industriei chimice, sunt utilizați pe scară largă în tehnologiile de purificare și separare a substanțelor în sisteme lichide. Cea mai mare cantitate de astfel de polimeri este utilizată la tratarea apei la stațiile electrice termice și nucleare. Polimerii care conțin grupe acide sunt utilizați ca schimbători de cationi. Spre exemplu $RH + K^+ \leftrightarrow RK + H^+$. Polimerii care conțin grupe bazice sunt utilizati ca schimbători de anioni: $R_4NCl + OH^- \leftrightarrow R_4NOH + Cl^-$. Schimbul de ioni este un proces reversibil și neselectiv. În cazul polimerilor cu grupe puternic acide sau puternic bazice interacțiunele polimer – ion sunt condiționate de forțe electrostatice Coulumbiene. Polimerii care conțin grupe slab acide, spre exemplu carboxilice, sunt capabili să rețină din soluție cationi metalici în rezultatul formării legăturilor coordinative: $2RCOOH + Fe^{3+} = (RCOO)_2Fe^+ + 2H^+$ [1,2]. Polimerii care conțin grupe slab bazice, spre exemplu grupe amine, deasemenea sunt capabili să rețină din soluții

cationi metalici în rezultatul formării legăturilor coordinative: $2R_3NH + Cu^{2+} = (R_3N)_2Cu^{2+} + 2H^+$ [3]. Polimerii care conțin grupe slab bazice pot reține din soluții sarea metalelor grele conform Ecuației 1 [4]:

$2R_3NH + Cu^{2+} + SO_4^{2-} = (R_3N)_2CuSO_4 + 2H^+$ (1).

Deci polimerii care conțin grupe amine pot fi utilizați pentru purificarea apelor de spălare și returnarea lor în circuitul tehnologic in secțiile galvanice. În faza polimerului cationul de Cu^{2+} coordinează nu numai cu atomii N ai grupelor amine, dar și cu ioni de Cl^-, F^- chiar și cu SO_4^{2-} formând complecși de tipul $[(R_3N)_2CuF(H_2O)_3]F$, $[(R_3N)_2CuSO_4(H_2O)_2]$ și alții [4].

Polimerii care conțin grupe puternic bazice R_4N^+ nu conțin atomi cu sarcini negative sau donori de electroni. Teoretic ei nu ar trebui să rețină cationi metalici din soluții. Totuși, într-o serie de lucrări am demonstrat că în anumite condiții ecești polimeri pot reține cationi din soluții**.**

Compozite polimer-compuși de fier(III)

Formarea compozitului polimer-compuși de fier a fost descoperită întâmplător. Era necesar de demonstrat că în soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ nu există complecși anionici ai fierului. Pentru aceasta în soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ a fost introdusă o cantitate de polimer AV-17. Acest polimer conține doar grupe puternic bazice (R_4N^+), nu conține atomi donori de electroni și, teoretic, poate reține doar particole cu sarcini electrice negative, adica doar anioni. Spre surpriza noastră s-a observat reținerea cationilor de fier(III) pe polimer. Sorbția ionilor de Fe^{3+} din soluția de sulfat pe polimerii, care conțin grupe putrnic bazice, funcție de temperatură trece prin maximum (Fig.1).

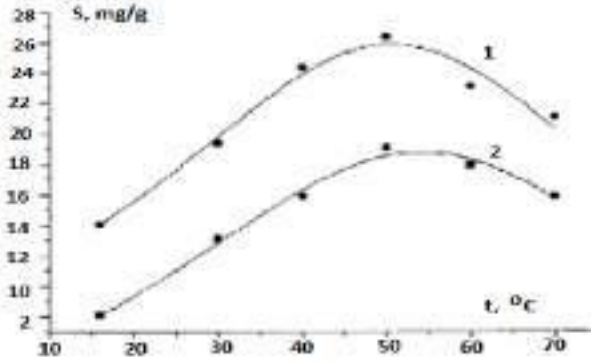


Figura 1. Sorbția ionilor de Fe^{3+} pe polimerii AV-17x8 și Varion-AD funcție de temperatură.

Starea ionilor de Fe^{3+} în faza polimerului a fost cercetată cu utilizarea spectroscopiei Mössbauer. Datele au arătat că scindarea quadrupolară ΔE_Q a ionilor de Fe^{3+} din faza polimerului este 1,0 mm/s. Scindarea quadrupolară a ionilor de Fe^{3+} în $Fe(OH)_3$ sau FeOOH este de circa 0,7 mm/s. Am presupus că la contactarea cu soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ în faza polimerului ar putea să se formeze compuși de $FeOHSO_4$, sau de tipul mineralului jarosit $H_3O[Fe_3(OH)_6(SO_4)_2]$, $R_4N[Fe_3(OH)_6(SO_4)_3]$ [5-7]. Se știe că la deshidratarea termică a $FeOHSO_4$, ΔE_Q crește de la 0,97 până la 1,5 mm/s, iar a jarositului nu se modifică până la temperatura de 230 ºC [8-9]. Atunci când sunt fierți în apă, compușii de tip jarozit ai Fe(III) se transformă în particule foarte disperse de α-FeOOH [7] în stare superparamagnetică, iar valoarea ΔE_Q scade. La fierberea în apă a compozitului polimer-Fe(III), ΔE_Q se micșorează de la 1 mm/s până la circa 0,7 mm/s. Deci la contactarea cu soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ în faza polimerului se formează compuși de tipul mineralalai jarosit, care la fierberea în apă se transformă în FeOOH în starea superparamagnetică. Spectrele Mössbauer ale β-, γ- și α-FeOOH în stare superparamagnetică arată doar un dublet și fiecare modificare a FeOOH nu poate fi identificată. Însă, la efectuarea câtorva cicluri sorbția –

fierberea în apă, particulele de FeOOH cresc în dimensiuni, deven magnetic ordonate iar spectrul Mössbauer are forma de dublet la 300 K și sextet la 80 K. Formarea sextetului în spectru permite determinarea modificației FeOOH după mărimea intensității câmpului magnetic intrn (pe nucleul fierului) **Hef.** Spectrele Mössbauer ale probelor de compozit după efectuarea câtorva cicluri de fierberea în apă sunt prezentate în Figura 2, iar parametrii lor – în Tabelul 1.

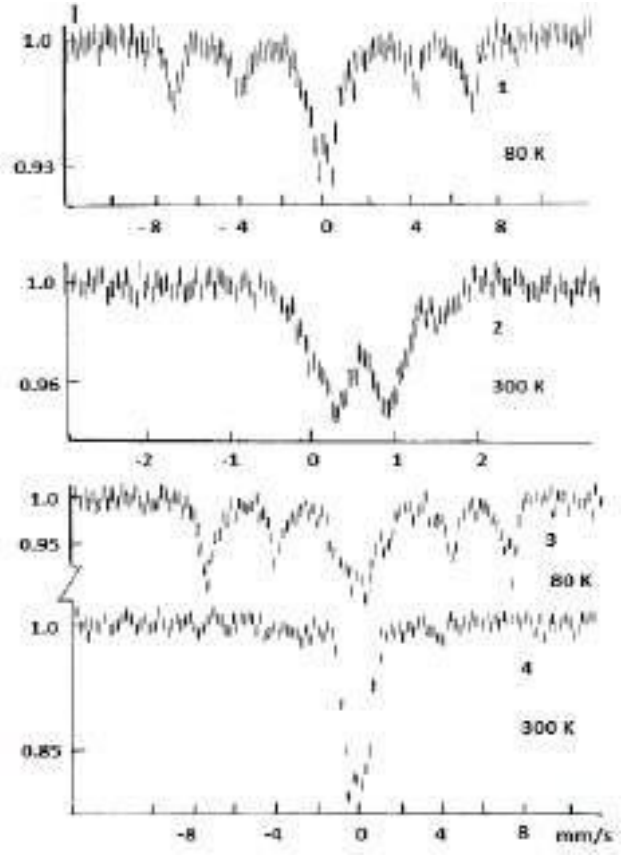


Figura 2. Spectrele Mössbauer a polimerului care conține fier (III) după 3 (pectrele 1 și 2), după 6 (spectrele 3 și 4) cicluri sorbția – fierberea în apă.

Parametrii spectrelor din Tabelul 1 corespund compusului β-FeOOH [10]. Particulele masive de β-FeOOH sunt paramagnetice la temperatura camerei și antiferomagnetice la T< 283 K [11]. Cu utilizarea spectroscopiei Mössbauer a fost demonstrat că sorbția cationilor Fe^{3+} are loc în rezultatul formării în faza polimerului a particulelor solide de compuși de tipul mineralului jarosit: $R_4N[Fe_3(OH)_6(SO_4)_3]$, unde R_4N^+ este grupa funcțională a polimerului. Formarea particulelor solide de Fe(III) în faza polimerului a fost demonstrată cu utizarea microscopie electronice de baliaj (Fig.3) [12]. Compozitul polimer-Fe-jarosit poate fi utilizat ca sorbent cu proprietăți seletive.

Pentru a înțelege procesele de sorbție cu utilizarea acestui compozit, trebuie să examinăm compoziția și structura jarositului. Jarositul este un polimer anorganic formar din 3 sai 6 octaedre în care grupele OH^- sunt situate în plan și formează punți între atomii de Fe. Grupele SO_4^{2-} sunt sunt plasate în poziția axială, fiecare coordinând cu 3 atomi de Fe a diferitor octaedre [13].

Tabelul 1. Parametrii spectrelor Mössbauer a polimerului AV-17 care conține Fe(III) după fierberea în apă.

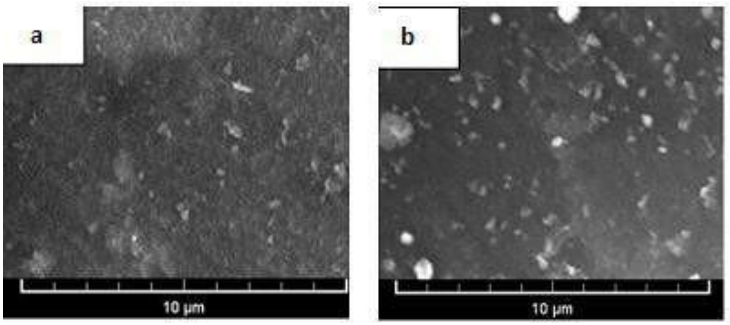
Cicluri	T, K	Forma spestrului	δ, mm/s	ΔE_Q, mm/s	Γ_l, mm/s	Γ_r, mm/s	Hef. , kOe	Conținut, mg Fe/g
1	300 80	Dublet Dublet	0,58 0,72	0,72 0,79	0,56 0,68	0,49 0,68	0 0	12,5
2	300 80	Dublet Dublet Sextet	0,65 0,80 0,80	0,62 0,94 0,16	0,52 0,84 -	0,62 0,84 -	0 0 462	20,07
3	300 80	Dublet Dublet Sextet	0,61 0,66 0,74	0,72 0,76 -0,23	0,57 0,61 -	0,42 0,61 -	0 0 470	25,8
4	300 80	Dublet Dublet Sextet	0,59 0,69 0,66	0,69 0,72 -0,18	0,55 0,77 -	0 ,55 0,77 -	0 0 456	45,6
5	300 80	Dublet Dublet Sextet	0,63 0,82 0,68	0,72 0,87 -0,14	0,43 0,77 -	0,51 0,77 -	0 0 454	57,8
6	300 80	Dublet Dublet Sextet	0,62 0,68 0,66	0,71 0,70 -0,18	0,51 0,70 -	0,48 0,77 -	0 0 450	65,2

Remarcă: δ –*deplasarea izomerică,* Γ_l*, - lărgimea liniei spectrale stânga,* Γ_r*, lărgimea liniei spectrale dreapta.*

Proprietățile sorbționale ale compozitului se datorează schimbului de liganzi cu anionii SO_4^{2-} ale jarositului. Astfel, compozitul polimer- Fe-jarosit reține selectiv din soluții ioni de CN^-, NCO^-, NCS^- [14].

Este important de menționat că jarositul se formează doar în mediul apos acid și doar în prezența anionilor de sulfat. În natură există doar mineralul Fe-jarosit. Descoperirea Fe-jarositului pe Marte a sugerat ideia că pe planetă a fost și încă poate exista apă [15].

Compuși de tipul mineralului jarosit pot să se formeze și în faza polimrilor care conțin grupe cu azot cuaterna, dar și atomi donori de electroni. A fost cercetată sorbția ionilor de Fe^{3+} din soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ pe copolimerul 4-vinilpiridin: divinilbenzen (4-VP-DVB) și pe copolimerul modificat cu acid acrilic și monocloracetic [16]. Cercetările cu utilizarea spectroscopiei Mössbauer au demonstra că ionii de Fe^{3+} formează în faza lor compuși de tipul mineralului jarosit (Fig. 4).



i

Figura 3. Imaginile SEM a particulelor de compuși ai fierului pe suprafața (a) și în volumul (b) granulelor de polimer de AV-17 după 6 ore de încălzire în apă.

Parametrii spectrelor (Hef.= 0 la 300 K și Hef. = 476 kOe la 80 K) corespund particulelor masive magnetic ordonate de β-FeOOH.

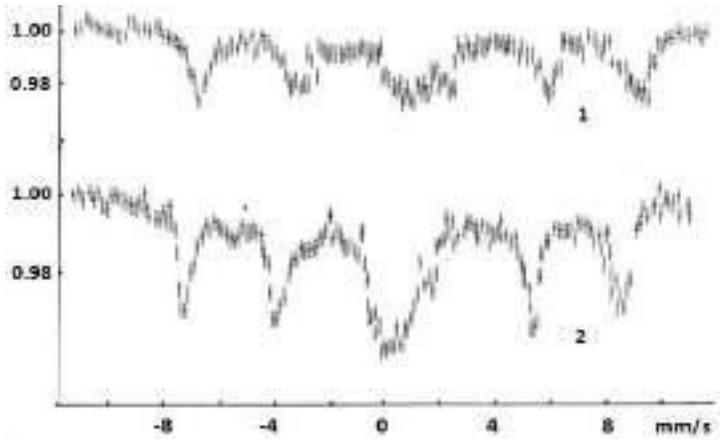


Figura 4. Spectrele Mössbaer obținute la 80 K a copolimerului 4-vinilpiridin: divinilbenzen modificat cu acid monocloraceti (1) și acid acrilic (2) care au reținut Fe^{3+} din soluția de $Fe_2(SO_4)_3$ după 3 cicluri sorbția-fierberea în apă.

Existența dubletului în centrul sextetului din Figura 4, aparține particulelor ultrafine de β-FeOOH în starea superparamagnetică, care sunt situate în porii copolimerului.

Se consideră că la formarea compușilor de jarosit participă doar ionii $[FeOH(H_2O)_5]^{2+}$ [12].

Compozite polimer-compuși de crom(III)

În faza polimerilor care conțin grupe puternic bazice pot să formeze compuși de tipul mineralului jarosit nu numai cationii de Fe^{3+}, dar și cationii cu sarcina electrică 3+ ai altor metale. A fost demonstrat că în aza polimerulu, compuși de tipul jarositului formează cationii Al^3, Lantanide(III) (La^{3+}, Ne^{3+}, Eu^{3+}, Er^{3+}) [12]. Un inters deosebit prezintă compozitul polimer-Cr-jarosit, fiindcă compușii cromului sunt mai stabili decâ ai altori metale. După cum se vede din Figura 5, formarea Cr-jarositului în faza polimerului, funcție de temperatură, trece prin maximum la 60 ºC. O influență puternică are pH-ul soluției de $Cr_2(SO_4)_3$ sau alaun. Formarea particulelor Cr-jarosit în faza polimerului este confirmată prin imajinile SEM (Fig.6).

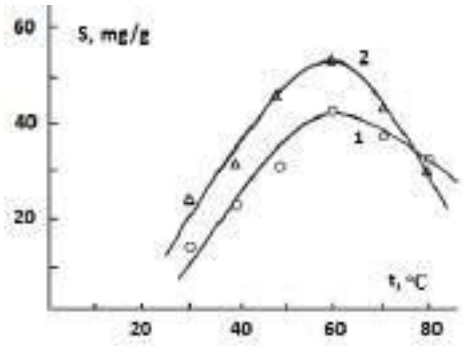


Figura 5. Sobția cationilor care conțin Cr(III) pe polimerii AV-17 (1) și Varion –AD (2) funcție de temperatură.

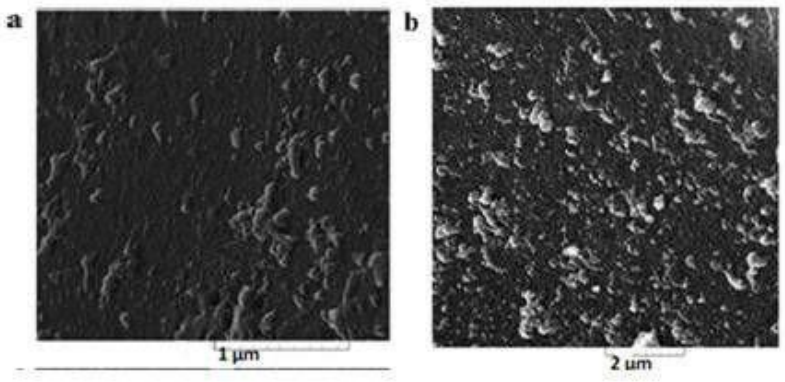


Figura 6. Imaginile SEM a Cr-jarozituli pe supprafața (a) și în volumul granulelor de polimer AV-17.

Compozitele polimer-jarosit posedă proprietăți de sorbție selectivă. Ele pot reține din soluție anioni tetraedrici, anioni sau molecule care conțin atomi donori de electroni. S-a demonstrat că compozitul polimer-Cr-jarosit reține din soluții anionii NO_2^-, CrO_4^{2-}, PO_4^{3-} [12]. Figura 7 demonstrează selectivitatea sorbției ionilor NO_2^- de către compozitul polimer-Cr-jarosit.

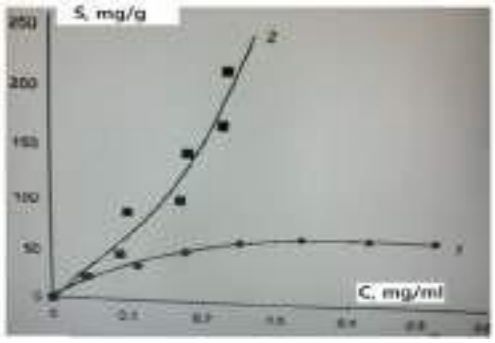


Figura 7. Izoterma sorbției ionilor NO_2^- pe polimerul Purolite A-400(Cl) (1) și compozitul Purolite A-400 – Cr-jarosit.

Deasemenea a fost cercetată sorbția moleculelor și anionilor car conțin atomi donori de electroni NH_3, NCS^- [12, 17]. În cazul în care compozitul reține din soluție un ligand polidentat, în faza lui se poate obține divrse construvții ion-moleculare. Spre exemplu, compozitul care a reținut ioni NCS^- sau NCO^- devine cationit:

$$R_4N[M_3(OH)_6(SO_4)_2] + 2XO_4^{2-} = R_4N[M_3(OH)_6(XO_4)_2] + 2SO_4^{2-} \quad (2)$$

$$R_4N[M_3(OH)_6(SO_4)_2] + 2XO_4^{3-} = R_4N[M_3(OH)_6(XO_4)_2]^{2-} + 2SO_4^{2-} \quad (3)$$

$$nR_4N[M_3(OH)_6(XO_4)_2]^{2-} + 2Ka^{n+} = \{R_4N[M_3(OH)_6(XO_4)_2]\}n(2Ka) \quad (4)$$

În cazul sorbției ionilor NCS^- sau NCO^- au loc reacțiile (5) și (6):

$$R_4N[M_3(OH)_6(SO_4)_2] + 6NCS^- = R_4N[M_3(OH)_6(NCS)_6]^{2-} + 2SO_4^{2-} \quad (5)$$

$$R_4N[M_3(OH)_6(SO_4)_2] + 6NCO^- = R_4N[M_3(OH)_6(NCO)_6]^{2-} + 2SO_4^{2-} \quad (6)$$

Anionii NCS^- și NCO^- sunt legați cu ctionul metallic al jarositulu monodentat. Prin urmare, un atom al acestor anioni pot reține selectiv din soluții cationi capabili să formeze legături coordinative. A fost demonstrat că compozitul care conține acești anioni pot reține selectiv din soluții cationii Ag^+ sau Cu^{2+} conform ecuațiilor (7) și (8):

$$\{R_4N[M_3(OH)_6(NCS)_6]\}2n(Ka) + 6nAgNO_3 = \{R_4N[M_3(OH)_6(NCS)_6Ag_6]\}n(NO_3)4n +$$

$+ (Ka)_2(NO_3)2n$ (7)

$\{R_4N[M_3(OH)_6(NCS)_6]\}2n(Ka) + 6nCuSO4 = \{R^4N[M_3(OH)_6(NCS)_6Cu_6]\}n(SO_4)5n + (Ka)_2(SO_4)n$ (8).

Datele obținute cu utilizarea spectroscopiei FT-IR confirmă existența legăturilor coordinative cationii metalici și ligandul polidentat reținut prealabol de compozitul polimer-metal-jarosit (Tab. 2).

Tabelul 2. Date spectroscopice FT-IR ale interacțiunii compozitelor cu diverși liganzi și cationi.

Compozitul	Ionul adăugat	ν(N≡C), cm-1	Legătura chimică
AV-17-Cr-jarosit	NCS^-	2040 2090	Cr-NCS Cr-SCN
Varion-AD-Cr-jarisit	NCS^-	2040	Cr-NCS
AV-17-Fe-jarosit	NCS^-	2040 2140	Fe-NCS Fe-NCS-Fe
Varion-AD-Fe-jarisit	NCS^-	2040	Fe-NCS
AV-17-Fe-jarosit	NCO^-	2160 2225	Fe-NCO Fe-NCO-Fe
Varion-AD-Fe-jarisit	NCO^-	2140 2190	FeN – NCO F e – NCO-Fe
Varion-AD-Cr-jarisit	NCS^-, Ag^+	2081 2146	Cr-NCS Cr-NCS-Ag
AV-17-Fe-jarosit	NCS^-, Ag^+	2098 2140	Fe-SCN Fe-NCS-A
AV-17-Fe-jarosit	NCS^-, Cu^{2+}	2040 2140	Fe-NCS Fe-NCS-Cu
Varion-AD-Fe-jarisit	NCS^-, Ag^+	2080 2140	Fe-SCN Fe-NCS-Ag

Compozitele polimer-metal-jarosit pot imobiliza molecule de substanțe biologic active. A fost cercetată sorbția tiosemicarbazona -5-NO_2-aldehidă salicilică (HL) pe compozitul AV-17-Cr-jarosit [18]. Compozitul nou format AV-17-Cr-jarosit-Hl a fost utilizat pentru sorbția cationilor Zn^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Fe^{2+} și Fe^{3+}. Astfel, au fost obținute noi compozite și anume: AV-17-Cr-HL-Zn, AV-17-Cr-HL-Cu, AV-17-Cr-HL-Ni, AV-17-Cr-HL-Co, AV-17-Cr-HL-Fe(II) și AV-17-Cr-HL-Fe(III). Unele din aceste compozite au fost testate la distrugerea microbilor *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* și a fungiei *Candida albicans.* Cel mai efficient a fost compozitul AV-17-Cr-HL-Zn. În 25 minute el a distrus 100% din *Staphylococcus aureus*. Compozitul a manifestat cea mai mica activitate în distrugerea fungiei *Candida albicans.* Trebuie menționat că avantajul utilizării soluțiilor compozite pentru distrugerea bacteriilor, comparativ cu soluțiile antimicrobiene, este că, în primul caz, procesul de distrugere a microbilor poate fi efectuat prin flux continuu, iar substanța activă nu rămâne în mediul curățat de microbi.

Referințe:

1. Гуцану, В. Л., Туртэ, К. И., Мунтеан, С. А., Гафийчук, В. А., Шафранский, В. Н. Влияние различных факторов на состояние ионов железа в катионите КБ-2. *Журнал Физической Химии*, 1990, 64, 479–487.
2. Гуцану, В. Л. Сорбция и состояние ионов железа в ионитах (Обзор). *Химия и Технология Воды*, 1990, 12, 1074–1097.
3. Гуцану, В. Л., Догару, Г. Н. Влияние анионов на комплексообразование меди (II) с анионитом ЭДЭ-10П. I. Оценка влияния анионов на сорбцию из слабокислых растворов. *Журнал Физической Химии*, 1980, 54, 2092–2094.

4. Сафин, Р. Ш., Гуцану, В. Л., Вишневская, Г. П. Влияние анионов на комплексообразование меди (II) с анионитом ЭДЭ-10П. Спектры ЭПР ионитных комплексов полученных в слабокислой среде. *Журнал Физической Химии*, 1987, 61, 2134–2138.
5. Gutsanu, V. L., Turta, C. I., Gafiichuk, V. A., Shofransky, V. N. Compounds of iron (III), which are formed during the sorption strongly basic anionite in the sulfate solution. *Zh. Fiz. Khim.*, 1988, 62, 2415–2422.
6. Morais, P. S., Skeff Neto, K. Spectroscopic characterization of superparamagnetic particles of thermolitic products of ferric sulfate hydrates. *Polyhedron*, 1983, 2, 875–880. DOI: 10.1016/S0277-5387(00)81402-3.
7. Hrynkiewicz, A. Z., Kubisz, I., Kulgawczuk, D. S. Quadrupole splitting of the 14.4 keV gamma line of 57Fe in iron sulfates of the jarosite group. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1965, 27, 2513–2517. DOI: 10.1016/0022-1902(65)80150-6.
8. Ohyabu, M., Ujihira, Y. A study of the precipitates formed by hydrolysis of Fe(III) nitrate solution containing Na+ and SO42-. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1981, 43, 1948–1949. DOI: 10.1016/0022-1902(81)80422-8.
9. Margulis, E. V., Savchenko, I. A., Shokarev, M. M., Beysekeeva, I. I., Vershinina, S. I. Thermolizes of hydroxosulphates (H3OFe3(OH)6(SO4)2 and FeOHSO4). *Zh. Neorg. Khim.*, 1973, 18, 1263–1269.
10. Takada, T., Kiyama, M., Bando, Y., et al. Mossbauer study of α-, β– and γ-FeOOH. *J. Phys. Soc. Jpn.*, 1964, 19, 1744–1746. DOI: 10.1143/JPSJ.19.1744.
11. Goncharov, G. N., Efimov, A. A., Kalyamin, A. V., Tomilov, S. V. Investigation of the mechanism of hydrolytic precipitation in the hydrolysis of Fe(III) in nitrate solutions. *Zh. Obshchei Khim.*, 1978, 48, 2398–2408.
12. Gutsanu, V., Basile. *Polymers, Metal Compounds and New Materials*. Cambridge Scholars Publishing, Cambridge, UK, 2020, 162 p. ISBN: 978-1-5275-4308-9.
13. Archipenko, V. V., Devyatkina, E. T., Palchik, N. A. *Crystallochemical Particularities of Synthetic Jarosites*. Nauka, Novosibirsk, 1978.
14. Gutsanu, V., Rosca, I. Process for selective removal of cyanide, thiocyanate, cyanate ions solutions. Patent MD 2746, *BOPI*, 2005, 4, 33.
15. Gutsanu, V. Chemical-Mineralogical System That Are Able to Generate Nitrogen Compounds on Earth and Even on Mars. *ACS Earth Space Chem.*, 2018, 2, 340–346. DOI: 10.1021/acsearthspacechem.8b00006.
16. Gutanu, V., Luca, C., Neagu, V., Sofranschi, V., Turta, C. Iron (III) states in 4-vinylpyridine: divinylbenzene copolymer modified by monochloracetic and acrylic acids. *React. Funct. Polym.*, 1999, 40, 123–128.
17. Gutsanu, V., Costis, V. Sorption of thiocyanate ions on Cr–polymer composite and obtaining a new sorbent. *Colloid J.*, 2026, 88(1), 1–10. DOI: 10.1134/S1061933X25601088.
18. Gutsanu, V., Lisa, G. Composites containing metal and thiosemicarbazone: Thermal, antimicrobial and antifungal properties. *Polyhedron*, 2020, 191, 114800. DOI: 10.1016/j.poly.2020.114800.

Date despre autori:



Vasile GUȚANU, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldovei
e-mail: gutsanu@gmail.com
ORCID: 0000-0002-0159-415X

CZU: 546.3-36:544.723.21:547-304.6 https://doi.org/10.59295/mabt2026.28

THE EFFECT OF S-ALKYLATION OF THE THIOSEMICARBAZONE FRAGMENT ON THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF SOME 3*d* METAL COMPLEXES

Irina KRAVCHUK

Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova

Abstract

This study examines how *S*-alkylation of thiosemicarbazones affects the antiradical activity of 3*d*-metal complexes. Comparative analysis of free salicylaldehyde 4-allyl-*S*-alkylisothiosemicarbazones and their coordination compounds revealed a dual effect: *S*-alkylation diminishes the activity of free ligands by blocking proton-donor capacity but markedly enhances it in metal complexes via efficient redox-pair formation. Nitrate complexes of Fe(III), Co(III), and Cr(III) exhibited the highest potency, with IC_{50} values (0.50 μM), surpassing Trolox by 66-fold. Structure–activity relationships indicated that compact *S*-substituents and outer-sphere nitrate anions boost activity, whereas bulky benzyl groups impose steric hindrance. Further optimization was achieved by introducing electron-donating methoxy groups or extending conjugation in the aldehyde fragment. These findings establish a rational design strategy for highly efficient isothiosemicarbazone-based antioxidants.

Keywords: coordination compounds; isothiosemicarbazone; 3*d* metal complexes; antiradical activity; antioxidant activity; S-alkylation; structure-activity relationship; $ABTS^{\cdot+}$ radical scavenging.

Rezumatul

Acest studiu examinează modul în care *S*-alchilarea tiosemicarbazonei afectează activitatea antiradicalică a complecșilor metalelor 3*d*. Analiza comparativă a 4-alil-*S*-alchilizotiosemicarbazonei aldehidei salicilice libere și a compușilor lor coordinativi a evidențiat un efect dual: *S*-alchilarea reduce activitatea liganzilor liberi prin blocarea capacității de donare a protonului, dar o sporește semnificativ în complecșii metalici prin formarea unor perechi redox eficiente. Complecșii nitrați ai Fe(III), Co(III) și Cr(III) au demonstrat cea mai mare potență, cu valori IC_{50} (0,50 μM), depășind activitatea Trolox de 66 de ori. Relațiile structură-activitate au indicat faptul că substituenții *S*- compacți și anionii nitrat din sfera exterioară stimulează activitatea, în timp ce grupările benzil voluminoase induc impedimente sterice. O optimizare suplimentară a fost obținută prin introducerea de grupări metoxi donatoare de electroni sau prin extinderea conjugării în fragmentul aldehidic. Aceste rezultate stabilesc o strategie de proiectare rațională pentru antioxidanți altamente eficienți bazați pe izotiosemicarbazone.

Cuvinte-cheie: compuși coordinativi; izotiosemicarbazone; complecși ai metalelor 3d; activitate antiradicalică; activitate antioxidantă; S-alchilare; relație structură-activitate; captarea radicalului $ABTS^{\cdot+}$.

Introduction

Thiosemicarbazones and their derivatives have held the status of one of the most promising classes of compounds in bioinorganic chemistry for several decades [1-9]. The high biological potential of these compounds, particularly their antioxidant and radical-scavenging properties, provides broad opportunities for the development of new therapeutic agents aimed at combating oxidative stress. To optimize pharmacological properties, researchers actively employ chemical modification of the ligand environment. In particular, alkylation of heteroatoms allows fine-tuning of molecular lipophilicity and alters the nature of interactions with transition metal ions [10-11].

A crucial factor in shaping antiradical activity is the state of the thione group and the system's ability to undergo tautomeric transformations. Converting a classical thiosemicarbazone into an isothiosemicarbazone by introducing an alkyl substituent on the sulfur atom significantly modifies the donor–acceptor characteristics of the ligand. However, the effect

of this structural modification on antioxidant potential is ambiguous: it can manifest in diametrically opposite ways for free organic molecules versus their coordination complexes.

The coordination chemistry of isothiosemicarbazones has been extensively documented in the literature, with numerous complexes of these ligands with transition metal ions having been synthesized and structurally characterized [12-19]. Nevertheless, a systematic study of how *S*-alkylation specifically affects antiradical activity in free ligands and their metal complexes remains limited. Most previous work has focused on synthesis and structural features, while the relationship between sulfur-center modification and radical-scavenging ability requires further analysis [20].

In this context, the present study provides a comparative analysis of the activity of parent thiosemicarbazones and their *S*-alkylated analogues, both in the free state and as coordination complexes with 3*d*-metal ions. Special attention is given to identifying synergistic effects arising from the combination of different metal centers (Fe, Co, Cr, Cu, Ni) with modified ligands, as well as to examining the influence of the outer-sphere environment and the nature of the aldehyde fragment on overall radical-inhibiting efficiency. The results offer a new perspective on the principles of designing highly active antioxidants.

This work presents a systematic study focused on the investigation of 3*d* metal complexes with 4-allyl-*S*-alkylisothiosemicarbazones of salicylaldehyde and its substituted derivatives (**Figure 1, Table 1**).

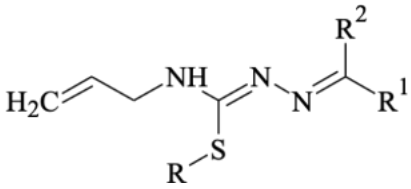
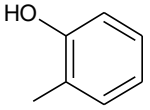
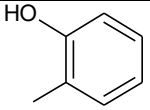
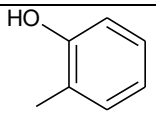
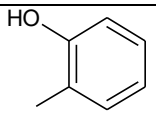
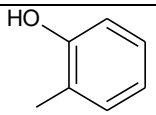
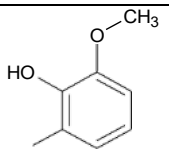
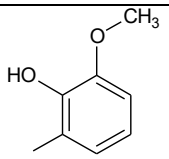
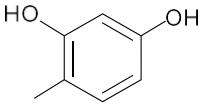
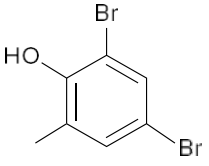
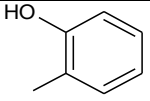
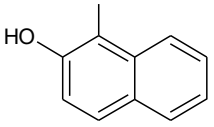
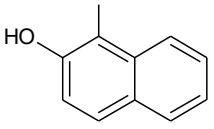


Figure 1. The structural formula of isothiosemicarbazones.

Table 1. Chemical structures and substituents of the studied 4-allyl-*S*-alkylisothiosemicarbazones (HL^3 – HL^{14})

Isothiosemicarbazones	R	R^1	R^2
HL^3	CH_3	H	
HL^4	C_2H_5	H	
HL^5	Allyl	H	
HL^6	Bn	H	

HL^7	4-NO_2Bn	H	
HL^8	CH_3	H	
HL^9	C_2H_5	H	
HL^{10}	CH_3	H	
HL^{11}	CH_3	H	
HL^{12}	CH_3	CH_3	
HL^{13}	CH_3	H	
HL^{14}	C_2H_5	H	

Materials and methods

Assessment of Antiradical Activity: $ABTS^{\bullet+}$ Assay

The ability of the studied organic precursors and coordination compounds (1–85) to scavenge free radicals was evaluated using the spectrophotometric $ABTS^{+\bullet}$ decolorization assay [21].

Preparation of the radical cation

The working solution was generated by mixing a 7 mM solution of ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) with a 140 mM solution of potassium persulfate. The reaction mixture was incubated in the dark at 25 °C for 12–16 h until complete oxidation

occurred. The resulting radical cation solution was diluted with 0.02 M acetate buffer (pH 6.5) to an optical density of 0.70 ± 0.01 at 734 nm.

Assay procedure

Test samples were pre-dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO). In a 96-well microplate, 20 μL of the sample solution was added to 180 μL of the $ABTS^{+\bullet}$ working solution. Trolox, prepared in the same way, was used as a reference standard. The mixture was automatically shaken for 15 s and then incubated at 25 °C for 30 min.

Data acquisition. Optical density was measured at 734 nm using a BioTek microplate reader. Control wells containing only buffer and DMSO were used to correct for background absorbance and solvent effects. Antiradical activity was expressed as the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}), calculated from calibration curves. All measurements were performed in triplicate to ensure reproducibility.

Results and discussions

Structural Transition from Thiosemicarbazones to *S*-Alkylisothiosemicarbazones: Impact on Antiradical Potential

Thiosemicarbazones and their derivatives remain one of the most promising classes of compounds in modern coordination chemistry. Their high biological activity, including antioxidant properties, makes them attractive candidates for the development of new therapeutic agents. In an effort to optimize the pharmacological profile of these substances, researchers often resort to chemical modification of the ligand environment. One of the key approaches is the alkylation of heteroatoms, which allows for fine-tuning of molecular lipophilicity and modulation of their interactions with both biological targets and transition metal ions.

The state of the thione group and the possibility of tautomeric transformations play a particularly important role in shaping antiradical properties. The conversion of a classical thiosemicarbazone into an isothiosemicarbazone via the introduction of an alkyl substituent at the sulfur atom significantly alters the donor–acceptor characteristics of the ligand. However, the effect of this structural modification on antioxidant potential is not straightforward: it may manifest differently in free organic molecules and in their coordination compounds. To elucidate these patterns, a comparative analysis of the activity of the parent thiosemicarbazones and their *S*-alkylated analogues, both in the free state and as part of complexes with 3*d* metals, is required.

A transition from classical thiosemicarbazones to their *S*-alkylated derivatives in the coordination chemistry of 3*d* metals reveals significant differences in biochemical properties. Among free ligands, the non-alkylated thiosemicarbazone $\mathbf{H_2L^2}$ exhibits high antiradical activity (IC_{50} = 9.00 μM). However, the introduction of a methyl group at the sulfur atom in compound $\mathbf{HL^3}$ leads to a decrease in activity to 31.0 μM, which is comparable to that of the reference compound Trolox (33.0 μM). From a chemical standpoint, this phenomenon is explained by the blocking of the thiol group: in classical thiosemicarbazones, the mobile proton of the sulfur atom or adjacent nitrogen acts as a donor, effectively neutralizing free radicals. Replacement of this hydrogen atom with an alkyl group eliminates the proton-transfer mechanism, shifting the reaction toward a less efficient electron-transfer pathway **(Table 2)**.

The situation changes fundamentally upon coordination of these ligands with metal ions. Within complexes, *S*-alkylation promotes a significant increase in antioxidant efficiency. While the iron complex with a classical thiosemicarbazone **(8)** exhibits an IC_{50} value of 2.41 μM, its isothiosemicarbazone analogue **(17)** shows substantially higher activity (IC_{50} = 0.60 μM). A similar trend is observed in the cobalt series: methylation of the ligand reduces the half-maximal inhibitory concentration from 8.73 μM **(6)** to 0.50 μM **(15)**.

The obtained data indicate that a more efficient redox system is formed in isothiosemicarbazone complexes. Whereas the free alkylated ligand shows only moderate

activity, its coordination with a 3*d* element leads to polarization of electron density, facilitating electron transfer to the $ABTS^{\cdot+}$ radical more effectively than in non-alkylated precursors. Copper complexes constitute an exception: here, *S*-alkylation—especially with bulky substituents (e.g., a benzyl group)—creates steric hindrance, as evidenced by the reduced activity in complexes 32–35 (IC_{50} > 100 μM). Thus, the transition to *S*-alkylated structures represents an effective modification strategy which, with an optimal choice of the central metal atom, can enhance the antioxidant response of the coordination system by an order of magnitude.

Of particular interest in the context of structural evolution is the comparison of modified systems with the parent "building block," *N4*-allylthiosemicarbazide **(HL^1)**. This unsubstituted reagent itself exhibits high antiradical activity (IC_{50} = 6.38 μM), surpassing even the parent thiosemicarbazone **H_2L^2**. Upon coordination with nickel(II) ions, a significant enhancement of properties is observed: complexes **1** (1.99 μM) and 2 (2.57 μM) demonstrate a threefold increase in efficiency compared to the free ligand. This confirms a general trend: the presence of an accessible thiol (or thione) fragment, combined with metal coordination, provides a strong foundation for radical scavenging.

However, whereas in the case of HL^1 and H_2L^2 the activity is primarily governed by mobile protons of the sulfur-containing fragment, in the studied *S*-alkylated systems this mechanism is completely replaced by metal–ligand synergy. The fact that *S*-methylated iron and cobalt complexes **(15–17)** ultimately outperform even the nickel complexes of the unsubstituted thiosemicarbazide highlights that the transition to isothiosemicarbazones represents a more advanced antioxidant design strategy, enabling the achievement of submicromolar activity levels.

In summary, *S*-alkylation of thiosemicarbazone ligands exerts a dual effect on their antioxidant potential depending on the state of the system. For free organic molecules, this modification leads to decreased activity due to the loss of the proton-transfer mechanism, whereas in coordination compounds it promotes the formation of more efficient redox pairs through synergy with the central metal ion.

Table 2. $ABTS^{\bullet+}$ scavenging activity of the studied substances

Compound	Name / Coordination formula	IC_{50}, μM
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid	33.0
HL^1	N^4-allylthiosemicarbazide	6.38
1	$[Ni(HL^1)_3](NO_3)_2 \cdot 2H_2O$	1.99
2	$[Ni(HL^1)_3]Cl_2 \cdot 2H_2O$	2.57
H_2L^2	2-hydroxybenzaldehyde N^4-allylthiosemicarbazone	9.00
3	$[Cu_2(H_2O)_2(HL^2)_2](NO_3)_2$	39.7
4	$[Cu(HL^2)Cl] \cdot H_2O$	51.8
5	$[Cu(HL^2)Br]$	52.7
6	$[Co(HL^2)_2]NO_3$	8.73
7	$[Co(HL^2)_2]Cl \cdot 2H_2O$	21.4
8	$[Fe(HL^2)_2]NO_3 \cdot 2H_2O$	2.41
HL^3	2-hydroxybenzaldehyde N^4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone	31.0
9	$[Cu(H_2O)_2(L^3)]Cl$	43.0
10	$[Cu(H_2O)_2(L^3)]Br$	18.1
11	$[Cu(L^3)CH_3COO]$	17.5
12	$[Co(L^3)_2]Cl$	23.2
13	$[Co(L^3)_2]Br$	24.4
14	$[Co(L^3)_2]I$	21.7
15	$[Co(L^3)_2]NO_3$	0.50

16	$[Fe(L^3)_2]Cl$	0.70
17	$[Fe(L^3)_2]NO_3$	0.60
18	$[Cr(L^3)_2]NO_3$	0.50
HL^4	2-hydroxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-ethylisothiosemicarbazone hydroiodide	13.7
19	$[Cu(L^4)Cl]$	13.7
20	$[Cu(L^4)Br]$	38.6
21	$[Cu(H_2O)(L^4)NO_3]$	27.9
22	$[Ni(HL^4)(L^4)]I\cdot CH_3OH$	6.20
23	$[Ni(HL^4)(L^4)]ClO_4$	8.02
24	$[Co(L^4)_2]I$	30.1
25	$[Co(L^4)_2]NO_3$	19.3
26	$[Fe(L^4)_2]NO_3$	12.5
HL^5	2-hydroxybenzaldehyde *N*4,*S*-diallylisothiosemicarbazone	26.8
$HL^5\cdot HI$	2-hydroxybenzaldehyde *N*4,*S*-diallylisothiosemicarbazone hydroiodide	17.8
27	$[Cu(L^5)Cl]$	12.5
28	$[Cu(L^5)NO_3]$	10.3
29	$[Ni(L^5)(CH_3COO)]$	7.20
30	$[Co(L^5)_2]Cl$	9.37
31	$[Fe(L^5)_2]NO_3$	7.33
HL^6	2-hydroxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-benzylisothiosemicarbazone	34.0
32	$[Cu(L^6)Cl]$	>100
33	$[Cu(L^6)Br]$	>100
34	$[Cu(L^6)NO_3]$	>100
35	$[Cu(L^6)CH_3COO]$	>100
36	$[Ni(L^6)_2]$	>100
37	$[Co(L^6)_2]Br$	>100
38	$[Co(L^6)_2]Cl$	>100
39	$[Fe(L^6)_2]Cl$	22.3
40	$[Fe(L^6)_2]Br$	40.4
HL^7	2-hydroxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-(4-nitrobenzyl)isothiosemicarbazone	31.0
41	$[Cu(L^7)Cl]$	> 100
42	$[Ni(HL^7)(L^7)]Br\cdot H_2O$	48.8
43	$[Co(L^7)_2]NO_3$	>100
44	$[Fe(L^7)_2]Br$	> 100
HL^8	2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone	8.68
$HL^8\cdot HI$	2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone hydroiodide	7.72
45	$[Cu(H_2O)(L^8)Cl]$	20.7
46	$[Cu(H_2O)_2(L^8)]NO_3$	38.8
47	$[Ni(L^8)_2]$	15.4
48	$[Co(L^8)_2]Cl$	23.1
49	$[Co(L^8)_2]I$	19.1
50	$[Co(L^8)_2]NO_3$	20.0
51	$[Fe(L^8)_2]NO_3$	9.62
HL^9	2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-ethylisothiosemicarbazone	6.88
$HL^9\cdot HI$	2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde *N*4-allyl-*S*-ethylisothiosemicarbazone hydroiodide	8.63
52	$[Ni(L^9)_2]$	12.0
53	$[Co(L^9)_2]Br$	17.9
54	$[Co(L^9)_2]I$	19.0
55	$[Co(L^9)_2]CH_3COO$	23.2
56	$[Co(L^9)_2]NO_3$	21.7

57	$[Fe(L^9)_2]NO_3$	4.01
HL^{10}	2,4-dihydroxybenzaldehyde N^4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone	13.1
58	$[Cu(L^{10})Br]$	26.2
59	$[Co(L^{10})_2]I$	10.3
60	$[Fe(L^{10})_2]NO_3$	7.52
HL^{11}	3,5-dibromo-2-hydroxybenzaldehyde N^4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone	30.1
61	$[Cu(L^{11})Cl]$	>100
62	$[Cu(L^{11})Br]$	>100
63	$[Cu(L^{11})CH_3COO]$	>100
64	$[Ni(L^{11})I]$	13.5
65	$[Co(L^{11})_2]I$	>100
66	$[Co(L^{11})_2]NO_3$	80.6
67	$[Fe(L^{11})_2]NO_3$	97.9
$HL^{12}\cdot HI$	1-(2-hydroxyphenyl)ethan-1-one N^4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone hydroiodide	8.72
68	$[Cu(L^{12})Cl]$	13.1
69	$[Cu(L^{12})NO_3]$	12.2
70	$[Cu(L^{12})ClO_4]$	16.3
71	$[Cu(L^{12})CH_3COO]$	19.8
72	$[Co(L^{12})_2]NO_3$	14.5
73	$[Co(L^{12})_2]Br$	7.48
74	$[Co(L^{12})_2]I$	15.3
75	$[Fe(L^{12})_2]NO_3$	2.12
76	$[Ni(L^{12})_2]$	5.98
$HL^{13}\cdot HI$	2-hydroxynaphthalene-1-carbaldehyde N^4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone hydroiodide	15.2
77	$[Cu(H_2O)(L^{13})Cl]$	19.2
78	$[Cu(H_2O)_2(L^{13})]NO_3$	16.8
79	$[Cu(H_2O)_2(L^{13})]ClO_4$	11.9
80	$[Ni(HL^{13})(L^{13})]ClO_4$	5.22
81	$[Co(L^{13})_2]NO_3$	16.5
82	$[Co(L^{13})_2]I$	36.6
83	$[Fe(L^{13})_2]NO_3$	11.8
84	$[Cr(L^{13})_2]NO_3$	1.42
$HL^{14}\cdot HI$	2-hydroxynaphthalene-1-carbaldehyde N^4-allyl-*S*-ethylisothiosemicarbazone hydroiodide	6.24
85	$[Co(L^{14})_2]I$	16.0

**Average results of three experiments, SEM < ±4%.*

Effect of the nature of the *S*-substituent on antioxidant efficiency: correlation between substituent bulk and activity

This section examines the effect of the stepwise structural expansion of the substituent at the sulfur atom—from a compact methyl group to bulky aromatic systems—on the ability of molecules to neutralize free radicals. A detailed structure–activity relationship analysis across the studied compounds demonstrates that variation of the *S*-substituent serves as an effective tool for tuning antiradical potential, with electronic and steric factors playing a key role.

At the initial stages of elongating the aliphatic chain at the sulfur atom, a positive trend in activity is observed. For free ligands based on salicylaldehyde, the transition from the *S*-methyl derivative **HL^3** (IC_{50} = 31.0 μM) to the S-ethyl analogue HL^4 is accompanied by a substantial increase in activity, with the IC_{50} value decreasing to 13.7 μM. Presumably, the ethyl group

provides an optimal balance between lipophilicity and electron density at the sulfur atom, while not introducing steric hindrance to interaction with the radical. However, further modification by introducing a double bond in the allyl substituent (**HL**^{5}, 26.8 μM) leads to a slight decrease in efficiency.

The most pronounced changes are observed upon transition to aromatic and bulky substituents. The introduction of a benzyl group (**HL**^{6}, 34.0 μM) or a group bearing an electron-withdrawing nitro substituent (**HL**^{7}, 31.0 μM) maintains the activity of free ligands at the level of the reference compound Trolox (33.0 μM). In coordination compounds, however, this factor becomes critical. Nearly all studied copper, nickel, and cobalt complexes containing *S*-benzyl and nitrobenzyl fragments (**32–38, 41, 43**) completely lose their ability to inhibit the $ABTS^{\cdot+}$ radical, exhibiting IC_{50} values > 100 μM.

This phenomenon can be explained by the shielding effect at the coordination site. Bulky aromatic rings at the sulfur atom create a steric barrier that physically hinders the approach of the relatively large $ABTS^{\cdot+}$ radical to the active redox center of the molecule. Notably, iron complexes stand out in this context: even in the presence of an "unfavorable" benzyl substituent, complex **39** retains activity at the level of 22.3 μM, significantly outperforming analogous compounds of other metals. This suggests that iron complexes are capable of electron transfer over longer distances or via alternative active sites that are less sensitive to the steric environment around the sulfur atom.

Particular attention should be paid to compounds that exhibit exceptionally high activity. When a compact S-methyl or S-ethyl fragment is retained in combination with specific anions (e.g., nitrate ions in complexes **15**, **16**, **17**), activity increases to values (0.5–0.7 μM). Thus, the nature of the *S*-substituent defines the "geometric tolerance" of the reaction: while methyl and ethyl groups enable exceptionally high activity through coordination enhancement, benzyl substituents effectively block this potential, transforming efficient redox systems into sterically shielded, passive structures.

Metal-centric effect: the impact of the central 3*d*-ion on the radical scavenging performance of isothiosemicarbazone complexes

The relationship between the nature of the central ion and the ability of a coordination compound to inhibit free radicals represents a key aspect of this study. Analysis of the experimental data reveals a consistent trend: while free ligands often exhibit only moderate activity, their complexation with certain 3*d* metals leads to a synergistic effect that significantly enhances antioxidant potential. The highest efficiency in this series is demonstrated by iron(III), chromium(III), and cobalt(III) compounds, whose IC_{50} values are tens of times lower than that of the reference drug Trolox (33.0 μM).

Particular attention should be given to cobalt complexes, which display the broadest range of activity. The highest performance in the series was observed for complex **15** ($[Co(L^{3})_2]NO_3$), with an IC_{50} value of 0.50 μM, making it 66 times more effective than the standard. Such high reactivity is attributed to the ability of cobalt within the isothiosemicarbazone framework to undergo rapid and reversible redox transitions, effectively mediating electron transfer to the $ABTS^{\cdot+}$ radical. At the same time, cobalt complexes are highly sensitive to structural modifications: upon increasing ligand complexity or altering the geometry of the coordination environment (as in cases **65** and **66**), activity may sharply decrease to values exceeding 80 μM. This indicates the critical importance of steric accessibility of the metal center and the influence of the outer-sphere anion for this metal.

In contrast, iron(III) and chromium(III) complexes exhibit consistently high activity across all studied series. For iron(III) compounds, IC_{50} values remain stably within the submicromolar range, as seen in compounds **16** (0.70 μM) and **17** (0.60 μM). Even with the transition to more complex acetophenone derivatives **75** (2.12 μM) or naphthaldehyde-based systems, iron retains

high antioxidant efficiency. Chromium(III) shows similar behavior, with complex **18** (0.50 μM) sharing a leading position in activity. The high efficiency of these metals is attributed to their ability to form stable octahedral structures, in which the presence of unpaired electrons in d orbitals creates favorable conditions for interaction with radical cations.

Against this background, the activity of copper(II) and nickel(II) complexes appears less pronounced. Although coordination of copper with *S*-methyl isothiosemicarbazone (e.g., **11**, 17.5 μM or **21**, 15.5 μM) improves upon the performance of the free ligand, it does not reach the levels characteristic of iron or chromium analogues. When bulky substituents are introduced into the ligand, copper complexes (**32–35**) almost completely lose activity (IC_{50} > 100 μM). Thus, the selection of a redox-active central atom with an appropriate electronic configuration—such as Fe, Cr, or Co—is a decisive factor in transforming an organic molecule into a highly efficient antioxidant agent.

In summary of the analysis of the central ion effect, it should be emphasized that the metal largely determines the antioxidant potential of a coordination compound. While copper and nickel complexes only slightly outperform the free ligands, iron, chromium, and cobalt compounds exhibit a fundamentally higher level of efficiency. This leads to an important conclusion: the rational selection of a metal with appropriate redox characteristics serves as a powerful tool for enhancing biological activity.

The role of the outer-sphere anion: how the nature of the acid residue influences antioxidant efficiency

In traditional studies of coordination chemistry, primary attention is typically focused on the central metal atom and its immediate ligand environment. Outer-sphere anions have long been regarded mainly as auxiliary components required for charge compensation. However, the experimental data obtained indicate that the nature of the anion can act as a significant factor modulating biological activity and can substantially enhance the efficiency of a compound.

The influence of the anionic environment is most clearly manifested when comparing halide complexes with their nitrate analogues. In the series of cobalt compounds based on *S*-methylisothiosemicarbazone **(HL^3)**, complexes containing chloride **(12)** and bromide **(13)** anions exhibit moderate activity, with IC_{50} values in the range of 23.0–24.1 μM, only slightly exceeding those of the free ligand. In contrast, substitution of the halide with a nitrate group (complex **15**) leads to a dramatic change in properties: the IC_{50} value decreases to 0.50 μM. Thus, modification of the outer sphere alone enhances the antiradical activity of the complex by nearly 50-fold.

Such a pronounced effect of the nitrate anion (NO_3^-) has a well-founded chemical explanation. First, nitrates improve the solubility of the complexes in the alcoholic medium used for $ABTS^{\cdot+}$ radical assays, thereby increasing the availability of the molecules for reaction. Second, the nitrate anion is capable of forming a hydrogen-bonding network with the amine groups of the isothiosemicarbazone, creating favorable conditions for electron transfer from the complex to the radical and facilitating its neutralization.

Other types of anions, such as acetates and perchlorates, also exert specific effects. For example, in copper complexes **(71)**, the presence of an acetate group leads to a slight decrease in activity (19.8 μM) compared to the chloride analogue (13.1 μM). This may be attributed to stronger coordination of the acetate, which partially shields the active center. In contrast, weakly coordinating and bulky anions such as nitrate or perchlorate leave the coordination site more accessible and labile.

In summary, the outer sphere of a complex is not an inert component. Rather, it functions as a fine regulator of reactivity: the anion can either restrict access to the active center (as in the case of halides or acetates) or promote the realization of the metal's redox potential (as observed for nitrates). This opens additional opportunities for antioxidant design: by varying the anionic

environment, it is possible to significantly enhance the activity of a compound without altering its core organic structure.

Modification of the aldehyde moiety: the impact of aromatic substitution and ring expansion on antiradical potency

The final stage in the structural optimization of antioxidant properties involved modification of the aldehyde fragment of the isothiosemicarbazone scaffold. In contrast to the previous sections, which focused on the coordination core (metal, anion, *S*-substituent), this part addresses the influence of the organic "peripheral" environment. Experimental data indicate that variation of substituents in the benzene ring or expansion of the aromatic system to a naphthalene fragment can significantly enhance the intrinsic activity of the ligands, which is subsequently reflected in the properties of their coordination compounds.

The most pronounced positive effect is achieved through the introduction of electron-donating methoxy groups (–OCH_3). Free ligands HL^8 and HL^9 bearing these substituents exhibit high intrinsic activity, with IC_{50} values of 8.68 μM and 6.88 μM, respectively, which is nearly five times more effective than the standard Trolox. Such high performance is attributed to the ability of methoxy groups to increase electron density within the aromatic system, thereby stabilizing the radical intermediate formed during the reaction. Notably, complexes based on these ligands not only retain but further enhance this potential: the nickel compound 50 (7.12 μM) and copper analogues 48 (13.1 μM) demonstrate consistently high performance, characterizing methoxy-substituted systems as robust antioxidant platforms.

Another effective modification strategy involves increasing the conjugation area by transitioning from salicylaldehyde derivatives to a naphthalene ring system (ligands **HL^{13}**, **HL^{14}**). Expansion of the aromatic framework promotes more efficient delocalization of the unpaired electron, directly enhancing the molecule's ability to neutralize radicals. Ligands of this type, such as HL^{13} (IC_{50} = 8.72 μM), already exhibit strong antioxidant properties on their own. Upon coordination with metals, particularly copper (complexes **68**, **69**), the activity remains at a high level (12.2–13.1 μM), surpassing that of analogous benzene-based derivatives.

Special attention should be given to the iron(III) complex based on the naphthalene derivative **(83)**. Despite a slight decrease in activity compared to methyl analogues (11.8 μM), it remains nearly three times more effective than the reference compound. Thus, modification of the aldehyde fragment—whether through the introduction of methoxy groups or annelation of additional rings—serves as a fundamental basis for activity. Optimization of the molecular framework via appropriate substituents establishes a "baseline" that can be further enhanced through rational selection of the metal or anion. This confirms that the development of highly efficient antioxidants requires a balance between ligand-centered organic design and the physicochemical properties of the coordination center.

Conclusions

Summarizing the results of this study, comprehensive conclusions can be drawn regarding the impact of fine chemical tuning on the ability of molecules to neutralize $ABTS^{\cdot+}$ radicals. The analysis showed that transitioning from classical thiosemicarbazones to their *S*-alkylated analogues (isothiosemicarbazones) fundamentally alters the mechanism of antioxidant action. For free organic molecules, such modification leads to decreased activity due to blockage of the thiol group and loss of proton-donating ability. In contrast, within coordination compounds, *S*-alkylation acts as a factor enhancing efficiency, promoting the formation of more effective redox systems driven by metal–ligand synergy.

A central role in this process is played by the metal ion, which governs the so-called "metallocentric effect." The most effective compounds were iron(III), chromium(III), and cobalt(III) complexes, whose IC_{50} values were tens of times lower than that of the reference

compound Trolox (33.0 μM). For example, cobalt complex **15** ($[Co(L^3)_2]NO_3$) and chromium complex **18** ($[Cr(L^3)_2]NO_3$) exhibited remarkable activity at 0.50 μM. Iron also showed consistently high performance, particularly in complexes **17** (0.60 μM) and **16** (0.70 μM). The high efficiency of these metals is attributed to their ability to form stable octahedral structures that facilitate electron transfer to the radical. In contrast, copper and nickel complexes were significantly less active, often losing efficiency when the ligand structure became more complex.

Equally important is the nature of the outer-sphere anion, which can act as a regulator of reactivity. The study revealed a striking contrast: substitution of chloride or bromide with a nitrate anion in cobalt complexes enhances antiradical activity nearly 50-fold. This effect arises because nitrates not only improve the solubility of the compounds but also form a hydrogen-bonding network that facilitates radical interaction. Conversely, acetates and halides can partially shield the active center, limiting the metal's potential.

The geometry and electronic structure of the ligand itself also contribute significantly. It was found that compact *S*-substituents, such as methyl or ethyl groups, provide optimal conditions for interaction with the radical. In contrast, bulky benzyl fragments create a steric barrier, transforming active complexes into inert structures (IC_{50}>100 μM). Meanwhile, modification of the aldehyde fragment—particularly the introduction of electron-donating methoxy groups (as in **HL^8** and **HL^9**) or the use of a naphthalene ring—establishes a strong electronic foundation. Free ligands **HL^9** (6.88 μM) and **HL^8** (8.68 μM) are effective antioxidants on their own, and their complexes (e.g., chromium complex **84** with IC_{50} = 1.42 μM) underscore the importance of rational organic scaffold design.

Thus, the most active compounds in the studied series are the *S*-methylated nitrate complexes of cobalt, chromium, and iron. Achieving maximal effect requires a precise balance between a redox-active metal, accessible steric environment, and a properly selected anion.

Acknowledgment

I would like to express my sincere gratitude to Academician Gulea Aurelian, PhD Graur Vasilii, and PhD Garbuz Olga for their fundamental contribution and constant support throughout this research.

References:

1. Gulea, A., Graur, V., Ulchina, I., Bourosh, P., Smaglii, V., Garbuz, O., Tsapkov, V. Synthesis, Structure, and Biological Activity of Mixed-Ligand Amine-Containing Copper(II) Coordination Compounds with 2-(2-Hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazinecarbothioamide. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2021, 91, 98–107. DOI: 10.1134/S1070363221010143.
2. Paterson, B. M., Donnelly, P. S. Copper complexes of bis(thiosemicarbazones): From chemotherapeutics to diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40, 3005–3018. DOI: 10.1039/C0CS00134A.
3. Pahontu, E., Fala, V., Gulea, A., et al. Synthesis and Characterization of Some New Cu(II), Ni(II) and Zn(II) Complexes with Salicylidene Thiosemicarbazones: Antibacterial, Antifungal and in Vitro Antileukemia Activity. *Molecules*, 2013, 18, 8812–8836. DOI: 10.3390/molecules18088812.
4. Shakya, B., Yadav, P. N. Thiosemicarbazones as potent anticancer agents and their modes of action. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2020, 20, 638–661. DOI: 10.2174/1389557519666191024152934.
5. Guo, Z.-L., Richardson, D. R., Kalinowski, D. S., Kovacevic, Z., Tan-Un, K. C., Chan, G. C.-F. The novel thiosemicarbazone, di-2-pyridylketone 4-cyclohexyl-4-methyl-3-thiosemicarbazone (DpC), inhibits neuroblastoma growth in vitro and in vivo via multiple mechanisms. *J. Hematol. Oncol.*, 2016, 9, 98. DOI: 10.1186/s13045-016-0329-3.
6. Graur, V., Graur, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Garbuz, O., Tsapkov, V., Gulea, A. Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation of Some 3d Metal Complexes with 2-Benzoylpyridine 4-Allylthiosemicarbazone. *Inorganics*, 2025, 13, 249. DOI: 10.3390/inorganics13070249.

7. Graur, I., Graur, V., Cadin, M., Garbuz, O., Bourosh, P., Melnic, E., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Tsapkov, V., Gulea, A. 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*, 2024, 29, 3903. DOI: 10.3390/molecules29163903.
8. Graur, I., Graur, V., Garbuz, O., Usataia, I., Tsapkov, V., Roy, J., Poirier, D., Gulea, A. Evaluation of Anticancer Activity of Pyruvamide 4-Allylthiosemicarbazones and Their Copper(II) Complexes Against the Leukemia THP-1 Cell Line. In: *Proceedings of the 1st International Electronic Conference on Medicinal Chemistry and Pharmaceutics*, Basel, Switzerland: MDPI, 2025. DOI: 10.3390/sciforum.net/paper/view/25649.
9. Graur, V., Graur, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Garbuz, O., Tsapkov, V., Gulea, A. Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation of Some 3d Metal Complexes with 2-Benzoylpyridine 4-Allylthiosemicarbazone. *Inorganics*, 2025, 13, 249. DOI: 10.3390/inorganics13070249.
10. Arion, V. B., Rapta, P., Telser, J., Shova, S. S., Breza, M., Lušpai, K., Kozisek, J. Syntheses, electronic structures, and EPR/UV-Vis-NIR spectroelectrochemistry of nickel(II), copper(II), and zinc(II) complexes with a Tetradentate ligand based on S-methylisothiosemicarbazide. *Inorg. Chem.*, 2011, 50, 2918–2931. DOI: 10.1021/ic102142m.
11. Fasihizad, A., Akbari, A., Ahmadi, M., Dusek, M., Henriques, M. S., Pojarova, M. Copper(II) and molybdenum(VI) complexes of a tridentate ONN donor isothiosemicarbazone: Synthesis, characterization, X-ray, TGA and DFT. *Polyhedron*, 2016, 115, 297–305. DOI: 10.1016/j.poly.2016.04.028.
12. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32, e4544. DOI: 10.1002/aoc.4544.
13. Usataia, I., Graur, V., Zariciuc, E., Garbuz, O., Gulea, A. Synthesis and biological activity of copper(II), nickel(II) and cobalt(III) coordination compounds with 2-benzoylpyridine N(4)-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. *J. Acad. Sci. Mold. Life Sci.*, 2018, 335(2), 103–112.
14. Balan, G., Burduniuc, O., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A., Pahontu, E. Novel 2-formylpyridine 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2020, 34, e5423. DOI: 10.1002/aoc.5423.
15. Gulea, A. P., Usataia, I. S., Graur, V. O., Chumakov, Y. M., Petrenko, P. A., Balan, G. G., Burduniuc, O. S., Tsapkov, V. I., Rudic, V. F. Synthesis, Structure and Biological Activity of Coordination Compounds of Copper, Nickel, Cobalt, and Iron with Ethyl N'-(2-Hydroxybenzylidene)-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2020, 90, 630–639. DOI: 10.1134/S1070363220040138.
16. Graur, V., Usataia, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Garbuz, O., Hureau, C., Gulea, A. Synthesis, characterization, and biological activity of novel 3d metal coordination compounds with 2-acetylpyridine N4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. *Appl. Organomet. Chem.*, 2021, 35, e6172. DOI: 10.1002/aoc.6172.
17. Graur, V., Mardari, A., Bourosh, P., Kravtsov, V., Usataia, I., Ulchina, I., Garbuz, O., Gulea, A. Novel Antioxidants Based on Selected 3d Metal Coordination Compounds with 2-Hydroxybenzaldehyde 4,S-Diallylisothiosemicarbazone. *Acta Chim. Slov.*, 2023, 70, 122–130. DOI: 10.17344/acsi.2022.7885.
18. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32, e4544. DOI: 10.1002/aoc.4544.
19. Usataia, I. Synthesis, characterization and biological activity of copper(II), nickel(II), cobalt(III) and iron(III) coordination compounds with 1-(2-hydroxyphenyl)ethanone N(4)-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. *Stud. Univ. Mold. Ser. Științe Reale ale Nat.*, 2018, 111(1), 144–150.

20. Usataia, I. Inhibitori polifuncționali în baza compușilor coordinativi ai unor metale 3d cu salicilidenși picoliden-4-alil-S-alchilizotiosemicarbazide substituite (Doctoral Thesis). Chișinău, 2023, 32 p.
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, 1231–1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

Authors:



Irina KRAVCHUK, Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, 60 Mateevici Street, MD-2009 Chisinau, Moldova
e-mail: irynakravchuk67@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6749-0687

CZU: 547.792.1:632.4 https://doi.org/10.59295/mabt2026.29

DERIVAȚI VINIL-TRIAZOLICI CU PROPRIETĂȚI ANTIFUNGICE CĂTRE *NIGROSPORA MAYDIS*

Lucian LUPAȘCU[1], Eugenia STÎNGACI[1], Marina CEABANOVA (ZVEAGHINȚEVA)[1], Natalia SUCMAN[1], Fliur MACAEV[1], Galina LUPAȘCU[2], Nicolae CRISTEA[2]

[1]*Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova*
[2]*Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor; Universitatea de Stat din Moldova*

Rezumat

Importanța cercetărilor constă în aceea că pe fundalul condițiilor ambientale extremale, crește diversitatea tulpinilor fungice fitopatogene sub diferite aspecte – morfologie, virulență, rezistență la diferiți factori, inclusiv la acțiunea preparatelor chimice, astfel solicitându-se tot mai mult elaborarea unor preparate eficiente contra agenților fitopatogeni. Scopul cercetărilor a constat în stabilirea în condiții in vitro a efectului antifungic al noilor derivați vinil-triazolici (DVT) către unul din cei mai răspândiți fungi – Nigrospora maydis. Obiectivele au constat în stabilirea particularităților de eficiență a preparatelor menționate funcție de structură și concentrație. S-a stabilit că EPS-165, MF-EPS-297, MF-EPS-860 manifestă activitate antifungică pronunțată în diapazonul de concentrații 0,0025 ... 0,02%, astfel existând oportunități de utilizare a acestora în măsurile de protecție a plantelor împotriva fungului Nigrospora maydis.

Cuvinte-cheie: *Nigrospora maydis*, creștere, concentrație, derivați vinil-triazolici, inhibiție, putregai

VINYL-TRIAZOLE DERIVATIVES WITH ANTIFUNGAL PROPERTIES AGAINST THE *NIGROSPORA MAYDIS*

Abstract

The importance of the research lies in the fact that against the background of extreme environmental conditions, the diversity of phytopathogenic fungal strains increases in various aspects - morphology, virulence, resistance to various factors, including the action of chemical preparations, thus increasingly demanding the development of effective preparations against phytopathogenic agents. The purpose of the research was to establish in vitro conditions the antifungal effect of new vinyl-triazole derivatives (DVT) against one of the most widespread fungi - *Nigrospora maydis.* The objectives were to establish the specifics of the effectiveness of the mentioned preparations depending on the structure and concentration. It was established that EPS-165, MF-EPS-297, MF-EPS-860 exhibit pronounced antifungal activity in the concentration range of 0.0025 ... 0.02%, thus there are opportunities for their use in plant protection measures against the fungus *Nigrospora maydis.*

Keywords: *Nigrospora maydis*, growth, concentration, vinyl-triazole derivatives, inhibition, rot.

Introducere

Genul de fungi Nigrospora reprezintă ascomicete fungice cu o distribuție cosmopolită și o gamă largă de gazde. Speciile de Nigrospora pot fi izolate ca endofite din frunzele și tulpinile diferitelor plante [1]. De asemenea, aceste specii de fungi sunt înregistrate frecvent ca agenți patogeni ai plantelor la multe culturi economice importante, fructe și plante ornamentale. Asa exemple includ *N. oryzae*, care provoacă mana tulpinii la *Brassica juncea* în India [2], *N. sphaerica*, care provoacă mana frunzei la *Camellia sinensis* în China [3]. În plus, *N. sphaerica* este un agent patogen oportunist care poate provoca onicomicoză la om [4] și ulcer corneean [5]. Nigrospora este considerată o sursă de produse naturale și are potențiale valorificări industriale [6]. Metaboliții produși de *N. sacchari* au demonstrat o activitate erbicidă remarcabilă în tratamentul plantelor intacte cultivate în seră [7], în timp ce fomalactona produsă de *N. spherica* s-a dovedit a fi un constituent activ împotriva țânțarilor [8]. În același timp, unii metaboliți

produși de *N. sphaerica,* prin acțiuni citotoxice au prezentat activități antibacteriene împotriva *Staphylococcus aureus* (rezistent la meticilină) și *Klebsiella pneumoniae* [9]. Fungul *N. maydis* (sinonim frecvent *N. sphaerica*) reprezintă un agent patogen ai diferitelor boli la porumb, grâu și alte culturi cerealiere, dintre cele mai răspândite fiind putregaiul de rădăcină, putrezirea știuleților, ofilirea plantelor, ceea ce conduce la pierderi semnificative de roadă, compromiterea calității produselor agricole [10].

Speciile de Nigrospora (cum ar fi *N. oryzae* și *N. sphaerica*) produc metaboliți secundari, inclusiv nigrosporinele A și B, care sunt fitotoxice și prezintă activitate antibacteriană. Deși sunt în principal agenți patogeni ai plantelor care cauzează pătarea frunzelor, aceștia produc metaboliți care pot fi toxici pentru micile crustacee marine și prezintă riscuri de alterare a alimentelor. Metaboliții de Nigrospora includ derivați de naftochinonă (nigrosporine), furanone, pirani, chinone. În căutarea unor noi strategii alternative de biocontrol, ciupercile fitopatogene ar putea reprezenta o nouă frontieră pentru gestionarea buruienilor. În acest sens, ca alternativă la erbicidele comune, a fost evaluat agentul patogen foliar *Nigrospora sphaerica* pentru controlul ierbii de câmp (*Cenchrus ciliaris*). Au fost descrise izolarea și elucidarea structurală a doi noi metaboliți înrudiți biosintetic, numiți nigrosphaeritriol (3-(hidroximetil)-2-metilpentan-1,4-diol) și nigrosphaerilactol (3-(1-hidroxietil)-4-metiltetrahidrofuran-2-ol), din extractul filtrat de cultură fitotoxică, împreună cu identificarea mai multor metaboliți cunoscuți [11].

Solicitarea tot mai mare a preparatelor eficiente în agricultură contra fungilor fitopatogeni contribuie la intensificarea cercetărilor în scopul identificării noilor compuși cu activitate antifungică. Actualitatea problemei mai este determinată și de faptul că pe fundalul condițiilor ambientale extremale, crește diversitatea tulpinilor fungice sub diferite aspecte – morfologie, virulență, rezistență la diferiți factori, inclusiv la acțiunea preparatelor chimice. În contextul vizat, este de menționat și faptul că cheltuielile financiare pentru protecția plantelor pe baza fungicidelor comercializate de multe companii sunt adesea exorbitante, ceea ce limitează posibilitățile de procurare a acestora. Pornind de la cele menționate, sunt importante cercetările cu privire la identificarea noilor compuși cu activitate antifungică.

Scopul cercetărilor noastre a constat în stabilirea efectului antifungic al noilor derivați vinil-triazolici către fungul *N. maydis.*

Metode și materiale aplicate

Izolarea fungului *N. maydis* s-a efectuat în condiţii aseptice pe mediu PDA (*Potatoes Dextrosis Agar*) [12] din plante de grâu cu semne de putrefacție a rădăcinii. Specia fungului a fost stabilită pe baza caracteristicelor macro- și microscopice (figura 1) conform determinatorului [13].

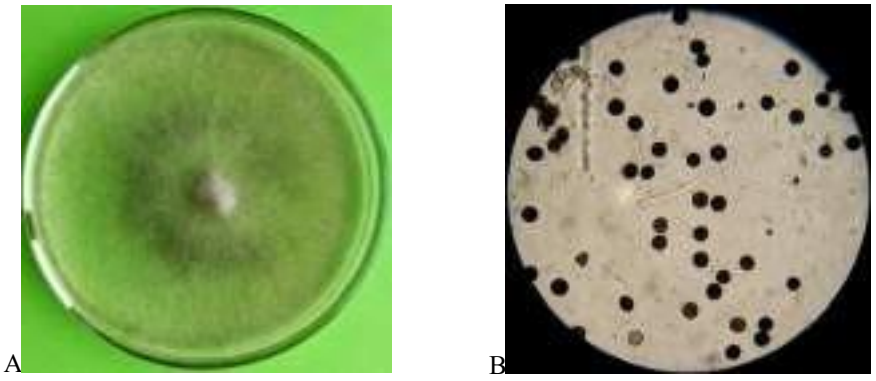


Figura 1. *Nigrospora maydis* – colonie (A), spori (B) – 300x

Testarea activității antifungice a derivaților vinil-triazolici (DVT) EPS-165, MF-SIP-36, MF-EPS-297, MF-EPS-860 s-a efectuat pentru concentrațiile 0,0025; 0,005; 0,01; 0,02% prin suplimentarea în mediul nutritiv PDA.

Cutiile Petri, cu fungul însămânțat au fost menținute în termostat la temperatura de 24°C. Înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din ziua 3 de la însămânțare. Datorită faptului că acest fung posedă o viteză de creștere rapidă, înregistrarea diametrului coloniilor a fost posibilă pe durata a 2 zile. Experiența s-a efectuat în 3 repetiții. Datele înregistrate au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate obținute și discuții

Datele au demonstrat că la primă măsurare, diferența diametrului coloniilor de martor a constituit: -74,8... -84,7%; -4,9 ... -45,6%; -66,7 ... -82,5%; -73,3 ... -100%, iar la a 2-a (ultima măsurare): -69,6 ... -84,3%; -0,9 ... -34,3%; -68,1 ... -83,0%; -75,2 ... -96,3%, respectiv, EPS-165, MF-SIP-36, MF-EPS-297, MF-EPS-860 (figura 2, tabelul 1).

Tabelul 1. Influența noilor derivați vinil-triazolici asupra diametrului coloniilor N. maydis in vitro

Variantă	Concen-trație, %	Ziua 3			Ziua 4		
		Diametrul coloniei, mm	% din martor	Diferență de martor, %	Diametrul coloniei, mm	% din martor	Diferență de martor, %
Martor	-	67,5±5,2	-	-	90,0 ±0,0	-	-
EPS-165	0,0025	17,0±0,3	25,2	-74,8	27,3±0,2	30,4	-69,6
	0,005	15,3±0,3	22,7	-77,3	23,2±0,9	25,7	-74,3
	0,01	13,8±0,9	20,4	-79,6	16,7±1,8	18,5	-81,5
	0,02	10,3±0,3	15,3	-84,7	14,2±0,2	15,7	-84,3
MF-SIP-36	0,0025	64,2±12	95,1	-4,9	89,2±0,8	99,1	-0,9
	0,005	57,7±2,7	85,5	-14,5	90,0±0,0	100	0,0
	0,01	50,8±7,9	75,3	-24,7	80,3±6,3	89,3	-10,7
	0,02	36,7±8,2	54,4	-45,6	59,2±13,1	65,7	-34,3
MF-EPS-297	0,0025	22,5±0,8	33,3	-66,7	28,7±0,7	31,9	-68,1
	0,005	19,3±0,9	28,6	-71,4	24,2±0,4	26,9	-73,1
	0,01	17,2±1,0	25,4	-74,6	21,2±0,7	23,5	-76,5
	0,02	11,8±0,3	17,5	-82,5	15,3±0,3	17,0	-83,0
MF-EPS-860	0,0025	18,0±1,0	26,7	-73,3	22,3±1,5	24,8	-75,2
	0,005	13,3±0,6	19,7	-80,3	19,5±0,5	21,7	-78,3
	0,01	9,3±0,3	13,8	-86,2	14,3±0,6	15,9	-84,1
	0,02	0,0±0,0	0,0	-100	3,3±1,7	3,7	-96,3

**- diferență de martor, $p<0,05$.*

Analiza factorială a demonstrat că în activitatea inhibitoare a DVT pentru *N. maydis*, o importanță decisivă a prezentat factorul de compus/structură: 88,1 ... 92,0%, rolul concentrației fiind mult mai mic: 7 ... 10,5% (tabelul 2).

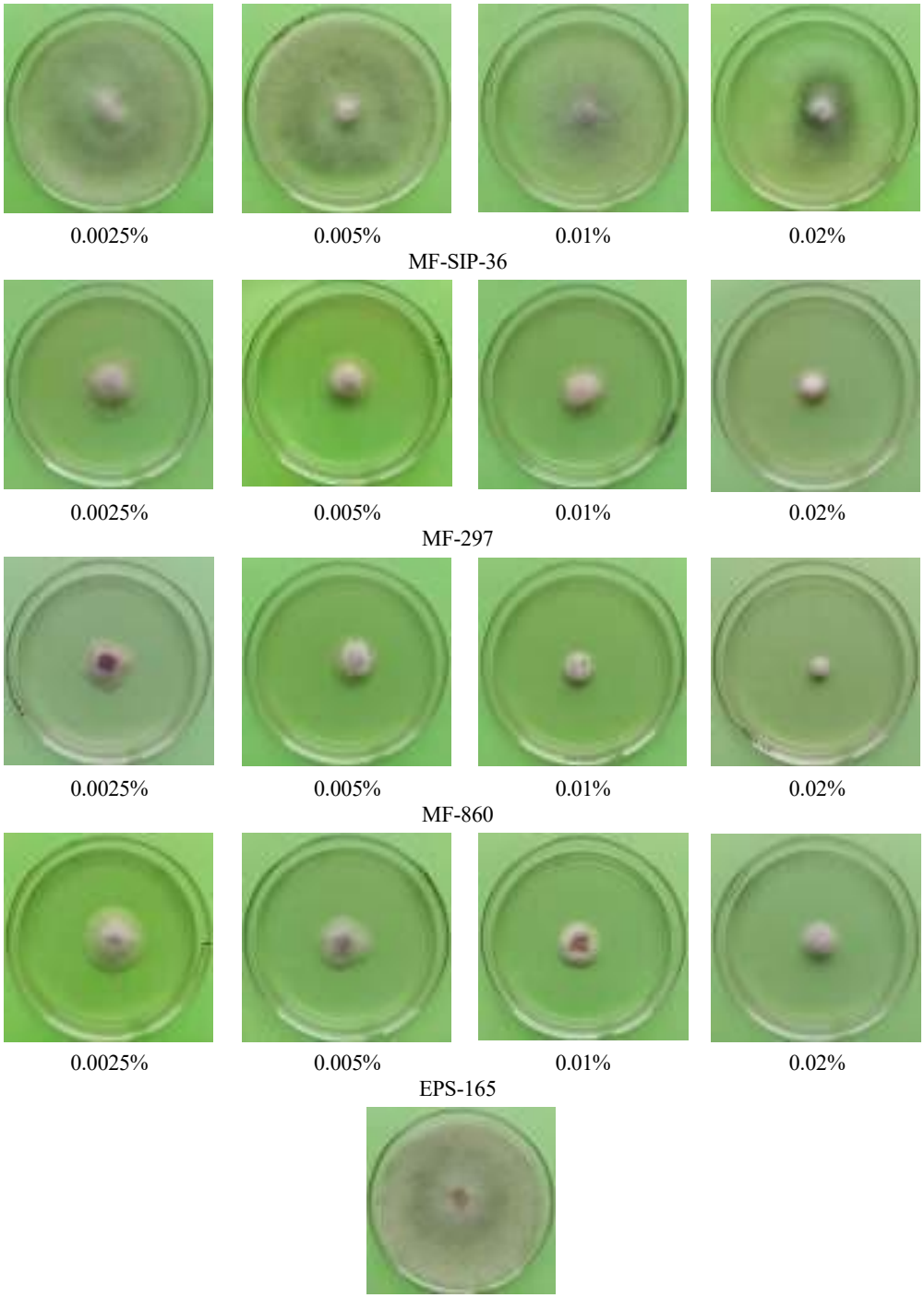


Figura 2. Influența noilor derivați vinil-triazolici asupra creșterii fungului N. maydis

Tabel 2. Ponderea factorială a compusului şi concentraţiei derivaţilor vinil-triazolici în inhibarea creşterii ciupercii *N. maydis*

Sursă de variaţie	Grad de libertate	Suma medie a pătratelor	F	p	Ponderea în sursa de variaţie a diametrului coloniei, %
Ziua 3					
Compus (structură)	3	4522,18*	167,295	0,000	88,11
Concentraţie	3	536,46*	19,846	0,000	10,45
Compus x concentraţie	9	46,58	1,723	0,124	0,91
Efecte aleatorii	32	27,03			0,53
Ziua 4					
Compus (structură)	3	11094,94*	265,581	0,000	92,14
Concentraţie	3	842,17*	20,159	0,000	6,99
Compus x concentraţie	9	62,80	1,503	0,189	0,52
Efecte aleatorii	32	41,78			0,35

**- $p<0,05$.*

Datele obținute relevă că în scopul combaterii nigrosporiozei, sinteza DVT urmează să fie orientată spre anumită structură, similară EPS 165, MF-EPS-297, și în particular MF-EPS-860 care a manifestat cea mai înaltă activitate antifungică în condiții *in vitro*.

Concluzii

1. Derivații vinil-triazolici EPS-165, MF-EPS-297, și în particular MF-EPS-860 au demonstrat în condiții in vitro activitate antifungică înaltă pentru N. maydis în concentrațiile 0,0025; 0,005; 0,01; 0,02%, efectul acestora fiind mult mai pronunțat în concentrații mari (0,01; 0,02%).

2. Activitatea antifungică a derivaților vinil-triazolici nou sintetizați s-a manifestat prin inhibarea capacității de creștere radială a fungului N.maydis, fenomenul fiind asociat cu mărirea densității miceliului, probabil datorită intensificării creșteri secundare a celulelor fungice.

3. Analiza factorială a demonstrat că activitatea antifungică a derivaților vinil-triazolici pentru N. maydis a fost determinată cel mai mult de structura compusului: 88,1 ... 92,0%.

Notă

Cercetările au fost realizate în cadrul Subprogramelor:

010601 "Studiul chimic al metaboliților secundari din sursele naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ în baza lărgirii diversității moleculare cu funcționalitate multiplă";

011102 "Extinderea și conservarea diversității genetice, ameliorarea genofondurilor de culturi agricole în contextul schimbărilor climatice", finanțate de Ministerul Educației și Cercetării.

Referințe:

1. Uzor, P. F., Ebrahim, W., Osadebe, P. O., et al. Metabolites from *Combretum dolichopetalum* and its associated endophytic fungus *Nigrospora oryzae* – evidence for a metabolic partnership. *Fitoterapia*, 2015, 105, 147–150. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.014.

2. Sharma, P., Meena, P. D., Chauhan, J. S. First report of *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch causing stem blight on *Brassica juncea* in India. *J. Phytopathol.*, 2013, 161, 439–441. DOI: 10.1111/jph.12081.
3. Liu, Y. J., Tang, Q., Fang, L. First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf blight on *Camellia sinensis* in China. *Plant Disease*, 2016, 100(1), 221. DOI: 10.1094/PDIS-04-15-0493-PDN.
4. De Hoog, G. S., Guarro, J., Gene, J., et al. *Atlas of clinical fungi*. Centraal bureau voor Schimmelcultures, Utrecht; Universitat Rovira i Virgili, Reus, 2000, 708–711.
5. Kindo, A. J., Subramanian, A., Suresh, K. *Nigrospora sphaerica* causing corneal ulcer in an immunocompetent woman: a case report. *Int. J. Case Rep. Images*, 2014, 5, 675–679. DOI: 10.5348/ijcri-2014119-CR-10430.
6. Chen, Z., Dong, Z., Wen, J., et al. A new sesquiterpene from the endophytic fungus *Nigrospora sphaerica*. *Rec. Nat. Prod.*, 2016, 10(3), 307–310.
7. Fukushima, T., Tanaka, M., Gohbara, M., et al. Phytotoxicity of three lactones from *Nigrospora sacchari*. *Phytochemistry*, 1998, 48, 625–630. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)01023-6.
8. Meepagala, K. M., Becnel, J. J., Estep, A. S. Phomalactone as the active constituent against mosquitoes from *Nigrospora sphaerica*. *Agricultural Sciences*, 2015, 6(10), 1195–1201. DOI: 10.4236/as.2015.610114.
9. Ibrahim, D., Lee, C. C., Yenn, T. W., et al. Effect of the extract of endophytic fungus, *Nigrospora sphaerica* CL-OP 30, against the growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Klebsiella pneumonia* cells. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2015, 14, 2091–2097. DOI: 10.4314/tjpr.v14i11.20.
10. Weiyu, J., Mingyan, L., Tianpeng, W., Hong, Z., Yan, Z., Yulan, J. *Nigrospora musae* and *N. oryzae* as new causal agents of broad bean leaf spot disease in China. *Crop Prot.*, 2024, 177, 106567. DOI: 10.1016/j.cropro.2023.106567.
11. Salvatore, M. M., Russo, M. T., Meyer, S., et al. Screening of Secondary Metabolites Produced by *Nigrospora sphaerica* Associated with the Invasive Weed *Cenchrus ciliaris* Reveals Two New Structurally Related Compounds. *Molecules*, 2024, 29(2), 438. DOI: 10.3390/molecules29020438.
12. *Metody eksperimentalnoy mikologii* (Methods of Experimental Mycology). Kyiv: Naukova Dumka, 1982, 550 p.
13. Barnett, H. L., Hunter, B. B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th ed. APS Press, 1998, 218 p.

Date despre autori:



Lucian LUPAȘCU, doctor în științe medicale, cercetător științific coordinator, Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: Lucian.lupascu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-5006-5265



Eugenia STÎNGACI, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: eugenia.stingaci@sti.usm.md
ORCID: 0000-0003-0731-3424



Marina CEABANOVA, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: marina.ceabanova@sti.usm.md, mari6azv@mail.ru
ORCID: 0000-0003-1553-5246



Natalia SUCMAN, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: natalia_sucman@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-8733-3040



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990



Galina LUPAȘCU, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor; Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: galina.lupascu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0003-3363-3595.



Nicolae CRISTEA
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor; Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: nicolae.cristea@sti.usm.md
ORCID: 0009-0008-7259-3884

CZU: 547.793.7:547.581 https://doi.org/10.59295/mabt2026.30

1-(ALKYL/ARYL)-2-(1*H*-1,2,4-TRIAZOL-1-YL)ETHANONES IN THE SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE *N*-VINYL TRIAZOLES

Marina CEABANOVA, Eugenia STÎNGACI, Natalia SUCMAN,
Serghei POGREBNOI, Lucian LUPAȘCU, Fliur MACAEV

Laboratory of Organic Synthesis, Institute of Chemistry,
Moldova State University, Chisinau, Moldova.

Abstract

This paper describes a method for the synthesis of biologically active compounds based on 1-(alkyl/aryl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanones with aromatic aldehydes under Knövenagel reaction conditions. The studies are based on the possibility of selectively using 1-(alkyl/aryl)-2- (1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone derivatives, a distinctive structural feature of which is the presence of an activated methylene group; when this group reacts with aldehydes, it yields *N*-vinyl-triazoles in which the nitrogen atom is bonded to an sp²-hybridized carbon atom of a substituted olefin. In reactions with salicylic aldehyde derivatives, these compounds form hemiketals in which the carbon atom of the carbonyl group becomes asymmetric. An evaluation of the "structure-bioactivity" relationship was conducted for a series of synthesized alkyl/aryl-substituted *N*-vinyl triazoles. The resulting compounds exhibit biological activity and show promise for application in medicine and agriculture as antimicrobial agents and plant growth regulators.

Keywords: condensation, 1,2,4-triazole, 1-(alkyl/aryl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone, vinyl-triazole, aromatic aldehydes, biological activity.

Introduction

Interest in 1,2,4-triazole derivatives has grown significantly over the past decades. Triazole derivatives are widely used in medical practice: antifungal agents (fluconazole, itraconazole, terconazole, posaconazole, voriconazole), antiviral agents (ribavirin), antineoplastic agents (anastrozole, letrozole), anxiolytics and sedatives (alprazolam, triazolam, estazolam, and others), antihypertensive drugs (trapidil) [1,2], and in agriculture as fungicides [3] or growth regulators [4]. They are characterized by high activity at low concentrations and good solubility. The antifungal activity of azole compounds, including 1,2,4-triazole, is associated with the inhibition of the 14α-demethylase enzyme (CYP51), which plays a key role in the biosynthesis of sterols that ensure the proper development and functioning of the cell walls and membranes of pathogenic fungi. Disruption of biosynthesis subsequently leads to their death. The aim of this study was to synthesize 1,2,4-triazole derivatives bearing various functional groups and to investigate their activity.

Material and methods

The chemicals used were of reagent grade and used as received. Removal of all solvents was carried out under reduced pressure. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra have been recorded for DMSO-d_6 2% solutions on a "Bruker-Avance III" (400.13 and 100.61 MHz). Chemical shifts δ are given in ppm referring to the signal center using the solvent peaks for reference: DMSO- d_6- 2.50 ppm. IR spectra were recorded on a Spectrum 100 FT-IR spectrophotometer (Perkin - Elmer) using the universal ATR sampling accessory. All products were analysed by CHN elemental analysis (Elementar Vario EL analyser). Melting points (uncorrected) were determined on a Boetius apparatus. Thin-layer chromatography was carried out on Merck aluminum TLC plates, silica gel 60 coated with fluorescent indicator F254.

2a (*Z*)-4,4-Dimethyl-1-(4-nitrophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)pent-1-en-3-one [5]. White crystals (ethanol). Yield 70%, mp 114-116°C. IR (ν/cm^{-1}): 3134, 2968, 2933, 2911, 1703,

1640, 1894, 1512, 1501, 1479, 1342, 1278, 1221, 1200, 1094, 1072, 1003, 942, 907, 860, 671. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.29 (1H, s), 8.24 (2H, d *J* = 8.4), 8.10 (1H, s), 7.52 (2H, d, *J*= 8.4), 1.00 (9H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 207.3, 153.0, 147.9, 141.9, 139.3, 136.2, 129.9, 124.0, 119.2, 45.7, 27.0. Anal. Calcd for $C_{15}H_{16}N_4O_3$: C, 59.99; H, 5.37; N, 18.66%. $C_{15}H_{16}N_4O_3$. Found 59.83; H, 5.22; N, 18.62 %.

2b (*Z*)-1-(2,4-Dichlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)pent-1-en-3-one. White crystals (ethanol), yield 66%, mp 209-211°C. IR (ν/cm^{-1}): 3118, 2970, 2297, 1636, 1630, 1505, 1473, 1384, 1138, 1104, 1005, 934, 848, 834, 771, 673. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.07 (1H, s) 7.93 (1H, s), 7.62 (1H, s), 7.45 (1H, d, *J*= 1.9), 7.04 (1H, dd, *J*= 8.4, 1.9), 6.47 (1H, d, *J*= 8.4), 1.28 (9H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 201.90, 152.8, 144.9, 136.8, 135.7, 134.3, 130.8, 129.97, 129.87, 128.9, 127.7, 44.23, 27.6. Anal. Calcd for $C_{15}H_{15}Cl_2N_3O$: C, 55.57, H, 4.66, Cl, 21.87, N, 12.96, O, 4.93%. Found C, 55.1, H, 4.2, N, 12.5 %

2c (*Z*)-5-Methyl-1-(4-nitrophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)hex-1-en-3-one. Yellow crystals (ethanol), yield 54%, mp 97°C. IR (ν/cm-1): 3129, 2955, 2892, 2872, 1699, 1619, 1600, 1521, 1507, 1366, 1342, 1077, 1009, 854, 737. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 8.56 (1H, s), 8.24, (1H, s), 8.20(1H. s). 8.13(2H, d, *J*=8.8), 7.18 (2H, d, *J*=8.8), 2. 75(2H, d, *J*=6.8), 2.1 (1H, m), 0.92 (6H, d, *J*=6.6). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): 196.2, 152.9, 148.4, 146.5, 138.5, 137.2, 135.4, 131.3, 124.1, 46.1, 25.0, 22. Anal. Calcd for $C_{25}H_{27}Cl_2N_3O_2$, C 63.56, H 5.76%. Found C 63.64, H 5.79%.

2d (*Z*)-1-(4-Chlorophenyl)-3-(2-hydroxy-5-nitrophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)prop-2-en-1-one. Yellow crystals (ethanol), yield 76%, yellowish crystals (ethanol), mp 217-218°C. IR (ν/cm^{-1}): 3631, 3058, 2536, 1659, 1583, 1509, 1440, 1402, 1339, 1270, 1213, 1129, 1091, 857, 828, 745, 667. ^{1}H NMR (DMSO- d_6, 400 MHz): 9.39(1H, br, s), 8.73(1H, s), 8.27(1H, s), 8.12(1H, dd, *J*=9, 2.8), 7.82 (2H, d, *J*=8.5), 7.74(1H, s), 7.62(2H, d, *J*=8.5), 7.26(1H, d, *J*=2.8), 7.03(1H, d, *J*=9). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): 190.0, 163.3, 153.0, 146.6, 139.7, 138.5, 135.5, 134.7, 133.4, 131.6, 129.4, 128.4, 125.7, 119.2, 117.0. C 55.15, H 3.04%, Anal. Calcd for $C_{17}H_{11}ClN_4O_4$: C 55.15, H 3.04%. Found C 55.07, H 2.99%.

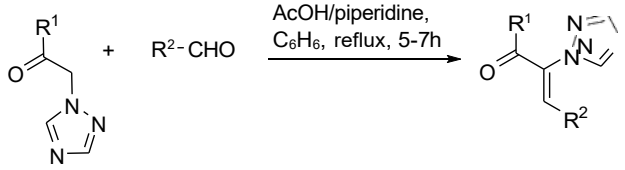
2e (*Z*)-3-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)prop-2-en-1-one. Yield 82%, cream colored crystals (isopropanol), mp 225°C. IR (ν/cm^{-1}): 3064, 3601, 2956, 1655, 1616, 1585, 1412, 1272, 1210, 1139, 1094, 1004, 929, 834, 784, 674. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz); δ 8.6 9(1H, s), 8.29(1H, s), 7.76 (1H, d, *J*=1.7), 7.60 (1H, d, *J*=8.), 7.60 (1H, s), 7.56 (1H, d, *J*=8.3, 1.7), 6.73 (2H, s), 1.19 (18H, s). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): 190.0, 159.1, 153.1, 146.6, 146.4, 139.4, 136.3, 136.2, 131.6, 130.9, 130.1, 129.9, 129.3, 129.1, 122.5, 34.7, 30.2. Anal. Calcd for $C_{25}H_{27}Cl_2N_3O$, C 63.64, H 5.79%. Found C 63.56, H 5.76%.

2f (*Z*)-1-(2,4-dichlorophenyl)-3-(2-hydroxy-5-nitrophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)prop-2-en-1-one. Yellow crystals (ethanol), yield 65%, mp 127-128°C. IR (ν/cm^{-1}): 3063.8, 1678.5, 1638.4, 1584.7, 1523.1, 1506.6, 1342, 1305.1, 1268.4, 1242.3, 1134.9, 1087.7, 994.5, 835.9, 780.3, 687.8, 668.6. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 8.72 (1H, s), 8.27 (1H, s), 8.1 (1H, d, *J*=8.9, 1.9), 7.82 (1H, s), 7.78 (1H, td, *J*=3.9, 1.6), 7.71 (2H, d, *J*=8.3),7.59 (1H, dt, *J*=8.3, 1.9), 7.21 (2H, d, *J*=8.9). ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): 189.9, 153.2, 148.7, 146.7, 141.7, 137.9, 137.0, 135.1, 135.0, 132.0, 131.7, 131.5, 130.3, 128.2, 124.2. Anal. Calcd for $C_{17}H_{10}Cl_2N_4O_3$, C 52.52, H 2.64%. Found C 52.46, H 2.59%.

Results and discussion

The starting ketones **1a-b** were obtained by the following methods [6,7] and ketone **2c-d** were purchased from Aldrich. The compounds **2a-2f** were synthesized according to the synthetic pathway shown in the Scheme. The mixture of 1-(alchil/aril)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanone (**1a–1c**) and corresponding aromatic aldehyde was refluxed in benzene in the presence of

piperidine and acetic acid as catalysts The target compounds **2a–2f** were obtained in yields ranging from 54% to 82%.



1a R^1=Me_3C
1b R^1 = Me_2CHCH_2
1c R^1=2,4-Cl_2-C_6H_3
1d R^1=4-Cl-C_6H_4

2a R^1=Me_3C, R^2=4-NO_2-C_6H_4 70%
2b R^1=Me_3C, R^2=2,4-Cl_2-C_6H_3 66%
2c R^1=Me_2CHCH_2, R^2=4-NO_2-C_6H_4 54%
2d R^1=4-Cl_2-C_6H_4 R^2=2-OH,5-NO_2-C_6H_3 76%
2e R^1=2,4-Cl_2-C_6H_3, R^2=3,5-($Bu)_2$-4-OH-C_6H_2 82%
2f R^1=2,4-Cl_2-C_6H_3, R^2=2-OH,5-NO_2-C_6H_3 65%

Scheme 1. Synthesis of *N*-vinyl-1,2,4-triazoles

The structures of the synthesized compounds were confirmed by elemental analysis, IR, and NMR spectral data. The NMR spectra of the synthesized *N*-vinyl triazoles are characterized by the presence of a singlet proton of the vinyl group, indicating a specific isomer. The ketone configuration was determined based on NOESY experiments.

The antifungal activity was evaluated against eight different fungal species: *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor, A. ochramensis*, *A. niger, Trichoderma viride, Penicillium funiculosum, P. ochrochloron, P. verrucosum var. cyclopium.* Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration have been determined. The antifungal assay was carried out by the microdilution method [8]. All experiments were performed in duplicate and repeated three times. All of the compounds obtained exhibited fungicidal activity in vitro (Table 1) [9].

Table 1. Antifungal activity of compounds in mM

#		*Aspergillus fumigatus.*	*Aspergillus versicolor*	*Aspergillus ochraceus*	*Aspergillus niger*	*Trichoderma viride*	*Penicillium funiculosum*	*Penicillium ochrochlóron*	*Penicillium verrucosum var.cyclopium*
2a	MIC	0.25	0.25	0.13	0.25	0.09	0.18	0.13	0.25
	MFC	0.51	0.51	0.25	0.51	0.13	0.25	0.25	0.51
2b	MIC	0.14	0.14	0.07	0.14	0.07	0.19	0.14	0.14
	MFC	0.27	0.27	0.14	0.27	0.14	0.27	0.27	0.27
2c	MIC	0.02	0.04	0.02	0.02	0.03	0.04	0.03	0.04
	MFC	0.03	0.06	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06
2d	MIC	0.20	0.10	0.10	0.15	0.10	0.15	0.10	0.20
	MFC	0.41	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.41
2e	MIC	0.08	0.08	0.08	0.08	0.03	0.12	0.08	0.16
	MFC	0.16	0.16	0.16	0.16	0.08	0.16	0.16	0.32
2f	MIC	0.56	0.16	0.16	0.16	0.27	0.37	0.16	0.37
	MFC	0.75	0.37	0.37	0.75	0.37	0.75	0.37	0.75
Ktz	MIC	0.38	0.38	0.28	0.38	1.88	0.38	1.88	0.38
	MFC	0.94	0.94	0.38	0.94	2.82	0.94	2.82	0.57
Bfz	MIC	0.48	0.32	0.48	0.48	0.48	0.64	0.64	0.32
	MFC	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.81	0.81	0.64
Ktz. – Ketoconazole, Bfz. - Bifonazole									

The minimum inhibitory concentrations (MIC) of the nitro-substituted *tert*-butyl triazole derivative **2a** against *A. fumigatus, A. versicolor, A. ochramensis*, and *A. niger* were 0.25 mM, 0.25 mM, 0.13 mM, 0.25 mM, and 0.033 mM. Replacing the *tert*-butyl group with an isobutyl group in compound **2c** resulted in a 12-fold increase in the level of inhibition against *A. fumigatus* and *A. niger*, and a 6-fold increase against *A. versicolor* and *A. ochramensis*. Replacing the nitro group with the dichlorodivergent **2b** had virtually no effect on activity against *Aspergillus* fungi, which ranged from MIC 0.07–0.14 mM at a minimum fungicidal concentration (MFC) of 0.02–0.27 mM.

Conclusions

The use of 1-(alkyl/aryl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone for the preparation of alkyl(aryl)-substituted *N*-vinyl triazoles is a convenient and accessible synthetic strategy for producing biologically active compounds with good yields. The results obtained demonstrate the potential for further research into these compounds to expand the repertoire of biologically active triazole derivatives, particularly those with antifungal activity.

Acknowledgments

This study was supported by the research project "Chemical study of secondary metabolites from local natural sources and valorization of their application potential basing on broadening molecular diversity with multiple functionality (MetNatVal)", # 010601, funded by the Ministry of Education and Research of the Republic of Moldova. The authors are grateful to Dr. Shova S. for recording and crystal X-Ray diffraction study.

References:

1. Rodrigues, S. C., et al. A Review on Chemistry and Methods of Synthesis of 1,2,4-Triazole Derivatives. The Chemical Record, 2025, 25(1), e202400190. DOI: 10.1002/tcr.202400190.
2. Stingaci, E., et al. New vinyl-1,2,4-triazole derivatives as antimicrobial agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2020, 30(17), 127368. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127368.
3. Shi, H., et al. Synthesis and biological evaluation of novel 1,2,4-Triazole Derivatives containing amino acid fragment. *Molecules*, 2025, 30(8), 1692. DOI: 10.3390/molecules30081692.
4. Guangrong, C., et al. Synthesis and Biological Evaluation of 3,3-Dimethyl-1-(1H-1,2,4-triazole-1-yl)butan-2-One Derivatives as Plant Growth Regulators. *Chem. Res. Chin. Univ.*, 2019, 35(2), 221–228. DOI: 10.1007/s40242-019-8303-6.
5. Macaev, F., Zveaghinteva, M., Stângaci, E., Pogrebnoi, S., Duca, G. Procedeu de obținere a (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-onei. *Brevet de invenție MD 4515 C1*. Data depozit 21.12.2016, publicat 30.09.2017. In: *BOPI*, 2017, 9, 32–33.
6. Macaev, F., Stângaci, E., Pogrebnoi, S., Boldescu, V. (Z)-5-Metil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-onă, procedeu de sinteză și utilizarea ei în calitate de remediu antifungic. *Brevet de invenție MD 4703 B1*. Data depozit 04.04.2019, publicat 31.07.2020. In: *BOPI*, 2020, 7, 43–44.
7. Macaev, F., Zveaghinteva, M., Stângaci, E., Pogrebnoi, S., Duca, G. Procedeu de sinteză a 3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-onei. *Brevet de invenție MD 4505 C1*. Data depozit 21.12.2016, publicat 31.08.2017. In: *BOPI*, 2017, 8, 28.
8. Haroun, M., et al. New Benzothiazole-Based Thiazolidinones as Potent Antimicrobial Agents. Design, Synthesis and Biological Evaluation. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2018, 18, 75–87. DOI: 10.2174/1568026618666180206101814.
9. Zveaghinteva, M. *Synthesis and study of 1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)ethan-2-ones* [PhD Thesis abstract]. Chișinău, 2023, p. 18. Disponibil la: https://anacec.md/files/Zveaghinteva-abstract.pdf.

Date despre autori:



Marina CEABANOVA, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: marina.ceabanova@sti.usm.md, mari6azv@mail.ru
ORCID: 0000-0003-1553-5246



Eugenia STÎNGACI, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: eugenia.stingaci@sti.usm.md
ORCID: 0000-0003-0731-3424



Natalia SUCMAN, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: natalia_sucman@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-8733-3040



Serghei POGREBNOI, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: serghei.pogrebnoi@ichem.md
ORCID: 0000-0003-2827-505X



Lucian LUPAȘCU, doctor în științe medicale, cercetător științific coordinator, Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: Lucian.lupascu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-5006-5265



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 577.127:616-006:577.152.1 https://doi.org/10.59295/mabt2026.31

ANALIZA BIOCHIMICĂ A DEZECHILIBRELOR ACIDO-BAZICE ȘI A PROCESELOR DE LACTILARE ÎN CANCER

Cristea DANIEL[1], Veronica SARDARI[1], Dionisie CEBOTARI[1], Nadejda RAILEAN[2], Silvia STRATULAT[1], Lilia TACU[3], Aurelian GULEA[4]

[1]Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[2] Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova
[3] Catedra de Patologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
[4] Laboratorul de Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutului de Chimie al Universității de Stat din Moldova

Rezumat

Cancerul este caracterizat prin modificări metabolice profunde, inclusiv dereglări ale echilibrului acido-bazic și acumularea excesivă de lactat în glicoliza aerobă, denumit efectul Warburg. Aceste modificări conduc la acidifierea microambientului tumoral și favorizează procese epigenetice precum lactilarea proteinelor, cu impact asupra expresiei genice și progresiei tumorale. Scopul studiului a constat în –elucidarea mecanismelor biochimice implicate în dezechilibrele acido-bazice și rolul lactilării în patologia cancerului. A fost realizată o analiză narativă a literaturii științifice recente privind metabolismul tumoral, reglarea pH-ului și modificările post-translaționale. Rezultatele evidențiază interdependența dintre acumularea lactatului, acidoza tumorală și reglarea epigenetică, aceste procese reprezentând ținte promițătoare pentru dezvoltarea strategiilor terapeutice inovatoare.

Cuvinte-cheie: cancer, dezechilibru acido-bazic, lactat, lactilare, metabolism tumoral, glicoliză aerobă, efectul Warburg, microambient tumoral, acidoză, reglare epigenetică.

Abstract

Cancer is characterized by profound metabolic alterations, including disturbances in acid-base balance and excessive lactate accumulation associated with aerobic glycolysis, this is being called the Warburg effect. These changes lead to acidification of the tumor microenvironment and promote epigenetic processes such as protein lactylation, influencing gene expression and tumor progression. The aim of this study was to elucidate the biochemical mechanisms underlying acid-base imbalances and the role of lactylation in cancer pathology. A narrative review of recent scientific literature focusing on tumor metabolism, pH regulation, and post-translational modifications has been conducted. The findings highlight the interconnection between lactate accumulation, tumor acidosis, and epigenetic regulation, these processes representing promising targets for the development of innovative therapeutic strategies in oncology.

Keywords: cancer, acid-base imbalance, lactate, lactylation, tumor metabolism, aerobic glycolysis, Warburg effect, tumor microenvironment, acidosis, epigenetic regulation.

Introducere

Cancerul continuă să reprezinte o provocare majoră pentru sănătatea publică la nivel global, fiind indus prin mecanisme biochimice complexe și o capacitate remarcabilă de adaptare metabolică. În acest context, cercetările recente au evidențiat faptul că reprogramarea metabolismului celular nu este doar o consecință a transformării maligne, ci și un factor determinant al progresiei tumorale și al rezistenței terapeutice. În ultimele decenii, cercetările din domeniul biochimiei tumorale au evidențiat faptul că transformările metabolice constituie un element central în inițierea, progresia și rezistența la tratament a cancerului [1]. Unul dintre cele mai studiate fenomene este reprogramarea metabolică a celulelor canceroase, cunoscută sub

denumirea de efectul Warburg, care constă în preferința acestora pentru glicoliza chiar și în condiții de oxigen adecvat [2].

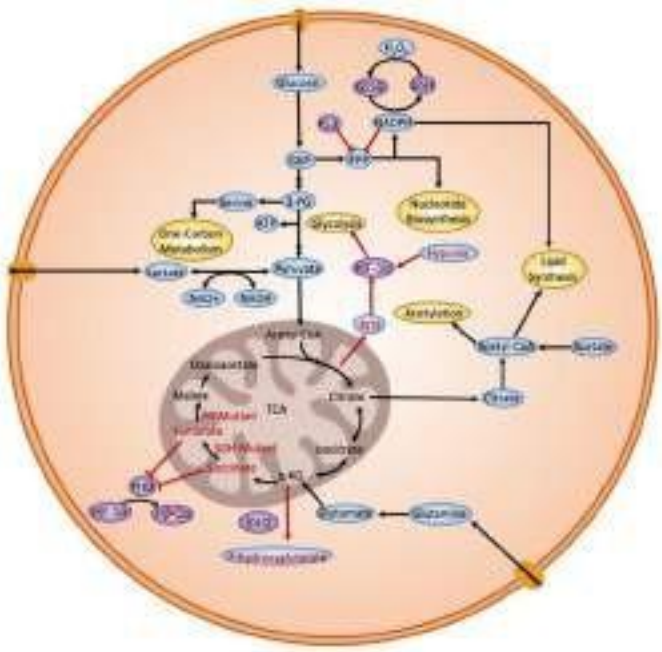


Figura 1. Reprogramarea metabolică tumorală și formarea gradientului inversat de pH [2].

Figura prezintă efectul Warburg în celulele canceroase, evidențiind particularitățile metabolice precum glicoliza intensificată, calea pentozo–fosfat, fermentația lactatului, metabolismul glutaminei, generarea speciilor reactive de oxigen (ROS) și ciclul acizilor tricarboxilici (TCA). Intermediarii TCA sunt utilizați pentru sinteza lipidelor, iar mutațiile din TCA (marcate cu roșu) favorizează producerea de oncometaboliți. Căile metabolice majore sunt evidențiate în galben, etapele enzimatice cheie ale glicolizei în violet, iar liniile roșii cu capăt obtuz indică mecanisme inhibitorii.

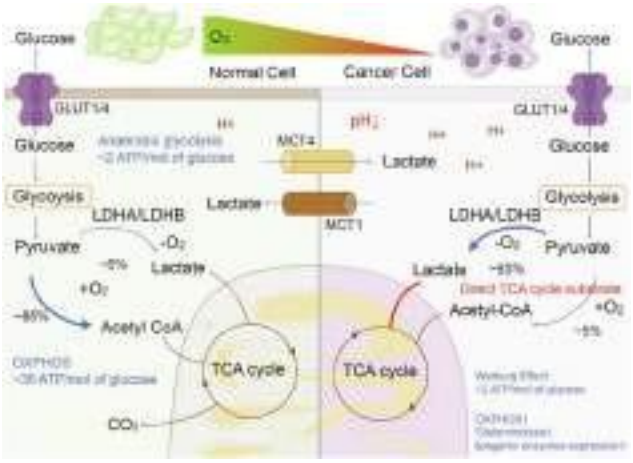


Figura 2. Metabolismul lactatului tumoral și adaptările glicolitice în microambientul tumoral comparativ cu celulele normale [31].

Figura ilustrează diferențele fundamentale dintre metabolismul glicolitic al celulelor canceroase din microambientul tumoral (TME) și celulele normale. În TME, intensificarea glicolizei determină consum crescut de glucoză, acumulare de lactat și regenerare de NAD^+, asigurând producția de ATP în condiții hipoxice. În contrast, celulele normale utilizează piruvatul în ciclul TCA pentru o producție eficientă de energie, cu implicarea acestuia și în alte căi metabolice.

Această modificare metabolică determină o producție crescută de lactat, ceea ce conduce la acumularea acestuia în microambientul tumoral și la scăderea pH-ului extracelular. Astfel, celulele tumorale dezvoltă un mediu acid care favorizează invazia, angiogeneza și evadarea imună [3]. Dezechilibrul acido-bazic devine astfel un element esențial al microambientului tumoral, influențând atât comportamentul celular, cât și interacțiunile dintre celulele canceroase și cele stromale [4]. Reglarea echilibrului acido-bazic în organism este un proces complex, implicând sisteme tampon, transportori ionici și mecanisme metabolice fine. În condiții fiziologice, pH-ul intracelular este menținut relativ constant, însă în cancer apare o inversare a gradientului de pH, caracterizată prin alcalinizarea mediului intracelular și acidifierea mediului extracelular [5]. Această particularitate biochimică conferă celulelor tumorale un avantaj proliferativ, stimulând procesele de diviziune celulară și inhibând apoptoza [6].

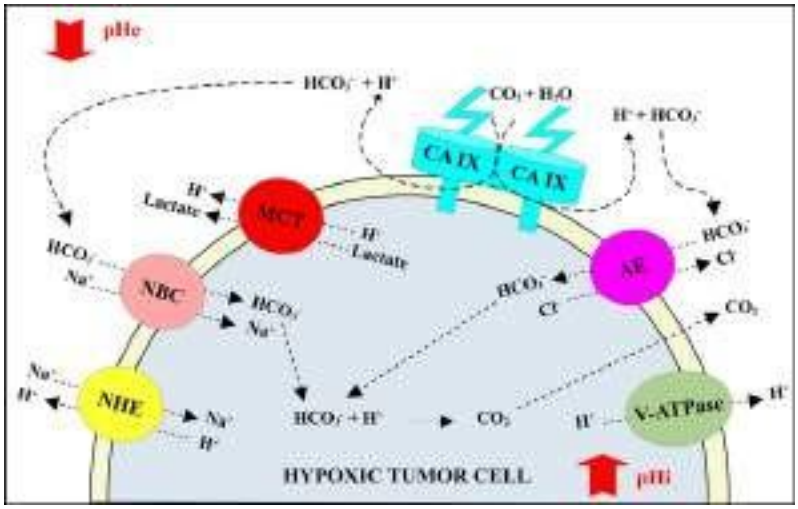


Figura 3. Modificări post-translaționale în anhidrazele carbonice asociate tumorii [32].

Figura prezintă mecanismele de reglare a pH-ului intracelular în celulele canceroase aflate în condiții hipoxice. Proteinele implicate includ transportorii de monocarboxilați (MCT), pompa V-H^+ ATPaza, schimbătorul Na^+/H^+ (NHE), co-transportorul Na^+/bicarbonat (NBC), schimbătorul de anioni (AE) și anhidraza carbonică IX (CA IX). La suprafața celulară, CA IX catalizează hidroliza CO_2, generând protoni și bicarbonat. Protonii contribuie la acidifierea mediului extracelular (pHe), în timp ce NBC și AE importă bicarbonat pentru neutralizarea pH-ului intracelular (pHi). CO_2 rezultat difuzează din citoplasmă, reintrând în ciclul de hidroliză.

Un rol esențial în menținerea acestui dezechilibru îl joacă transportorii de lactat, în special cei monocarboxilat (MCT), care facilitează exportul lactatului din celule și contribuie la acidifierea mediului extracelular [7]. În paralel, sistemele tampon intracelulare și mecanismele de reglare a protonilor, cum ar fi schimbătorii Na^+/H^+, mențin un pH intracelular favorabil supraviețuirii celulelor tumorale [8]. Aceste mecanisme sunt strâns corelate cu activitatea metabolică crescută și cu producția continuă de acid lactic. Pe lângă efectele metabolice și fiziologice, acumularea lactatului are implicații majore la nivel molecular și epigenetic. Recent,

a fost descris un nou tip de modificare post-translațională, cunoscută sub denumirea de lactilare, care implică atașarea grupărilor lactil la reziduurile de lizină din proteine, în special la histone [9]. Această modificare reprezintă o punte directă între metabolismul celular și reglarea expresiei genice, sugerând că lactatul nu este doar un produs metabolic, ci și un regulator activ al funcției celulare.

Lactilarea histonelor influențează expresia genelor implicate în procese esențiale precum proliferarea celulară, angiogeneza și răspunsul imun [10]. Studiile recente sugerează că această modificare epigenetică contribuie la adaptarea celulelor tumorale la condițiile hipoxice și la menținerea unui fenotip agresiv [11]. În plus, lactatul acționează ca o moleculă de semnalizare, influențând activitatea celulelor imune și contribuind la crearea unui microambient imunosupresiv [12].

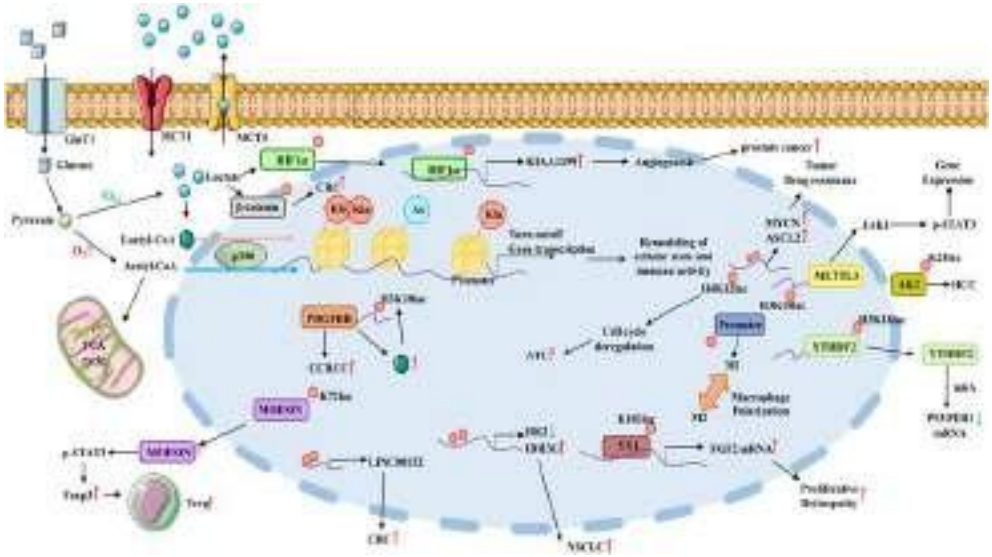


Figura 4. Lactilarea histonelor reglează progresia cancerului prin remodelarea microambientului tumoral [33].

Figura evidențiază rolul lactatului ca moleculă de semnalizare în progresia cancerului prin lactilarea histonelor și a proteinelor non-histonice. Lactilarea reglează transcripția genelor și contribuie la evaziunea imună, promovând expresia unor factori precum HIF1α, MYCN, ASCL2, METTL3, YTHDF2 și YY1, cu impact asupra progresiei tumorale, rezistenței la medicamente și dereglării ciclului celular. Exemplele include lactilarea histonei H4K12 în ATC, H3K18 în cancerul colorectal și ccRCC, precum și lactilarea proteinelor AK2 și MOESIN, implicate în deteriorarea carcinomului hepatocelular (HCC) și generarea celulelor T reglatorii (Tregs). În macrofage, lactilarea histonelor favorizează polarizarea spre fenotipul imun supresiv M2.

Dezechilibrele acido-bazice și acumularea lactatului sunt strâns interconectate cu procesele inflamatorii și cu stresul oxidativ, care joacă un rol important în progresia cancerului [13]. Acidifierea mediului extracelular favorizează activarea enzimelor proteolitice și degradarea matricei extracelulare, facilitând invazia tumorală și metastazarea [14]. De asemenea, mediul acid reduce eficiența răspunsului imun antitumoral, contribuind la evadarea celulelor canceroase de sub controlul sistemului imun [15].

Un alt aspect important îl constituie adaptarea metabolică a celulelor tumorale la condițiile de hipoxie, frecvent întâlnite în interiorul tumorilor solide. Factorul inductibil a hipoxiei 1α (HIF-1α) joacă un rol central în reglarea expresiei genelor implicate în glicoliză și în transportul

lactatului, contribuind la menținerea fenotipului metabolic tumoral [16]. Această adaptare permite celulelor canceroase să supraviețuiască și să prolifereze în condiții adverse, consolidând astfel progresia bolii. În context terapeutic, dezechilibrele acido-bazice și procesele de lactilare reprezintă ținte promițătoare pentru dezvoltarea unor strategii inovatoare de tratament. Inhibitorii transportorilor de lactat, modularea pH-ului tumoral și intervențiile asupra mecanismelor epigenetice sunt direcții de cercetare intens explorate [17]. În plus, înțelegerea rolului lactilării în reglarea expresiei genice poate deschide noi perspective în terapia personalizată a cancerului.

Scopul studiului a constat în elucidarea mecanismelor biochimice implicate în dezechilibrele acido-bazice și rolul lactilării în patologia cancerului și în reglarea expresiei genice pentru a deschide noi perspective în terapia personalizată a cancerului.

Materiale și metode

Studiul de față a fost conceput sub forma unei analize narative extinse, având ca obiectiv investigarea mecanismelor biochimice implicate în dezechilibrele acido-bazice și procesele de lactilare în cancer. Alegerea acestui tip de studiu a fost justificată de caracterul emergent al subiectului, în special în ceea ce privește lactilarea ca modificare epigenetică recent descrisă, precum și de necesitatea integrării datelor provenite din multiple domenii interdisciplinare, inclusiv biochimie, biologie moleculară și oncologie. Procesul de selecție a literaturii științifice a fost realizat utilizând baze de date internaționale recunoscute, precum PubMed, PubMed Central (PMC), ScienceDirect, BioMed Central și MDPI. Au fost incluse exclusiv articole publicate în perioada 2016–2026, pentru a asigura actualitatea și relevanța informațiilor analizate, cu un accent deosebit pe studiile publicate după anul 2018, când conceptul de lactilare a fost intens investigat.

Criteriile de includere au vizat studii originale, articole de tip review, meta-analize și lucrări experimentale care au analizat direct relația dintre metabolismul tumoral, acumularea lactatului, reglarea pH-ului și modificările epigenetice asociate. Au fost selectate articole care au investigat atât modele *in vitro* (linii celulare tumorale), cât și modele *in vivo* (studii pe animale și date clinice), pentru a permite o analiză comparativă și o înțelegere integrată a fenomenelor studiate. În același timp, au fost excluse studiile cu relevanță limitată pentru tema cercetării, articolele cu metodologie insuficient descrisă sau cele care nu prezentau date biochimice relevante. Analiza datelor a fost realizată printr-o abordare narativă descriptivă, urmărindu-se identificarea relațiilor dintre principalele procese biochimice implicate. Au fost examinate mecanismele de producere a lactatului prin glicoliză aerobă (efectul Warburg), rolul transportorilor de lactat (în special MCT1 și MCT4) în menținerea gradientului de pH, precum și impactul acumulării lactatului asupra microambientului tumoral. În paralel, au fost analizate mecanismele moleculare implicate în lactilarea proteinelor, cu accent pe modificările histonelor și efectele acestora asupra expresiei genice.

Sinteza informațiilor a fost realizată prin corelarea datelor biochimice cu implicațiile clinice potențiale, urmărindu-se identificarea unor direcții relevante pentru cercetări viitoare. Această abordare integrativă a permis nu doar descrierea fenomenelor studiate, ci și evidențierea importanței lor în dezvoltarea unor strategii terapeutice inovatoare, bazate pe modularea metabolismului tumoral și a mecanismelor epigenetice.

Rezultate obținute și discuții

Datele analizate indică faptul că dezechilibrele acido-bazice constituie un element central al reprogramării metabolice tumorale, fiind direct corelate cu acumularea lactatului și adaptarea celulară la condiții de hipoxie. Studiile analizate demonstrează că glicoliza aerobă, caracteristică celulelor canceroase, determină o acumulare semnificativă de lactat chiar și în prezența oxigenului, fenomen cunoscut drept efect Warburg [1,2]. Această modificare metabolică nu

reprezintă doar o sursă alternativă de energie, ci și contribuie activ la remodelarea microambientului tumoral. Datele arată că acumularea lactatului determină acidifierea mediului extracelular, cu valori ale pH-ului ce pot scădea sub 6.5 în anumite regiuni tumorale [4]. În contrast, pH-ul intracelular rămâne relativ alcalin, ceea ce favorizează activitatea enzimatică și proliferarea celulară [5]. Această inversare a gradientului de pH reprezintă un avantaj selectiv pentru celulele tumorale, facilitând invazia tisulară și rezistența la tratamente [6].

Un rol esențial în menținerea acestui dezechilibru este atribuit transportorilor de lactat, în special MCT1 și MCT4, care permit exportul eficient al lactatului din celule [7]. Studiile experimentale demonstrează că supraexpresia acestor transportori este asociată cu agresivitatea tumorală și cu un prognostic nefavorabil [17]. În același timp, activitatea schimbătorilor ionici, precum Na^+/H^+, contribuie la reglarea pH-ului intracelular și la prevenirea acidificării interne [8]. În paralel, acumularea lactatului are efecte semnificative asupra comportamentului celulelor non-tumorale din microambient. S-a demonstrat că lactatul inhibă activitatea limfocitelor T și a celulelor natural killer (NK), contribuind la crearea unui mediu imunosupresor [12]. Această interacțiune metabolică reprezintă un mecanism important prin care tumorile evadează de sub controlul sistemului imun. Un alt rezultat major evidențiat de literatura analizată este legătura directă dintre metabolismul lactatului și modificările epigenetice. Lactilarea histonelor, descrisă recent, reprezintă un mecanism prin care lactatul influențează expresia genică [9]. Această modificare implică transferul unei grupări lactil asupra reziduurilor de lizină din histone, determinând modificări ale structurii cromatinei și activarea unor gene implicate în progresia tumorală.

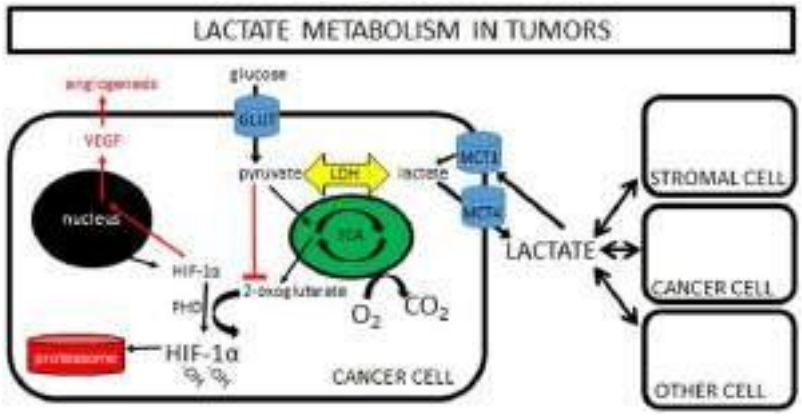


Figura 4. Metabolismul lactatului în tumori [34].

Figura reprezintă metabolismul lactatului în tumori și rolul său ca moleculă de semnalizare în angiogeneză. Creșterea nivelului de piruvat inhibă formarea 2-oxoglutaratului, reducând degradarea HIF-1α și stimulând expresia VEGF. Lactatul poate fi importat prin MCT1 sau exportat prin MCT4, fiind implicat atât în efectul Warburg clasic (consum crescut de glucoză și export de lactat), cât și în efectul Warburg invers (producție de lactat din celulele stromale și utilizarea lui de către celulele canceroase). Schimbul de lactat are loc între celulele tumorale, stromale și celulele non-tumorale locale sau la distanță, subliniind complexitatea și diversitatea căilor metabolice implicate.

Studiile arată că lactilarea este corelată cu activarea genelor implicate în angiogeneză și adaptarea la hipoxie [10,11]. De asemenea, acest proces contribuie la polarizarea macrofagelor către un fenotip pro-tumoral, favorizând progresia bolii [12]. Aceste relatări susțin ideea că lactatul nu este doar un produs metabolic, ci și un reglator activ al funcției celulare.

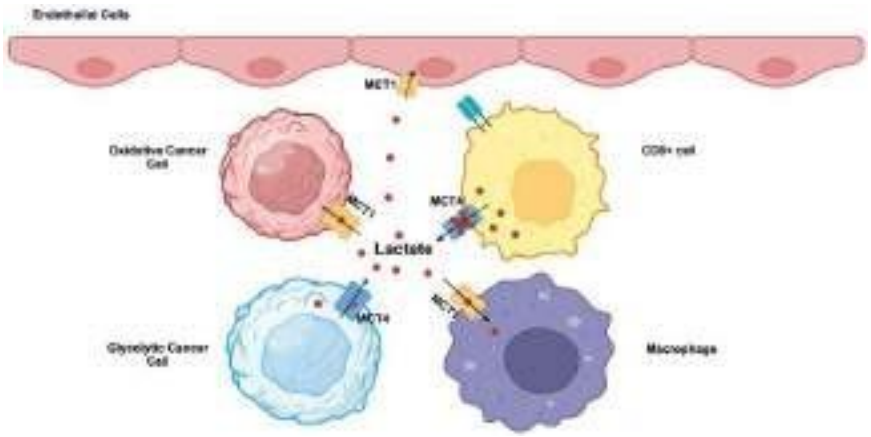


Figura 5. Roluri diferențiale ale MCT1 și MCT4 în celulele tumorale și non-tumorale din micro-ambientul tumoral [35].

Figura ilustrează funcțiile distincte ale transportorilor de monocarboxilați MCT1 (SLC16A1) și MCT4 (SLC16A3) în contextul tumoral și non-tumoral. MCT1 este predominant implicat în importul lactatului, fiind exprimat în celulele care utilizează lactatul ca substrat energetic, inclusiv unele celule tumorale și stromale. MCT4 facilitează exportul lactatului, caracteristic celulelor canceroase cu glicoliză intensă. Diferențele de expresie și funcție ale acestor transportori contribuie la remodelarea metabolică a microambientului tumoral și influențează interacțiunile cu celulele imune, precum limfocitele CD8⁺ citotoxice.

Pe lângă efectele epigenetice, dezechilibrele acido-bazice influențează și structura matricei extracelulare. Acidifierea mediului activează enzime proteolitice, cum ar fi metaloproteinazele, care degradează matricea și facilitează invazia celulară [14]. În consecință, celulele tumorale capătă o capacitate crescută de migrare și metastazare. Un alt aspect relevant este implicarea hipoxiei în amplificarea acestor procese. Activarea factorului HIF-1α determină creșterea expresiei genelor implicate în glicoliză și transportul lactatului, consolidând astfel fenotipul metabolic tumoral [16]. Această adaptare permite celulelor canceroase să supraviețuiască în condiții de stres și să mențină producția crescută de lactat.

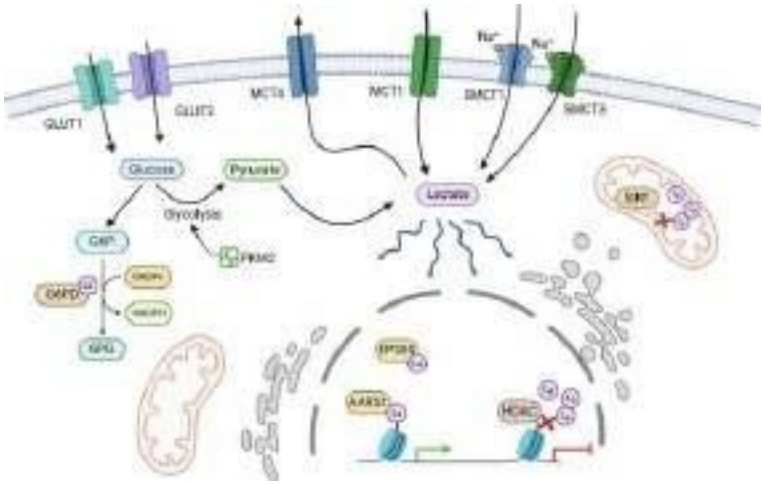


Figura 6. Senzori de lactat raportați și potențiali în cancer [16].

Gene raportate și potențiale care reglează lactilarea, inclusiv enzime de transport metabolic legate de lactilare, enzime metabolice legate de lactilare, lactiltransferaze și delactilaze.

În ansamblu, rezultatele evidențiază o interdependență complexă între metabolismul tumoral, dezechilibrul acido-bazic și mecanismele epigenetice. Lactatul apare ca un element central care conectează aceste procese, influențând atât comportamentul celulelor tumorale, cât și interacțiunile din microambientul tumoral. Această perspectivă integrativă susține ideea că intervențiile terapeutice care vizează metabolismul lactatului și reglarea pH-ului ar putea avea un impact semnificativ asupra progresiei cancerului și eficienței tratamentului.

Rezultatele obținute evidențiază în mod clar faptul că dezechilibrele acido-bazice și acumularea lactatului nu reprezintă doar consecințe ale metabolismului tumoral, ci și elemente active implicate în reglarea progresiei cancerului. Această perspectivă reflectă o schimbare de paradigmă în biochimia oncologică, în care produșii metabolici, precum lactatul, sunt considerați mediatori funcționali ai proceselor celulare și nu simpli produși secundari [3,10]. Un element definitoriu este rolul efectului Warburg nu doar ca mecanism metabolic, ci și ca strategie adaptativă care conferă avantaj selectiv celulelor tumorale. Deși inițial acest fenomen a fost interpretat ca o adaptare energetică ineficientă, studiile recente demonstrează că glicoliza aerobă oferă avantaje selective, inclusiv generarea rapidă de intermediari metabolici necesari proliferării celulare [1,23]. În acest context, producția crescută de lactat nu este un simplu rezultat al metabolismului alterat, ci și o strategie adaptativă care facilitează supraviețuirea și expansiunea tumorală.

Dezechilibrul acido-bazic relevat în cancer, caracterizat prin acidifierea mediului extracelular și alcalinizarea celui intracelular, are implicații multiple asupra funcției celulare. Această inversare a gradientului de pH favorizează activitatea enzimelor implicate în proliferare și inhibă procesele apoptotice, contribuind astfel la rezistența celulelor tumorale [5,6]. În același timp, mediul acid extracelular influențează comportamentul celulelor stromale și imune, consolidând un microambient favorabil progresiei tumorale [4]. Un element deosebit de important este interacțiunea dintre lactat și sistemul imunitar. Studiile analizate estimează că lactatul inhibă activitatea limfocitelor T citotoxice și a celulelor NK, reducând capacitatea organismului de a elimina celulele canceroase [12,15]. Această imunosupresie metabolică reprezintă un mecanism sofisticat de evadare tumorală și explică, cel puțin parțial, eficiența limitată a unor terapii imunologice în anumite tipuri de cancer.

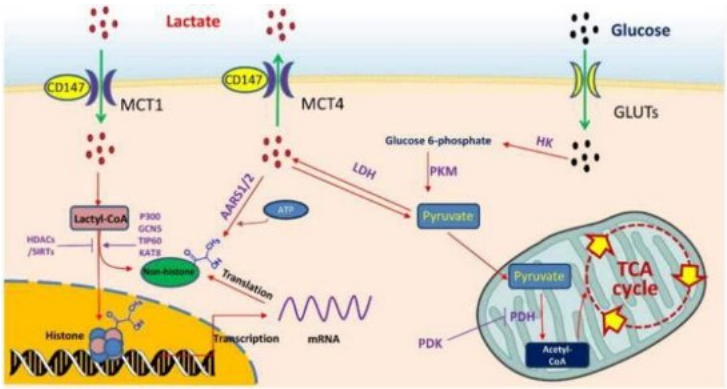


Figura 7. Procesul biochimic al lactilării proteinelor histonice și non-histonice [36].

Reprezentare schematică a căii Lactat → Lactil-CoA → Transferul grupării lactil pe resturile de lisină. Se ilustrează modul în care proteina p300 acționează ca „scriitor" (writer), în timp ce HDAC1-3 și SIRT1-3 funcționează ca „radiere" (erasers), menținând dinamica acestui marcaj epigenetic.

Din punct de vedere molecular, procesele de lactilare deschid o direcție complet nouă în înțelegerea legăturii dintre metabolism și epigenetică. Lactilarea histonelor demonstrează că lactatul poate influența direct expresia genică, activând gene implicate în angiogeneză, inflamație și adaptare la hipoxie [9,22]. Această descoperire este deosebit de relevantă, deoarece sugerează existența unui mecanism prin care modificările metabolice sunt transformate în modificări stabile ale fenotipului celular. Totuși, trebuie de subliniat faptul că mecanismele exacte ale lactilării nu sunt încă pe deplin elucidate. De exemplu, nu este clar în ce măsură lactilarea acționează independent sau în sinergie cu alte modificări epigenetice, precum acetilarea sau metilarea histonelor [21]. Această limitare evidențiază necesitatea unor studii suplimentare care să investigheze interacțiunile dintre diferitele tipuri de modificări post-translaționale.

Un alt aspect relevant îl reprezintă heterogenitatea tumorală. Rezultatele sugerează că intensitatea dezechilibrelor acido-bazice și nivelul lactilării pot varia semnificativ în funcție de tipul tumorii, stadiul bolii și condițiile microambientului tumoral, cum ar fi hipoxia [13,16]. Această variabilitate favorizează dezvoltarea unor strategii terapeutice universale și subliniază importanța medicinei personalizate. În ceea ce privește implicațiile terapeutice, rezultatele susțin ideea că intervențiile asupra metabolismului lactatului pot avea un impact semnificativ asupra progresiei cancerului. Inhibitorii transportorilor de lactat, precum cei care vizează MCT1 și MCT4, reprezintă o direcție promițătoare, deoarece pot reduce acidifierea microambientului tumoral și pot restabili funcția imună [17]. În plus, modularea pH-ului tumoral sau utilizarea unor agenți tampon ar putea contribui la îmbunătățirea eficienței terapiilor convenționale.

Din perspectivă critică, considerăm că una dintre cele mai importante implicații ale acestor rezultate este necesitatea integrării metabolismului în strategia generală de tratament anticancerigen. Abordările actuale se concentrează predominant pe ținte genetice sau moleculare, însă ignorarea componentelor metabolice poate limita eficiența acestora. Integrarea terapiilor metabolice cu imunoterapia și terapiile țintite ar putea reprezenta o direcție esențială pentru viitor. De asemenea, trebuie de menționat că majoritatea studiilor analizate sunt realizate pe modele experimentale, ceea ce limitează aplicabilitatea directă a rezultatelor în practica clinică. Sunt necesare studii clinice bine controlate pentru a valida rolul lactatului și al lactilării ca ținte terapeutice și biomarkeri prognostici. Discuțiile evidențiază faptul că dezechilibrele acido-bazice și procesele de lactilare reprezintă componente esențiale ale biochimiei tumorale, cu implicații majore la nivel terapeutic.

Concluzii

Analiza biochimică a dezechilibrelor acido-bazice și a proceselor de lactilare în patologia cancerului evidențiază o interdependență complexă între metabolismul tumoral, reglarea epigenetică și adaptarea celulară la condițiile microambientului tumoral. Rezultatele prezentate demonstrează că modificările metabolice caracteristice celulelor canceroase nu reprezintă doar o consecință a transformării maligne, ci și un mecanism activ care asigură progresia tumorală și rezistența la tratament. Unul dintre cele mai importante aspecte evidențiate este rolul central al lactatului în organizarea și menținerea microambientului tumoral. Producția crescută de lactat, determinată de glicoliza aerobă (efectul Warburg), contribuie la acidifierea mediului extracelular și la crearea unui gradient de pH favorabil proliferării celulelor tumorale. Această inversare a echilibrului acido-bazic nu doar că asigură activitatea metabolică a celulelor canceroase, dar influențează și interacțiunile acestora cu mediul înconjurător, inclusiv cu sistemul imunitar și matricea extracelulară.

În același timp, s-a evidențiat faptul că lactatul depășește statutul de simplu produs metabolic, acționând ca un mediator biochimic cu rol reglator. Procesele de lactilare, descrise relativ recent, reprezintă o dovadă sugestivă a legăturii directe dintre metabolism și controlul expresiei genice. Prin modificarea histonelor, lactilarea influențează activarea unor gene

implicate în proliferare, angiogeneză și adaptarea la hipoxie, contribuind astfel la menținerea unui fenotip tumoral agresiv. Un alt element esențial subliniat în cadrul studiului este impactul dezechilibrelor acido-bazice asupra răspunsului imun. Acidifierea microambientului tumoral și acumularea lactatului determină inhibarea funcției celulelor imune efectoare, precum limfocitele T și celulele natural killer (NK), favorizând evadarea tumorală.

Această interacțiune metabolică între celulele tumorale și sistemul imun evidențiază complexitatea mecanismelor prin care cancerul reușește să se dezvolte și să se mențină în organism. De asemenea, rezultatele sugerează că procesele metabolice, epigenetice și inflamatorii sunt profund interconectate. Dezechilibrele acido-bazice nu acționează izolat, ci în sinergie cu hipoxia, stresul oxidativ și semnalizarea inflamatorie, contribuind la remodelarea continuă a microambientului tumoral. Această perspectivă integrativă este esențială pentru înțelegerea dinamicii cancerului și pentru identificarea unor noi ținte terapeutice. Din punct de vedere aplicativ, concluziile studiului susțin importanța dezvoltării unor strategii terapeutice care să vizeze metabolismul tumoral. Intervențiile orientate către reducerea producției de lactat, inhibarea transportorilor de lactat sau reglarea pH-ului tumoral pot avea un impact semnificativ asupra progresiei bolii. În plus, modularea proceselor de lactilare reprezintă o direcție inovatoare, cu potențial în terapia epigenetică a cancerului.

Totuși, trebuie de menționat că, în ciuda progreselor semnificative din domeniu, există încă numeroase limitări în înțelegerea completă a acestor mecanisme. Majoritatea datelor disponibile provin din studii experimentale, iar aplicabilitatea clinică necesită validare suplimentară prin studii clinice extinse. De asemenea, heterogenitatea tumorilor impune dezvoltarea unor abordări personalizate, adaptate particularităților fiecărui pacient. În viitor, abordările terapeutice eficiente vor trebui să combine țintirea mecanismelor genetice, epigenetice și metabolice într-un model unificat. Ignorarea componentei metabolice poate limita eficiența tratamentelor actuale, în timp ce includerea acesteia poate deschide perspective semnificative pentru îmbunătățirea prognosticului pacienților.

În ansamblu, dezechilibrele acido-bazice și procesele de lactilare se conturează ca determinanți majori ai biochimiei tumorale, influențând simultan metabolismul, expresia genică și interacțiunile din microambientul tumoral. Înțelegerea aprofundată a acestor mecanisme asigură un fundament solid pentru dezvoltarea unor strategii terapeutice inovatoare, orientate spre controlul metabolismului tumoral și reglarea epigenetică, cu potențial de a transforma abordarea modernă a tratamentului anticancerigen.

Referințe:

1. Vander Heiden M.G., Cantley L.C., Thompson C.B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science; 2009; 324(5930):1029–1033.
2. Liberti M.V., Locasale J.W. The Warburg effect: how does it benefit cancer cells? Trends Biochem Sci; 2016; 41(3):211–218.
3. Pavlova N.N., Thompson C.B. The emerging hallmarks of cancer metabolism. Cell Metab; 2016; 23(1):27–47.
4. Gillies R.J., Verduzco D., Gatenby R.A. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. Cancer Res; 2008; 68(5):1114–1122.
5. Webb B.A., Chimenti M., Jacobson M.P., Barber D.L. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression. Nat Rev Cancer; 2011; 11(9):671–677.
6. Reshkin S.J., Cardone R.A., Harguindey S. Na^+/H^+ exchanger, pH regulation and cancer. Nat Rev Cancer; 2014; 14(5):323–335.
7. Halestrap A.P. The monocarboxylate transporter family. J Physiol; 2012; 590(11):2819–2830.
8. Parks S.K., Chiche J., Pouysségur J. pH control mechanisms of tumor survival. Nat Rev Cancer; 2013; 13(9):611–623.
9. Zhang D., Tang Z., Huang H., et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. Nature; 2019; 574(7779):575–580.

10. Brooks G.A. Lactate as a fulcrum of metabolism. Cell Metab; 2020; 31(5):923–938.
11. Pan R.Y., He L., Zhang J., Liu X. Lactylation: a novel epigenetic modification in cancer. Oncogene; 2020; 39(12):2345–2356.
12. Colegio O.R., Chu N.Q., Szabo A.L., et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. Nature; 2014; 513(7519):559–563.
13. Schito L., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors: master regulators of cancer progression. Trends Cancer; 2016; 2(12):758–770.
14. Estrella V., Chen T., Lloyd M., et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives invasion. Cancer Res; 2013; 73(5):1524–1535.
15. Fischer K., Hoffmann P., Voelkl S., et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. Blood; 2007; 109(9):3812–3819.
16. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. Cell; 2012; 148(3):399–408.
17. Payen V.L., Mina E., Van Hée V.F., Porporato P.E., Sonveaux P. Monocarboxylate transporters in cancer. Nat Rev Cancer; 2020; 20(6):383–403.
18. Hirschhaeuser F., Sattler U.G., Mueller-Klieser W. Lactate: a metabolic key player in cancer. Biochem J; 2011; 435(3):581–591.
19. San-Millán I., Brooks G.A. Reexamining cancer metabolism: lactate production. Cell Metab; 2017; 26(3):538–547.
20. de la Cruz-López K.G., Castro-Muñoz L.J., Reyes-Hernández D.O., et al. Lactate in the regulation of tumor microenvironment. Int J Mol Sci; 2019; 20(21):1–20.
21. Zhao Y., Garcia B.A. Comprehensive catalog of histone modifications. Nat Rev Mol Cell Biol; 2021; 22(6):337–351.
22. Chen Y., Sprung R., Tang Y., et al. Lysine lactylation is a key epigenetic modification. Mol Cell; 2021; 81(17):3567–3581.
23. Faubert B., Solmonson A., DeBerardinis R.J. Metabolic reprogramming in cancer. Science; 2017; 356(6337):eaal738.
24. Kim J.W., Dang C.V. Cancer's molecular sweet tooth. Cancer Res; 2006; 66(18):8927–8930.
25. Vander Heiden M.G. Targeting cancer metabolism. Nat Rev Drug Discov; 2011; 10(9):671–684.
26. Corbet C., Feron O. Tumour acidosis: from microenvironment to therapy. Nat Rev Cancer; 2017; 17(10):577–593.
27. Boedtkjer E., Pedersen S.F. The acidic tumor microenvironment. Nat Rev Cancer; 2020; 20(8):413–429.
28. Lee D.C., Sohn H.A., Park Z.Y., et al. A lactate-induced response to hypoxia. Cancer Cell; 2015; 28(3):295–309.
29. Wang Y., Guo Y.R., Liu K., et al. KAT2A coupled with lactate metabolism. Cell; 2020; 181(4):1079–1095.
30. Rofstad E.K., Mathiesen B., Kindem K., Galappathi K. Acidic extracellular pH promotes experimental metastasis of human melanoma cells in athymic nude mice. Cancer Res; 2016; 66(13):6699–6707.
31. Chen, J., Huang, Z., Chen, Y. et al. Lactate and lactylation in cancer. Sig Transduct Target Ther 10, 38 (2025). https://doi.org/10.1038/s41392-024-02082-x
32. Di Fiore, Anna & Supuran, Claudiu & Scaloni, Andrea & De Simone, Giuseppina. (2022). Post-translational modifications in tumor-associated carbonic anhydrases. Amino Acids. 54. 1-16. 10.1007/s00726-021-03063-y.
33. Qu, Junxing & Li, Peizhi & Sun, Zhiheng. (2023). Histone lactylation regulates cancer progression by reshaping the tumor microenvironment. Frontiers in Immunology. 14. 10.3389/fimmu.2023.1284344.
34. Goodwin, Matthew & Gladden, L. & Nijsten, Maarten & Jones, Kevin. (2015). Lactate and Cancer: Revisiting the Warburg Effect in an Era of Lactate Shuttling. Frontiers in Nutrition. 1. 10.3389/fnut.2014.00027.
35. Mathew, Marilyn & Nguyen, Nhi & Bhutia, Yangzom & Sivaprakasam, Sathish & Ganapathy, Vadivel. (2024). Metabolic Signature of Warburg Effect in Cancer: An Effective and Obligatory Interplay between Nutrient Transporters and Catabolic/Anabolic Pathways to Promote Tumor Growth. Cancers. 16. 504. 10.3390/cancers16030504.

36. Hu, X. T., Wu, X. F., Xu, J. Y., & Xu, X. (2025). Lactate-mediated lactylation in human health and diseases: Progress and remaining challenges. Journal of advanced research, 75, 229–248. https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.11.010

Date despre autori:



Cristea DANIEL, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cristeadaniel447@gmail.com
ORCID: 0009-0005-0613-3933



Veronica SARDARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, asistent universitar, cercetător științific superior.
e-mail: veronica.sardari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-1047-9145



Dionisie CEBOTARI, Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Student
e-mail: cebotaridionisie@gmail.com
ORCID: 0009-0005-1955-1261



Nadejda RAILEAN, Laboratorul de Sistematică și Filogenie Moleculară, Institutul de Zoologie. Universitatea de Stat din Moldova
Cercetător științific
e-mail: nadejdarailean@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-7818-9200



Silvia STRATULAT,
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
Doctor în științe medicale, conferențiar universitar.
e-mail: silvia.stratulat@usmf.md
ORCID: 0000-0003-0985-307X



Lilia TACU, Catedra de Patologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemitanu, Republica Moldova
e-mail: lilia.tacu@usmf.md
ORCID: 0000-0003-0940-2527



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, Chișinău, Republica Moldova
E-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

CZU: 628.3:66.094.3:547.56 https://doi.org/10.59295/mabt2026.32

PROCESE DE OXIDARE AVANSATĂ A COLORANTULUI ROȘU DIRECT 81. OPTIMIZAREA PARAMETRILOR FIZICO-CHIMICI ȘI MECANISME COMPETITIVE ÎN PREZENȚA UNUI FENOLUL

Larisa MOCANU, Maria GONȚA, Rafaela PLEȘCA

Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

Studiul investighează degradarea colorantului azoic Roșu Direct 81 (RD_{81}) prin procesul Fenton, cu accent pe optimizarea parametrilor operaționali și efectele mecanismelor competitive. Au fost evaluate influențele pH-ului (2,5–4,0), concentrațiilor de Fe^{2+} (2,8–11,2 mg/L) și H_2O_2 (17–102 mg/L), precum și prezența acidului galic (0–10 mg/L). Cinetica procesului este descrisă adecvat de un model de pseudo-ordin I ($R^2 \geq 0,98$), presupunând o stare cvasi-staționară a radicalilor hidroxil. Condițiile optime (pH 2,5; $[Fe^{2+}]_0$ = 5,6 mg/L; $[H_2O_2]_0$ = 102 mg/L) conduc la o eficiență de degradare de 99,4% în 60 min. Acidul galic manifestă un efect inhibitor pronunțat, reducând eficiența până la 9,2% (10 mg/L), prin captarea radicalilor •OH și complexarea ionilor de fier. Rezultatele evidențiază rolul competiției pentru speciile reactive în sisteme multicomponente.

Cuvinte-cheie: procese de oxidare avansată, Fenton, colorant Roșu Direct 81, acid galic, radicali hidroxil, cinetică.

ADVANCED OXIDATION PROCESSES OF DIRECT RED 81 DYE: OPTIMIZATION OF PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS AND COMPETITIVE MECHANISMS IN THE PRESENCE OF PHENOL

Abstract

This study investigates the degradation of the azo dye Direct Red 81 (DR_{81}) via the Fenton process, focusing on operational parameter optimization and competitive reaction mechanisms. The effects of pH (2.5–4.0), Fe^{2+} concentration (2.8–11.2 mg/L), H_2O_2 (17–102 mg/L), and gallic acid (0–10 mg/L) were evaluated. The degradation kinetics follows a pseudo-first-order model ($R^2 \geq 0.98$), assuming a quasi-steady-state concentration of hydroxyl radicals. Optimal conditions (pH 2.5; Fe^{2+} 5.6 mg/L; H_2O_2 102 mg/L) yielded 99.4% removal within 60 minutes. Gallic acid exhibited a strong inhibitory effect, decreasing efficiency to 9.2% at 10 mg/L due to hydroxyl radical scavenging and iron complexation. The results highlight the critical role of competitive interactions for reactive species in multicomponent aqueous systems.

Keywords: advanced oxidation processes, Fenton, Direct Red 81, phenol, gallic acid, hydroxyl radicals, kinetics.

Introduceere

Industria textilă reprezintă unul dintre sectoarele economice cu cel mai mare consum de apă şi, implicit, cu o generare semnificativă de ape uzate contaminate cu coloranţi sintetici. La nivel global, producţia anuală de coloranţi depăşeşte 700.000 de tone, dintre care aproximativ 60–70% sunt coloranţi azoici [1, p. 8]. Aceşti compuşi se caracterizează prin prezenţa uneia sau mai multor grupări cromofore azo (–N=N–), care conferă stabilitate chimică şi rezistenţă la degradare. Din nefericire, aproximativ 10–15% din coloranţii utilizaţi în procesele de vopsire ajung în efluenţii industriali, fie sub formă nemodificată, fie sub formă de produşi de hidroliză [2, p. 12].

Impactul ecologic al coloranţilor azoici este semnificativ. Datorită stabilităţii lor, aceştia persistă în mediul acvatic, reducând pătrunderea luminii solare şi, prin urmare, afectând

procesele de fotosinteză ale plantelor acvatice. În plus, produsele lor de degradare (amine aromatice) sunt adesea toxice, mutagene sau cancerigene. Metodele convenţionale de epurare a apelor uzate – coagulare, floculare, sedimentare, adsorbţie pe cărbune activ – nu sunt suficient de eficiente pentru îndepărtarea completă a coloranţilor azoici. Studiile raportează o eficienţă de îndepărtare de doar 45–50% prin aceste metode [2, p. 12]. Adsorbţia, de exemplu, transferă poluantul dintr-o fază în alta (din apă pe cărbune), fără a-l distruge, generând un deşeu solid secundar care necesită eliminare costisitoare.

În acest context, procesele de oxidare avansată (AOP – Advanced Oxidation Processes) au atras un interes considerabil în ultimele decenii. Principiul comun al AOP-urilor îl constituie generarea in situ a radicalilor hidroxil (•OH), specii chimice cu un potenţial redox extrem de ridicat ($E° = 2,80$ V), depăşind cu mult pe cel al clorului ($E° = 1,36$ V) sau al ozonului ($E° = 2,07$ V) [3, p. 224]. Radicalii OH sunt oxidanţi neselectivi, capabili să atace practic orice moleculă organică, inclusiv coloranţii azoici recalcitranţi.

Printre numeroasele variante de AOP-uri (fotoliză UV/H_2O_2, ozonare, oxidare fotocatalitică cu TiO_2), procesul Fenton omogen se remarcă prin simplitatea sa şi prin costurile relativ reduse. Procesul Fenton clasic se bazează pe reacţia dintre ionii feros (Fe^{2+}) şi peroxidul de hidrogen (H_2O_2) în mediu acid [4, p. 89] (ec. 1-2):

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO\bullet + OH^- \quad (1)$$

Ionii Fe^{3+} rezultaţi pot fi reoxidaţi la Fe^{2+} în prezenţa unui exces de H_2O_2, deşi cu o viteză mai mică:

$$Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{2+} + HOO\bullet + H^+ \quad (2)$$

Radicalii hidroxil generaţi atacă molecula colorantului, ducând la ruperea legăturii azo şi la degradarea ulterioară a fragmentelor aromatice până la produşi mai puţin toxici şi, în final, la CO_2 şi H_2O (mineralizare completă) (*ec.3*):

$$RD_{81} + HO\bullet \rightarrow \text{Produşi intermediari} \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{specii anorganice} \quad (3)$$

Eficienţa procesului Fenton este influenţată puternic de parametrii fizico-chimici: pH-ul soluţiei, concentraţia ionilor de Fe^{2+} şi concentraţia H_2O_2. Valoarea pH-ului optim este, în general, situat în intervalul 2,5–3,5, deoarece la $pH > 4$, ionii de Fe^{3+} precipită sub formă de hidroxizi, iar la $pH < 2,5$, peroxidul de hidrogen este protonat, reducând reactivitatea. De asemenea, un exces de Fe^{2+} poate consuma radicalii •OH printr-o reacţie parazită ($Fe^{2+} + \bullet OH \rightarrow Fe^{3+} + OH^-$), iar un exces de H_2O_2 poate acţiona el însuşi ca scavenger ($H_2O_2 + \bullet OH \rightarrow H_2O + HOO\bullet$, unde HOO• are un potenţial redox semnificativ mai scăzut, dependent de pH).

Un aspect adesea neglijat în studiile fundamentale îl constituie prezenţa altor compuşi organici în apele uzate reale. În cazul efluenţilor din industria textilă sau din industria alimentară, pot fi prezenţi polifenoli naturali, precum acidul galic (AG, $C_7H_6O_5$). Acidul galic (3,4,5-trihidroxibenzoic) este cunoscut pentru proprietăţile sale antioxidante (capacitatea de a capta radicalii liberi) dar şi pentru capacitatea de a forma complecşi cu ionii metalici (chelare). Literatura de specialitate raportează un comportament dual al AG în sistemele Fenton: la concentraţii foarte mici (sub 1 mg/L, raport molar $AG : Fe^{2+} < 0,06$), AG poate acţiona ca potenţiator, reducând Fe^{3+} la Fe^{2+} şi regenerând catalizatorul; la concentraţii mai mari (raport $AG : Fe^{2+} > 0,1$), proprietăţile antioxidante (scavenger de radicali) domină, inhibând procesul de degradare [6, p. 10].

Colorantul ales pentru acest studiu, Roşu Direct 81 este un azo-colorant bis-monoclorotriazinic, cu formula moleculară $C_{29}H_{19}N_5Na_2O_8S_2$ şi masa molară de 675,6 g/mol. Acesta conţine două legături azo şi grupe auxocrome $–SO_3Na$, –OH şi –NH–, care îi conferă solubilitate în apă şi afinitate pentru fibrele textile. Datorită acestor proprietăţi este utilizat pe scară largă în vopsirea bumbacului, viscozei, hârtiei şi a materialelor pe bază de colagen. Concentraţia iniţială acolorantului în toate experimentele a fost fixată la 25 mg/L ($3,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L), o valoare reprezentativă pentru efluenţii reali din industria textilă [7, p. 6187].

Scopul lucrării este dublu și vizează, în mod integrat, optimizarea procesului Fenton și evaluarea interferențelor organice associate.

Ipoteza centrală a lucrării este că AG va manifesta un efect inhibitor la concentraţiile studiate (2,5–10 mg/L, raport molar AG : Fe^{2+} = 0,15–0,59), datorită predominării proprietăţilor antioxidante (scavenging de radicali •OH) asupra celor de reducere a ionilor Fe^{3+}. Rezultatele obţinute sunt relevante pentru proiectarea sistemelor de tratare a apelor uzate industriale care conţin atât coloranţi azoici, cât şi polifenoli naturali sau sintetici.

Materiale și metode

Reactivi și soluții

Au fost utilizați reactivi de puritate analitică: colorantul azoic Roșu Direct 81 (RD_{81}, ≥98%), acid galic AG (≥99%), peroxid de hidrogen H_2O_2 (30% m/m), sulfatul de fier(II) și amoniu hexahidrat $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (≥99,5%), acid sulfuric (96%) și hidroxid de sodiu (1 M).

Soluția stoc (1,00 g/L) a fost obținută prin dizolvarea gravimetrică a colorantului în apă deionizată, urmată de agitare timp de 30 min. Stabilitatea a fost limitată la 7 zile (4°C, întuneric). Soluțiile inițiale au fost preparate cu apă deionizată, în vederea minimizaării speciilor interferente cu rol de scavenger de radicali. Toate soluțiile au fost păstrate la întuneric, la 22±1°C, pentru a preveni degradarea fotochimică și descompunerea peroxidului de hidrogen.

Procedura experimentală

Studiile experimentale pentru oxidarea omogenă s-au efectuat în reactoare tip deschis din sticlă borosilicată, cu un volum de lucru de 250 mL, la temperatura camerei (22 ± 2°C). Experimental, procesul de degradare a colorantului azoic s-a realizat prin aplicarea procesului Fenton, iar reagenții s-au adăugat în următoarea ordine: soluția de lucru cu concnetrația prestabilită de colorant, soluția de ioni Fe^{2+} în concentrație prestabilită și s-a reajustat pH-ul cu ajutorul pH-metrului Consort C3030, folosindu-se soluție de H_2SO_4 (1 N). Agitarea a fost prelungită pentru 60 s cu ajutorul agitatorului magnetic MSH-20D (500 rpm) și, ulterior, s-a adăugat oxidantul H_2O_2 în concentrație prestabilită. Asemănător s-a realizat procesul de oxidare a colorantului în prezența acidului galic. Acidul galic a fost adăugat în concentrații de 0–10 mg/L. Parametrii investigați sunt prezentați în Tabelul 1.

Tabelul 1. Parametrii fizico-chimici investigați

Nr.	Parametru	Valorile studiate
1	$[RD_{81}]_0$	25 mg/L
2	pH	2,5; 3,0; 3,5; 4,0
3	$[Fe^{2+}]_0$	2,8; 5,6; 11,2 mg/L
4	$[H_2O_2]_0$	17; 34; 102 mg/L
5	$[AG]_0$	0; 2,5; 10,0 mg/L
6	Timp de reacție	0-60 min

Momentul adăugării H_2O_2 a fost considerat timpul zero al reacţiei (t = 0). La intervale regulate de timp (0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 minute), au fost prelevate probe de 5 mL din reactor și s-a determinat concentrația remanentă a susbtratului Ct.

Determinarea eficienței

Concentrația reziduală (Ct) a fost calculată din absorbanță, iar eficiența degradării s-a determinat conform relației 4:

$$E\ (\%) = [(C_0 - Ct)/C_0] \times 100 \qquad (4)$$

Metoda permite evaluarea directă a decolorării, fără a furniza informații asupra gradului de mineralizare. Determinările spectrofotometrice au fost efectuate cu ajutorul spectrofotometrului UV/Vis T80+ dotat cu soft de înregistrare a spectrelor și de prelucrare a datelor.

Spectrofotometria s-a aplicat pentru determinarea concentrației remanente a catecolului după maximul de absorbție (Ct).

Determinarea concentrației colorantului s-a realizat spectrofotometric la λmax = 510 nm. Curba de calibrare s-a realizat în intervalul de concentrații (0–50 mg/L) și a prezentat linearitate excelentă (R^2 = 0,9998) după legea Lambert-Beer, conform relației: A = 0,02048 · C + 0,0003. Precizia metodei a fost confirmată prin coeficienți de variație <3%. Concentrațiile remanente au fost calculate prin interpolare liniară.

Analiza cinetică

Degradarea catecolului din soluțiile apoase prin aplicarea proceselor de oxidare avansată (AOPs) a fost estimată prin studierea cineticii procesului catalitic (vitezele de reacție (Δc/Δt, $molL^{-1}s^{-1}$), determinarea constantelor de viteză (k, min^{-1}) și a mecanismelor de oxidare în funcție de diferiți parametri fizico-chimici. Datele experimentale au fost modelate printr-o cinetică de ordinul pseudo-1 (ec.5), presupunând o stare cvasi-staționară a radicalilor OH. Ecuația integrată utilizată a fost:

$$\ln(C_0/Ct) = k \cdot t \qquad (5)$$

Constanta aparentă de viteză (k) a fost determinată prin regresie liniară (metoda celor mai mici pătrate). S-au calculat eroarea standard, intervalele de încredere (95%) și coeficientul de determinare (R^2).

Rezultate și discuții

Optimizarea parametrilor sistemului Fenton pentru degradarea DR81

Prima serie de experimente a vizat determinarea concentraţiei optime de ioni Fe^{2+}, menţinând constant pH-ul la 2,5, concentraţia H_2O_2 la 34 mg/L ($1,0 \cdot 10^{-3}$ mol/L) şi concentraţia iniţială a colorantului la 25 mg/L ($3,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L). Au fost testate trei concentraţii: 2,8 mg/L ($5,0 \cdot 10^{-5}$ mol/L); 5,6 mg/L ($1,0 \cdot 10^{-4}$ mol/L) şi 11,2 mg/L ($2,0 \cdot 10^{-4}$ mol/L). Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 2 şi Figura 3.

Tabelul 2. Influenţa concentraţiei ionilor Fe^{2+} asupra degradării colorantului RD81: pH = 2,5; $[H_2O_2]0 = 1,0 \cdot 10^{-3}$ mol/L; $[RD81]_0 = 3,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L; timp 60 min

$[Fe^{2+}]_0$ (mol/L)	Raport molar $Fe^{2+} : RD_{81}$	k ± SE (min^{-1})	IC_{95} (min^{-1})	R^2	E (%)
$5,0 \cdot 10^{-5}$	1,35:1	0,045 ± 0,004	0,037–0,053	0,98	91,6
$1,0 \cdot 10^{-4}$	2,70:1	0,085 ± 0,003	0,079–0,091	0,99	94,5
$2,0 \cdot 10^{-4}$	5,41:1	0,072 ± 0,005	0,062–0,082	0,97	86,5

În baza datelor expuse în tabelul 2, se observă că la concentraţia de 2,8 mg/L Fe^{2+}, constanta de viteză k = 0,045 min^{-1}, iar eficienţa după 60 de min a fost de 91,6%, corespunzând unei concentraţii reziduale de colorant de 2,10 mg/L. Raportul molar $Fe^{2+} : RD_{81}$ = 1,35:1 este suficient pentru iniţierea reacţiei, dar limitat. Creşterea concentraţiei de la 5,6 mg/L Fe^{2+} a condus la o constantă k = 0,085 min^{-1} (o creştere de 89% faţă de 2,8 mg/L) şi o eficienţă de 94,5% (C_t = 1,38 mg/L). Raportul molar $Fe^{2+} : RD_{81}$ = 2,70:1 reprezintă un exces moderat, optim pentru generarea radicalilor OH fără a induce reacţii parazite semnificative. La concentraţia de 11,2 mg/L Fe^{2+}, constanta de viteză a scăzut la 0,072 min^{-1}, iar eficienţa a scăzut la 86,5% (C_t = 3,38 mg/L). Deşi viteza iniţială a reacţiei a fost mai mare, eficienţa finală a fost inferioară. Acest comportament se explică prin reacţia parazită (7), în care Fe^{2+} în exces consumă radicalii OH (*ec.6*):

$$Fe^{2+} + \bullet OH \rightarrow Fe^{3+} + OH^- \qquad (6)$$

Această reacţie are o constantă de viteză de ordinul 10^8 $M^{-1}s^{-1}$ [9, p. 520], comparabilă cu cea a reacţiei dintre •OH şi RD_{81}. La raportul molar $Fe^{2+} : RD_{81}$ = 5,41:1, o fracţiune

semnificativă din radicalii OH este consumată de ionii Fe^{2+} în loc să atace colorantul. Prin urmare, concentraţia optimă de ioni Fe^{2+} a fost stabilită la 5,6 mg/L ($1{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L).

Influenţa concentraţiei H_2O_2

A doua serie de experimente a vizat determinarea concentraţiei optime de H_2O_2, menţinând valoarea pH= 2,5, $[Fe^{2+}]_0$ = 5,6 mg/L ($1{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L) şi $[RD_{81}]_0$ = 25 mg/L ($3{,}7 \cdot 10^{-5}$ mol/L). Au fost testate trei concentraţii: 17 mg/L ($5{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L); 34 mg/L ($1{,}0 \cdot 10^{-3}$ mol/L) şi 102 mg/L ($3{,}0 \cdot 10^{-3}$ mol/L). Datele experimentale sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Influenţa concentraţiei H_2O_2 asupra degradării colorantului RD_{81}: pH = 2,5; $[Fe^{2+}]$ = $1{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L; $[RD_{81}]_0 = 3{,}7 \cdot 10^{-5}$ mol/L; timp 60 min

$[H_2O_2]_0$ (mol/L)	Raport molar $H_2O_2 : Fe^{2+}$	k ± SE (min^{-1})	IC_{95} (min^{-1})	R^2	E (%)
$5{,}0 \cdot 10^{-4}$	5:1	0,028 ± 0,003	0,022–0,034	0,98	81,1
$1{,}0 \cdot 10^{-3}$	10:1	0,085 ± 0,003	0,079–0,091	0,99	96,9
$3{,}0 \cdot 10^{-3}$	30:1	0,090 ± 0,002	0,086–0,094	0,99	99,4

Sistemul oxidat cu 17 mg/L H_2O_2 are o constanta de viteză k = 0,028 min^{-1}, iar eficienţa a fost de 81,1% (C_t = 4,73 mg/L). Raportul molar $H_2O_2 : Fe^{2+}$ = 5:1 este insuficient pentru a genera o cantitate semnificativă de radicali •OH pe toată durata reacţiei. H_2O_2 este consumat rapid, iar după epuizarea sa, reacţia încetează. La 34 mg/L H_2O_2, constanta de viteză a crescut la 0,085 min^{-1}, iar eficienţa la 96,9% (C_t = 0,78 mg/L). Raportul molar $H_2O_2 : Fe^{2+}$ = 10:1 este considerat optim în literatura de specialitate pentru procesul Fenton [4, p. 15], asigurând un exces suficient pentru generarea continuă a radicalilor •OH. La 102 mg/L H_2O_2, constanta de viteză a atins valoarea maximă de 0,090 min^{-1}, iar eficienţa a fost de 99,4% (C_t = 0,15 mg/L). Raportul molar $H_2O_2 : Fe^{2+}$ = 30:1 reprezintă un exces semnificativ, care poate începe să inducă reacţia parazită (*ec.7*):

$$H_2O_2 + \bullet OH \rightarrow H_2O + HOO\bullet \qquad (7)$$

Radicalul HOO• (pKa = 4,8; la pH 2,5 predomină forma protonată $HO_2\bullet$) are un potenţial redox semnificativ mai scăzut ($E°(HO_2\bullet/H_2O_2)$ = 1,2–1,5 V, dependent de pH) comparativ cu •OH (E° = 2,80 V) şi nu degradează eficient coloranţii azoici [9, p. 525]. Creşterea constantei de viteză de la 0,085 la 0,090 min^{-1} este modestă, sugerând că la 102 mg/L H_2O_2 ne aflăm aproape de limita superioară a efectului benefic. Concentraţia optimă de H_2O_2 a fost stabilită la 102 mg/L ($3{,}0 \cdot 10^{-3}$ mol/L).

Influenţa pH-ului

A treia serie de experimente a vizat influenţa pH-ului asupra eficienţei degradării, menţinând $[Fe^{2+}]_0$ = 5,6 mg/L ($1{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L), $[H_2O_2]_0$ = 34 mg/L ($1{,}0 \cdot 10^{-3}$ mol/L) şi $[RD_{81}]_0$ = 25 mg/L ($3{,}7 \cdot 10^{-5}$ mol/L). Au fost testate pH-urile 2,5; 3,0; 3,5 şi 4,0. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 4 şi Figura 7.

Tabelul 4. Influenţa pH-ului asupra degradării colorantului RD_{81}: $[Fe^{2+}]_0 = 1{,}0 \cdot 10^{-4}$ mol/L; $[H_2O_2]_0 = 1{,}0 \cdot 10^{-3}$ mol/L; $[RD_{81}]_0 = 3{,}7 \cdot 10^{-5}$ mol/L; timp 60 min

pH	k ± SE (min^{-1})	IC_{95} (min^{-1})	R^2	E (%)
2,5	0,085 ± 0,003	0,079–0,091	0,99	94,5
3,0	0,019 ± 0,002	0,015–0,023	0,98	67,9
3,5	0,014 ± 0,002	0,010–0,018	0,97	58,7
4,0	0,016 ± 0,003	0,010–0,022	0,96	65,8

Eficienţa maximă (94,5%) a fost înregistrată la pH 2,5. Creşterea pH-ului la 3,0 a redus constanta de viteză la 0,019 min^{-1} (o scădere de 78%) şi eficienţa la 67,9%. La pH 3,5, eficienţa a scăzut la 58,7%, iar la pH 4,0 s-a înregistrat o uşoară creştere la 65,8%, posibil datorită unei erori experimentale (abaterea standard mai mare, $R^2 = 0,96$). Scăderea drastică a eficienţei la pH > 3,0 se datorează a două fenomene interdependente, pe de-o parte are loc precipitarea ionilor Fe^{3+}. La pH > 3,5, ionii Fe^{3+} precipită sub formă de hidroxid feric amorf $Fe(OH)_3$ (produs de solubilitate $K_{sp} \approx 10^{-39}$). Această precipitare elimină catalizatorul din soluţie şi împiedică reacţia (2) de regenerare a Fe^{2+}. Pe de altă parte, peroxidul de hidrogen se descompune neproductiv în mediu slab alcalin, conform reacţiei (8):

$$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2 \qquad (8)$$

La pH < 2,5, reacţia este de asemenea încetinită din cauza protonării H_2O_2 la $H_3O_2^+$ (pKa (H_2O_2) ≈ 11,6 – de fapt H_2O_2 este un acid slab, iar protonarea are loc la pH foarte scăzut, formând $H_3O_2^+$), care reduce reactivitatea acestuia faţă de Fe^{2+}. Intervalul pH 2,5–3,0 reprezintă optimul pentru sistemul Fenton. Astfle, valorarea de pH = 2,5 a fost selectat ca valoare optimă pentru experimentele ulterioare.

Influenţa acidului galic asupra degradării DR81

După stabilirea parametrilor optimi pentru degradarea DR81 în absenţa altor compuşi organici, s-a investigat influenţa acidului galic (AG). Pentru a putea observa atât efecte inhibitorii, cât şi eventuale efecte potenţiatoare, experimentele au fost realizate în condiţii suboptimale: pH = 2,5; $[Fe^{2+}]_0 = 5,6$ mg/L ($1,0 \cdot 10^{-4}$ mol/L); $[H_2O_2]_0 = 34$ mg/L ($1,0 \cdot 10^{-3}$ mol/L); $[RD_{81}]_0 = 25$ mg/L ($3,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L). În aceste condiţii, eficienţa martor (fără AG) a fost de 48,1% (Ct = 12,98 mg/L) – un nivel care permite detectarea atât a creşterii, cât şi a scăderii eficienţei. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 5.

Tabelul 5. Influenţa concentraţiei acidului galic asupra degradării colorantului RD_{81}: pH = 2,5; $[Fe^{2+}]_0 = 1,0 \cdot 10^{-4}$ mol/L; $[H_2O_2]_0 = 1,0 \cdot 10^{-3}$ mol/L; $[RD_{81}]_0 = 3,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L; timp 60 min

[AG] (mol/L)	Raport molar AG : RD_{81}	Raport molar AG : Fe^{2+}	E (%)	Reducere eficienţă (%)
0	0	0	48,1	—
$1,5 \cdot 10^{-5}$	0,41:1	0,15:1	25,5	47
$5,9 \cdot 10^{-5}$	1,59:1	0,59:1	9,2	81

Acidul galic (3,4,5-trihidroxibenzoic) posedă trei grupe hidroxil fenolice în poziţiile orto faţă de gruparea carboxilică. Aceste grupe –OH sunt donatoare de electroni şi pot reacţiona rapid cu radicalii •OH, prin diferite mecanisme.

Mecanismul 1 – abstractarea hidrogenului (calea principală). Radicalul fenoxil rezultat (AG–O•) este stabilizat prin delocalizarea electronului nepereche pe nucleul aromatic (structuri de rezonanţă). Această delocalizare îi conferă o reactivitate mult mai scăzută comparativ cu •OH. Constanta de viteză pentru reacţia dintre AG şi •OH este de ordinul 10^9–10^{10} $M^{-1}s^{-1}$ [6, p. 12], comparabilă cu cea a fenolului ($1,4 \cdot 10^{10}$ $M^{-1}s^{-1}$).

$$AG–OH + \bullet OH \rightarrow AG–O\bullet + H_2O \qquad (9)$$

Mecanismul 2 – adiţia electrofilă la nucleul aromatic. Acest intermediar poate suferi reacţii ulterioare de disproportionare sau de reacţie cu oxigenul molecular, generând specii reactive secundare ($O_2\bullet^-$, H_2O_2). Totuşi, contribuţia acestei căi la degradarea colorantului azoic este neglijabilă în prezenţa unui exces de AG.

$$AG + \bullet OH \rightarrow AG–OH\bullet \text{ (radical hidroxiciclohexadienil)} \qquad (10)$$

Mecanismul 3 – chelarea ionilor metalici. AG poate forma complecşi stabili de tip galat de fier cu Fe^{2+} şi Fe^{3+}. Constanta de stabilitate a complexului Fe^{3+}–AG este log K ≈ 8–10, indicând

o chelare puternică [6, p. 14]. Formarea acestor complecşi reduce concentraţia ionilor metalici liberi disponibili pentru reacţiile (1) şi (2). La raportul molar $AG : Fe^{2+}$ = 0,59 (pentru 10 mg/L AG), aproximativ 37% din Fe^{2+} poate fi chelat, presupunând o stoichiometrie 1:1. Aceasta reduce semnificativ viteza de generare a radicalilor OH.

Literatura de specialitate [6, p. 10] raportează că la concentraţii foarte mici de AG (sub 1 mg/L, raport molar $AG : Fe^{2+} < 0{,}06$), AG poate acţiona ca potenţiator, prin reducerea Fe^{3+} la Fe^{2+}. Această reacţie accelerează ciclul catalitic Fenton şi creşte concentraţia staţionară de radicali •OH.

$Fe^{3+} + AG \rightarrow Fe^{2+} + AG\bullet$ (radical semichinon) *(11)*

În cadrul experimentelor din această lucrare, cel mai mic raport $AG : Fe^{2+}$ testat a fost 0,15 (2,5 mg/L AG), iar efectul observat a fost net inhibitor (reducere a eficienţei cu 47%). La raportul $AG : Fe^{2+}$ = 0,59 (10 mg/L AG), inhibiţia a fost şi mai puternică (81%). Aceste rezultate indică faptul că pragul dintre efectul potenţiator şi cel inhibitor se situează la un raport molar $AG : Fe^{2+}$ între 0,06 şi 0,15. Determinarea exactă a acestui prag necesită investigarea intervalului de concentraţii AG = 0,5–2,0 mg/L. În baza constantelor de viteză şi a concentraţiilor, se poate estima fracţiunea radicalilor OH consumaţi de AG faţă colorantul studiat. Presupunând că $kAG \approx k_DR81 \approx 10^9\ M^{-1}s^{-1}$ (o aproximaţie rezonabilă), la $[AG]_0$ = 10 mg/L ($5{,}9\cdot10^{-5}$ mol/L) şi $[RD_{81}]_0$ = 25 mg/L ($3{,}7\cdot10^{-5}$ mol/L), raportul vAG /vDR81 ≈ 1,6. Aceasta înseamnă că AG consumă de 1,6 ori mai mulţi radicali OH decât RD_{81}, explicând reducerea drastică a eficienţei.

Tabelul 6. Comparaţia rezultatelor propria cu studiile din literature

Studiu	$[RD_{81}]_0$, (mg/)L	$[Fe^{2+}]_0$, (mg/L)	$[H_2O_2]_0$, (mg/L)	pH	k (min^{-1})	E (%)
Prezentul studiu	25	5,6	102	2,5	0,090	99,4
Marson et al. (2017) [7]	50	5,6	170	3,0	0,072	92
Tabelini et al. (2021) [6]	20	5,6	34	3,0	—	30–90*

**în funcţie de concentraţia AG (efect dual*

Datele obținute sunt în concordanţă cu cele raportate de Marson et al. [7] pentru acelaşi colorant RD_{81}. Constanta de viteză uşor mai mare în studiul nostru (0,090 vs. 0,072 min^{-1}) se explică prin pH-ul mai scăzut (2,5 vs. 3,0) şi prin raportul $H_2O_2 : Fe^{2+}$ mai ridicat (30:1 vs. 30:1 – similar). În studiul lui Marson, concentraţia iniţială a RD_{81} a fost de 50 mg/L (de două ori mai mare), ceea ce explică eficienţa uşor mai scăzută (92% vs. 99,4%). În ceea ce priveşte efectul AG, rezultatele noastre confirmă observaţiile lui Tabelini et al. [6] privind comportamentul dual: la concentraţii moderate spre mari de AG, efectul inhibitor domină.

Concluzii

Procesul Fenton asigură o degradare eficientă a RD_{81} în condiţiile optime: pH = 2,5; $[Fe^{2+}]_0 = 1{,}0\cdot10^{-4}$ mol/L, raport molar Fe^{2+} : RD_{81} = 2,70:1); $[H_2O_2]_0 = 3{,}0\cdot10^{-3}$ mol/L, raport molar H_2O_2 : Fe^{2+} = 30:1. În aceste condiţii, constanta de viteză aparentă k = 0,090 ± 0,002 min^{-1}, iar eficienţa de degradare atinge 99,4% după 60 de minute, corespunzând unei concentraţii reziduale de 0,15 mg/L RD_{81}.

Concentraţiile optime de Fe^{2+} şi H_2O_2 rezultă dintr-un compromis între generarea radicalilor •OH şi evitarea reacţiilor parasite (consum de radicali) şi, respective generare de HOO• cu potenţial redox redus.

Procesul este puternic dependent de vloarea pH-ului, cu un optim în intervalul 2,5–3,0. La pH > 3,5, precipitarea ionilor Fe^{3+} sub formă de hidroxizi şi descompunerea neproductivă a H_2O_2 reduc drastic eficienţa.

Cinetica degradării RD_{81} respectă modelul de ordinal pseudo- 1 ($R^2 \geq 0,98$) în toate condiţiile experimentale, presupunând o stare cvasi-staţionară a radicalilor OH.

Acidul galic manifestă un efect inhibitor pronunţat la concentraţiile de 2,5 mg/L (raport molar $AG : Fe^{2+} = 0,15$) şi 10 mg/L (raport $AG : Fe^{2+} = 0,59$). Inhibiţia este atribuită captării radicalilor •OH (scavenging) de către grupele fenolice ale AG ($k \approx 10^9\ M^{-1}s^{-1}$) şi chelării ionilor Fe^{2+}/Fe^{3+}, cu formarea unor complecşi stabili de tip galat de fier.

Raportul molar $AG : Fe^{2+} = 0,59$ reduce eficienţa degradării RD_{81} de la 48,1% la 9,2% (o scădere de 81%), iar raportul vAG /v $RD_{81} \approx 1,6$ indică o competiţie favorabilă AG pentru radicalii OH.

Rezultatele sunt relevante pentru proiectarea sistemelor de tratare a apelor uzate industriale care conţin atât coloranţi azoici, cât şi polifenoli naturali sau sintetici. În astfel de sisteme, prezenţa AG poate reduce semnificativ eficienţa procesului Fenton, impunând fie un pretratament de îndepărtare a polifenolilor, fie o creştere a dozelor de reactanţi pentru a compensa efectul inhibitor.

Perspective de viitor:

- Investigarea intervalului 0–2 mg/L AG pentru a identifica precis concentraţia (raportul $AG : Fe^{2+}$) la care are loc tranziţia de la efect potenţiator la efect inhibitor.
- Identificarea intermediarilor de reacţie prin HPLC-MS şi evaluarea toxicităţii acestora pe organisme test (Daphnia magna, Vibrio fischeri).
- Determinarea mineralizării prin măsurarea TOC şi COD, pentru a evalua dacă decolorarea corespunde unei degradări complete.
- Testarea pe ape uzate reale din industria textilă, pentru a valida rezultatele în condiţii mai complexe.
- Optimizarea multivariată folosind metodologia suprafeţei de răspuns (RSM) pentru modelarea interacţiunilor dintre parametri.
- Utilizarea variantelor îmbunătăţite ale procesului Fenton (foto-Fenton, electro-Fenton, Fe^0/H_2O_2) pentru a depăşi efectul inhibitor al AG.

Mulțumiri

Acest studiu a fost susținut prin proiectul de cercetare Nr. 010603, Cercetări avansate în chimie computațională și ecologică, identificarea procedurilor tehnologice pentru tratarea, formarea calității și cantității apei, finanțat de ANCD.

Referințe:

1. MATVEECI, V., GONȚA, M., MOCANU, L., DUCA, G., IAMBARȚEV, V. Înlăturarea coloranţilor şi surfactanţilor din apele reziduale textile. Chişinău: CEP USM, 2017, 162 p. ISBN 978-9975-71-980-3.
2. FORGACS, E., CSERHÁTI, T., OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. Environment International, 2004, vol. 30, nr. 7, pp. 953-971. https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.001
3. GLAZE, W. H. Drinking-water treatment with ozone. Environmental Science & Technology, 1987, vol. 21, nr. 3, pp. 224-230. https://doi.org/10.1021/es00157a001
4. PIGNATELLO, J. J., OLIVEROS, E., MACKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2006, vol. 36, nr. 1, pp. 1-84. https://doi.org/10.1080/10643380500326564
5. PAGSBERG, P., BJERGBAKKE, E., SILLESEN, H. Pulse radiolysis studies of the reaction of hydroxyl radicals with phenol. Journal of Physical Chemistry A, 1997, vol. 101, nr. 33, pp. 5947-5952. https://doi.org/10.1021/jp963795k

6. TABELINI, C. H., PABLO, J. P., AGUIAR, L., AGUIAR, A. Gallic acid influence on azo dyes oxidation by Fenton processes. Environmental Technology, 2021, 10 p. https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1909652
7. MARSON, E., VINÍCIUS, A., GONÇALVES, B., OSWALDO, G. Degradation of Direct Red 81 mediated by Fenton reactions: multivariate optimization, effect of chloride and sulfate, and acute ecotoxicity assessment. Environmental Science and Pollution Research, 2017, vol. 24, nr. 7, pp. 6185-6194. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6977-6
8. GUIMARÃES, R., GUEDES, M., NOGUEIRA, R. A comparative study on the degradation of RB-19 dye in an aqueous medium by advanced oxidation processes. Journal of Environmental Management, 2012, vol. 110, pp. 39-45. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.051
9. BUXTON, G. V., GREENSTOCK, C. L., HELMAN, W. P., ROSS, A. B. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals (•OH/•O^-) in aqueous solution. Journal of Physical and Chemical Reference Data, 1988, vol. 17, nr. 2, pp. 513-886. https://doi.org/10.1063/1.555805
10. LE, T. X. H., NGUYEN, T. V., YACOUBA, Z. A., et al. Toxicity removal assessments related to degradation pathways of azo dyes: Toward an optimization of Electro-Fenton treatment. Chemosphere, 2016, vol. 161, pp. 308-318. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.108

Date despre autori:



Larisa MOCANU, doctor în științe chimice, cercetător ştiinţific superior, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova. LCȘ Chimie fizică și cuantică.
e-mail: larisa.mocanu@usm.md, lmdordea@gmail.com
ORCID: 0000-0003-3306-5292



Maria GONŢA, doctor habilitat în chimie, profesor universitar, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: maria.gonta@usm.md, mvgonta@yahoo.com
ORCID:0000-0003-3476-0967



Rafaela PLEȘCA, studentă, anul III, Facultatea de Chimie şi Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: rafi19842003@gmail.com
ORCID: 0009-0006-8032-2138

CZU: 544.142.6:[546.56 + 546.87]:54-3864 https://doi.org/10.59295/mabt2026.33

SINTEZA, STRUCTURA ȘI EVALUAREA BIOLOGICĂ A NOILOR COMPUȘI COORDINATIVI AI Cu(II) ȘI Bi(III) CU LIGANZI MICȘTI: TIOSEMICARBAZONE – AMINOPOLICARBOXILAȚI. O RETROSPECTIVĂ A CERCETĂRILOR RECENTE

Elena NEGUȚA[1,2], Nelea POPA[2], Ion BULIMESTRU[2]

[1]*Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova*
[2]*Departamentul Chimie, Universitatea de Stat din Moldova*

Rezumat

În acest articol este efectuată analiza literaturii de specialitate privind sinteza, structura și proprietățile biologice ale compușilor coordinativi homo- și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu liganzi micști: tiosemicarbazone – aminopolicarboxilați (APC). Cercetările evidențiază obținerea unor polimeri 1D sau rețele 3D asamblate prin intermediul atomilor de oxigen-punte ai liganzilor etilendiamintetraacetat ($edta^{4-}$) sau 1,2-ciclohexandiamintetraacetat ($cdta^{4-}$). Compusul homometalic ai Bi(III) cu 4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei s-a dovedit de 56 de ori mai activ decât etalonul Trolox în testele antioxidante. În domeniul antibacterian, complexul $\{[Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)Bi(edta)]\}\cdot 5H_2O$ a manifestat o activitate de 76 de ori mai mare decât Furacilina împotriva *Staphylococcus aureus*, în timp ce compusul $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)\}_2Cu(edta)\cdot 7H_2O$ a prezentat o eficiență de până la 125 de ori mai ridicată față de bacteriile Gram-pozitive. Totodată, potențialul antifungic este dominat de complexul $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)\}_2Cu(edta)\cdot H_2O$, care este de 32 de ori mai eficient decât Nistatina, și de complexul $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)Bi(edta)\}\cdot 4H_2O$, care depășește de 31,9 ori eficacitatea Fluconazolului.

Cuvinte-cheie: ioni aminopolicarboxilat, tiosemicarbazone, complecși homometalici, complecși heterometalici, cupru(II), bismut(III).

SYNTHESIS, STRUCTURE, AND BIOLOGICAL EVALUATION OF NEW Cu(II) AND Bi(III) COORDINATION COMPOUNDS WITH MIXED LIGANDS: THIOSEMICARBAZONES – AMINOPOLYCARBOXYLATES. A RETROSPECTIVE OF RECENT RESEARCH

Abstract

This article provides a literature review on the synthesis, structure, and biological properties of homo- and heterometallic Cu(II) and Bi(III) coordination compounds with mixed thiosemicarbazone–aminopolycarboxylate (APC) ligands. Research highlights the development of 1D coordination polymers or 3D networks assembled through oxygen-bridge atoms of ethylenediaminetetraacetate ($edta^{4-}$) or 1,2-cyclohexanediaminetetraacetate ($cdta^{4-}$) ligands. The Bi(III) homometallic complex with 2-acetylpyridine 4-phenylthiosemicarbazone proved to be 56 times more active than the Trolox standard in antioxidant assays. In the antibacterial field, the complex $\{[Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)Bi(edta)]\}\cdot 5H_2O$ exhibited 76 times higher activity than Furacilin against *Staphylococcus aureus*, while the $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)\}_2Cu(edta)\cdot 7H_2O$ compound showed up to 125-fold higher efficiency against Gram-positive bacteria. Furthermore, the antifungal potential is dominated by the $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)\}_2Cu(edta)\cdot H_2O$ complex, which is 32 times more potent than Nystatin, and by the $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)Bi(edta)\}\cdot 4H_2O$ complex, which exceeds Fluconazole's efficacy by 31,9 times.

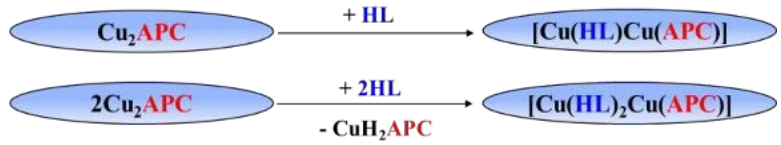
Keywords: aminopolycarboxylate ions, thiosemicarbazones, homometallic coordination compounds, heterometallic coordination compounds, copper(II), bismuth(III).

Introducere

Chimia coordinativă a cunoscut o expansiune remarcabilă în ultimele decenii, fiind propulsată de necesitatea identificării unor noi agenți terapeutici capabili să depășească barierele rezistenței la antibiotice și ale stresului oxidativ. Tiosemicarbazonele derivate de la sistemele heterociclice cu azot, în special cele piridinice, sunt recunoscute pentru capacitatea lor de a coordina o gamă largă de ioni metalici prin intermediul setului de donori NNS, generând complecși cu stabilitate termodinamică ridicată și activitate biologică pronunțată [1]. Literatura de specialitate subliniază că activitatea biologică a acestor liganzi foarte frecvent este amplificată în rezultatul complexării. De exemplu, s-a demonstrat că tiosemicarbazonele piridinice prezintă un mecanism de acțiune bazat pe inhibarea ribonucleotid reductazei, o enzimă critică în replicarea ADN-ului tumoral și bacterian [2]. Mai mult, studiile recente indică faptul că prezența unor ioni de metale precum cuprul(II) facilitează transportul ligandului prin membranele celulare hidrofobe, în timp ce bismutul(III) este din ce în ce mai întrebuințat pentru proprietățile sale gastro-protectoare și sinergice în terapia antimicrobiană [3]. Elementul inovativ abordat în prezenta lucrare constă în utilizarea precursorilor aminopolicarboxilat ($edta^{4-}$, $cdta^{4-}$) pentru a stabiliza complecșii obținuți. Această strategie nu doar că optimizează solubilitatea complecșilor, dar permite și un control riguros asupra arhitecturii moleculare [4].

Metode de sinteză

În calitate de precursori pentru sinteza compușilor homometalici ai Cu(II) cu liganzi micști, au servit complecșii $Cu_2APC{\cdot}4H_2O$, care au fost obținuți conform metodei descrise în literatura de specialitate [5]. Compușii homometalici ai Cu(II) au fost obținuți conform schemei de mai jos:



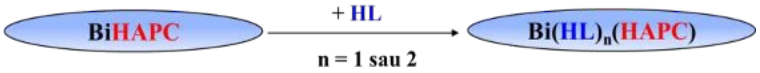
APC = $edta^{4-}$, $cdta^{4-}$

HL = HFoPyTSC-R, HAcPyTSC-R, HBzPyTSC-R; R = CH_3, C_2H_5, C_6H_5

Figura 1. Schema generală de obținere a compușilor homometalici ai Cu(II) cu liganzi micști

Conform schemei de mai sus, au fost obținuți 9 compuși coordinativi homometalici ai Cu(II) cu ioni APC ($edta^{4-}$, $cdta^{4-}$) și tiosemicarbazonele 2-formilpiridinei și cu derivații acesteia.

Ca precursori pentru compușii homometalici ai Bi(III) au fost sintetizați complecșii $Bi(Hedta){\cdot}2H_2O$, $Bi(Hcdta){\cdot}5H_2O$, după metodele descrise în literatura de specialitate [6, 7]. Utilizând acești precursori au fost obținuți 4 complecși homometalici ai Bi(III), conform schemei de mai jos:



APC = $edta^{4-}$, $cdta^{4-}$

HL = HAcPyTSC-R; R = C_2H_5, C_6H_5

Figura 2. Schema generală de obținere a compușilor homometalici ai Bi(III) cu liganzi micști

Compușii heterometalici Cu(II)-Bi(III) cu liganzi micști: tiosemicarbazona-APC au fost sintetizați conform schemei reprezentată în figura 3. Inițial după metodele descrise în literatură au fost obținuți compușii coordinativi $Cu\{Bi(edta)\}_2{\cdot}9H_2O$ și $Cu\{Bi(cdta)\}_2{\cdot}5H_2O$ [8]. După

care, soluțiile apoase ale acestora au reacționat cu soluții alcoolice ale tiosemicarbazonelor respective.



APC = edta^{4-}, cdta^{4-}

HL = HFoPyTSC-R, HAcPyTSC-R, HBzPyTSC-R

R = CH_3, C_2H_5, C_6H_5

Figura 3. Schema generală de obținere a compușilor heterometalici Cu(II)-Bi(III) cu liganzi micști

Compuși homo- și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu liganzi micști: tiosemicarbazona - aminopolicarboxilat

Autorii lucrării [4] au obținut două serii de combinații coordinative homometalice cu tiosemicarbazone ale 2-acetilpiridinei, având diferiți substituenți în poziția N^4. Formulele generale ale acestora sunt {Cu(4XAcpytsc)}$_2$Cu(APC)·nH_2O în cazul Cu(II) și Bi(HAPC)(4XHAcpytsc)$_m$·nH_2O în cazul Bi(III). De asemenea, autorii au obținut și două serii de complecși heterometalici cu formula {Cu(4XAcpytsc)}Bi(APC)·nH_2O cu doi ioni aminopolicarboxilat, unde: n = 1-8; m = 1 sau 2; APC = edta^{4-}, cdta^{4-}. Liganzii utilizați au fost formele monodeprotonate (4XAcpytsc) sau nedeprotonate (4XHAcpytsc) ale 4-etil- sau 4-feniltiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei (Acpytsc). Evaluarea activității antioxidante a evidențiat faptul că cea mai ridicată eficacitate a fost înregistrată în cazul compusului homometalic al Bi(III) cu 4-feniltiosemicarbazona 2-acetipiridinei și edta^{4-}, cu o valoare IC_{50} = 0,71 μM. Acest complex s-a dovedit a fi de aproximativ 13 ori mai activ decât ligandul necoordinat și de 56 de ori mai activ comparativ cu etalonul, Trolox.

În lucrarea [9] este prezentată sinteza și studiul a trei compuși coordinativi homometalici ai Cu(II) și a patru complecși heterometalici Cu(II)-Bi(III) cu liganzi polidentați micști, de tip tiosemicarbazonă–aminopolicarboxilat cu formulele generale: Cu(L)$_2$Cu(APC)·nH_2O, Cu(HL){Bi(APC)}$_2$·nH_2O și Cu(L)Bi(APC)·nH_2O (n = 0 - 13, APC = edta^{4-} și cdta^{4-}), în care 4-metil- sau 4-etiltiosemicarbazonele 2-benzoilpiridinei se află sub formă monodeprotonată (L^-) sau neutră (HL). Compușii Cu(HBzPyTSC-4Me){Bi(edta)}$_2$ și Cu(HBzPyTSC-4Et){Bi(edta)}$_2$·7H_2O au manifestat o activitate ridicată față de *Staphylococcus aureus*, cu o concentrație minimă inhibitorie CMI = 0,24 μg/mL, valoare ce indică o eficiență de aproximativ 19 ori mai mare decât cea a Furacilinei (CMI = 4,67 μg/mL). De asemenea, compușii obținuți au prezentat activitate bactericidă împotriva tulpinii *Bacillus cereus* (CMI = 0,97 μg/mL), fiind de aproximativ 4,8 ori mai activi decât Furacilina. Activitatea fungicidă a compușilor Cu(HBzPyTSC-4Me){Bi(edta)}$_2$ și Cu(HBzPyTSC-4Et){Bi(edta)}$_2$·7H_2O împotriva tulpinii *Candida albicans* a înregistrat valori 7,81 μg/mL, respectiv 15,62 μg/mL, fiind de aproximativ 4 și, respectiv, 2 ori mai ridicată decât cea a Nistatinei (32,0 μg/mL).

În lucrarea [10] sunt prezentate sinteza și studiul a două serii de combinații coordinative homo- și heterometalice ale Cu(II) și Bi(III) cu 4-etiltiosemicarbazonele 2-formil- și 2-acetilpiridinei. Formulele generale ale complecșilor homometalici de Cu(II) sunt {Cu(HL)}Cu(edta)·nH_2O, {Cu(L)}$_2$Cu(edta)·nH_2O în cazul complecșilor homometalici ai Cu(II) și {Cu(L)}Bi(edta)·nH_2O (n = 1 - 5). În acești complecși, liganzii 4-etiltiosemicarbazona 2-formilpiridinei (HFoPyTSC-4Et) și 4-etiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei (HAcPyTSC-4Et) se regăsesc în formă monodeprotonată (L^-) sau neutră (HL). A fost evaluată activitatea antimicrobiană și antifungică a produșilor obținuți. Rezultatele au demonstrat că cea mai ridicată activitate antimicrobiană a fost manifestată de complexul [Cu(AcPyTSC-4Et)Bi(edta)]·5H_2O. Acesta s-a dovedit a fi de aproximativ 76 și, respectiv, 19 ori mai activ decât Furacilina,

împotriva tulpinilor *Staphylococcus aureus* și *Bacillus cereus*. În ceea ce privește activitatea antifungică, cel mai activ agent împotriva tulpinii *Candida albicans* a fost compusul homometalic $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)\}_2Cu(edta)\cdot H_2O$, cu o valoare CMI = 0,98 μg/mL, fiind de aproximativ 32 de ori mai activ decât Nistatina.

În lucrarea [11], este prezentată sinteza și caracterizarea unui nou compus coordinativ heterometalic al cuprului(II) și bismutului(III) cu formula $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)Bi(edta)\}\cdot 4H2O$. Rezultatele cercetării demonstrează că acest complex, obținut cu un randament de 79%, manifestă o activitate antimicotică remarcabilă împotriva fungilor din specia *Candida albicans*. Studiile comparative indică faptul că eficacitatea acestuia este de aproximativ 31,9 ori mai mare decât cea a Fluconazolului și de 1,4 ori mai mare față de prototipul menționat în literatură. Datorită acestor proprietăți biologice superioare, compusul reprezintă o soluție inovatoare pentru extinderea arsenalului de remedii utilizate în medicina umană și veterinară pentru profilaxia și tratarea micozelor.

În lucrarea [12] este descrisă activitatea biologică unui nou compus coordinativ trinuclear al cuprului(II) cu formula $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)\}_2Cu(edta)\cdot 7H_2O$, care îmbină o activitate fungiostatică remarcabilă față de tulpinile *Candida albicans* cu o capacitate fungicidă de două ori mai mare decât cea a analogului proxim. Spre deosebire de compușii descriși anterior, acest complex manifestă și o activitate antimicrobiană superioară, fiind de 30-125 de ori mai eficient împotriva microorganismelor gram-pozitive și de 2-8 ori mai activ față de cele gram-negative. Aceste proprietăți biologice duale sunt inedite în literatura de specialitate, oferind un nou inhibitor de înaltă eficiență pentru controlul simultan al proliferării celulelor fungice și bacteriene.

Rezultatele studiului IR au demonstrat coordinarea tiosemicarbazonelor la ionii de cupru(II) prin intermediul atomilor de sulf și atomilor de azot piridinic și iminic, atât în complecșii homometalici cât și heterometalici. Un indicator clar al coordinării este deprotonarea ligandului, marcată prin dispariția semnalului ν(C=S) de la 1295 - 1299 cm^{-1} și apariția benzii ν(C-S) în intervalul 748 - 774 cm^{-1}, fapt ce demonstrează trecerea la forma tiolică. În ceea ce privește liganzii aminopolicarboxilat (APC), modul de coordinare a grupărilor carboxilat este determinat de diferența dintre oscilațiile asimetrice $\nu_{as}(COO)$ și cele simetrice $\nu_{sim}(COO)$: o valoare $\Delta\nu_{as}(COO)\text{-}\nu_{sim}(COO) > 200$ cm^{-1} indică la o coordinare monodentată, în timp ce o valoare mai mică de 200 cm^{-1} indică la coordinarea preponderent bidentat-punte a fragmentelor carboxilat la ionii de metal. Maximurile benzilor de obsorbție ν(C-C) ale fragmentelor acetat și etilenic din liganzii APC apar la 920 și 850 cm^{-1}, respectiv, valori obișnuite pentru complecși atât homo- cât și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu liganzi aminopolicarboxilat [4,9,10].

Analiza cu raze X pe monocristal a compușilor coordinativi homo- și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu liganzi micști

Compusul homometalic $\{[Cu_2(BzPyTSC\text{-}4Et)_2Cu(cdta)]\cdot 3{,}95H_2O\}_n$ prezintă o structură polimerică 1D (Figura 5.a), formată prin asamblarea dimerilor cationici $\{Cu_2(BzPyTSC\text{-}4Et)_2\}^{2+}$ cu entitățile anionice $\{Cu(cdta)\}^{2-}$ prin intermediul atomilor de oxigen O2 și O8 ai grupărilor carboxilat. Ionul central Cu3 este hexacoordinat, unde ligandul $cdta^{4-}$ acționează ca un agent de chelare hexadentat (prin atomii N_2O_4) formând o geometrie bipiramidal-tetragonală distorsionată. Dimerii cationici (Cu1 și Cu2) sunt asamblați prin atomii de sulf-punte (S1 și S2). Ambii ioni sunt pentacoordinați, având o geometrie piramidal-tetragonală. Compusul heterometalic $\{[Cu_2(BzPyTSC\text{-}4Et)_2Bi_2(cdta)_2(H_2O)_2]\cdot 13{,}25H_2O\}_n$ reprezintă o structură polimerică 1D (Figura 4.b). Aceasta este formată din fragmente cationice dimerice $\{Cu_2(4Et\text{-}Bzpytsc)_2\}^{2+}$ și agregate anionice tetrametalice $\{Bi_2(cdta)_2\}_2^{4-}$, unite prin atomii de oxigen carboxilici (O2 și O14). Cei doi atomi de bismut(III) cristalografic independenți sunt octacoordinați, adoptând geometrii dodecaedrale asigurate de setul de atomi donori N_2O_4 ai ligandului $cdta^{4-}$. Sfera de coordinare este completată diferit pentru fiecare centru: Bi1 se leagă

suplimentar de doi atomi de oxigen (O5) de la liganzi învecinați, în timp ce Bi2 coordinează un atom de oxigen (O9) și o moleculă de apă (Ow1). Cei doi atomi de cupru(II) prezintă geometrii de coordinare diferite, Cu1 adoptă o geometrie piramidal-tetragonală (NC=5) cu baza formată din setul NNS ai ligandului și oxigenul O14 al unei grupări carboxilat-punte, în timp ce Cu2 este hexacoordinat și adoptă o geometrie bipiramidă tetragonală distorsionată [9].

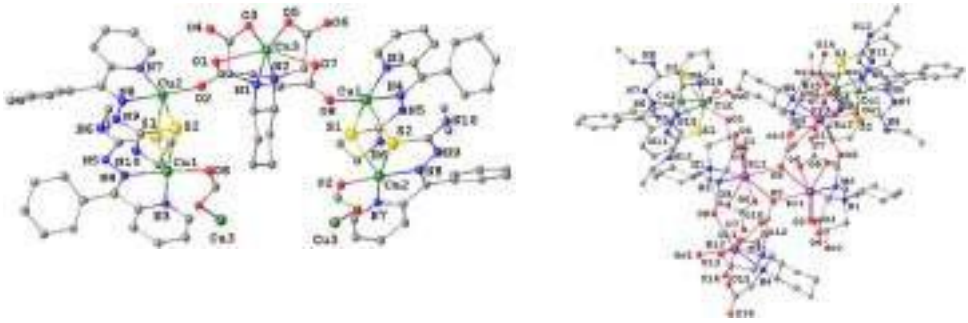


Figura 4. Structura complexului a) homometalic $\{[Cu_2(BzPyTSC\text{-}4Et)_2Cu(cdta)]\cdot 3{,}95H_2O\}_n$ și b) heterometalic $\{[Cu_2(BzPyTSC\text{-}4Et)_2Bi_2(cdta)_2(H_2O)_2]\cdot 13{,}25H_2O\}n$ [9]

Complexul homometalic $[Cu(HFoPyTSC\text{-}4Et)Cu(edta)]\cdot 3{,}5H_2O$ are o structură monomerică, în care pot fi distinse componentele ”cationice” $\{Cu(HFoPyTSC\text{-}4Et)\}^{2+}$ și ”anionice” $\{Cu(edta)\}^{2-}$, legate între ele cu ajutorul atomului de oxigen O7 al unei grupări carboxilat, care joacă rol de punte (Figura 5.a). Ionii Cu(II) au numărul de coordinare cinci, adoptând o geometrie piramidal-tetragonală în cazul coordinării tiosemicarbazonei nedeprotonate, respectiv șase, cu geometrie bipiramidal-tetragonală, pentru ionii de Cu(II) coordinați la ionii $edta^{4-}$. Structura combinației coordinative heterometalice $\{[Cu(AcPyTSC\text{-}Et)Bi(edta)]\cdot 5H_2O\}_n$ este mult mai complexă, fiind organizată sub formă de rețele 3D, asamblate prin intermediul atomilor de oxigen-punte ai grupărilor carboxilat (Figura 5.b). În această configurație, ionii de cupru(II) au numărul de coordinare cinci cu geometrie piramidal-tetragonală, în timp ce ionul de bismut(III) este octacoordinat, poliedrul său de coordinare fiind un dodecaedru [10].

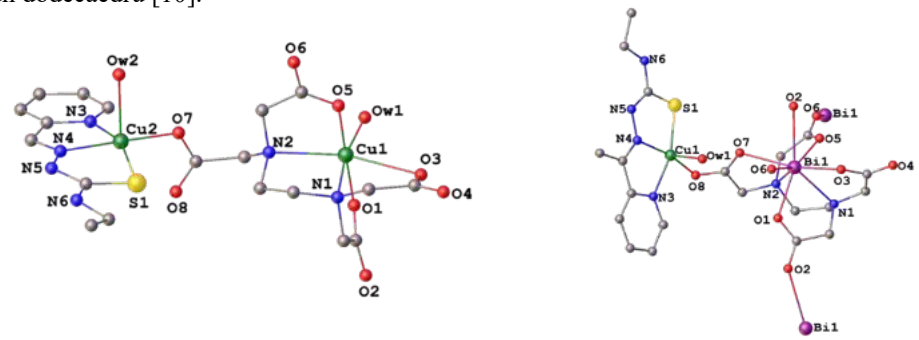


Figura 5. Structura complexului a) homometalic $[Cu(HFoPyTSC\text{-}4Et)Cu(edta)]\cdot 3.5H_2O$ b) heterometalic $\{[Cu(AcPyTSC\text{-}Et)Bi(edta)]\cdot 5H_2O\}_n$ [10]

Concluzii

Rezultatele testărilor au demonstrat că compușii sintetizați manifestă proprietăți antioxidante, printre aceștia evidențiindu-se complecșii homometalici ai Bi(III). Cel mai activ s-

a dovedit a fi complexul Bi(III) cu 4-feniltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei și anionul $edta^{4-}$, care este de aproximativ 56 de ori mai activ decât etalonul Trolox.

Compușii coordinativi heterometalici de tip Cu(II)-Bi(III), asamblați cu liganzi de tip tiosemicarbazonă și $edta^{4-}$, prezintă o eficiență antibacteriană remarcabilă, fiind selectivi împotriva tulpinilor Gram-pozitive. Cea mai înaltă activitate a manifestat-o complexul heterometalic $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Et)\}_2Cu(edta)\cdot H_2O$, acesta fiind de aproximativ 76 și, respectiv, 19 ori mai activ decât Furacilina (CMI = 4,67 µg/mL) în cazul tulpinilor *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) și *Bacillus cereus* (ATCC 11778).

Sistemele coordinative studiate manifestă proprietăți antifungice și fungicide superioare față de antifungicele clasice (Nistatina și Fluconazol), oferind soluții inovatoare pentru controlul proliferării fungilor din specia *Candida albicans*. Compusul heterometalic $\{Cu(AcPyTSC\text{-}4Ph)Bi(edta)\}\cdot 4H_2O$ a demonstrat o eficacitate de aproximativ 31,9 ori mai mare decât Fluconazolul și de 1,4 ori mai mare față de prototipul menționat în literatură.

Analiza structurală prin difracție de raze X pe monocristal a relevat formarea unor polimeri coordinativi 1D și rețele tridimensionale complexe, în care unitățile cationice și anionice se asamblează în raport molar de 1:1 prin intermediul atomilor de oxigen-punte ai grupărilor carboxilat, generând geometrii piramidal-tetragonale sau bipiramidale pentru ionii de Cu(II) și geometrii dodecaedrale octacoordinate pentru ionii de Bi(III).

Notă

Articolul a fost realizat în cadrul proiectului 010602 „ Sinteza și studiul materialelor noi în baza combinațiilor complexe cu liganzi polifuncționali și cu proprietăți utile în medicină, biologie și tehnică”.

Referințe:

1. Pahontu, E., Paraschivescu, C., Ilieș, D.-C., Poirier, D., Oprean, C., Păunescu, V., Gulea, A., Roșu, T., Bratu, O. Synthesis and Characterization of Novel Cu(II), Pd(II) and Pt(II) Complexes with 8-Ethyl-2-hydroxytricyclo(7.3.1.02,7)tridecan-13-onethiosemicarbazone: Antimicrobial and in Vitro Antiproliferative Activity. *Molecules*, 2016, 21(5), 674. DOI: 10.3390/molecules21050674.
2. Yuan, J., Richardson, D. R., Whitnall, M., Lovejoy, D. B., Becker, E. M., Bernhardt, P. V., Kalinowski, D. S., Lane, D. J. R. The Iron Chelator and Anti-cancer Agent, Dp44mT, Causes Fe-depletion and Inhibition of Ribonucleotide Reductase. *Blood*, 2006, 108(11), 2490. DOI: 10.1182/blood.V108.11.2490.2490.
3. Eogan, D. M., Griffith, D. M. Current and potential applications of bismuth-based drugs. *Molecules*, 2014, 19(9), 14448–14475. DOI: 10.3390/molecules190914448.
4. Neguța, E., Neguța, A., Garbuz, O., Gulea, A., Bulimestru, I. Combinații coordinative ale Cu(II) și Bi(III) cu liganzi aminopolicarboxilat și 4-etil-,4-feniltiosemicarbazone ale 2-acetilpiridinei. *Revista de Ştiinţă, Inovare, Cultură şi Artă „Akademos”*, 2023, 3(70), 71–75. DOI: 10.52673/18570461.23.3-70.04.
5. Antsyshkina, A. S., Sadikov, G. G., Poznyak, A. L., Sergienko, V. S. Crystal Structure of [Cu2(Edta)(Py)2(H2O)2]·2H2O and [Cu(Im)6]{Cu(Im)4[Cu(Edta)(Im)]2}·6H2O, Products of the Interaction of (Ethylenediaminetetraacetato)diaquadicopper(II) with Pyridine and Imidazole. *Russ. J. Inorg. Chem.*, 2006, 51(2), 241–252.
6. Summer, S. P., Abboud, K. A., Farrah, S. R., Palenik, G. J. Syntheses and Structures of Bismuth(III) Complexes with Nitrilotriacetic Acid, Ethylenediaminetetraacetic Acid, and Diethylenetriaminepentaacetic Acid. *Inorg. Chem.*, 1994, 33(1), 88–92.
7. Wullens, H., Devillers, M., Tinant, B., Declercq, J.-P. Synthesis, characterization and crystal structures of bismuth(III) complexes with triethylenetetraaminehexaacetic acid and trans-cyclohexane-1,2-diaminetetraacetic acid. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 10, 2023–2029. DOI: 10.1039/dt9960002023.

8. Sobansca, S., Wignacourt, J.-P., Conflant, P., Drache, M., Bulimestru, I., Gulea, A. A new CuBi2O4 precursor: Synthesis, crystal structure and thermal behaviour of Cu(BiEDTA)2, 9H2O. *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, 1996, 33(8), 701–711.
9. Neguța, E., Bălan, G., Șova, S., Gulea, A., Cotovaia, A., Bulimestru, I. Compuși coordinativi homo- și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu aminopolicarboxilați și tiosemicarbazone ale 2-benzoilpiridinei. *Revista de Ştiinţă, Inovare, Cultură şi Artă „Akademos”*, 2023, 4(71), 40–46. DOI: 10.52673/18570461.23.4-71.03.
10. Neguța, E., Bălan, G., Șova, S., Gulea, A., Cotovaia, A., Bulimestru, I. Sinteza și studiul compușilor coordinativi homo- și heterometalici ai Cu(II) și Bi(III) cu 4-etiltiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetilpiridinei. *Studia Universitatis Moldaviae*, 2023, 6(166), 118–125. DOI: 10.59295/sum6(166)2023_16.
11. Bulimestru, I., Neguța, E., Neguța, A., Bălan, G., Lozan-Tîrșu, C., Țapcov, V., Gulea, A. (μ2-Etilendiamin-N,N,N’,N’-tetraacetato)-{N-fenil-N’-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamo-hidrazontioatocupru(II)}-di(aqua)bismut(III) tetrahidrat, care manifestă activitate antimicotică față de Candida albicans. *Brevet de invenție MD nr. 4880*.
12. Bulimestru, I., Neguța, E., Bălan, G., Lozan-Tîrșu, C., Țapcov, V., Gulea, A. Utilizarea (di-μ2-O,O')-[etilendiamin-N,N,N',N'-tetraacetatocupru(II)]-bis-{N-fenil-N'-[1-(piridin-2-il)etiliden]carbamohidrazontioatcupru(II)} heptahidratului în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia Candida albicans și microorganismelor gram-pozitive și gram-negative. *Brevet de invenție MD nr. 4921*

Date despre autori:



Elena NEGUȚA, dr., cercetător științific, Institutul de Chimie, USM
e-mail: elena.neguta@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-6120-6625



Nelea POPA, dr., conf. univ., Departamentul Chimie, FCTC, USM
e-mail: nelea.popa@usm.md
ORCID: 0000-0002-5045-3564



Ion BULIMESTRU, dr., conf. univ., Departamentul Chimie, FCTC, USM
e-mail: ion.bulimestru@usm.md
ORCID: 0000-0002-5474-8458

CZU: [547.551.2+547.565.2]:66.095.26:678.7 https://doi.org/10.59295/mabt2026.34

SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA OLIGO-(*m*-FENILENDIAMINĂ-CO-1,3-BENZENDIOLULUI) PENTRU MATERIALE FUNCȚIONALE AVANSATE

Ramil RZAYEV[1], Natalia SUCMAN[1], Mammadov BAKHTİYAR[2], Fliur MACAEV[1]

[1]Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, [2]Institute of Polymer Materials, Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan Republic

Rezumat

Metoda de policondensare oxidativă a fost utilizată pentru a sintetiza un oligomer pe bază de meta-fenilendiamină și rezorcinol, într-un mediu acid, utilizând persulfat de potasiu ca agent oxidant. Scopul acestui studiu a fost obținerea de materiale multifuncționale cu caracteristici fizico-chimice și calități electroactive îmbunătățite. Spectroscopia FTIR, RMN, ESR, analiza termogravimetrică (TGA) și microscopia electronică cu scanare (SEM) au fost utilizate pentru a caracteriza materialele sintetizate. Formarea scheletului polimeric și adăugarea de grupări amină și fenolice au fost verificate prin datele FTIR și RMN. Electronii nepereche au fost găsiți prin analiza ESR, sugerând un comportament electroactiv. În timp ce imaginile SEM au relevat o morfologie relativ uniformă, TGA a prezentat o bună stabilitate termică. Materialele obținute sunt promițătoare pentru utilizarea în sisteme și senzori electrochimici.

Cuvinte-cheie: Meta-fenilendiamină, 1,3-benzendiol (rezorcinol), persulfat de potasiu, polimerizare oxidativă.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF OLIGO-(*m*-PHENYLENEDIAMINE-CO-1,3-BENZENEDIOL) FOR ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS

Abstract

The oxidative polycondensation method was used to synthesize an oligomer based on metha-phenylenediamine and resorcinol, in an acidic medium, utilizing potassium persulfate as an oxidizing agent. The goal of this study was to obtain multifunctional materials with enhanced physicochemical features and electroactive qualities. FTIR, NMR, ESR spectroscopy, thermogravimetric analysis (TGA), and scanning electron microscopy (SEM) were used to characterize the synthesized materials. The formation of the polymer backbone and the addition of amine and phenolic groups were verified by FTIR and NMR data. Unpaired electrons were found by ESR analysis, suggesting electroactive behavior. While SEM images revealed a comparatively uniform morphology, TGA showed good thermal stability. The materials that were obtained show promise for use in electrochemical systems and sensors.

Keywords: Metha-phenylenediamine, 1,3-benzenediol (resorcinol), potassium persulfate, oxidative polymerization.

Introduction

Because of their numerous applications in sensors, electronics, energy storage, and biomedical devices, the development of advanced functional materials based on conducting and semiconducting polymers has attracted significant attention. Among these materials, aromatic amine- and phenol-based polymers are especially interesting due to their adjustable physicochemical properties and structural flexibility [1–5].

The m-Phenylenediamine (m-PD) is a member of the aromatic diamines, commonly used as a monomer for the synthesis of electroactive oligomers and polymers. The m-PD shows lower conjugation than para-substituted analogues, resulting in unique electronic features and increased chemical stability. Oxidative polymerization of m-PD usually yields ladder-like and phenazine-type structures, which are well-suited for sensing and electrochemical applications [6].

Resorcinol (1,3-benzenediol), a dihydroxy benzene derivative, is an important building block in polymer chemistry. Strong hydroxyl groups that donate electrons make it more reactive in oxidative coupling and electrophilic substitution reactions. Resorcinol is widely used in the production of phenolic resins, carbon materials, and functional coatings, where it enhances crosslinking and structural diversity [7, 8].

Polyfunctional, versatile polymers with desired properties can be effectively obtained by using aromatic amines and phenols as starting monomers [9, 10]. An efficient method for creating multifunctional co-oligomers that integrate hydroxyl and amino functionalities into a single framework is the co-polymerization of m-PD and resorcinol. These hybrid materials may have better physicochemical characteristics, such as increased interaction with analyte molecules, tunable electrical conductivity, and improved solubility. Through radical-mediated C–C, C–N, and C–O bond formation, oxidative copolymerization with oxidants like potassium persulfate can create complex structures in acidic environments. This study carried out controlled oxidative polymerization to create oligo-(m-phenylenediamine-co-resorcinol). This work intends to explore the synthesis, structural features, and potential functional properties of the resulting co-oligomer, with the goal of its application in advanced material systems.

Materials and methods

The molecular structure of nanocomposites was characterized using a Fourier-transform infrared (FTIR) spectrometer (Bruker Alpha-P, ATR, 400–4000 cm-1, Wismar, Germany). Liquid NMR spectra (^{1}H-, ^{13}C-, ^{13}C^{1}H-HSQC, ^{13}C^{1}H-HMBC, ^{15}N^{1}H-HSQC, ^{15}N^{1}H-HMBC experiments) were recorded for 2% solutions in DMSO-d_6 at 400 MHz on either a Bruker-Avance III (Bruker, Rheinstteten, Germany), or a Bruker Avance Neo (Bruker, Ettlingen, Germany), Chemical shifts (δ) are given in parts per million (ppm), referring to the signal center using the deuterated solvent peaks as reference. For solid-state NMR, samples were recorded on a 400 MHz Bruker Avance Neo (Bruker, Ettlingen, Germany) using a 4 mm CP-MAS multinuclear probe. Samples have been spined at 10 KHz.

The thermal stability of the polymer was investigated by thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC), performed on a STA 6000 (Perkin Elmer Instruments, USA) under a nitrogen flow (20 cm³min-1) over the temperature range from 25 °C to 800 °C at a heating rate of 10 °C min-1. The samples were mounted on conductive carbon tape and coated with a 20 nm layer using direct current sputtering. To analyze the morphology of the nanocomposites, Scanning Electron Microscopy (SEM) images were obtained using a Field Emission JEOL SEM 7001F (Tokyo, Japan) in secondary electron imaging (SEI) mode. Samples containing free radicals A (1) in the polycrystalline state were studied by electron spin resonance (ESR) at room temperature using a SE/X-2544 EPR spectrometer.

Results and discussion

FT-IR, NMR, ESR, and SEM analyses were used to assess the structural and morphological characteristics of the synthesized material. The FTIR spectrum (Fig. 1) showed the characteristic absorption bands at 3675 and 3195 cm^{-1} assigned to free O–H stretching vibrations of phenolic groups (resorcinol units) and N–H stretching vibrations of aromatic amine groups (m-phenylenediamine), respectively. The peaks at 2988 and 2901 cm^{-1} are attributed to C–H stretching vibrations of aromatic and aliphatic fragments, indicating the presence of benzene ring structures. The bands at 1614 and 1450 cm^{-1} are attributed to benzenoid (C=C) and quinoid (C=N) stretching, respectively, while the signals at 1394 and 1383 cm^{-1} are associated with C–N stretching vibrations of aromatic amine groups and possible contributions from phenolic O–H bending. Furthermore, 1250 and 1230 cm^{-1} characteristic of C–N stretching (aromatic amine) and C–O stretching (phenolic groups), indicating successful incorporation of both monomer

units into the oligomer structure. Additionally, the bands at 843, 765, and 692 cm^{-1} are assigned to out-of-plane C–H deformation vibrations of isolated aromatic C–H groups and adjacent C–H groups, respectively. The oligomer structure was further examined by NMR spectroscopy. In the ^{1}H NMR spectrum, signals at 9.14, 7-7,5 and 5.56 ppm were observed. The signal at 5.56 ppm, together with a cross-peak at 94.8 ppm in the $^{1}H–^{13}C$ HSQC spectrum, confirms the presence of the resorcinol fragment. The signal at 9.14 ppm is attributed to the NH group of a *m*-phenylenediamine unit linked to resorcinol.

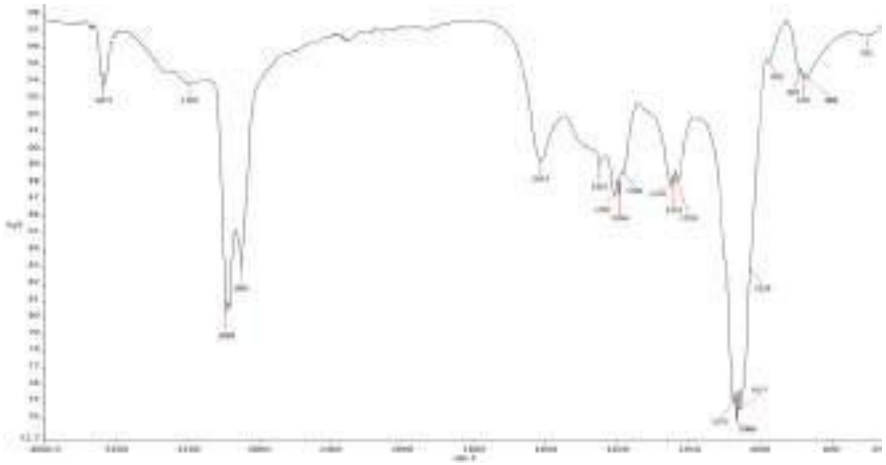


Figure 1. FT-IR absorption spectrum of oligo-(mPD–co-1,3-BD).

ESR assays indicated that there are unpaired electrons in the "base" of the polymer that are associated with the nitrogen elements within the polymer. The bond strength for the quasi-free radicals is lower than that of DPPH, which allows the radical electron to have a partial delocalization. Conductivity data indicate that this polymer has moderate conductivity. SEM analysis revealed a synthesized compound with nanoparticles, indicating uniform polymer growth and good processability. Furthermore, TGA indicates that the compound has good thermal stability.

Together, these data confirm the successful synthesis of a polyfunctional, soluble, and conductive oligomer. The combination of structural characterization, radical behavior, electrical properties, and morphological features reveals the potential of this material for advanced functional applications.

Conclusion

Oligomer base m-phenylenediamine and resorcinol were successfully synthesized through oxidative polymerization in an acidic medium under ultrasonication, using potassium persulphate as oxidizing agent. The FTIR and NMR analyses confirmed the formation of the polymer backbone, while ESR results indicated the presence of electroactive radical species. TGA demonstrated satisfactory thermal stability, and SEM revealed a relatively uniform morphology. Overall, the obtained results highlight the potential of these materials for application in conductive and polyfunctional systems.

Acknowledgement

This research was supported by the Moldovan National Agency for Research and Development (Project Nr. 25.80012.5007.72SE).

References:

1. Yusif, A., Ramil, R., Autschbach, J. Computational mechanistic studies on persulfate-assisted p-phenylenediamine polymerization. *J. Comput. Chem.*, 2022, 43(19), 1313–1319. DOI: 10.1002/jcc.26943.
2. Ramil, R. S., Bakhtiyar, M. A., Yusif, A. A., Elvin, I. A. Synthesis and Characterization of New Nano-Sized Poly(P-Phenylenediamine) In the Presence of Potassium Persulfate. *PPOR*, 2022, 23(3), 495–509.
3. Gupta, R. C., Srivastav, S. P. Oxidation of aromatic amines by peroxydisuphate ion. *Z. Anal. Chem.*, 1971, 257, 275–277. DOI: 10.1007/bf00428393.
4. Kumar, D., Sharma, R. C. Advances in Conductive Polymers. *Eur. Polym. J.*, 1998, 34(8), 1053–1060. DOI: 10.1016/S0014-3057(97)00204-8.
5. Grancarić, A. M., Jerković, I., Koncar, V., et al. Conductive polymers for smart textile applications. *J. Ind. Text.*, 2018, 48, 612–642.
6. Amer, I., Young, D. A., Vosloo, H. C. M. Chemical oxidative polymerization of m-phenylenediamine and its derivatives using aluminium triflate as a co-catalyst. *Eur. Polym. J.*, 2013, 49, 3251–3260. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2013.06.031.
7. Dressler, H. *Resorcinol: Its Uses and Derivatives*. New York, NY: Springer, 2013. ISBN: 978-1-4899-0999-2. DOI: 10.1007/978-1-4899-0999-2.
8. Bailey, A. D., Murphy, B. P., Guan, H. Mechanistic insights into oxidative oligomerization of p-Phenylenediamine and resorcinol. *J. Phys. Chem.*, 2016, 120, 8512–8520. DOI: 10.1021/acs.jpca.6b08571.
9. Rzayev, R., Sucman, N., Geru, I., Monaico, E. V., Mammadov, B. A., Ibadov, E., Macaev, F. Synthesis and characterization of nano-sized materials based on toluidine and resorcinol. *ChemistrySelect*, 2025, 10(22), e01279. DOI: 10.1002/slct.202501279.
10. Mamedov, B. A., Shahnazarli, R. Z., Rzayev, R. S., Ishenko, N. Ya., Nazaraliev, Kh. G. Synthesis of oligohydroxy-napthy-le-nes and their use in the king of hat-stable and electro-conducting rub-bers. *J. Chem. Chem. Eng.*, 2011, 5(8), 832–842.

Date despre autori:



Ramil RZAYEV, cercetător științific superior,
Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova
e-mail: ramilrzayev81@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4455-0226



Natalia SUCMAN, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: natalia_sucman@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-8733-3040



Mammadov BAKHTİYAR, Doctor în științe chimice, profesor cercetător, director, Institute of Polymer Materials, Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan Republic
e-mail: bazisaley@mail.ru
ORCID: 0000-0001-6135-832X



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 547.595:546.47:546.73:615.849 https://doi.org/10.59295/mabt2026.35

DERIVAȚI MONOSUBSTITUIȚI AI FTALOCIANINELOR DE ZINC ȘI COBALT PENTRU TERAPIA FOTODINAMICĂ

Ștefan ROBU[1], Ion LUNGU[1], Tamara POTLOG[1],
Roman RUSNAC[2], Vasile STEGARIOV[1]

[1] Laboratorul de Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică, Institutul de Fizică Aplicată, USM
[2] Laboratorul Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică, Institutul de Chimie, USM

Rezumat

În această lucrare sunt prezentați derivați monosubstituiți ai ftalocianinelor de zinc și cobalt, de tip mono-aminometilen (AM-PcZn, AM-PcCo) și mono-o-carboxibenzamidometilen (CBAM-PcZn, CBAM-PcCo), obținuți prin termo-mecanochemie și caracterizați prin spectroscopie FTIR, UV-Vis și fluorescență. Spectrele FTIR confirmă funcționalizarea prin apariția grupelor -NH_2 și -CO-NH-. Analiza UV-Vis evidențiază banda Q în jurul valorii de 670 nm, specifică macrociclului ftalocianinic. Spectrele de fluorescență măsurate la excitarea cu λ_{ex} = 340 nm, prezintă emisii în domeniul 350–600 nm, iar la λ_{ex} = 640 nm prezintă emisii intense în regiunea 800–850 nm. Derivații AM-PcZn manifestă fluorescență mai intensă în domeniul NIR. Emisia în intervalul 700–900 nm indică potențialul acestor compuși pentru aplicații în terapia fotodinamică.

Cuvinte-cheie: derivați de ftalocianină, metaloftalocianine, spectroscopie FTIR, UV-Vis, fluorescență, terapia fotodinamică.

MONOSUBSTITUTED ZINC AND COBALT PHTHALOCYANINE DERIVATIVES FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

Abstract

In this paper, monosubstituted derivatives of zinc and cobalt phthalocyanines are presented, of the mono-aminomethylene type (AM-PcZn, AM-PcCo) and mono-o-carboxybenzamidomethylene (CBAM-PcZn, CBAM-PcCo), obtained through thermo-mechanochemistry and characterized by FTIR, UV-Vis, and fluorescence spectroscopy. The compounds were characterized by FTIR, UV-Vis, and fluorescence spectroscopy. FTIR spectra confirm successful functionalization through the presence of -NH_2 and -CO-NH- groups. UV-Vis analysis reveals a strong Q-band around 670 nm, characteristic of the phthalocyanine macrocycle. Fluorescence spectra recorded at excitation with λ_{ex} = 340 nm show emission in the 350–600 nm region, while at excitation with λ_{ex} = 640 nm leads to intensive emission in the 800–850 nm region. AM-PcZn derivatives exhibit higher fluorescence intensity in the NIR region. Emission within the 700–900 nm region highlights the potential of these compounds for photodynamic therapy applications.

Keywords: phthalocyanine derivatives, metallophthalocyanines, FTIR spectroscopy, UV-Vis and fluorescence spectroscopy, photodynamic therapy.

Introducere

Ftalocianinele metalelor de tranziție reprezintă o clasă importantă de compuși macrociclici aromatici, caracterizați prin stabilitate chimică ridicată, proprietăți optice remarcabile și capacitatea de a forma complexe cu diferiți ioni metalici. Datorită acestor caracteristici, ftalocianinele de Zn(II), Cu(II), Co(II), Fe(II/III) și Mn(II) au fost intens studiate și utilizate în diverse domenii, inclusiv în tehnologia semiconductorilor, cataliză, senzori chimici și materiale optoelectronice [1–3]. În ultimii ani, interesul pentru aceste sisteme a crescut semnificativ în contextul aplicațiilor biomedicale, în special în terapia fotodinamică (PDT), unde acestea pot acționa ca fotosensibilizatori eficienți.

Terapia fotodinamică este o metodă minim invazivă de tratament, bazată pe interacțiunea dintre un fotosensibilizator, radiația luminoasă de lungime de undă adecvată și oxigenul molecular, conducând la generarea de specii reactive de oxigen, în special oxigen singlet ($^1O_2$), capabile să distrugă selectiv celulele tumorale. În acest context, ftalocianinele sunt considerate candidați promițători datorită coeficientului mare de absorbție în regiunea roșie și aproape infraroșie (600–800 nm), precum și a eficienței ridicate de generare a stării triplet necesare pentru producerea oxigenului singlet.

Cu toate acestea, utilizarea practică a ftalocianinelor în domeniul biomedical este limitată de solubilitatea redusă în apă și tendința pronunțată de agregare în medii apoase sau biologice. Agregarea conduce la scăderea randamentului de fluorescență și a eficienței de generare a oxigenului singlet, diminuând performanța fotosensibilizatorilor. Pentru a depăși aceste limitări, numeroase studii au fost orientate spre funcționalizarea chimică a ftalocianinelor prin introducerea de grupe substituente polare sau ionogene, cum ar fi grupările carboxil, sulfonat, amidă sau amino, care îmbunătățesc solubilitatea și reduc agregarea [4–6].

O altă abordare eficientă constă în obținerea de derivați monosubstituiți sau polisubstituiți ai ftalocianinelor, care prezintă modificarea proprietăților fotofizice și fotodinamice ale acestor compuși. Derivații monosubstituiți prezintă un interes deosebit, deoarece păstrează în mare măsură simetria sistemului macrociclic, dar introduc în același timp centre reactive sau grupări funcționale capabile de interacțiuni suplimentare cu mediul sau cu structuri biologice. În plus, acești derivați pot servi ca intermediari pentru sinteza de sisteme mai complexe, inclusiv conjugate cu polimeri sau nanoparticule [7–9].

În literatură sunt raportate diverse strategii de funcționalizare a ftalocianinelor prin grefare pe suporturi polimerice, cum ar fi polietilenglicolul (PEG), polivinilpirolidona (PVP) sau copolimeri vinilici, ceea ce conduce la creșterea solubilității în apă și la îmbunătățirea biocompatibilității [8–10]. De asemenea, derivații funcționalizați ai ftalocianinelor de zinc au demonstrat proprietăți anticancerigene și antibacteriene semnificative, fiind capabili să inhibe dezvoltarea celulelor maligne prin mecanisme fotodinamice [10,11].

În acest context, dezvoltarea unor noi derivați funcționalizați ai ftalocianinelor de zinc și cobalt, cu solubilitate îmbunătățită și proprietăți fotofizice favorabile, reprezintă o direcție actuală și importantă de cercetare. Introducerea grupărilor de tip carboxibenzamidometilen și aminometilen poate conduce la modificarea distribuției electronice în macrocilu ftalocianinic și la îmbunătățirea interacțiunii cu mediile biologice, influențând astfel eficiența proceselor fotodinamice.

Scopul lucrării constă în sinteza și caracterizarea unor derivați monosubstituiți ai ftalocianinelor de zinc și cobalt, și anume mono-o-carboxibenzamidometilen și mono-aminometilen, precum și evaluarea proprietăților lor fotofizice în vederea estimării potențialului de utilizare în terapia fotodinamică. Studiul este realizat prin metode spectroscopice, inclusiv spectroscopie IR și fluorescență, pentru evidențierea structurii chimice și a comportamentului fotofizic al compușilor obținuți.

În mai multe lucrări [10,11] autorii E. Türkan, I. Celebioglu cercetează minuțios proprietățile anticancer și antibacteriene a unor derivați ai ftalocianinei de zinc. Aceste preparate au un efect de inhibitor la dezvoltarea celulelor maligne.

T. Potlog și colegii săi [11] au stabilit prin cercetări spectrale că derivații mono- și tetrasubstituiți de carboxibenzamidometilen PcZn posedă un efect foarte bun în calitate de fotosensibilizator la sinteza oxigenului singlet, ce contribuie la nimicirea și stoparea dezvoltării celulelor maligne.

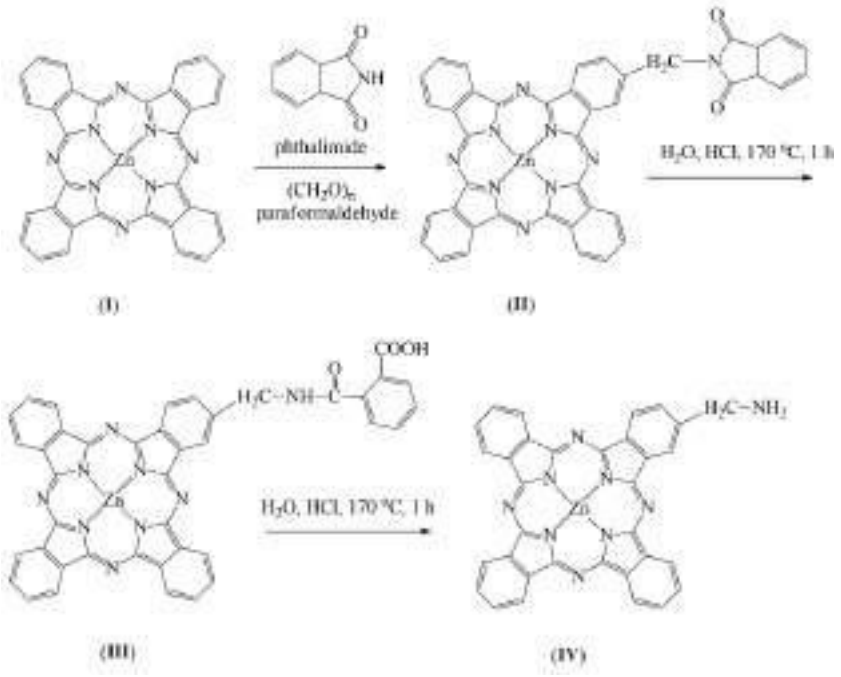
Lucrarea dată este consacrată elaborării unor derivați monosubstituiți ai ftalocianinelor de zinc și cobalt, și anume mono-o-carboxibenzamidometilen și mono-aminometilen, precum și evaluarea proprietăților lor fotofizice în vederea estimării potențialului de utilizare în terapia

fotodinamică. Studiul este realizat prin metode spectroscopice, inclusiv spectroscopie IR și fluorescență, pentru evidențierea structurii chimice și a comportamentului fotofizic al compușilor obținuți.

Materiale și metode

Sinteza mono-o-carboxibenzamidometil a ftalocianinei de zinc (CBAM-PcZn) sau de cobalt și a mono-aminometilen a ftalocianinei de zinc sau de cobalt (AM-PcZn, AM-PcZn) este prezentată în schema 1.

Sinteza s-a înfăptuit conform metodei descrisă în lucrarea [12], cu unele modificări, îndeosebi la etapa de hidroliză, conform schemei:



Schema 1. Schema de sinteză a AM-PcZn

La etapa a II-a, pentru a evita evaporarea acidului clorhidric ($t_{reacției}$ = 175°C), experimentul s-a efectuat în fiole de sticlă sudate ermetic. Purificarea AM-PcZn s-a înfăptuit prin spălarea substanței pe filtru cu acetonă. Randamentul sintezei AM-PcZn constituie 25-30 %.

Spectroscopia UV-Vis a fost realizată utilizând un spectrofotometru Cary 300 UV-Vis spectrophotometer (Agilent Technologies), în domeniul spectral 200–800 nm. Acest instrument, echipat cu surse de lumină cu deuteriu și halogen, precum și cu detector de tip fotomultiplicator, oferă o rezoluție spectrală de până la 0,1 nm și o acuratețe fotometrică de ±0,005 unități de absorbție (Abs). Spectrele FTIR au fost înregistrate utilizând un spectrometru BRUKER ALPHA spectrometer, în intervalul 4000–400 cm^{-1}, la temperatura camerei, în cadrul laboratorului științific de cercetare „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică” al Universitatea de Stat din Moldova.

Rezultate și discuții

Structura chimică a derivaților CBAM-PcMe și AM-PcMe la etapa preliminară se confirmă cu ajutorul spectrelor IR. Din spectrele IR se observă apariția grupelor funcționale prezente în

ftalocianina de zinc sau cobalt (Fig. 1, spectrul 1, 2) cât și a grupelor noi, de exemplu: -NH_2, -CO-NH- și altele. Din Figura 1 (curbele 3 și 4) se observă prezența grupelor amidice la frecvențe ~ 3200 – 3100 cm^{-1}, grupe ce lipsesc în metaloftalocianine, de asemenea picurile cu lungimi de undă 3350 – 3300 cm^{-1} sunt caracteristice grupelor amine primare.

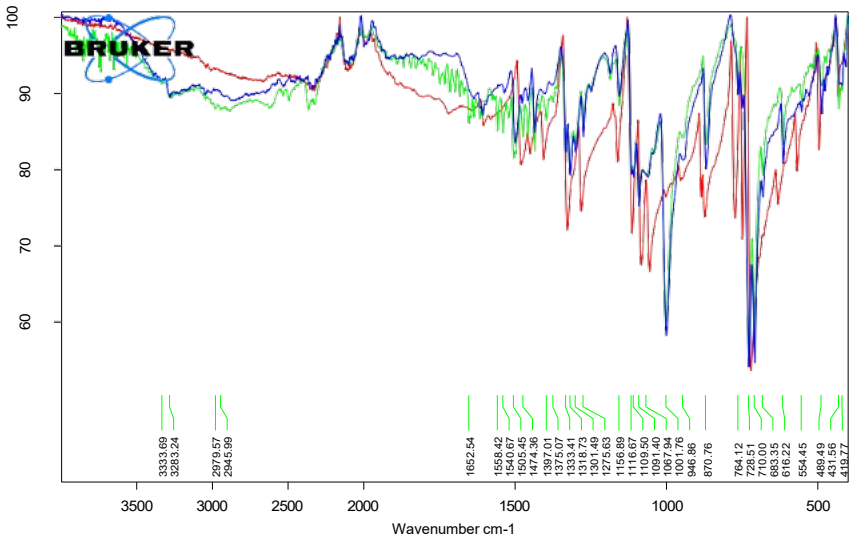


Figura 1. Spectre IR pentru PcZn (1), CBAM-PcZn (2) și AM-PcZn (3)

Spectrele de absorbție UV-Vis ale compușilor investigați ce sunt prezentate în Figura 2, evidențiază caracteristicile optice tipice ftalocianinelor metalice. Se observă o bandă intensă în regiunea vizibilă, localizată la aproximativ 675 nm, corespunzătoare benzii Q asociate tranziției electronice fundamentale ($S_0 \rightarrow S_1$) a macrocilului ftalocianinic. Această bandă prezintă o formă relativ largă și ușor asimetrică, extinzându-se în domeniul 650–700 nm, ceea ce sugerează prezența unor interacțiuni intermoleculare și a unui grad redus de agregare în soluție, fără a afecta semnificativ caracterul monomeric dominant.

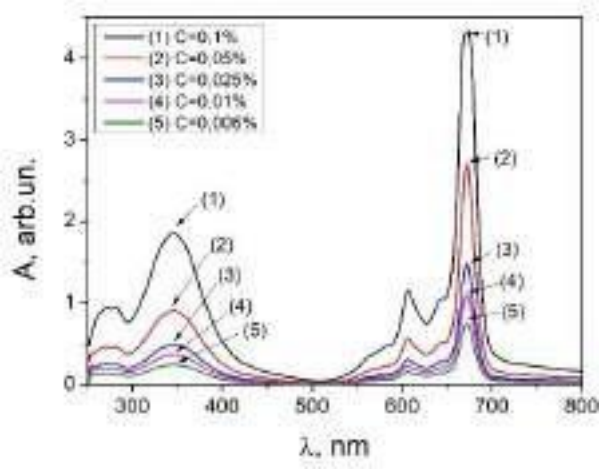


Figura 2. Spectrele de absorbție ale AM-PcZn

În regiunea 600–630 nm se evidențiază o contribuție secundară, atribuită structurii vibronice a benzii Q sau formării unor agregate slabe. În domeniul ultraviolet (300–380 nm) se observă banda B (Soret), asociată tranzițiilor π–π*, caracteristică sistemelor aromatice conjugate. Intensitatea relativ ridicată a benzii Q comparativ cu banda B confirmă extinderea conjugării electronice și indică proprietăți optice favorabile pentru aplicații în terapia fotodinamică, unde absorbția în regiunea roșie a spectrului este esențială pentru penetrarea eficientă a radiației în țesuturile biologice.

Spectrele de fluorescență ale compușilor mono-AM-PcZn și mono-CBAM-PcZn, înregistrate la excitarea cu λ_{ex} = 340 nm prezentate în Figura 3a, evidențiază benzi largi de emisie în domeniul 350–600 nm, cu maxime situate în regiunea albastru-verde a spectrului. Pentru mono-CBAM-PcZn, emisia crește gradual și atinge maximul în jurul valorii de 435 nm, după care intensitatea scade progresiv spre lungimi de undă mai mari. În cazul mono-AM-PcZn, spectrul prezintă o bandă largă, cu contribuții importante în domeniul 420–460 nm, urmată de o diminuare lentă a intensității până spre 600 nm. Comparativ, mono-CBAM-PcZn manifestă o emisie mai intensă și mai bine definită în regiunea 400–500 nm, ceea ce indică influența grupării carboxibenzamidometilen asupra proceselor radiative ale macrocilului ftalocianinic. Emisia observată în regiunea vizibilă confirmă caracterul fluorescent al acestor derivați și susține potențialul lor pentru aplicații fotofizice și fotodinamice.

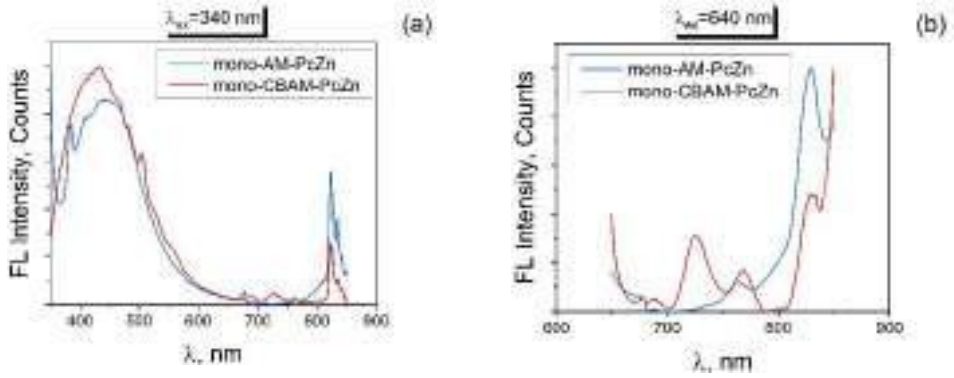


Figura 3. Spectre de flourescență pentru mono-CBAM-PcZn (1 și 1') și pentru mono-AM-PcZn (2 și 2')

Spectrele de fluorescență ale compușilor mono-AM-PcZn și mono-CBAM-PcZn, înregistrate la excitarea cu λ_{ex} = 640 nm prezentate în Figura 3b, evidențiază emisii caracteristice în regiunea roșie și apropiată de infraroșu, specifice ftalocianinelor metalice. Pentru mono-AM-PcZn, spectrul prezintă o bandă largă de emisie cu maximul situat în jurul valorii de 825–830 nm, indicând o emisie dominantă în regiunea NIR. În cazul mono-CBAM-PcZn, se observă o emisie similară, însă cu intensitate relativ mai redusă și o ușoară deplasare a maximului către lungimi de undă mai mari, extinzându-se până spre 800 nm. Forma largă a benzilor și extinderea acestora în domeniul 600–800 nm sugerează prezența unor interacțiuni intermoleculare și posibile procese de agregare, precum și contribuții vibronice ale tranziției $S_1 \rightarrow S_0$. Comparativ, mono-AM-PcZn prezintă o emisie mai intensă și mai bine definită, ceea ce indică o eficiență mai mare a proceselor radiative în acest sistem. Emisia în regiunea 700–800 nm este deosebit de importantă pentru aplicațiile în terapia fotodinamică, deoarece această regiune spectrală corespunde ferestrei optice biologice, unde radiația pătrunde eficient în țesuturi, susținând astfel potențialul acestor derivați ca fotosensibilizatori.

Concluzii

În cadrul prezentei lucrări au fost sintetizați cu succes derivați monosubstituiți ai ftalocianinelor de zinc și cobalt, de tip mono-aminometilen (AM-PcZn, AM-PcZn) și mono-o-carboxibenzamidometilen (CBAM-PcZn, CBAM-PcZn), cu randamente moderate. Structura chimică a compușilor obținuți a fost confirmată prin spectroscopie FTIR, evidențiindu-se prezența grupelor funcționale caracteristice (-NH_2, -CO-NH-), absente în ftalocianinele inițiale.

Studiul proprietăților optice prin spectroscopie UV-Vis a demonstrat prezența benzii Q cu maximum intens la ~670 nm, specifică macrocilului ftalocianinic, confirmând formarea structurii conjugate extinse. Analiza spectrelor de fluorescență a evidențiat comportamente distincte în funcție de lungimea de undă de excitație. La excitarea cu λ_{ex} = 340 nm, compușii prezintă emisii în domeniul 350–600 nm, asociate tranzițiilor de tip π–π*. La excitarea cu λ_{ex} = 640 nm, se observă emisii intense în regiunea roșie și apropiată de infraroșu (700–850 nm), caracteristice tranziției $S_1 \rightarrow S_0$ a ftalocianinelor.

Comparativ, derivații de tip AM-PcZn manifestă o intensitate mai ridicată a fluorescenței în regiunea NIR, sugerând o eficiență crescută a proceselor radiative și un grad mai redus de agregare, în timp ce derivații CBAM prezintă emisii mai extinse spectral, indicând influența grupării funcționale asupra distribuției electronice și a interacțiunilor intermoleculare.

În ansamblu, rezultatele obținute confirmă că derivații sintetizați prezintă fluorescență în domeniul favorabil pentru aplicații în terapia fotodinamică, în special datorită absorbției în regiunea 700–800 nm, corespunzătoare ferestrei optice biologice, ceea ce permite o penetrare eficientă a radiației în țesuturi. Aceste caracteristici recomandă compușii investigați ca potențiali fotosensibilizatori pentru aplicații biomedicale.

Mulțumiri

Această lucrare a fost susținută financiar de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova, USM, subprogramul „Proiectarea Arhitecturilor Supramoleculare pe Bază de Derivați de Ftalocianină Metalică-Nanoparticule Funcționalizate cu Aplicații în Medicină” #011209.

Referințe:

1. DENEKAMP, I. M., et al. A simple synthesis of symmetric phthalocyanine and their respective perfluoro and transition-metal complexes. Applied organometallic chemistry, 2019, 33.5: e4872.
2. ЛОБАНОВ, А., ВАСИЛЬЕВ, С., КОНОНЕНКО, А., БАННИКОВА, Д., БРИТОВА, С., САВИНОВА, Е., ГОРШЕНЕВ, В., ВАРФОЛОМЕЕВ, С. Комплексов фталоцианинов железа и марганца с полимерами. Агрегационные свойства и биоцидная активность. В: Вестник Казанскоко технологическоко университета, 2015, Nr. 2, с. 111-113.
3. ROBU, Ștefan, POTLOG, Tamara, LUNGU, Ion, BULMAGA, Petru, TITULEANU, Pavel, PRISACARI, Viorel, SAVA, Veronica. Polimeri analogi din copolimeri de N-vinilpirolidonă grefat cu ftalocionină de zinc, In: Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii), 2023, nr. 1(171), pp. 173-177. ISSN 1814 3237. DOI: http://doi.org/10.59295/sum1(171)2023_23
4. Peisert H., Knupfer M., Schwieger T., Fuentes GG, Olligs D., Flink J., Schmidt T., Fluorination of copper phthalocyanines: Electronic structure and interface properties. Journal of applied physics. 2003 Jun 15;93(12):9683-92
5. Sorokin AB. Phthalocyanine metal complexes in catalysis. Chem. Rev. 2013, 113, 8152.
6. INAMURA, Isamu, et al. Preparation of metal phthalocyanine (MPc)-polymer complexes: the possible anticancer properties of FePc-polymer complexes. Heliyon, 2019, 5.3
7. L.V., Feng, et al. Zinc phthalocyanine labelled polyethylene glycol: Preparation, characterization, interaction with bovine serum albumin and near infrared fluorescence imaging in vivo. Molecules, 2012, 17.6:6348-6361.
8. ZHAO, Jianjun, et al. A phthalocyanine-grafted MA-VA framework polymer as a high performance anode material for lithium/sodium-ion batteries. Dalton Transactions, 2021, 50.28: 9858-9870.

9. DENEKAMP, Ilse M., et al. A simple synthesis of symmetric phthalocyanines and their respective perfluoro and transition-metal complexes. Applied Organometallic Chemistry, 2019, 33.5: e4872
10. Türkan, F., Taslimi, P., Cabir, B., Ağırtaş, M. S., Erden, Y., Celebioglu, H. U., Gulcin, I.: Co and Zn Metal phthalocyanines with bulky substituents: Anticancer, antibacterial activities and their inhibitory effects on some metabolic enzymes with molecular docking studies. Polycyclic Aromatic Compounds, 42(7), 4475-4486 (2022). https://doi.org/10.1080/10406638.2021.1893194
11. ROBU, Ș., LUNGU, I., POTLOG, T., STRATULAT, E., DÎRU, M., Comparison of Emission properties of..... Derivatives. iFMBE Proceedings 134, pp. 361-368. 2025.
12. Lacey, H. T. Sulfonated and unsulfonated imidomethyl, carboxyamidoethyl and aminoethyl phthtalocyanines US Patent, 1953, No. US2761868A.

Date despre autori:



Ștefan ROBU, dr. conf. univ., cercet. șt. superior, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: s.v.robu@mail.ru
ORCID: 0000-0002-9804-5543



Ion LUNGU, dr., cercetător științific superior, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: ion.lungu@usm.md; ionlungu.usm@gmail.com
ORCID: 0000-0002-7117-672X



Tamara POTLOG, dr., conf. univ., cercetător științific coordonator, Institutul de Fizică Aplicată, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: tpotlog@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1243-9371



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, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: roman.rusnac@usm.md
ORCID: 0000-0002-5713-5251



Vasile STEGARIOV, cercet. șt. stagiar,
Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: stegariovvasile@gmail.com
ORCID: 0009-0004-0611-601X

CZU: 547.77:547.599.2:615.277 https://doi.org/10.59295/mabt2026.36

REACȚIA DE CICLOADDIȚIE [3+2] AZIDĂ–ALCHINĂ ȘI CITOTOXICITATEA DERIVAȚILOR DE (+)-3-CARENĂ

Sergiu COJOCARI[1], Serghei CURLAT[2], Fliur MACAEV[1]

[1]Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova,
[2]Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Rezumat

Chimia „click” a devenit o metodă populară pentru sinteza rapidă de compuși farmaceutici, iar azidele și alchinele influențează semnificativ viteza și regioselectivitatea reacțiilor [3+2]. Derivații (+)-3-carenei cu centre chirale au fost transformați în azidoalcooli și ulterior în compuși heterorganici prin cicloaddiție [3+2], fiind analizat impactul substituenșilor și al condițiilor experimentale. S-au sintetizat molecule hibride cu fragmente de 2-carenă și heterocicluri azotate, obținându-se randamente variabile între 45–74%. Studiile de citotoxicitate au evidențiat nivelul de toxicitate scăzut pentru compușii **8, 9, 14** și **15**, în timp ce compușii **3, 4** și **5–7, 10–14, 16** au manifestat citotoxicitate moderată. Produsul **17** a prezentat cea mai mare activitate citotoxică, cu IC_{50} sub 10 μM pe toate liniile celulare studiate.

Cuvinte-cheie: **(+)-**3-carenă; [3+2] cicloadiție; heterocompuși; azidoalcooli; epoxid; 1,2,3-triazoli; 2-carenă.

CYCLOADDITION [3+2] AZIDE–ALKYNE REACTION AND THE CYTOTOXICITY OF (+)-3-CARENE DERIVATIVES

Abstract

“Click chemistry” has become a popular method for the rapid synthesis of pharmaceutical compounds, with azides and alkynes significantly affecting the reaction rate and regioselectivity in [3+2] cycloadditions. (+)-3-Carene derivatives with chiral centers were converted into azidoalcohols and subsequently into heterorganic compounds through [3+2] cycloaddition, with the effects of substituents and reaction conditions studied. Hybrid molecules containing 2-carene fragments and nitrogen-containing heterocycles were synthesized, achieving yields ranging from 45–74%. Cytotoxic activity was evaluated across multiple cell lines; compounds **8, 9, 14,** and **15** were non-toxic, while compounds **3, 4**, and heterocompounds **5–7, 10–14**, and **16** showed moderate activity. Product **17** exhibited the highest cytotoxic activity, with IC_{50} values below 10 μM across all cell lines.

Keywords: (+)-3-carene; [3+2] cycloaddition; heterocompounds; azido alcohols; epoxide; 1,2,3-triazoles; 2-carene.

Introducere

În ultimii decenii contextul dezvoltării unor strategii moderne pentru generarea rapidă a unei biblioteci extinse de compuși cu potențial farmaceutic, chimia „click” a dobândit o largă răspândire. Studiile asupra cicloaddiției [3+2] azidă–alchină reprezintă un instrument valoros datorită eficienței, selectivității și condițiilor blânde de reacție. Studiile au demonstrat că natura substraturilor implicate, respectiv azida și alchina, precum și sistemul catalitic utilizat, influențează în mod decisiv viteza reacției și regioselectivitatea acesteia. Astfel, catalizatorii pe bază de Cu(I) favorizează formarea regioizomerilor 1,4-disubstituiți ai 1,2,3-triazolilor, în timp ce catalizatorii pe bază de ruteniu conduc predominant la derivați 1,5-disubstituiți.

O direcție promițătoare în descoperirea de compuși biologic activi o constituie modificarea metaboliților naturali, menținând scheletul carbonic de bază. [1,2]. În acest context, hidrocarbura monoterpenică (+)-3-carenă **1** prezintă un interes deosebit datorită activităților sale biologice variate, inclusiv efecte de modulare a receptorilor GABα de tip benzodiazepinic, inhibarea ciclului celular în faza G2/M la *Saccharomyces cerevisiae* și activitate leishmanicidă. De

asemenea, pentru 2-carenă au fost raportate efecte antitumorale în modele de cancer mamar. [3–6].

Metode și materiale

Cu scopul determinării structurii și proprietăților compușilor sintetizați, a fost utilizată o gamă largă de metode fizico-chimice de analiză. Temperaturile de topire au fost determinate cu ajutorul aparatului „Boetius". Spectrele IR au fost înregistrate la spectrofotometrul „Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR". Spectrele RMN de ^{1}H, ^{13}C și ^{31}P au fost înregistrate la spectrometrul „Avance III Bruker 400", care funcționează la un câmp magnetic constant de 9,4 T. Monitorizarea procesului reacțiilor s-a realizat cu ajutorul cromatografiei în strat subțire (CSS) pe plăci de Silufol, developate în vapori de I_2. Pentru cromatografia pe coloană s-a utilizat silicagel L 100/400 μm sau silicagel 60 Fluka. Substanțele și reagenții chimici utilizați sunt disponibili comercial și au fost folosiți fără purificare suplimentară. (+)-3-carena **1** a fost procurată de la firma Sigma Aldrich.

Rezultate și discuții

În lucrare au fost descrise o serie de transformări ale carenelor menționate una în cealaltă, cu o conversie nesemnificativă [7,8]. Interesul pentru sinteza compușilor optic activi pe baza (+)-3-carenei **1** se explică din prezența a două centre chirale și a unei duble legături reactive în moleculă. Una dintre căile raționale de obținere a compușilor heteroorganici din seria caranică este utilizarea derivaților acestora, începând cu epoxidul **2 figura 1**.

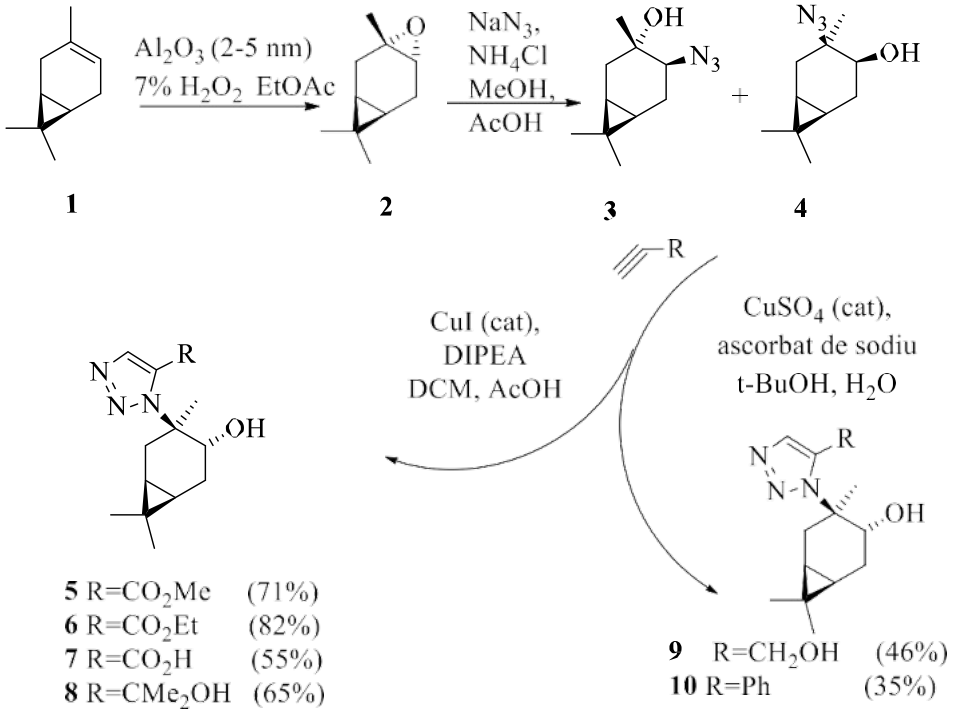


Figura 1. Schema de sinteză a 1,2,3-triazolilor din (+)-3-carena

Metodele cunoscute de obținere a azidelor **3** și **4** includ deschiderea ciclului epoxidic **2** cu NaN_3 în prezența NH_4Cl prin refluxare în metanol sau prin agitare cu NaN_3 în soluție apoasă de acid acetic la 30°C [9,10]. În primul caz se formează un amestec aproximativ echimolar de

azidoalcoolii regioizomeri **3** și **4** (randament total 49%), în timp ce modificăm condițiile de reacție observăm formarea preponderentă a compusului **4** (randament 65%), ceea ce nu corespunde datelor prezentate de alți cercetători [11], care au raportat un amestec de regiooizomeri (86:14) cu randament total de 92%.

În condițiile acidului acetic apos, în locul produsului cu punct de topire de 35°C, noi am izolat compusul predominant (randament 74%) cu punct de topire de 32°C [12].

În continuare a fost investigată influența naturii acetilenelor monosubstituite în reacția de cicloaddiție [3+2] cu utilizarea azidoalcoolului **4**. Ca prim model a fost propusă realizarea reacției catalizată de CuI între azidoalcool și esterul metilic al acidului acetilencarboxilic. Ca sistem catalitic s-a utilizat CuI : DIPEA : AcOH (1:2:0,2), propus pentru prima dată în studiul [13]. Prin utilizarea metodelor spectrale am confirmat produsul metal carboxilatul **5**.

Înlocuirea esterului metilic cu esterul etilic nu a influențat semnificativ nici durata reacției (4 ore), nici randamentul produsului final **6**. La trecerea la acidul acetilencarboxilic, durata reacției a crescut până la 12 ore, rezultând acidul **7** cu un randament de 55%.

S-a stabilit că înlocuirea acidului cu una gem-dimetilică a influențat favorabil reacția, astfel după 8 ore utilizând catalizator CuI în DCM, s-a determinata o conversie completă si formarea compusului **8**. De remarcat că înlocuirea grupării gem-dimetilice cu una metilenică in conditii de obtinere a compusului **8** a avut un efect negativ asupra reacției de cicloaddiție [3+2] (reacția nu a decurs în condițiile prezentate).

S-a constatat că înlocuirea sistemului catalitic CuI/DIPEA/AcOH cu $CuSO_4$/ascorbat de sodiu și desfășurarea reacției în *tert*-butanol apos la refluxare timp de 4 ore au favorizat formarea produsului final **9**. O situație similară a fost observată și în cazul fenilacetilenei. Doar în condiții de refluxare a amestecului de azidă, fenilacetilenă, $CuSO_4$ și ascorbat de sodiu în *tert*-butanol apos s-a observat formarea aductului **10**.

O altă parte a cercetărilor a fost dedicată studiului comparativ al influenței poziției grupării azidă în regioizomerul **3** asupra reacției de cicloaddiție [3+2] cu aceleași acetilene monosubstituite ca și în cazul azidoalcool 4. În cazul esterului metilic al acidului acetilencarboxilic, după 2 ore s-a înregistrat conversia completă a reactanților inițiali, cu o ușoară scădere a randamentului de reacție comparativ cu regioizomerul **5**. Conform datelor spectrale, produsul principal al reacției este compusul polifuncționalizat **11**.

Utilizarea esterului acetilen carboxilic a influențat negativ selectivitatea reacției de condensare a esterului etilic al acidului acetilencarboxilic. În final, după prelucrarea amestecului de reacție și purificarea acestuia prin cromatografie în strat subțire preparativă, a fost izolat esterul etilic optic activ **12**, cu un randament de 53%, ceea ce este cu 29% mai mic în comparație cu izomerul **6**.

În urma utilizării acidul acetilencarboxilic și azida **3** s-a observat o creștere a timpului de reacție, fenomen observat și pentru azida **4**. Diferența constă în faptul că substanța fanală **13** se formează cu un randament mai mare cu 19%.

La trecerea la 2-metilbut-3-in-2-ol s-a constatat atât o scădere a vitezei reacției cu utilizarea azidei **3** comparativ cu azida regioizomeră **4**, cât și a randamentului produsului final **14** (53%). Conform datelor cromatografiei pe strat subțire, conversia completă a fost observată după 12 ore, în timp ce pentru compusul **4** au fost necesare 8 ore.

S-a constatat că azida **3**, spre deosebire de azida regioizomeră **4**, reacționează cu prop-2-in-1-ol, formând produsul **15** cu un randament de 63% în decurs de 2 ore. Mai mult decat, reacția de cicloaddiție [3+2] decurge în prezența sistemului CuI/DIPEA/AcOH la temperatura camerei, în timp ce în cazul azidoalcoolului **4** au fost necesare condiții mai dure.

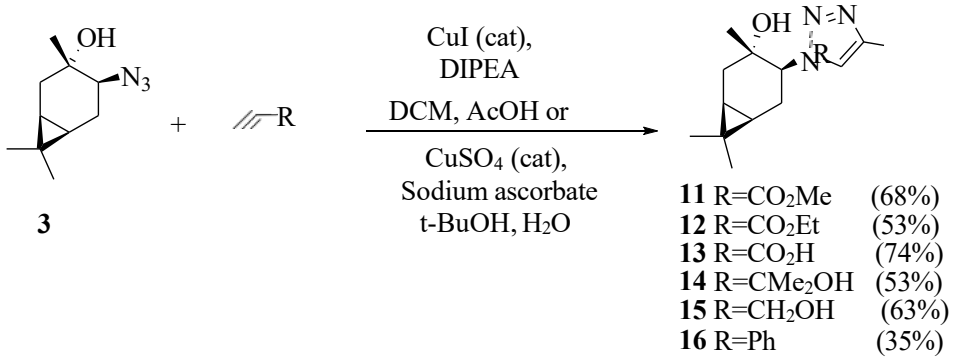


Figura 2. Obținerea 1,2,3-triazolilor din azidoalcoolul 3

Condensarea fenilacetilenei cu azidoalcoolul 3 a decurs analog cu cea a azidoalcoolului 4, timp de 8 ore, prin refluxare cu $CuSO_4$ și ascorbat de sodiu în *tert*-butanol apos, care a rezultat produsul cristalin 16.

În urma cercetărilor căutării noilor compuși biologic activi, a fost realizată sinteza moleculelor hibride care conțin fragmente de 2-carenă și fragmentul 1,2,3-triazol, conform schemei prezentate **figura 3**.

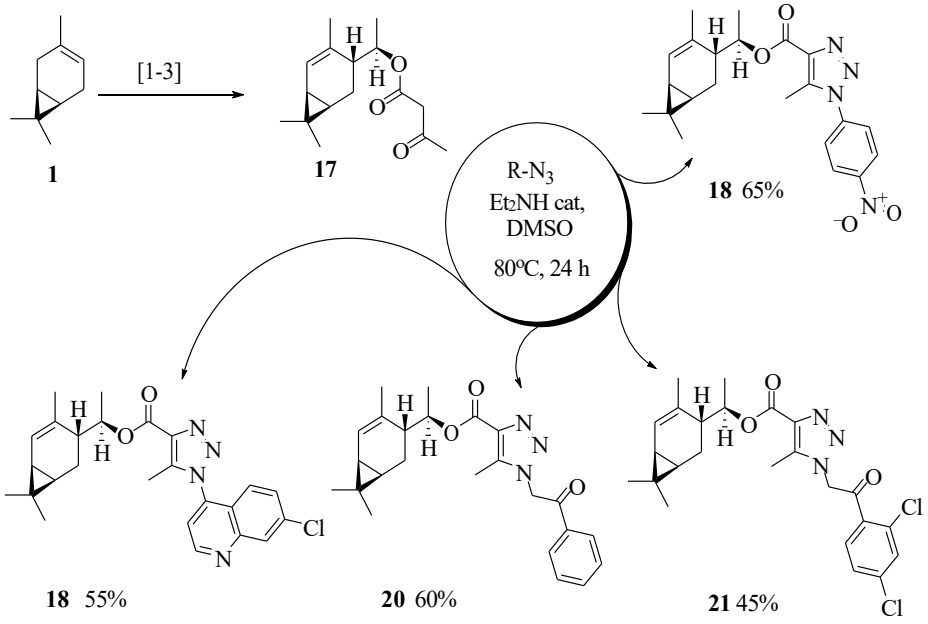


Figura 3. Sinteza triazolilor cu scheletul monoterpenei 2-carenei

Reacția compusului **7** cu 1-azido-4-nitrobenzen în prezența dietilaminei conduce la aductul **18**. Ca al doilea model a fost utilizată reacția acetooacetatului **7** cu 4-azido-7-clorochinolină. S-a constatat că compusul **18** poate fi obținut cu un randament de 55%.

Reacția terpenoidului 3-oxobutanoat **7** cu 2-azido-1-ariletanoni s-a realizat în mod similar în mediu DMSO. Condensarea compusului **7** cu 2-azido-1-feniletanona a decurs cu formarea compusului **20**, izolat cu un randament de 60% după cromatografie pe coloană pe silica gel. În

reacția compusului **7** cu 2-azido-1-(2,4-diclorofenil)etanona, randamentul produsului de ciclizare **17** nu a depășit 45%.

Activitatea citotoxică a compușilor sintetizați și a compusului de referință etopozidă a fost determinată prin metoda [14], prin stabilirea concentrației substanței care inhibă 50% (doza toxică IC_{50}) din viabilitatea celulelor tumorale pe celule Capan-1, HCT-116, LN-229, NCI-H460, DND-41, HL-60, K-562, Z-138.

In urma cercet au fost obținute date ce au demonstrat că azidoalcoolii **8, 9, 14** și **15** nu au prezentat citotoxicitate pe liniile celulare testate, în timp ce compușii **3** și **4** au demonstrat activitate citotoxică în intervalul de concentrații investigat. Compușii heterociclici **7, 10–14** și **16** au prezentat activitate moderată împotriva majorității liniilor celulare, cu valori IC_{50} între 15,7 și 100,0 μM, fiind citotoxicitate mai redusă comparativ cu cea a compușilor inițiali.

Produsul **17** s-a dovedit a fi unul dintre cei mai activi derivatii 2-careni substituiți, cu valori IC_{50} sub 10 μM pentru toate liniile celulare, ceea ce indică un efect citotoxic puternic.

Concluzie

În concluzie, studiul realizat demonstrează eficiența aplicării strategiei de chimiei „click”, în special a reacțiilor de cicloaddiție [3+2] azidă–alchină, pentru obținerea unor derivați heterociclici noi pe baza scheletului natural al (+)-3-carenei. S-a evidențiat în mod evident că natura substraturilor (azidă și alchină), precum și sistemul catalitic utilizat influențează semnificativ viteza reacției, randamentul și regioselectivitatea procesului, fiind observate diferențe notabile între regioizomerii azidici **3** și **4**.

Rezultatele au relevat că modificările structurale ale acetilenelor monosubstituite pot activa sau inhiba reacția, iar selectia condițiilor optime (de exemplu, CuI/DIPEA/AcOH sau $CuSO_4$/ascorbat de sodiu) este esențială pentru obținerea produselor dorite. De asemenea, s-a demonstrat că poziția grupării azidă în moleculă influențează nu doar cinetica reacției, ci și selectivitatea cât și randamentul produșilor finali.

Evaluarea biologică a compușilor sintetizați a relevat că majoritatea derivaților au demonstrat o activitate citotoxică moderată, iar anumite structuri hibride manifestă un potențial semnificativ proprietăți citotoxice pronunțate, in special compusul **17** s-a remarcat printr-o activitate citotoxică ridicată asupra tuturor liniilor celulare investigate, cu valori IC_{50} sub 10 μM, care poate sugera un candidat promițător pentru dezvoltarea ulterioară de agenți antitumorali.

Astfel, cercetarea confirmă valoarea derivaților carenelor prin metode de tip chimiei „click” ca o direcție viabilă în descoperirea de noi compuși biologic activi și deschide noi oportunități pentru optimizarea structurală și evaluarea proprietăților farmacologice aprofundată a acestor compusi.

Mulțumiri

Acest studiu a fost susținut de proiectul de cercetare „Studiul chimic al metaboliților secundari din surse naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ prin extinderea diversității moleculare cu funcționalitate multiplă (MetNatVal)”, nr. 010601, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova.

Referințe:

1. Brill, Z. G., Condakes, M. L., Ting, C. P., Maimone, T. J. Navigating the Chiral Pool in the Total Synthesis of Complex Terpene Natural Products. *Chem. Rev.*, 2017, 117, 11753. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00834.
2. Curlat, S. Recent studies of (+)-3-carene transformations with the retention of the native framework. *Chem. J. Mold.*, 2019, 14(2), 32–55. DOI: 10.19261/cjm.2019.616.
3. Silva, A. R. S. T., Costa, A. M. B., Scher, R., Andrade-Neto, V. V., Sarmento, V. H. V., Santos, A. D. J., Torres-Santos, E. C., Jain, S., Nunes, R. d. S., Menna-Barreto, R. F. S., Dolabella, S. S. Effect of

3-Carene and the Micellar Formulation on Leishmania (Leishmania) amazonensis. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 2023, 8, 324. DOI: 10.3390/tropicalmed8060324.
4. Woo, J., Yang, H., Yoon, M., Gadhe, C. G., Pae, A. N., Cho, S., Lee, C. J. 3-Carene, a Phytoncide from Pine Tree Has a Sleep-enhancing Effect by Targeting the GABAA-benzodiazepine Receptors. *Exp. Neurobiol.*, 2019, 28(5), 593. DOI: 10.5607/en.2019.28.5.593.
5. Nayila, I., Sharif, S., Lodhi, M. S., Ullah, R., Alotaibi, A., Maqbool, T., Hameed, S. Nanoformulated Terpenoids in Cancer: A Review of Therapeutic Applications, Mechanisms, and Challenges. *Arab. J. Chem.*, 2024, 17. DOI: 10.3390/cancers17183013.
6. Kumar, A., Dev, K., Sourirajan, A. S. Essential Oils of Rosmarinus officinalis L., Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., and the phyto-compounds, delta-carene and alpha-pinene mediate cell cycle arrest at G2/M transition in budding yeast Saccharomyces cerevisiae. *Afr. J. Bot.*, 2021, 141, 296. DOI: 10.1016/j.sajb.2021.05.008.
7. Sidorenko, A. Yu., Aho, A., Ganbaatar, J., Batsuren, D., Utenkova, D. B., Sen'kov, G. M., Wärnå, J., Murzin, D. Yu., Agabekov, V. E. Catalytic isomerization of α-pinene and 3-carene in the presence of modified layered aluminosilicates. *Mol. Catal.*, 2017, 443, 193. DOI: 10.1016/j.mcat.2017.10.014.
8. Macaev, F., Malkov, A. V. Use of monoterpenes, 3-carene and 2-carene, as synthons in the stereoselective synthesis of 2,2-dimethyl-1,3-disubstituted cyclopropanes. *Tetrahedron*, 2006, 62, 9–29. DOI: 10.1016/j.tet.2005.09.001.
9. Cimarelli, C., Fratoni, D., Palmieri, G. Synthesis of new enantiopure trans-3,4-diaminocaranes from (+)-3-carene. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, 22, 603–608. DOI: 10.1016/j.tetasy.2011.02.027.
10. Bakaleinik, G. A., Shagidullin, R. R., Chernova, A. V., Musin, R. Z., Karlin, V. V. Sintes i struktura stereoizomernykh azidospirtov iz α- i β-epoksikaranov. *Zhurnal Obshchei Khimii*, 1992, 62(3), 655–660.
11. Fringuelli, F., Piermatti, O., Pizzo, F., Vaccaro, L. Ring Opening of Epoxides with Sodium Azide in Water. A Regioselective pH-Controlled Reaction. *J. Org. Chem.*, 1999, 64, 6094. DOI: 10.1021/jo990368i.
12. Curlat, S., Prodius, D., Barba, A., Macaev, F. New synthesis, molecular and crystal structure of (1R,3R,4R,6S)-4-azido-4,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]heptan-3-ol. In: *Abstracts of Communications of the International Conference „Львівські хімічні читання - 2015"*. Lviv, 2015, p. 18.
13. Shao, C., Wang, X., Zhang, Q., Luo, S., Zhao, J., Hu, Y. Acid-base jointly promoted copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *J. Org. Chem.*, 2011, 76(16), 6832–6836. DOI: 10.1021/jo200869a.
14. Ciobanu, N., Sucman, N., Petrou, A., Gorincioi, E., Valica, V., Uncu, L., Fesatidou, M., Glamočlij, J., Ivanov, M., Persoons, L., Schols, D., Jonghe De, S., Geronikaki, A., Macaev, F. Biological and Computational Study of the Dual Antimicrobial and Anticancer Potential of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones and Thiones. *ChemistrySelect*, 2025, 10(26), e02768. DOI: 10.1002/slct.202502768.

Date despre autori:



Sergiu COJOCARI, cercetător științific, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova
e-mail: sergiu.cojocari@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-6825-5390



Serghei CURLAT, cercetător științific, dr. șt. chim. lector universitar, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
e-mail: sergiu.curlat@usmf.md
ORCID: 0000-0001-8921-7887



Fliur MACAEV, Membru corespondent al AȘM, doctor habilitat în științe chimice, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, profesor cercetător
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
ORCID: 0000-0002-3094-1990

CZU: 546.56:547.497:615.28:54-386 https://doi.org/10.59295/mabt2026.37

INVESTIGATION OF SOME WATER-SOLUBLE BINUCLEAR COMPLEXES OF COPPER(II) BASED ON*BIS*-ISOTHIOSEMICARBAZONES

Tudor JOVMIR[1], Sergiu SHOVA[2], Lucian LUPAȘCU[3], Greta BALAN[4], Olga BURDUNIUC[5], Nicolae GAIU[6], Ion GERU[7], Aurelian GULEA[8], Vasile LOZAN[1]

[1]Laboratorul Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
[2]Departamentul Polimeri Anorganici, Institutul de Chimie Macromoleculară "Petru Poni", Iasi, Romania
[3]Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
[4]Departamentul Medicină Preventivă, USMF "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova
[5]Laboratorul microbiologic al Agenției Naționale de Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova
[6]Laboratorul Fizica și ingineria nanomaterialelor "Evghenii Pokatilov", Institutul de Fizică Aplicată, USM, Chișinău, Republica Moldova
[7]Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
[8]Laboratorul Materiale avansate în Biofarmaceutică și Tehnică USM, Republica Moldova

Abstract

It has been studied interaction of known water-soluble copper(II) dimer $[Cu_2(H_2Q)$-μ-$Cl]Cl_2 \cdot H_2O$ with some chloride salts, where H_3Q representsbinucleating 2,6-diformyl-4-methylphenol bis(*S*-methyl-isothiosemicarbazone). It was obtainedthree new polynuclear coordination dimers, including one heterometallic containing Cu_2-Zn. The complexes were characterized by elemental analysis, IR spectroscopy and XRD analysis. In contrast to other copper dimers in $[Cu_2H_2Q$-μ-Cl-μ-$(ZnCl_4)] \cdot H_2O$ the both chloride anions coordinate to copperin cis-apical fashion, as well as being part of a new formed tetrachlorzincate anion which function as additional triatomic bridge between copper centers: Cu_1-Cl-Zn-Cl-Cu_2. The EPR spectra of the starting compound recorded at 300 K reveals seven lines of hyperfine structure with g= 2.006 ± 0.001 of the central component and the constant of hyperfine interaction A= $(126.9 \pm 0.1) \cdot 10^{-4}$ cm^{-1}. It was found that this dimer manifests a pronounced selective antibacterial activity against pathogen Gram(+) bacteria (MMC= 1-2 μg/mL), as well as against fungal strains (MMC= 4-8 μg/mL), while the free ligand H_3Q does not reveal significant antimicrobial activity.

Keywords: copper, binuclear, isothiosemicarbazone, X-ray, EPR, antimicrobial.

STUDIUL UNOR COMPLECȘI HIDROSOLUBILI AI CUPRULUI(II) PE BAZĂ DE BIS-IZOTIOSEMICARBAZONE

Rezumat

A fost studiată interacțiunea dimerului hidrosolubil cunoscut $[Cu_2(H_2Q)$-μ-$Cl]Cl_2 \cdot H_2O$ cu unele săruri de clorură, unde H_3Q reprezintă bis(S-metilizotiosemicarbazona) binucleabilă a 2,6-diformil-4-metilfenolului. În rezultat au fost sintetizați trei noi dimeri ai cuprului(II), inclusiv unul heterometallic Cu_2-Zn. Compușii coordinativi au fost caracterizați prin analiza elementală, spectroscopia IR, studiul cu raze X. Spre deosebire de ceilalți dimeri de cupru, în$[Cu_2H_2Q$-μ-Cl-μ-$(ZnCl_4)] \cdot H_2O$ ambii anioni de clorură se coordonează cis-apical la ionii de cupru, totodată făcând parte dintrun anion de nou format tetraclorzincat, care funcționează ca o punte suplimentară triatomică dintre centrele de cupru: Cu_1-Cl-Zn-Cl-Cu_2. Spectrele RES înregistrate la 300K ale compusului initial, denotă o strucură hiperfină din șapte liniicu g= 2.006 ± 0.001ale componentei centrale și constanta interacțiunei hiperfine A= $(126.9 \pm 0.1) \cdot 10^{-4}$ cm^{-1}. S-a depistat că dimerul acesta manifestă o activitate antimicrobiană pronunțată și selectivăcontra bacteriilor patogene Gram (+) (MMC=1-2 μg/mL), de asemenea și contra tulpinilor de fungi(MMC=4-8 μg/mL), totodată ligandul liber H_3Q nu posedă o activitate antimicrobiană semnificativă.

Cuvinte-cheie: cupru, binuclear, isotiosemicarbazone, raze-X, RES, antimicrobian.

Introduction

Thiosemicarbazone derivatives and especially their polynuclear coordination complexes reveal interesting chemical, physical and biological properties [1-4]. For example, it has been found significant antiferromagnetic interaction between copper centers in binuclear complexes of compartmental 2,6-diformyl-4-methylphenol bis(thiosemicarbazones) [5,6]. The properties of thiosemicarbazones and their coordination compounds varies widely in dependence of the nature of the metal, the structure of the ligand or complex, the nature of the substituents in both the carbonyl and the thiosemicarbazide fragments. The latter can be derivatized by substitution to nitrogen or sulphur atoms from the thiocarbonyl group, which can be alkylated to give *S*-alkylisothiosemicarbazides. Alkylation of the sulphur atom drastically reduces the coordination capacity of the thioether atom formed with most transition metals. As a result, the sulphur atom in the isothiosemicarbazide moiety no longer participates in coordination with most metals, and its place in the isothiosemicarbazide donor set is occupied by the N4 terminal atom [7].

The effect of alkylation of the thiosemicarbazide sulphur atom, as well as of metal coordination on biological activity may be divergent. From the literature data it appears that the alkylation of sulphur in the thiosemicarbazide moiety in many cases does not increase the biological activity of the ligands or respective coordination compounds (vide infra).

The general disadvantage of biologically active thiosemicarbazone coordination compounds is that many of them are insoluble in water, which is the most suitable solvent from a biological and ecological point of view. One method to confer the water solubility is to introduce hydrophilic groups such as sulphonic (-SO_3H) or carboxylic (-COOH) groups into the organic ligand. These groups are easily ionized in the basic medium with the formation of the respective alkali metal or ammonium salts, which usually renders water solubility to the respective ligands and complexes.

Previously it was synthesized the binuclear complex [$Cu_2(H_2Q)$-μ-Cl]$Cl_2 \cdot H_2O$ (**1**), where H_3Qrepresents a compartmental ligand based on 2,6-diformyl-4-methylphenol *bis*(*S*-methylisothiosemicarbazone). The complex**1** has been tentatively assigned the following structure (Figure 1) [5].

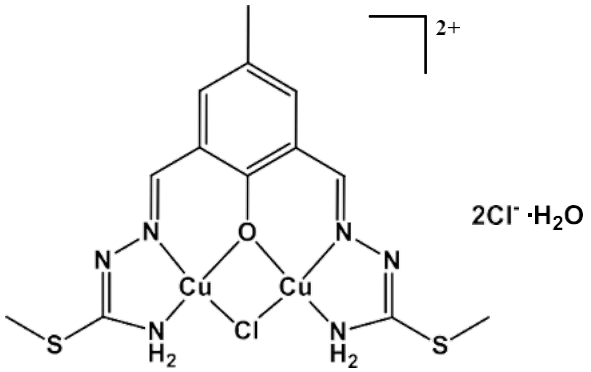


Figure 1. Proposed structure for binuclear complex *1*

The remarkable property of this dicopper complex is the water solubility with formation of dark-green solutions at relatively low concentrations. This water solubility for this compound is rather unusual, since an analogous dimer with non-alkylated thiosemicarbazone, also containing three chloride ions, is insoluble in water [5]. This water-soluble complex as well manifests some antimicrobial properties [8].

Proceeding from the mentioned properties of the binuclear copper complex **1**, the aim of the present work was the synthesis of new coordination compounds of copper(II) with thiosemicarbazone and investigation of physico-chemical properties including the biological activity.

Experimental

Materials

Thiosemicarbazide, iodomethane, 2,6-diformyl-4-methylphenol, 3-formylsalicylic acid, methanol, ethanol, dimethylsulfoxide (DMSO), dimethylformamide (DMF) and starting chlorides of ammonium, potassium, copper and zinc have been purchased from Aldrich and used without further purification.

Synthesis of ligand and derived complexes

2,6-diformyl-4-methylphenol bis(S-methylisothiosemicarbazone) (H_3Q)

Starting ligand H_3Q was obtained by condensation of *S*-methylisothiosemicarbazide hydroiodide with 2,6-diformyl-4-methylphenol in ethanol-water solvents, in the presence of sodium carbonate [5]. Yield 93%. Elemental analysis for $C_{13}H_{18}N_6OS_2$ (338.33): calcd., %: C 57.03, H 5.67, N 4.93; found, %: C 56.92, H 5.70, N 4.89. The ligand is insoluble in water, but is soluble in DMSO and DMF. M.p. 208-211°C. IR spectrum (KBr, cm^{-1}): 3484 w, 3404 w, sharp, 3081 w, 1636 s, sharp, 1607 s, 1517 v.s., sharp, 1299 s, sharp, 1016 m, sharp, 757 s, sharp, 691 m, sharp.

$[Cu_2(H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]Cl_2\cdot H_2O$ (1)

The coordination compound 1 was obtained by slightly modified method described in [5]. To a suspension of H_3Q (1.70 g, 5.0 mmol) in methanol (100 mL) at room temperature was added $CuCl_2\cdot 2H_2O$ (1.70 g, 10.0 mmol). The slurry was magnetically stirred about 15 min until the disappearance of solid starting yellow ligand, then the solution was heated at 50-60°C for 0.5 h. After standing for 4-6 h at the room temperature, the green crystalline product was filtered out, washed with methanol, followed by diethyl ether and dried on air. Yield 2.86 g (97%) as green microneedles.Elemental analysis for $C_{13}H_{19}Cu_2Cl_3N_6O_2S_2$ (588.12) calcd., %: C 57.03, H 5.67, N 4.93; found, %: C 56.92, H 5.70, N 4.89.The complex is soluble in water (about 1%), DMSO and DMF, forming dark-green clear solutions. After 24 h the aqueous solution starts to acquire a very nuanced shade without forming any precipitate within 3 months.

The complex is stable for at least five years on storing in tightly closed dark vessels.IR spectra (KBr, cm^{-1}): 3503 w, 3419 w, sharp, 3300 w, 2797 m, 1555 vs, sharp, 1315 s, sharp, 1144 s, sharp, 904 m, sharp, 713 m.

$[(Cu\text{-}Cl)_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]\cdot 3CH_3OH$ (2)

To a solution of H_3Q, (0.068 g, 0.2 mmol) in methanol (50 mL) at room temperature was added $CuCl_2\cdot 2H_2O$ (0.070 g, 0.4 mmol), packaged in dense filter paper bag. The tightly closed flask with reagents was left to stand at room temperature. After about one week it was formed a long thin green needle suitable for XRD study. The green crystalline needles were filtered out, washed with methanol, followed by diethyl ether and dried on air. Yield 0.021 g (30%). Elemental analysis for $C_{16}H_{29}Cu_2Cl_3N_6O_4S_2$ (1137.18) calcd., %: C 57.03, H 5.67, N 4.93%; found, %: C 56.92, H 5.70, N 4.89%.

$[(Cu\text{-}Cl)_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]\cdot 4H_2O$ (3)

To a solution of $[Cu_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]Cl_2\cdot H_2O$ (1) (0.29 g 0.5 mmol) in water (50 mL) was added the solid KCl (2.0 g) under constant mixing at room temperature. Very quickly it was formed a voluminous light-green suspension. After a few hours the suspension began to being compacted. Within a week practically all initial suspension has been transformed into the dark-green crystalline rod-shape product.

The dark-green crystals have been isolated by filtration on large pore glass filter and washed with ethanol. Yield 0.21 g (60%). Elemental analysis for $C_{13}H_{25}Cu_2Cl_3N_6O_5S_2$(642.95) calcd., %: C24.28, H 3.92, N 13.07, S 9.97; found, %: C 24.60, H 3.55, N 13.36, S 11.25. IR spectra (KBr, cm^{-1}): 3418 m, 3261 m, 2921 w, 2758 m, 1628 w, 1608 w, 1552 vs, 1436 w, 1391 w, 1376 w, 1309 s, 1242 m, 1146s, 904 m, sh, 760 w, 713 w.

$[Cu_2H_2Q$-μ-Cl-μ-$(ZnCl_4)]\cdot H_2O$(4)

The solid $ZnCl_2$ (1.0 g) to the slurry of $[Cu_2(H_2Q$-μ-$Cl]Cl_2\cdot H_2O$ (1) (0.29 g 0.5 mmol) in methanol (50 mL) was added with constant mixing and moderate heating on water-bath until solid phase was completely dissolved. Then the dark-green solution was set to store in closed vessel at room temperature. After several weeks the obtained dark-green rod-shape crystals were isolated by filtration, washed with ethanol and dried on air. Yield 0.14 g (40%). Elemental analysis for $C_{13}H_{19}Cl_5Cu_2N_6O_2S_2Zn$ (725.21) calcd, %: C21.53, H 2.64, N 11.59, S 8.84;found, %: C 17.78, H 2.77, N 9.62, S 8.15. IR spectra (nujol, cm^{-1}): 3536 w, 3464 w, 3422 w, 1625 w, 1608 w, 1560 vs, 1532 m, 1436 vs, 1378 s, 1308s, 1243 w, 1152m, 1132 m, 946 w, 758 w, 721 w, 667 w, 615 m, 478 m.

$K_3[Cu((FSA)_2T)]\cdot 4H_2O$ (5)

Precursor ligand 3-formylsalicylic acid thiosemicarbazone (H_3FSAT), m.p. 211°C, has been described earlier [9]. Recorded IR spectra (KBr pellets, cm^{-1}): 3677 w, 3442 m sh., 3287 m, 3168 s, 2974 w, 2902 w, 1663 s (ν_{as}COOH), 1611 s, 1600 s, 1549 s, 1450 m, 1412 s, 1380 m, 1225 vs, 1151 vs, 1108 s, 1079 s, 1064 s, 946 m, 754 s, 702 m, 672 m sh.

Water soluble complex $K_3[Cu((FSA)_2T)]\cdot 4H_2O$ has been synthesized by template condensation on Cu(II) of H_3FSAT with 3-formylsalicylic acid (H_2FSA) in strong basic media, where $H_3((FSA)_2T)$ represents N_1,N_4-bis(3-caboxysalicyliden) thiosemicarbazide. The solution of $CuCl_2\cdot 2H_2O$ (1.70 g, 10 mmol) in methanol (100 mL) was added dropwise under magnetic stirring to a methanol-water solution (7:3, 100 mL), containing H_3FSA-T (2.50 g, ~10.1 mmol), H_2FSA (2.00 g, ~12 mmol) and KOH (12.0 g, ~214 mmol) heated at 50-60°C. After addition of solution the resulted brown-red crystalline suspension was being maintained for about 0.5 h and the slurry was left to cool for about 24 h. The deep brown reddish sediment (micro needles) was filtered out, then was washed with methanol and diethyl ether and dried on air. Yield 5.05-5.39 g (79-84%). The complex is soluble in water, DMSO and DMF, is insoluble in ethanol and acetonitrile. Aqueous solutions have a very-intense brown-red colour and are stable at least for one month. Elemental analysis for $C_{17}H_{16}CuK_3N_3O_{10}S$ (635.23) calcd., %: Cu 10.00, C 32.14, H 2.54, N 6.61; found, %: Cu 10.45, C 31.22, H 2.28, N 6.70. IR spectra (KBr pellet, cm^{-1}): 3203 m, v. broad, 1601 vs, 1535 vs, 1418 s, 1374 s, 1305 s, 1222 m sh, 1122 s, 1083 s, 1035 m, 986 m, 881 w sh, 870 w, 830 w, 798 w, 745 m. v. sh, 671 w.

$K[Cu((FSAT^1)Cl]\cdot 2H_2O$ (6)

Starting ligand 3-formylsalicylic acid *S*-methylisothiosemicarbazone–hemihydrate ($H_3FSAT^1\cdot 0.5H_2O$) was obtained according the previously described method [9].

IR spectra (KBr pellets, cm^{-1}): 3541 w, 3480 w, 3241 m, 2888 m, 2681 m, 1653 s (ν_{as}COOH), 1628 s, 1615 s, 1598 s, 1553 m, 1475 s sh, 1432 vs sh, 1393 vs sh, 1353 m, 1289 vs, 1188 m, 1141 m sh, 1066 m, 956 w, 940 w, 842 s sh, 811 s, 762 m sh, 737 w, 664 w sh.

Copper complex 6 was prepared according to following method: the solution of $CuCl_2\cdot 2H_2O$ (0.87 g, 5 mmol) in ethanol (30 mL) was added at room temperature by dropping and magnetic stirring to an ethanol-water solution (20:8; 28 mL), containing $H_3FSAT^1\cdot 0.5H_2O$ (1.31 g, ~10.1 mmol) and KOH (1.12 g, ~20 mmol). The obtained green-kaki crystalline slurry was stirred for one hour. The green-khaki crystalline sediment (micro needles) was washed with ethanol, then with diethyl ether and dried in air. Yield 1.10 g (54%) of green-grayish crystalline powder. The complex is soluble in water, DMSO and DMF, is insoluble in ethanol and acetonitrile. Elemental analysis for $C_{10}H_{13}ClCuKN_3O_5S$ (425.39) calcd., %: Cu 14.94, C 28.23,

H 3.08, N 9.88; found, %: Cu 15.35, C 29.59, H 3.06, N 9.40. IR spectra (KBr pellet, cm^{-1}): 1604 m, 1590 m, 1540 s, 1487 vs, 1418 s, 1357 s, 1283 m, 1133 m, 916 m sh, 870 m sh, 754 m sh, 673 m.

Physical measurements

Elemental analysis of the complexes for C, H, and N, was carried out on a Vario EL (III) Elemental Analyzer.

The IR spectra of the ligand and the complexes were recorded using a Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer in the range 4000-650 (KBr pellets) or 4000-400 (nujol) cm^{-1}.

X-ray crystallography: Suitable crystals for single crystal X-ray diffraction study were grown by synthesis in dilute reaction media. X-ray diffraction measurements for compound ***4*** were performed at room temperature using Oxford-Diffraction XCALIBUR E CCD diffractometer with graphite-monochromated Mo-Kα radiation. The data integration and unit cell determination were performed using CrysAlisPro package from Oxford Diffraction [10].The structures were solved with ShelXT [11]by intrinsic phasing methods and refined with ShelXL-2015 [12] using least-squares minimization. The Olex2 program was used as a graphical interface for ShelX programmes [13]. The hydrogen atoms attached to carbon were placed geometrically and constrained to ride with d_{CH} = 0.96 Å and U_{iso} of 1.2Ueq of the parent atoms. The hydrogen atoms attached to nitrogen were localized from difference Fourier maps and their positional parameters were verified according to hydrogen bonds geometry. CCDC 2218209 contains the supplementary crystallographic data for compound **4**. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif. Crystallographic information is summarized in Tables 1.

Table 1. Crystal data and details of data collection for $[Cu_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl\text{-}\mu\text{-}(ZnCl_4)]\cdot H_2O$ (4).

Empirical formula	$C_{13}H_{19}Cu_2Cl_5N_6O_2S_2Zn$
Fw	725.16
Space group	$P2_1/c$
a [Å]	12.0561(5)
b [Å]	11.6057(4)
c [Å]	18.7412(8)
β [°]	108.790(5)
V [$Å^3$]	2482.51(18)
Z	4
r_{calcd} [g cm^{-3}]	1.940
Crystal size [mm]	0.40 × 0.30 × 0.20
T [K]	297
μ [mm^{-1}]	3.387
2Θ range [°]	3.568 to 50.054
Reflections collected	14179
Independent reflections, R_{int}	4375, 0.0314
Data/restraints/parameters	4375/0/286
R_1	0.0407
wR_2	0.1009
GOF	1.035
Largest diff. peak/hole [e $Å^{-3}$]	1.52/-1.05

Electron Paramagnetic Resonance measurements: The X-band EPR spectra of the polycrystalline dicopper complex **1** at a room temperature has been recorded by using spectrometer SE/X-2544 (9.5 GHz).

Antimicrobial activity assays

The strains of microorganisms selected for microbiological testing were provided by the National Collections of Pathogenic Microorganisms. The following Gram-positive pathogenic strains were used: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, and as Gram-negative pathogenic strains - *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Acinetobacter baumannii* ATCC BAA-747. *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Cryptococcus neoformans* CECT 1043 were used as fungal strains. *Erwinia amylovora, Erwinia carotovora* and *Xanthomonas campestris* strains were selected as phytopathogenic microorganisms for the evaluation of antimicrobial activity. To confirm the possibility of extending the antibacterial activity, the non-pathogenic strains of *Bacillus subtilis* CNMN BB-01, *Pseudomonas fluorescens* CNMN-PFB-01 offered by the National Collection of Non-pathogenic Microorganisms were also included in the tests.

The starting thiosemicarbazone ligands (initially dissolved in DMSO) and complexes have been tested *in vitro* as water solutions for antimicrobial activity against different bacteria and fungi by serial dilution method according standard protocol [14].

Results and discussion

Synthesis of complexes

The tripotasium salt of mononuclear copper complex5 has been synthesized on copper template condensation in basic media of 3-formylsalicylic acid thiosemicarbazone with 3-formylsalicylic acid. The monopotasium salt6 was prepared on interaction of copper(II) chloride with 3-formylsalicylic acid S-methylisothiosemicarbazone in ethanol in the presence of 2 equivalents of potassium hydroxide.

The proposed structures of 5 and 6 are in accordance with elemental analysis, IR spectra and the properties, namely a good solubility in water due to presence of deprotonated carboxyl groups. During attempts to grow up crystals of 1 from very dilute solutions instead of 1 has been isolated compound 2 with formula $[(Cu\text{-}Cl)_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]\cdot 3CH_3OH$ which has a very close structure to complex 3.

The synthesis of 3 and 4 has been carried out on the action of excess of simple chloride salts (NH_4Cl or KCl) and $ZnCl_2$, respectively, on $[Cu_2(H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl]Cl_2\cdot H_2O$(1). All complexes are soluble in water, DMSO and DMF forming dark-green solutions. These solutions, especially water ones, tend to slowly change their colour in olive brown tones on standing for some days due to oxidation of isothiosemicarbazone ligand.

Attempts were run to substitute chloride ions in1 to sulphate anion, while it was smoothly obtained much dispersed hardly characterized light-green microcristaline sediments.

IR spectroscopic characterization

The spectra of all complexes contain a large number of bands which are rather difficult to be attributed with certainty due to combination and overlapping of different type of vibrations of organic compartmental ligand. Nevertheless, the very strong band that appears in all complexes at 1552-1560 cm^{-1} can be attributed to skeletal vibrations of bridge phenoxide ν(C-O), conjugated with both adjacent imine chelates. This intense band is a strong characteristic or indication to binuclear structure containing 2,6-bis(imine)-μ-phenoxide moiety [15,16]. In the region 3100-3600 cm^{-1} there are present bands that may assigned to stretching vibrations of ν(OH), ν(NH) of solvate water (methanol) molecules or NH_2 groups.

For complexes 5 and 6 IR spectra univocally demonstrates the deprotonation of carboxyl group by disappearing of strong stretching band of free carboxyl group ν_{as}(COOH) present in starting ligands,at 1663 and1653 cm^{-1} respectively.

X-ray diffraction results

The result of the X-ray diffraction study for compound 4 is shown in Figure 2, while the values of bond distances and angles are summarized in Table 2 and 3. According to X-ray crystallography data compound 4 represents a neutral hetero-trinuclear complex where the H_2Q^- mono-anion acts as a compartmental pentadentate ligand bridging two cooper atoms so that the charge balance is in agreement with the determined composition of the species: [Cu_2H_2Q-μ-Cl-μ-($ZnCl_4$)].The Cu1···Cu2 distance is of 3.0177(8) Å. Each Cu(II) atom is five-coordinated in distorted square-pyramidal geometry. The basal coordination is provided by μ-O, μ-Cl bridging atoms and two nitrogen atoms of the *S*-methylisotiosemicarbazide fragment. The apical position is occupied by chloride atom of $ZnCl_4^-$ anion coordinated in a bidentate-bridging fashion. As the result, the molecular complex exhibits the presence of two distinguished cyclic hetero-trinuclear: {$Cu_2Zn(\mu\text{-}Cl)_2(\mu\text{-}O_{ph})$}and {$Cu_2Zn(\mu\text{-}Cl)_3$} cores. The Cu1···Zn1 and Cu2···Zn1 distances are of 4.2546(8) Å and 4.1743(8) Å, respectively. As a whole, the molecular structure and geometric parameters of compound 4 are consistent with that of earlier reported analogue dicopper complex having deprotonated isothiosemicarbazone arms [6].



Figure 2. X-ray molecular structure of [Cu_2H_2Q-μ-Cl-μ-($ZnCl_4$)] (*4*) with atom labelling and thermal ellipsoids at 50% level.

In the crystal the trinuclear complexes and interstitial water molecules are associated through numerous O-H···Cl N-H···Cl and N-H···O hydrogen bonding (Table 3) to form a two-dimensional supramolecular layer oriented parallel to 101 plane, as shown in Figure 6. The further analysis of the crystal structure has shown the presence of a tree-dimensional supramolecular network which is built-up from the 2D layers interconnected through N-H···O interlayer hydrogen bonds. A fragment of 3D network is represented in Figures 3 and 4.

According to Cambridge Structural Data Base (CSD version 5.43, November 2022), there are registered 18 hits with tetrachlorozincate moiety bridging to other transitional metal ions (mainly to other zinc ions). Only one of them, namely dicopper(I) π-complex based on 5-thioallyl-1,2,4-triazole (refcode: ROKGIK),includes tetrachlorozincate bridge for monovalent copper ions[17]. Thus, the structure of **4** is rather unusual for compartmental dicopper(II) complexes. Moreover, as a consequence of formation of a new additional intramolecular bridge Cu-Cl-Zn-Cl-Cu by tetrachlorozincate involving both apical chlorides is that the apical ligands

are imposed to adopt a *cis* mutual arrangement relative to compartmental ligand plane.This is in contrast to usually *trans* arrangement in μ-chloro-dicopper(II)-dichloro groups of 2,6-bis(imino)-phenoxy chelates. According to Cambridge Structural Data Base (CSD version 2022.3.0) there are registered such 5 chelates, all of them reveals mutually *trans* arrangement of apical chlorides. These reciprocal *trans* arrangement of apical chloride ions being also confirmed for both complexes **2** and **3** (vide infra).

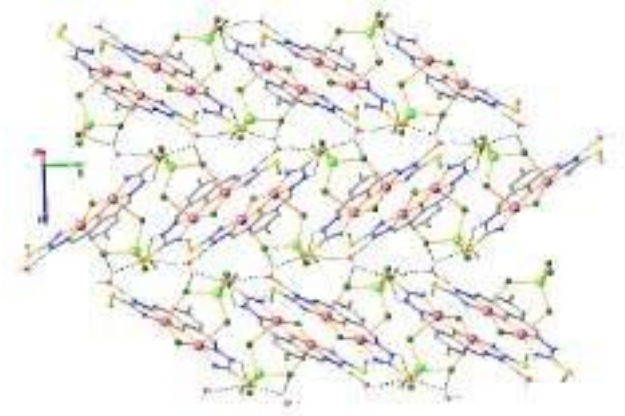


Figure 3. Partial view of the crystal structure packing along *a* crystallographic axis of 4 showing the formation of 2D supramolecular layer. H-bonds are drown as dashed-black lines.

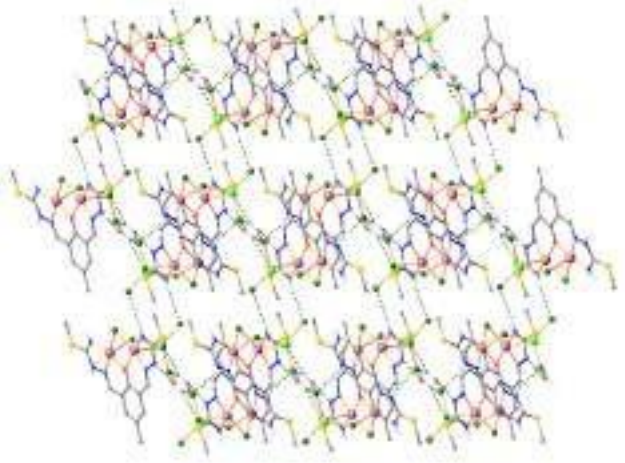


Figure 4. Crystal structure of 4 viewed along *b* axis.

In order to determine the crystal structure of **2** and **3** the X-ray diffraction experiments for these compounds has been also performed. Unfortunately, all tested crystalls were of low quality, giving weak diffracting and the resolution of the collected X-ray data was very low. Both structures could be solved and electron density of the molecule was well defined allowing for the determination of the atomic connectivity. The resulted structural models have unequivocally demonstrated both compounds to have a similar phenolato bridged dinuclear structures, as shown in Figures 5 and 6. As a result, due to the low quality of the structural parameters, in particular high R_1 values in the range between 13-18%, the structural investigation for compound **2** and **3** are not discussed.

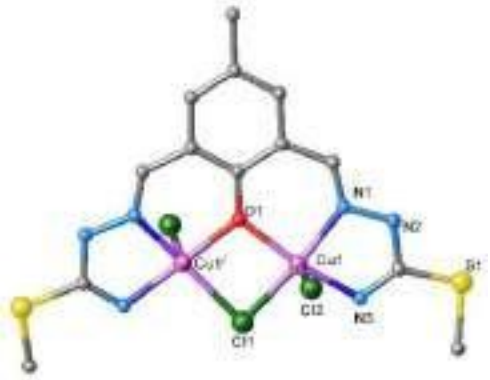


Figure 5. X-ray molecular structure of 2. Unit cell Parameters: a=9.002, b=23.117, c=14.882, α=90, β=105.48, γ=90; Sp. Gr.*I*2/a.

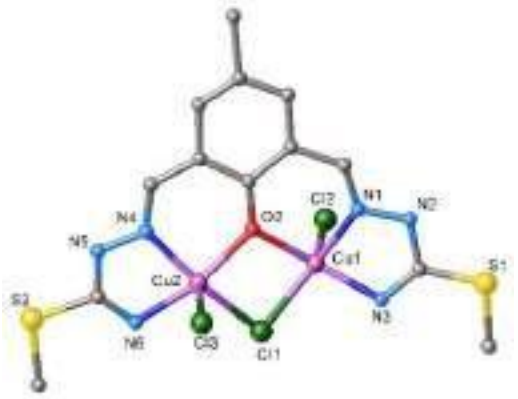


Figure 6. X-ray molecular structure of 3. Unit Cell Parameters:*a*=14.670, *b*=22.954, *c*=8.893, α=90, β=103.62, γ=90; Sp. Gr. $P2_1/c$.

Table 2. Bond distances (Å) for $[Cu_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl\text{-}\mu\text{-}(ZnCl_4)]\cdot H_2O$ (4).

Bond	d,(Å)	Bond	d,(Å)	Bond	d,(Å)	Bond	d,(Å)
Zn1-Cl2	2.2780(13)	O1-C1	1.336(6)	Cu2-Cl1	2.2827(17)	C1-C2	1.421(6)
Zn1-Cl3	2.2608(13)	N1-N2	1.377(5)	Cu2-Cl3	2.8606(15)	C1-C6	1.420(7)
Zn1-Cl4	2.3002(13)	N1-C8	1.274(6)	Cu2-O1	1.950(3)	C2-C3	1.399(7)
Zn1-Cl5	2.2297(14)	N2-C9	1.350(6)	Cu2-N4	1.937(4)	C2-C11	1.457(7)
Cu1-Cl1	2.2910(17)	N3-C9	1.289(6)	Cu2-N6	1.934(4)	C3-C4	1.384(7)
Cu1-Cl2	2.6946(14)	N4-N5	1.383(5)	S1-C9	1.749(5)	C4-C5	1.390(7)
Cu1-O1	1.969(3)	N4-C11	1.281(6)	S1-C10	1.781(6)	C4-C7	1.494(7)
Cu1-N1	1.943(4)	N5-C12	1.364(6)	S2-C12	1.739(5)	C5-C6	1.395(7)
Cu1-N3	1.943(4)	N6-C12	1.284(6)	S2-C13	1.790(6)	C6-C8	1.450(7)

Table 3. Angles (°) for $[Cu_2H_2Q\text{-}\mu\text{-}Cl\text{-}\mu\text{-}(ZnCl_4)]\cdot H_2O$ (4).

Angle	ω, (°)	Angle	ω, (°)	Angle	ω, (°)
Cl2-Zn1-Cl4	104.09(5)	N6-Cu2-Cl1	98.50(13)	O1-C1-C2	121.2(4)
Cl3-Zn1-Cl2	110.18(5)	N6-Cu2-Cl3	84.94(13)	O1-C1-C6	121.6(4)
Cl3-Zn1-Cl4	107.86(5)	N6-Cu2-O1	166.64(17)	C6-C1-C2	117.2(4)
Cl5-Zn1-Cl2	109.50(6)	N6-Cu2-N4	81.99(17)	C1-C2-C11	124.4(4)
Cl5-Zn1-Cl3	114.14(6)	Cu2-Cl1-Cu1	82.57(6)	C3-C2-C1	120.1(4)
Cl5-Zn1-Cl4	110.57(6)	Zn1-Cl2-Cu1	122.04(5)	C3-C2-C11	115.5(4)
Cl1-Cu1-Cl2	103.33(6)	Zn1-Cl3-Cu2	108.62(5)	C4-C3-C2	123.2(5)
O1-Cu1-Cl1	87.42(10)	C9-S1-C10	101.9(3)	C3-C4-C5	116.1(5)
O1-Cu1-Cl2	89.33(10)	C12-S2-C13	101.2(3)	C3-C4-C7	122.8(5)
N1-Cu1-Cl1	167.69(12)	Cu2-O1-Cu1	100.71(15)	C5-C4-C7	121.1(5)
N1-Cu1-Cl2	88.83(11)	C1-O1-Cu1	128.8(3)	C4-C5-C6	123.6(5)
N1-Cu1-O1	90.87(15)	C1-O1-Cu2	130.1(3)	C1-C6-C8	124.2(4)
N1-Cu1-N3	81.95(16)	N2-N1-Cu1	111.4(3)	C5-C6-C1	119.8(4)
N3-Cu1-Cl1	98.12(12)	C8-N1-Cu1	128.5(3)	C5-C6-C8	115.9(4)
N3-Cu1-Cl2	97.36(12)	C8-N1-N2	120.0(4)	N1-C8-C6	125.2(4)
N3-Cu1-O1	170.05(16)	C9-N2-N1	115.1(4)	N2-C9-S1	112.6(3)
Cl1-Cu2-Cl3	96.16(6)	C9-N3-Cu1	113.2(3)	N3-C9-S1	129.1(4)
O1-Cu2-Cl1	88.11(10)	N5-N4-Cu2	110.8(3)	N3-C9-N2	118.3(4)
O1-Cu2-Cl3	106.00(10)	C11-N4-Cu2	129.4(3)	N4-C11-C2	124.1(4)
N4-Cu2-Cl1	176.76(13)	C11-N4-N5	119.8(4)	N5-C12-S2	113.1(4)
N4-Cu2-Cl3	87.07(12)	C12-N5-N4	114.5(4)	N6-C12-S2	129.1(4)
N4-Cu2-O1	90.78(15)	C12-N6-Cu2	113.4(4)	N6-C12-N5	117.7(4)

EPR study of complex 1

The EPR spectra of the compound 1 at a temperature of 300 K, confirms the existence of an antiferromagnetic type exchange interaction in binuclear clusters of Cu(II) ions. Although the EPR spectra were investigated only at one temperature, a conclusion about the nature of the exchange interaction between Cu(II) ions could be made based on the fact that the energy of thermal vibrations at T= 300 K, that is equal to 210 cm^{-1}, exceeds the singlet-triplet splitting ($2|J|= (148 \pm 1)$ cm^{-1} [5]). This leads to the thermal population of the spin levels E_{-1}, E_0 and E_1 of the binuclear cluster in an external magnetic field that is sufficient to recording the EPR spectrum. In the region of low magnetic fields, the EPR spectrum of the complex *1* contains one asymmetric line with the g-factor g= 4.34 ± 0.20 calculated taking into account the corrections of its spectral position as well as the position of the zero line (Figure 7.).

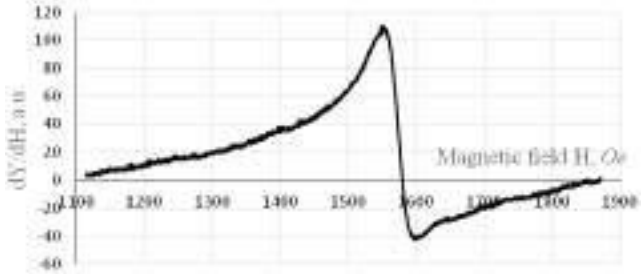


Figure 7. The single EPR line of 1 at T= 300 K and low magnetic field.

At higher magnetic fields and a sufficient increase in the gain of EPR spectrometer a group of seven spectral lines is recorded (Figure 8). This is conditioned by hyperfine interaction of

Cu(II) ions included in binuclear clusters with Cu nuclei: [2(2I) + 1 = 7] for two copper ions. The g-factor of the central component of this group of spectral lines calculated taking into account the above corrections is g= 2,006 ± 0,001. Based on experimental data (Figure 8) it was found that the constant of hyperfine interaction is A= (126.9 ± 0.2) $\cdot 10^{-4}$ cm^{-1}. The seven-component hyperfine structure of the EPR spectrum (Figure 8) is an additional confirmation that Cu(II) ions form binuclear clusters in **1**.

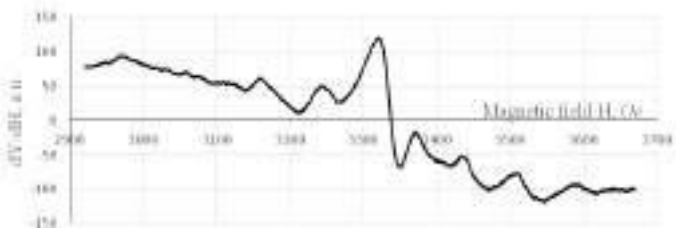


Figure 8. Hiperfine structure of the EPR spectrumof 1 atT= 300 K and high magnetic field.

Antimicrobial activity evaluation

In order to compare antimicrobial activity of complex 1 with other water soluble copper isothiosemicarbazone complexes it has been synthesized mononuclear complexes 5 and 6 with aromatic thiosemicarbazones containing free carboxyl group, which may render water solubility to respective copper complex on deprotonation to form alkali metal salts of these complexes (Figures 9 and 10).

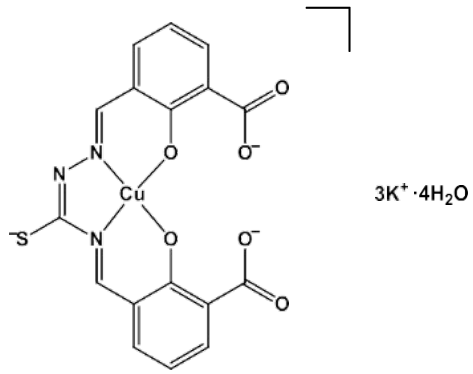


Figure 9. Water-soluble tripotasium salt of mononuclear complex 5.

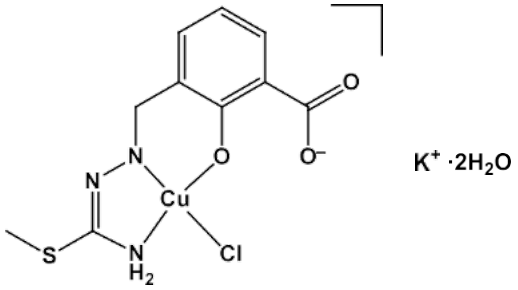


Figure 10. Water-soluble monopotasium salt of complex 6.

From the data presented in the Table 4, results that compound **1** possess a superior antifungal activity, being approximately 10 times higher, compared to other water-soluble complexes of copper (II) with hydroxyaromatic *S*-methylisotiosemicarbazones, being nonalkylated and alkylated on sulphur, respectively **5** and **6**. Compound **1**, being soluble in DMSO, may be used in special cases and in the form of solutions in DMSO for subsequent dilution with water, and in highly dilute aqueous solutions any interference with DMSO will be negligible. In conclusion, the copper dimer compound ***1*** has a potential application in pharmaceuticals and agriculture in the form of aqueous solutions in concentrations of the order of percentages (0.001%= 10μg/mL), for combating various microorganisms.

Table 4. Antimicrobial activity of complexes 1, 5 and 6.

Strains	MIC/MMC (μg/mL)		
	1	**5**	**6**
Staphylococcus aureus	1/2	125/250	31/63
Bacillus cereus	0.5/1	250/500	31/63
Bacillus subtilis	0.5/1	125/250	31/63
Escherichia coli	250/500	l.a.	l.a.
Acinetobacter baumannii	250/500	l.a.	l.a
Candida albicans	4/8	l.a	31/63
Candida parapsilosis	4/8	l.a	125/250
Cryptococcus neoformans	2/4	63/125	31/63
Erwinia carotovora	70/70	300/600	1200/1200
Erwinia amylovora	70/70	300/600	1200/1200
Xanthomonas campestris	70/70	300/600	1200/1200
Pseudomonas fluorescens	300/300	150/300	1200/1200

Notes: MIC– minimum inhibitory concentrations; MMC– minimum microbicidal concentrations; l.a. – low activity.

The biological activity of **1** is rather nonobvious, because the effect of alkylation of the thiosemicarbazide sulfur atom on biological activity as was mentioned earlier may be divergent. For example, S-alkylation of 1,4-benzoquinone-isothiosemicarbazone-guanylhydrazone decreases the antibacterial activity compared to nonalkylated thiosemicarbazone [18]. In the case of benzoic aldehyde thiosemicarbazone, which has an antituberculosis activity - the S-substituted derivative is no longer active against the tuberculous bacillus [19]. A comparative study of the antiproliferative activity of metal complexes, including copper, with unalkylated hydroxyaromatic thiosemicarbazones and S-methylisotiosemicarbazones shows that sulphur alkylation drastically reduces the complexes' ability to inhibit cancer cell proliferation [20]. At the same time, the coordination compounds of copper (II) with 4-allyl-S-methyl-isothiosemicarbazone of salicylic aldehyde show pronounced antimicrobial properties [21].

The biological activity of binuclear compounds, especially of copper with compartmental ligands, has been studied relatively less, where a varied influence on the activity is observed depending on the nature of the ligand and coordination with metals. For example, in the case of hybrid ligands with thiosemicarbazones – the S-methyl analogy is more cytotoxic than the non-alkylated ligand. While for the respective copper dimers the situation is reversed – complexes with alkylated ligand reveals a lower activity than the dimer with the non-alkylated ligand [22]. On the other hand, the binuclear copper(II) complex with ligand based on the non-alkylated thiosemicarbazone - bis(4-phenylthiosemicarbazone)-2,6-diformyl-4-methylphenol, is inactive against various species of fungi or bacteria [23].

Conclusions

Four new coordination compounds of copper(II) containing binucleating Schiff base have been synthesized starting from the copper dimer **1** based on 2,6-diformyl-4-methylphenol bis(S-methylisothiosemicarbazone H_3Q. The complexes were characterizedby IRspectroscopy and XRD analysis. By the action of a large excess of NH_4Cl or $ZnCl_2$ on compound **1**was obtained compounds **3** and **4** respectively. The structures reveal that for the first complex two chloride ligands are coordinated to copper ions in *trans* apical fashion. In the second copper dimer, both chloride anions coordinated in *cis*-apical fashion to the copper dimer, being part of a newly formed tetrachlorzincate anion which functions as an additional triatomic bridge between copper centers: Cu-Cl-Zn-Cl-Cu. Anyway, all chloride anions are located in the inner coordination sphere of binucleating complexes, being coordinated to copper or zinc ions. The geometry of the compartmental monodeprotonated ligand remains practically unchanged for all studied complexes.

It has been shown that EPR spectra of dimer **1** at 300 K consist of a single asymmetric EPRline with theg-factor g= 4.34 ± 0.02 in the region of low magnetic fields and a group of seven equidistant spectral lines in the region of high magnetic fields at a sufficient increase in the gain of EPR spectrometer in the last case. This group of spectral lines with the g-factor of central component g= 2.006 ± 0.001 is due to the hyperfine interaction of Cu(II) ions from binuclear clusters with copper nuclear spins.

It was found that dicopper compound **1** does manifest a pronounced antimicrobial activity, also being selective against pathogen Gram(+) bacteria, namely it manifested in aqueous solutions at MMC up to 1-2 μg/mL and against fungal strains up to 4-8 μg/mL. The similar hydrosoluble mononuclear copper complexes of binucleating thio- or S-methylisothiosemicarbazone of 3-formylsalicylic acid, as well as the free ligands, including H_3Q, do not reveal any significant activity.

Acknowledgments

This work is part of the Scientific Projects (subprograms) with code 010602 and 010601 financed by The National Agency for Research and Development (ANCD) of Ministry of Education and Research of the Republic of Moldova.

References:

1. Zanello, P., Tamburini, S., Vigato, P. A., Mazzocchin, G. A. Syntheses, structure and electrochemical characterization of homo- and heterodinuclear copper complexes with compartmental ligands. Coord. Chem. Rev., 1987, 77, 165–273. DOI: 10.1016/0010-8545(87)85034-8.
2. Lobana, T. S., Sharma, R., Bawa, G., Khanna, S. Bonding and Structure Trends of Thiosemicarbazone derivatives of metals - an overview. *Coord. Chem. Rev.*, 2009, 253(7–8), 977–1055. DOI: 10.1016/j.ccr.2008.07.004.
3. Pelosi, G. Thiosemicarbazone metal complexes: from structure to activity. *The Open Crystallography Journal*, 2010, 3, 16–28. DOI: 10.2174/1874846501003010016.
4. West, D. X., Liberta, A. E., Padhye, S. B., Chikate, R. C., Sonawane, P. B., Kumbhar, A. S., Yerande, R. G. Thiosemicarbazone complexes of copper(II): structural and biological studies. *Coord. Chem. Rev.*, 1993, 123(1–2), 49–71. DOI: 10.1016/0010-8545(93)85052-6.
5. Gerbeleu, N. V., Revenko, M. D., Zhovmir, F. K., Kuyavskaia, B. Ya. Binuclear compounds of copper(II) with ligands based on chalcogensemicarbazides and 2,6-diformyl-4-methylphenol. *J. Inorg. Chem. USSR*, 1986, 31(8), 2017–2022.
6. Zhovmir, F. K., Simonov, Iu. A., Zelentsov, N. V., Gerbeleu, N. V., Revenko, M. D., Stroesku, A. K., Sobolev, A. N. Copper(II) coordination compounds with binucleating bis-(S-methylisothiosemicarbazone) of 2,6-diformyl-4-methylphenol. *J. Inorg. Chem. USSR*, 1988, 33(9), 2180–2189.

7. Arion, V. B. Coordination chemistry of S-substituted isothiosemicarbazides and isothiosemicarbazones. *Coord. Chem. Rev.*, 2019, 387, 348–397. DOI: 10.1016/j.ccr.2019.02.013.
8. Lupașcu, L., Jovmir, T., Popa, T., Lozan, V. Use of 2,6-Bis(S-methyl-isothiosemicarbazido-methylidene)-4-methylphenolato-trichloro-dicopper-hydrate as an agent against phytopathogenic bacteria. MD patent No. 4663 B1, 2019.
9. Zhovmir, F. K., Gerbeleu, N. V. Template synthesis and properties of coordination compounds of nickel(II) with binucleating ligands based on thiosemicarbazide and 3-formylsalicylic acid. *J. Inorg. Chem. USSR*, 1984, 29(9), 2304–2308.
10. CrysAlisPro Software System, Version 1.171.42.49. Rigaku Corporation, Oxford, UK, 2015.
11. Sheldrick, G. M. SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr. Sect. A*, 2015, 71(1), 3–8. DOI: 10.1107/S2053273314026370.
12. Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C*, 2015, 71(1), 3–8. DOI: 10.1107/S2053229614024218.
13. Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., Puschmann, H. OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.*, 2009, 42(2), 339–341. DOI: 10.1107/S0021889808042726.
14. Method of serial dilutions in broth. Saint-Petersburg Pasteur Institute. Available at: http://www.dntpasteur.ru/metodic2_4_2_2.php.
15. Ichinose, T., Nishida, Y., Okawa, H., Kida, S. Binuclear metal complexes. XIII. Syntheses and magnetic properties of thiocyanato-bridged binuclear copper(II) complexes. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1974, 47(12), 3045–3048. DOI: 10.1246/bcsj.47.3045.
16. Mandal, S. K., Nag, K. Dinuclear metal complexes. Part 2. Synthesis, characterisation, and electrochemical studies of macrocyclic dicopper(II) complexes. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1983, (11), 2429–2434. DOI: 10.1039/dt9830002429.
17. Hordiichuk, O. R., Slyvka, Y. I., Kinzhybalo, V. V., Goreshnik, E. A., Bednarchuk, T. J., Bednarchuk, O., Jedryka, J., Kityk, I., Mys'kiv, M. G. Construction of heterometallic and mixed-valence copper(I/II) chloride π-complexes with 1,2,4-triazole allyl-derivative. *Inorg. Chim. Acta*, 2019, 495, 119012. DOI: 10.1016/j.ica.2019.119012.
18. Schulze, W., Gutsche, W., Wohlrabe, K., Fleck, W., Tresselt, D. On the synthesis and biological effectiveness of analogues of 1,4-benzoquinone-guanylhydrazone-thiosemicarbazone. *Pharmazie*, 1985, 40(8), 540–541.
19. Kitaev, Iu. P., Buzikin, B. I. *Hydrazones*. Moscow, "Nauka", 1974, 383 p.
20. Gulea, A., Poirier, D., Roy, J., Stavila, V., Bulimestru, I., Tapcov, V., Birca, M., Popovschi, L. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: chemical synthesis and structure – activity relationships. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2008, 23(6), 806–818. DOI: 10.1080/14756360701743002.
21. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. Synthesis, Characterization, Crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-s-methylisothiosemicarbazone: antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32(12), e4544. DOI: 10.1002/aoc.4544.
22. Zaltariov, M. F., Hammerstad, M., Arabshahi, H. J., Jovanović, K., Richter, K. W., Cazacu, M., Shova, S., Balan, M., Andersen, N. H., Radulović, S., Reynisson, J., Andersson, K. K., Arion, V. B. New iminodiacetate–thiosemicarbazone hybrids and their copper(II) complexes are potential ribonucleotide reductase R2 inhibitors with high antiproliferative activity. *Inorg. Chem.*, 2017, 56(6), 3532–3549. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6b03178.
23. Naik, A. D., Revankar, V. K. Exchange coupled dicopper(II) complexes of thiosemicarbazones. *Indian J. Chem.*, 2004, 43A, 1447–1453.

Date despre autori:



Tudor JOVMIR, cercetător științific, Laboratorul Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: tjovmir@gmail.com
ORCID: 0009-0002-3220-3446



Sergiu SHOVA, doctor în științe chimice, cercetător științific superior, Departamentul Polimeri Anorganici, Institutul de Chimie Macromoleculară "Petru Poni", Iasi, Romania
e-mail: shova@icmpp.ro
ORCID: 0000-0002-1222-4373



Lucian LUPAȘCU, doctor în științe medicale, cercetător științific coordinator, Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: Lucian.lupascu@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-5006-5265



Greta BALAN, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar, Disciplina de microbiologie și imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, USMF "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova
e-mail: greta.balan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-2010-3584



Olga BURDUNIUC, doctor în științe chimice, conferențiar cercetător, Șef Laboratorul microbiologic al Agenției Naționale de Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: olgaburduniuc3@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6944-0800



Nicolae GAIU, cercetător științific, Laboratorul Fizica și ingineria nanomaterialelor "Evghenii Pokatilov", Institutul de Fizică Aplicată, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: gaiunicolae64@gmail.com
ORCID: 0009-0001-9978-4911



Ion GERU, membru corespondent, doctor habilitat în științe fizico-matematice, profesor universitar, cercetător științific coordinator, Laboratorul Sinteza Organică, Institutul de Chimie, USM, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: iongeru@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1320-3889



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, Chișinău, Republica Moldova
E-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959



Vasile LOZAN, doctor habilitat în științe chimice, Conferențiar universitar, cercetător științific principal, Șeful laboratorului Chimie Bioanorganică și Nanocompozite, Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: vasilelozan@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6951-6115

CZU: 542.943:544.6:615.33 https://doi.org/10.59295/mabt2026.38

DEGRADAREA CIPROFLOXACINEI ÎN SOLUȚIE APOASĂ PRIN UNELE PROCESE DE OXIDARE AVANSATĂ

Elena TUTOVAN, Tatiana ISAC-GUȚUL

Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

S-a studiat degradarea ciprofloxacinei în sistemele Fenton și foto-Fenton. S-a stabiliti că maximul de absorbție a ciprofloxacinei este situat la 277 nm, iar coeficientul molar de absorbție a preparatului este egal cu 44612 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

S-a stabilit că în ambele sisteme condițiile optime de degradare corespund raportului $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$ și pH = 3,0. În acest caz în sistemul Fenton gradul de degradare a ciprofloxacinei atinge 79 %, iar în sistemul foto-Fenton – 93 %. La creșterea concentrației ciprofloxacinei, viteza și eficiența degradării cresc.

În cazul sistemului Fenton și foto-Fenton degradarea ciprofloxacinei decurge conform modelului cinetic de ordinul pseudo-doi.

Aplicând metoda acceptorilor concurenți s-a demonstrat că în procesul de degradare a ciprofloxacinei participă radicalii •OH.

Cuvinte-cheie: metode de oxidare avansată (AOPs), fluorochinolone, sistem Fenton, sistem foto-Fenton, radicali hidroxil, grad de degradare, viteza de reacție, reacții de ordinul pseudo-doi, metoda acceptorilor concurenți.

DEGRADATION OF CIPROFLOXACIN IN AQUEOUS SOLUTION BY SOME ADVANCED OXIDATION PROCESSES

Abstract

The degradation of ciprofloxacin in Fenton and photo-Fenton systems was studied. The absorption maximum of ciprofloxacin was found at 277 nm, and its molar absorptivity was 44612 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

In both systems, optimal degradation conditions corresponded to the ratio $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$ and pH = 3,0. Under these conditions, the degradation efficiency reached 79% in the Fenton system and 93% in the photo-Fenton system.

It was established that increasing ciprofloxacin concentration enhanced both degradation rate and efficiency.

Ciprofloxacin degradation followed pseudo-second-order kinetics in the Fenton and photo-Fenton systems.

Using the competitive acceptor method, it was demonstrated that hydroxyl radicals (•OH) are involved in the degradation process.

Keywords: advanced oxidation processes (AOPs), fluoroquinolones, Fenton system, photo-Fenton system, hydroxyl radicals, degradation degree, reaction rate, pseudo-second-order reactions, competitive acceptor method.

Introducere

Pe an ce trece utilizarea antibiticilor în medicină, veterinărie, zootehnie devine tot mai largă. Aceste medicamente se aplică în cantități de $1 \cdot 10^5$ - $2 \cdot 10^5$ tone pe an, și impactul lor asupra ecosistemului a atins un nivel critic [1, 2]. Antibioticile nimeresc în mediul ambiant pe patru căi: din apele reziduale de la procesele de producere, din canalizare, în urma stocării deșeurilor municipale pe sol și în urma eliminării inadecvate a preparatelor neutilizate și expirate [3].

Antibioticile reprezintă preparate care posedă o biodisponibilitate pronunțată și activitate biologică, astfel încât prezența lor în soluri și apele naturale poate avea un impact biologic de

lungă durată asupra mediului, ceea ce dermină faptul că aceste substanțe fac parte din poluanți emergenți [4].

Antibioticile din clasa fluorochinolonelor reprezintă un grup de preparate medicinale cu un spectru larg de activitate antibacteriană, care se utilizează la tratarea diferitor infecții [5, 6].

Poluarea apelor de compuși organici reprezintă o amenințare serioasă pentru flora și fauna bazinelor acvatice și pentru sănătatea umană. De regulă, eliminarea poluanților organici din ape este insuficientă în timpul epurării, ceea ce este determinat de stabilitatea lor în procesele de degradare biochimică, la acțiunea luminii solare și la acțiunea microorganismelor și temperaturii [7]. Prezența urmelor de preparate farmaceutice în mediu ambiant reprezintă o problemă serioasă și este periculos pentru toate organismele vii [8]. În apele superficiale sunt prezențe și fluorchinolonele și produșii de degradare ale acestora [9]. În efluenții apelor reziduale evacuate de la stațiile de epurare se conține până la 106 ng/L. Fluorochinolonele prezente în ape naturale chiar în cantități atât de mici pot duce la creșterea tulpinelor de bacterii care manifestă rezistență la acțiunea acestor preparate, ceea ce prezintă un pericol foarte serios în tratarea infecțiilor de natură diferită.

Pentru eliminarea poluanților organici, inclusiv și antibioticilor din ape la concentrații mici în ultimele decenii o atenție tot mai mare se atrage metodelor ce aplică procese de oxidare avansată (AOPs). Aceste metode presupun aplicarea diferitor sisteme oxidative în care are loc generarea radicalilor hidroxil, - oxidant foarte puternic [9, 10].

În prezent unele dintre cele mai eficiente metode de epurare a apelor de fluorochinolone reprezintă metodele ce se bazează pe utilizarea sistemelor Fenton, foto-Fenton cu combinarea acțiunii ozonului, radiațiilor ultraviolete și/sau catalizei eterogene [11, 12].

În acestă lucrare sunt prezentate rezultatele studiului degradării ciprofloxacinei (CFX) în sistemele Fenton și foto-Fenton.

Ciprofloxacina (CFX) este un reprezentant al fluorchinolonelor din generația a II-a care manifestă un spectru larg de acțiune antibacteriană față de bacterii gram-pozitive și gram-negative și se utilizează la tratarea infecțiilor căilor urinare, sistemului respirator, sitemului gastrintestinal ochilor, urechilor, etc. [13, 14].

Metode și materiale

Reactivi chimici utilizați: ciprofloxacina (Ciprinal, pastile, 500 mg, Krka), peroxid de hydrogen, fier metallic (pulbere), acid percloric, permanganat de potasiu, acid sulfuric, hidroxid de sodiu, 2,2′-Dipiridil, N,N-Dimetil-4-nitrsoanilin (PNDMA).

În Figura 1 este prezentată formula structurală a CFX.

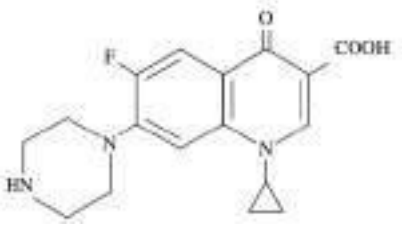


Figura 1. Formula structurală a ciprofloxacinei [15, p. 148]

Pentru obținerea soluției de ioni de Fe(II) s-a utilizat metodica descrisă în [16].

Pentru determinarea concentrației ionilor de Fe(II) în soluție s-a utilizat metodica descrisă în [17].

Pentru determinarea concentrației H_2O_2 s-a utilizat metodica descrisă în [18].

Pentru măsurarea pH-lui s-a folosit pH-metru Adwa AD8000

Pentru înregistrarea spectrului electronic de absorbție a CFX în soluție apoasă, determinarea coeficientului molar de absorbție a antibioticului, determinarea concentrației ionilor de Fe(II) s-a utilizat spectrofotometru Agilent Technologies Cary 300 UV-Vis.

Pentru studiul degradării CFX în sistemele Fenton și foto-Fenton s-a utilizat lampa de mercur cu arc de descărcare de presiune înaltă - DRT -1000.

Pentru studiul degradării CFX în ambele sisteme și demonstrarea participării radicalilor hidroxil s-a utilizat spectrofotometru SF-46.

La prepararea amestecurilor reactante s-au utilizat soluțiile de CFX $6{,}48\cdot10^{-4}$ M, H_2O_2 $2{,}65\cdot10^{-2}$M, Fe(II) $8{,}65\cdot10^{-3}$ M.

Valorile pH-lui s-au ajustat cu ajutorul soluțiilor de H_2SO_4 1 M și NaOH 1 M.

Pentru determinarea: pseudoordinului de reacție s-a aplicat metoda izolării Ostwald [19].

Pentru demonstrarea participării radicalilor hidroxil în procesul de degradare a CFX s-a utilizat metoda acceptorilor concurenți [19].

Stabilirea condițiilor optime de degradare a ciprofloxacinei în sistemele Fenton și foto-Fenton

Reacția s-a realizat la valori diferite ale pH-lui și la $[CFX]_0 = 4\cdot 10^{-5}$ M, $[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M, $[Fe^{2+}]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-4}$ M.

În cazul sistemului Fenton, amestecul reactant cu volumul de 20 mL se prepara într-o celulă cu agitator magnetic termostatată la temperatura 25°C prin introducerea volumelor corespunzătoare ale soluțiilor de CFX, Fe(II) și apei, se ajusta valoarea necesară a pH-lui. Amestecul reactant se termostata timp de 5 minute. După aceasta în celulă se introducea volumul corespunzător de H_2O_2 și se punea în funcțiune cronometrul. La diferite intervale de timp (până la 10 minute) din amestecul reactant se extragea 2 mL soluție și se introducea într-o cuvă de cuarț cu grosile 1,00 cm. Se măsura absorbanța față de apa distilată la λ = 277 nm, după care conținutul cuvei se introducea înapoi în celulă.

În cazul sistemului foto-Fenton volumul amestecului reactant și concentrațiile componenților erau identice cu cele corespunzătoare studiului în sistemul Fenton. Într-un pahar de quarz se introducea volumele necesare de CFX, Fe(II) și apă, se ajustau valorile corespunzătoare ale pH-lui, soluția se termostata timp de 5 minute la temperatura de 25°C, după care se introducea într-o baie de apă cu temparatura 25°C situată sub lampa DRT-100. Imediat se introducea volumul necesar de soluție de H_2O_2 și se începea cronometrarea timpului. În continuare modul de lucru era similar celui descrismai sus.

Ținând cont de coeficientul molar de absorbție s-au calculat concentrațiile CFX la timpul dat (în $mg\cdot L^{-1}$). Valorile gradului de degradare (GD) a CFX s-au calculat cu ecuația (1):

$$GD = \frac{C_0 - C_t}{C_0}\cdot 100\ \%, \qquad (1)$$

unde C_0 – concentrația inițială a CFX ($mg\cdot L^{-1}$); C_t – conecntația ciprofloxacinei la timpul t ($mg\cdot L^{-1}$).

Pentru stabilirea valorii optime ale raportului $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]}$ s-au preparat amestecuri reactante în care valoarea acestui raport a variat în limitele de la 5 la 50 ($[CFX]_0 = 4\cdot 10^{-5}$ M; $[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M; $[Fe^{2+}]_0$: $3{,}76\cdot10^{-5}$ M; $6{,}27\cdot10^{-5}$; $9{,}40 \cdot 10^{-5}$ M; $1{,}88 \cdot 10^{-4}$ M; $3{,}76\cdot10^{-4}$ M). pH-ul soluțiilor a fost adus până la pH = 3,0. În continuare modul de lucru a fost similar celui descris mai sus.

Studiul dependenței vitezei de degradare a CFX în sistemele Fenton și foto-Fenton de concentrația CFX și stabilirea modelului cinetic

Pentru a determina dependența vitezei de reacție de concentrația CFX în sistemul Fenton reacția s-a realizat la pH = 3,0 și la concentrații inițiale diferite ale CFX și aceleași concentrații inițiale ale H_2O_2 și Fe(II). În continuare modul de lucru a fost similar celui descris până acum.

Pentru a verifica modelului cinetic s-a construit dependența $\frac{1}{C} = f(t)$ bazată pe ecauia (2):

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C} + k_{obs} \cdot t, \qquad (2)$$

unde C_0 reprezintă concentrația inițială a CFX ($mg \cdot L^{-1}$); C - concentrația CFX la momentul de timp t CFX ($mg \cdot L^{-1}$); kobs – constanta observată ($L \cdot mg^{-1} \cdot s^{-1}$).

Demonstrarea participării radicalilor hidroxil în procesul de degradare a ciprofloxacinei în sistemele Fenton și foto-Fenton

S-au preparat două soluții (cu volumul 20 mL) ce conțineau PNDMA ($4 \cdot 10^{-5}$ M) și Fe(II) ($1{,}88 \cdot 10^{-4}$ M) și două soluții ce conțineau PNDMA, Fe(II) de aceleași concentrații și CFX ($3{,}0 \cdot 10^{-5}$ M).

Soluțiile se termostatau timp de 5 min la 25°C. După aceasta se volumul respectiv de soluție de H_2O_2, astfel încât în amestecul reactant $[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M. La introducerea H_2O_2 se incepea cronometrarea timpului. În cazul aplicării sistemului foto-Fenton paharul cu soluție se introducea sub lampă. La diferite intervale de timp în decursul a 5 minute, din amestecul reactant se extragea câte 2 mL soluție, se transfera în cuva de cuarț (l=1,00 cm) și se măsura absorbanța la λ = 440 nm în raport cu apa distilată. După măsurare conținutul cuvei se introducea napoi în celulă. Experiența se repeta de două ori și pentru fiecare timp s-au calculat valorile medii ale absorbanței.

Valorile gradului de decolorare (GDec) a PNDMA s-au calculat cu ecuația:

$$GDec = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \cdot 100\,\%, \qquad (3)$$

unde A_0 – absorbanța la momentul initial (valoarile A_0 au fost determinate din dependențele A = f(t) prezentate prin aproximare polinomială); A_t – absorbanța la momentul de timp t.

În baza datelor obținute s-a construit dependența GDec = f(t).

Rezultate obținute și discuții

În Figura 2 este prezentat spectrul electronic de absorbție a CFX în soluție apoasă din care poate fi observat că maximul de absorbție al acestui compus este situat la 277 nm, ce este în concordanță cu informațiile din literatură [20].

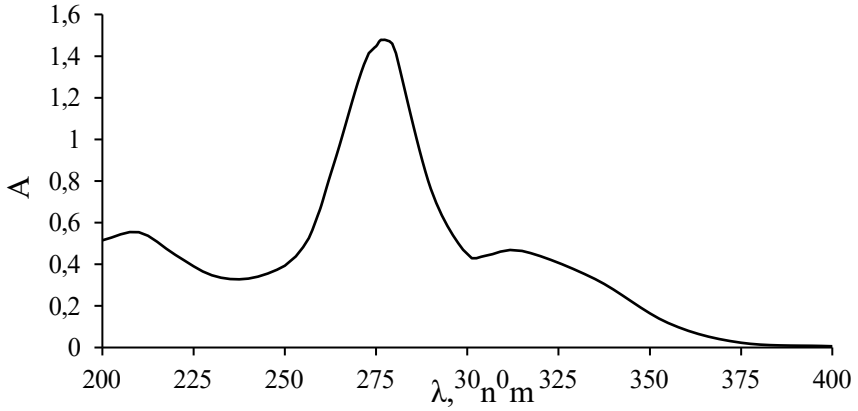


Figura 2. Spectrul electronic de absorbție a ciprofloxacinei în soluție apoasă ([CFX] = $3{,}24 \cdot 10^{-5}$ M; pH = 3,0)

În Figura 3 este prezentată curba de etalonare a CFX din care rezultă că ε = 44612 L·mol^{-1}·cm^{-1}.

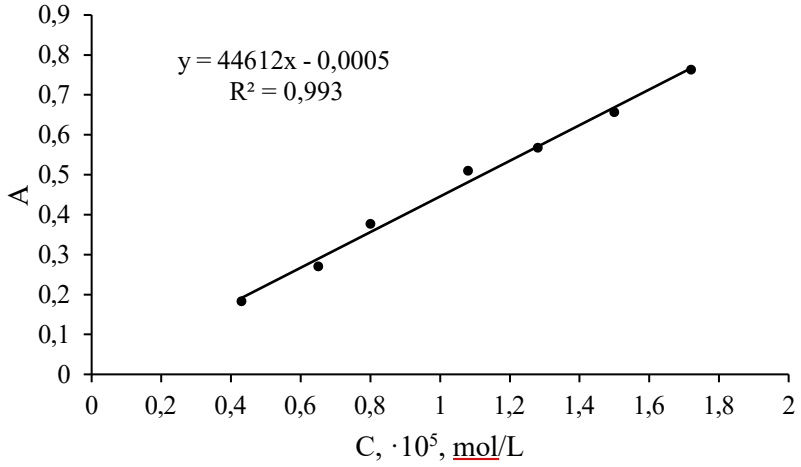


Figura 3. Dependența A = f(C(CFX)) (pH = 3,0)

După cum este cunoscut, procesul de oxidare a diferitor compuși organici în sistemele Fenton și foto-Fenton depind de condițiile experimentale - raportul concentrațiilor oxidantului și catalizatorului, pH-ul mediului, concentrația substratului [12]. În Figurile 4 și 5 sunt prezentate dependențele gradului de degradare a CFX în sistenele Fenton și foto-Fenton la diferite valori ale pH-lui și la $[CFX]_0 = 4 \cdot 10^{-5}$ M, $[H_2O_2]_0 = 1,88 \cdot 10^{-3}$ M, $[Fe(II)]_0 = 1,88 \cdot 10^{-4}$ M și temperatura 25° C.

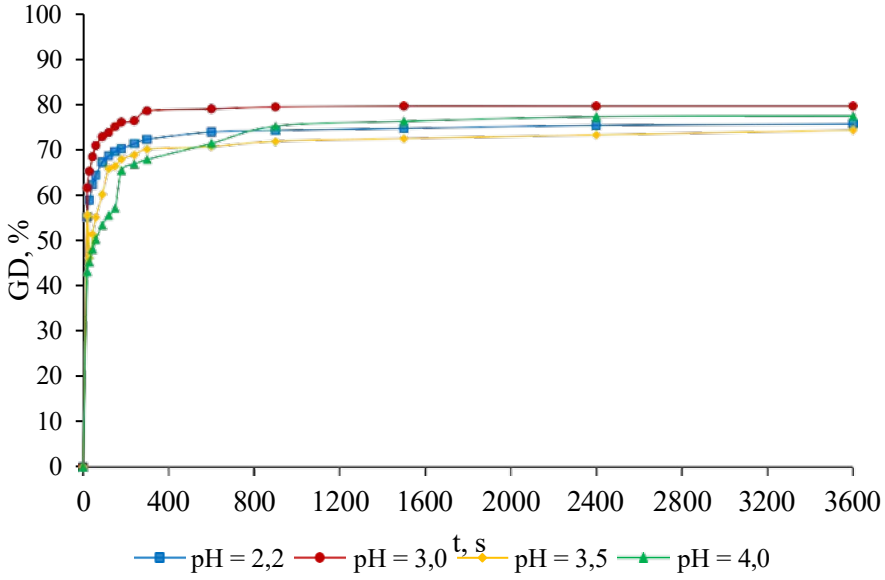


Figura 4. Dependența gradului de degradare a CFX de timp în sistemul Fenton la diferite valori ale pH-lui

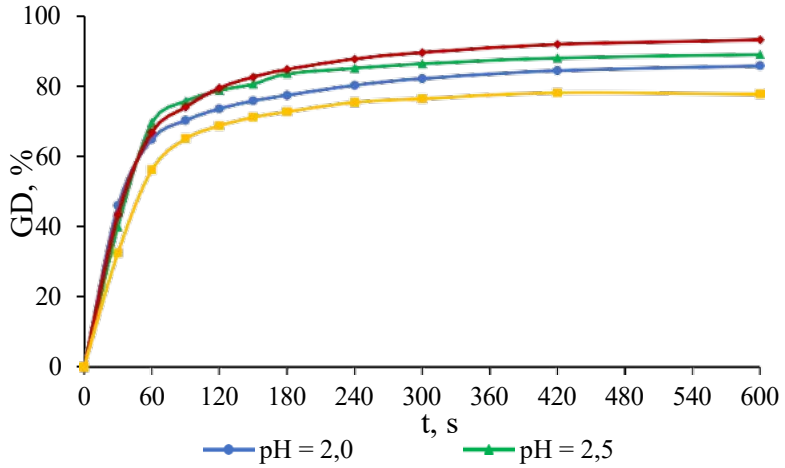


Figura 5. Dependența gradului de degradare a CFX de timp în sistemul foto-Fenton la diferite valori ale pH-lui

Poate fi observat că în cazul ambilor sisteme procesul de degradare a CFX decurge cu o viteză maximă la pH = 3. Din Figurile 4 și 5 se observă că la acest pH se atinge și valoarea maximă a GD (în cazul sistemului Fenton - GD = 78 %, iar în cazul sistemului foto-Fenton - GD = 93 %). La pH = 4,0, în cazul sistemului Fenton GD = 71 %, iar în cazul sistemului foto-Fenton, la pH = 3,5, GD = 78 %.

Scăderea vitezei procesului la valori ale pH-lui mai mari decât 3,0 poate avea loc în urma formării speciilor mai puțin active $[Fe(OH)_2^+]$ [33]. Iar la valori ale pH-lui mai mici decât 3,0 scăderea vitezei ar putea fi explicată prin faptul că peroxidul de hidrogen devine mai stabil având loc formarea ionilor $H_3O_2^+$ [21].

În Figurile 6 și 7 sunt prezentate dependențele gradului de degradare a CFX de timp pentru diferite valori ale rapoartelor $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]}$, obținute în cazul sistemelor Fenton și foto-Fenton la pH = 3,0 și la concentrațiile inițiale ale componenților: $[CFX]_0 = 4 \cdot 10^{-5}$, $[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M.

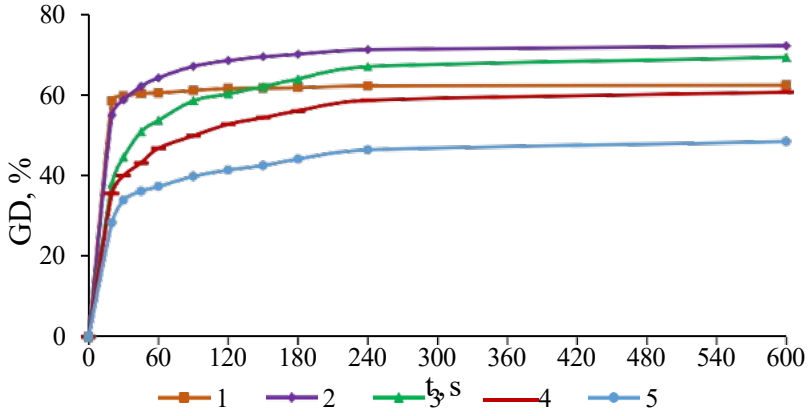


Figura 6. Dependența GD = f(t) în cazul sistemului Fenton: 1 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 5$; 2 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$; 3 - $\frac{[H_2O_2]}{[Fe^{2+}]} = 20$; 4 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 30$; 5 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 50$

Poate fi observant că procesul decurge cu viteză maximă și cu un grad de oxidare cel mai mare la $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$ (în cazul sistemului Fenton GD = 79 %, iar în cazul sistemul foto-Fenton – GD = 93 %). Se observă că valoarea minimă a GD se atinge la $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 50$ (48 %), iar în cazul sistemului foto-Fenton – la $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 5$ (53 %).

La $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 5$, la care concentrația Fe^{2+} este mai mare poate avea loc un consum de radicali $^{\bullet}OH$ [22]:

$Fe^{2+} + {}^{\bullet}OH \rightarrow Fe^{3+} + OH^-$

$OH^- + {}^{\bullet}OH \rightarrow H_2O + O^-$

ce ar putea explica viteza mai scăzută a degradării CFX în cazul sistemului foto-Fenton la $\frac{[H_2O_2]}{[Fe^{2+}]} = 5$.

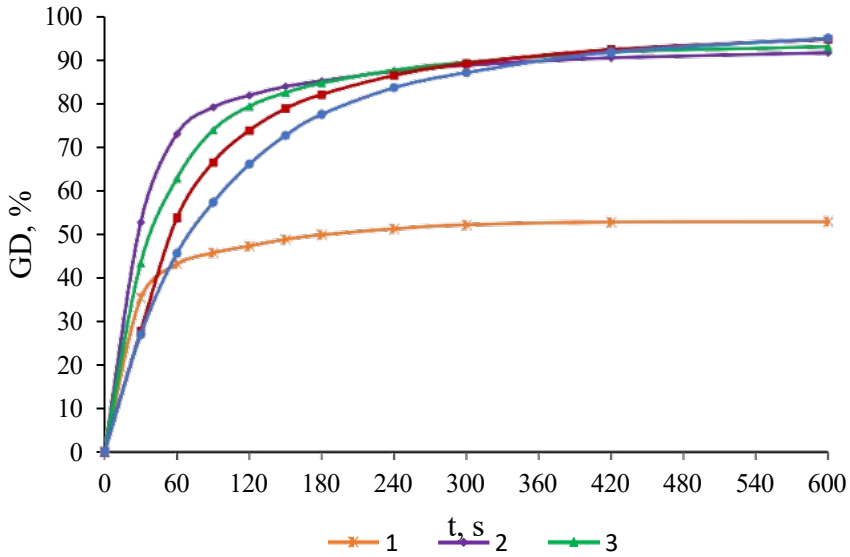


Figura 7. Dependența GD = f(t) în cazul sistemului foto-Fenton: 1 – $\frac{[H_2O_2]}{[Fe^{2+}]} = 5$; 2 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$; 3 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 20$; 4 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 30$; 5 - $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 50$

De menționat, că în primele 20 de secunde în ambele sisteme, procesul decurge foarte rapid cu un grad de degradare de circa 50 %.

Vorbind despre influența concentrației CFX asupra vitezei procesului de degradare în sistemele Fenton și foto-Fenton, a fost stabilit că la creșterea concentrației CFX, viteza de reacție și GD crește, ceea ce poate fi observant din Figurile 8 și 9 ($[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M, $[Fe^{2+}]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-4}$ M, pH = 3,0). În cazul sistemului Fenton (Figura 8), la concentrația $[CFX]_0 = 2{,}0 \cdot 10^{-5}$ M, GD = 60 % la 5 minute, iar $[CFX]_0 = 4{,}0 \cdot 10^{-5}$ M, gradul de degradare este mai mare de 75 %. Din Figura 9 se observă că în cazul sistemului foto-Fenton la $[CFX]_0 = 2{,}0 \cdot 10^{-5}$ M, gradul de degradare a CFX este circa de 56 %, iar la concentrații ale preparatului egale cu $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ M și $4{,}0 \cdot 10^{-5}$ M atinge valori peste 90 %.

Este de menționat că în procesul de degradare a CFX în ambele sisteme pot fi evidențiate trei etape. În prima etapă – din momentul inițial al reacției până la 20-30 secunde - viteza este

foarte mare. Între 20 s și 120 s viteza este mai redusă, iar după 120 s procesul decurge mult mai lent.

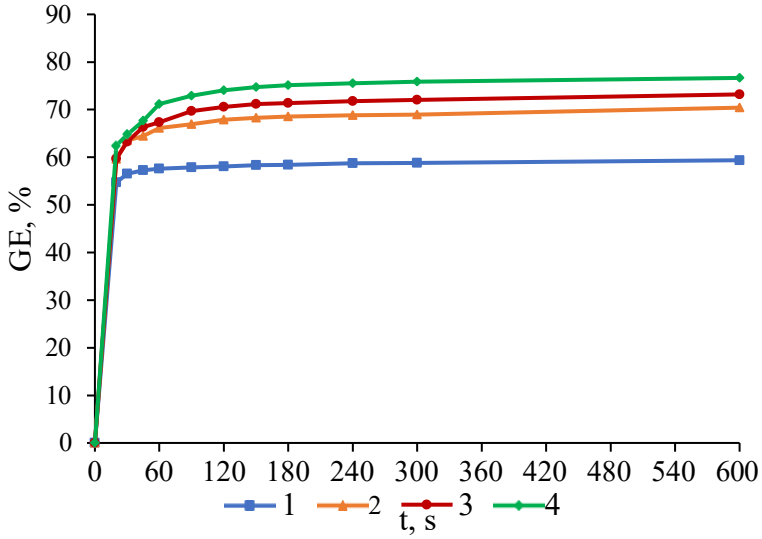


Figura 8. Dependența GD = f(t) pentru diferite concentrații ale CFX în sistemul Fenton: 1 - $2{,}0\cdot10^{-5}$ M; 2 - $3{,}0\cdot10^{-5}$ M; 3 - $3{,}5\cdot10^{-5}$ M; 4 - $4{,}0\cdot10^{-5}$ M

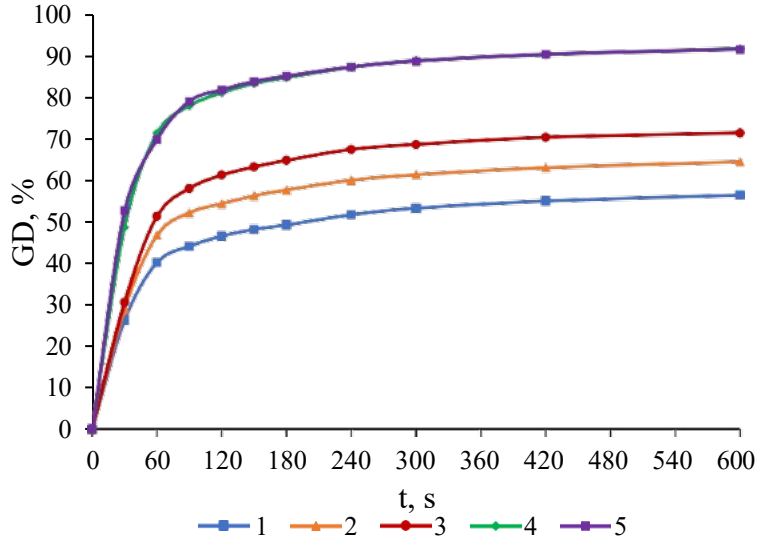


Figura 9. Dependența GD = f(t) pentru diferite concentrații ale CFX în sistemul foto-Fenton: 1 - $2{,}0\cdot10^{-5}$ M; 2 – $2{,}5\cdot10^{-5}$ M; 3 - $3{,}0\cdot10^{-5}$ M;4 – $3{,}5\cdot10^{-5}$ M; 5 – $4{,}0\cdot10^{-5}$ M

În baza rezultatelor obținute a fost stabilit că în cazul degradării CFX în în ambele sisteme procesul decurge conform modelului cinetic de ordinul pseudo-doi, cee ace ste reflectat de Figurile 10 și 11).

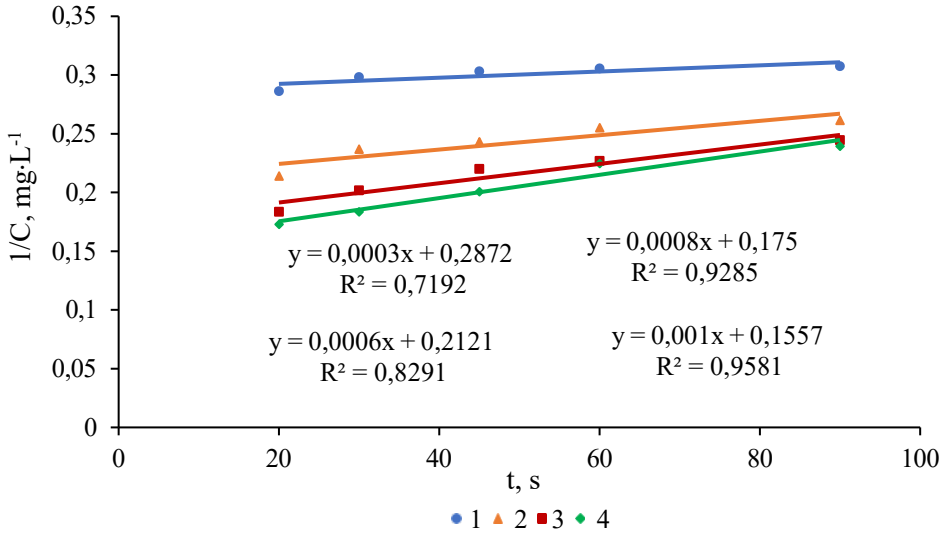


Figura 10. Dependențele $\frac{1}{C} = f(C)$ pentru degradarea CFX în sistemul Fenton la diferite concentrații ale CFX: 1 – 2,0 · 10^{-5} M; 2 – 3,0 · 10^{-5} M; 3 – 3,5 · 10^{-5} M; 4 – 4,0 · 10^{-5} M

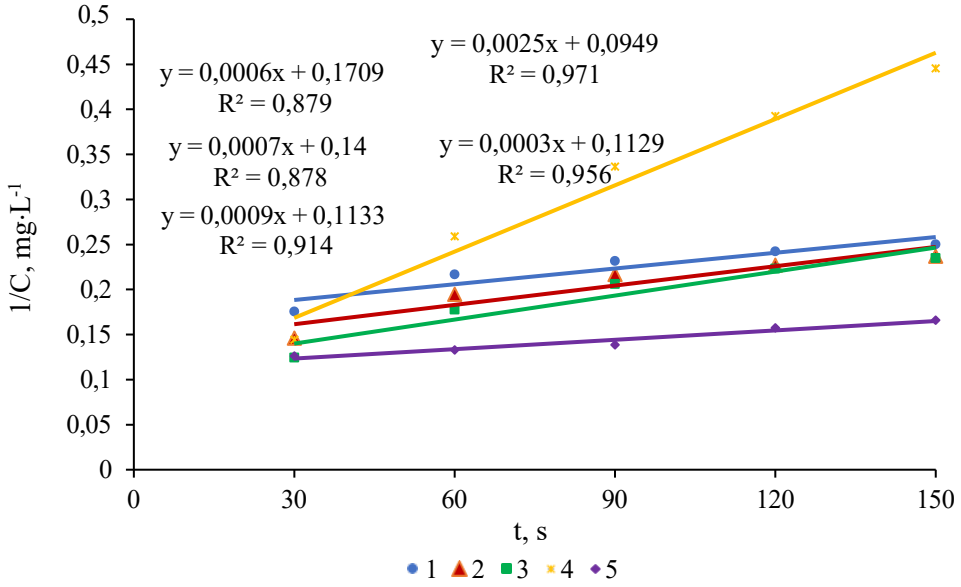
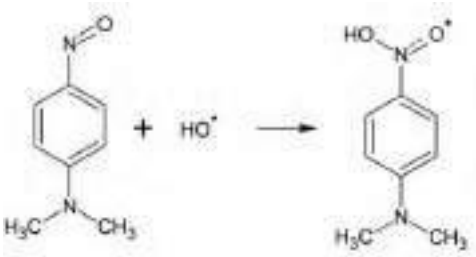


Figura 11. Dependențele 1/C = f(t) pentru degradarea CFX în sistemul foto-Fenton la diferite concentrații ale CFX: 1 – 2,0·10^{-5} M; 2 – 2,5·10^{-5} M; 3 – 3,0·10^{-5} M; 4 – 3,5·10^{-5} M; 5 – 4,0·10^{-5} M

Eficiența sistemului Fenton și foto-Fenton este determinată de generarea radicalilor hidroxil. Paranitrozodimetilanilina (PNDMA) reprezintă un acceptor specific al racicalilor •OH, interacțiunea având loc conform reacției:



ce decurge cu o constantă de viteză egală cu $1{,}25 \cdot 10^{10}$ $L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$ [19].

Din Figura 12 sunt prezentate dependențele gradului de decolorare a acceptorului de timp în sistemele PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}, CFX-PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}, PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}-hν, CFX-PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}-hν,. Poate fi observat că în prezența preparatului viteza de decolorare și gradul de decolorare a PNDMA scade. Rezultate obținute demonstrează faptul că în ambele sisteme PNDMA concurează cu CFX pentru radicalii hidroxil, având loc scăderea vitezei de decolorare a acceprotului.

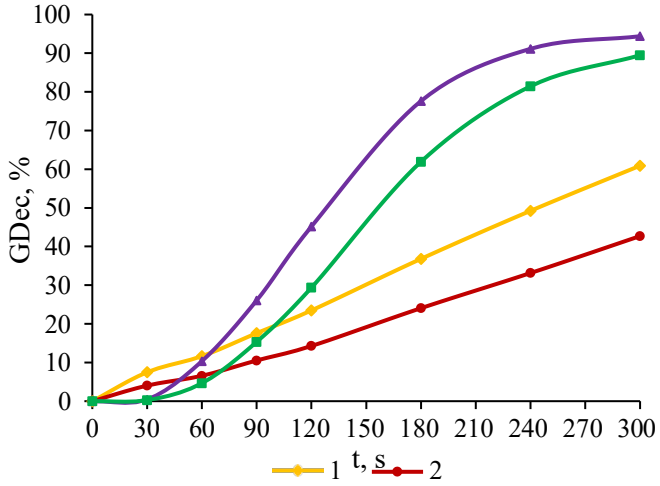


Figura 12. Variația GDec = f(t) pentru sisitemele: 1- PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}; 2 – CFX-PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}; 3 - PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}-hν; 4 – CFX-PNDMA-H_2O_2-Fe^{2+}-hν ($[PNDMA]_0$ = $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ M; $[H_2O_2]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-3}$ M; $[Fe^{2+}]_0 = 1{,}88 \cdot 10^{-4}$ M; $[CFX]_0 = 3{,}0 \cdot 10^{-5}$, λ = 440 nm)

Așadar se poate afirma că radicalii hidroxil sunt implicați în procesul de degradare a CFX în sistemele Fenton și foto-Fenton:

CFX + $^{\bullet}OH \rightarrow$ oxidare ulterioară

Concluzii

S-a stabilit că eficiența procesului de degradare a ciprofloxacinei în sistemele Fenton și Foto-Fenton este maximă la $\frac{[H2O2]}{[Fe^{2+}]} = 10$ și pH = 3,0. În aceste condiții, sistemul foto-Fenton este mai eficient (GD_{max} = 93 %) decât sistemul Fenton (GD_{max} = 79 %).

Cu creșterea concentrației CFX viteza procesului și GD a preparatului cresc în cazul ambilor sisteme. Degradarea CFX în sistemul Fenton și foto-Fenton decurge conform modelului cinetic de ordinul pseudo-doi.

Prin metoda acceptorilor concurenți (cu utilizarea PNDMA) s-a demonstrat că în procesul de degradare a CFX participă radicalii •OH.

Notă:

Lucrarea a fost efectuată în cadrul subprogramului de cercetare 010602 ”Sinteza și studiul materialelor noi în baza combinațiilor complexe cu liganzi polifuncționali și cu proprietăți utile în medicină, biologie și tehnică” al proiectului instituțional.

Referințe:

1. Barathe, P., Kaur, K., Reddy, S., Shriram, V., Kumar, V. Antibiotic pollution and associated antimicrobial resistance in the environment. Journal of Hazardous Materials Letters, 2024, 5, 100105. DOI: 10.1016/j.hazl.2024.100105.
2. Kulik, K., Lenart-Boron, A., Wyrzykowska, K. Impact of Antibiotic Pollution on the Bacterial Population within Surface Water with Special Focus on Mountain Rivers. *Water*, 2023, 15(5), 975. DOI: 10.3390/w15050975.
3. Yu, F., Li, Y., Han, S., Ma, J. Adsorptive removal of antibiotics from aqueous solution using carbon materials. *Chemosphere*, 2016, 153, 365–385. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.03.083.
4. De Luca, A. *Fenton and Photo-Fenton like at neutral pH for the removal of emerging contaminants in water and wastewater effluents*. Doctoral Thesis, Barcelona, 2016, 198 p.
5. Suaifan, G., Mohammed, A., Alkhawaja, B. Fluoroquinolones' Biological Activities against Laboratory Microbes and Cancer Cell Lines. *Molecules*, 2022, 27(5), 1599. DOI: 10.3390/molecules27051599.
6. Maris, A., Mody, P., Brewer, D., Humphries, R. The fluoroquinolones: An update for the clinical microbiologist. *Clinical Microbiology Newsletter*, 2021, 43(12), 97–107. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2021.06.001.
7. Martínez-Huitle, C. A., Brillas, E. Decontamination of Wastewaters Containing Synthetic Organic Dyes by Electrochemical Methods: A General Review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009, 87, 105–145. DOI: 10.1016/j.apcatb.2008.09.017.
8. Luo, Y., Xu, L., Rysz, M., Wang, Y., Zhang, H., Alvarez, P. J. J. Occurrence and transport of tetracycline, sulfonamide, quinolone, and macrolide antibiotics in the Haihe River Basin, China. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45, 1827–1833. DOI: 10.1021/es104009s.
9. Kurt, A., Mert Berna, K., Özengin, N., Sivrioğlu, Ö., Yonar, T. Treatment of Antibiotics in Wastewater Using Advanced Oxidation Processes (AOPs). In: *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery*, IntechOpen, 2017, 175–211. DOI: 10.5772/67538.
10. Pandis, P. K., Calogirou, Ch., Kanellou, E., Vaitsis, Ch., Savvidou, M. G., Sourkouni, G., Zorpas, A. A., Argirusis, A. Key Points of Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Wastewater, Organic Pollutants and Pharmaceutical Waste Treatment: A Mini Review. *ChemEngineering*, 2022, 6(1), 8. DOI: 10.3390/chemengineering6010008.
11. Anirudh, G., Anurag, G. Degradation of ciprofloxacin using Fenton's oxidation: Effect of operating parameters, identification of oxidized by-products and toxicity assessment. *Chemosphere*, 2018, 193, 1181–1188. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.046.
12. Epold, I., Trapido, M., Dulova, N. Degradation of levofloxacin in aqueous solutions by Fenton, ferrous ion-activated persulfate and combined Fenton/persulfate systems. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 279, 452–462. DOI: 10.1016/j.cej.2015.05.054.
13. Fan, Y. L., Wu, J. B., Cheng, X. W., Hang, F. Z., Feng, L. S. Fluoroquinolone derivatives and their anti-tubercular activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 146, 154–163.
14. Машковский, М. Д. *Лекарственные средства*. 15-е изд. Москва: Новая Волна, 2005, с. 842–850.
15. Benitez, A., Roca, M., Martin-Comin, J. Labeling of Antibiotics for infection diagnosis. *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2006, 50(2), 147–152.
16. Реми, Г. *Курс неорганической химии*. Т. 2. Москва: Мир, 1966, 836 с.
17. ГОСТ 4011-72. *Вода питьевая. Методы определения общего железа*. [Электронный ресурс]. URL: https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294850/4294850722.pdf.

18. Stratulat, E., Dîru, M., Sîrbu, A. *Indicații metodice la lucrările practice și de laborator pentru studenții specialității "Chimie biofarmaceutică"*. Chișinău: USM, 2016, 31 p.
19. Isac, V., Hurduc, N. *Chimie fizică. Cinetică chimică*. Chișinău: Știința, 1994, c. 42–43, 427–428.
20. Титов, И. В., Дорофеев, В. Л., Арзамасцев, А. П. Использование метода УФ-спектроскопии для установления подлинности лекарственных средств группы фторхинолонов. *Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация*, 2004, 2, 264–269.
21. Kwon, B. G., Lee, D. S., Kang, N., Yoon, J. Characteristics of p-chlorophenol oxidation by Fenton's reagent. *Water Research*, 1999, 33(9), 2110–2118. DOI: 10.1016/S0043-1354(98)00428-X.
22. Joseph, J. M., Destaillats, H., Hung, H. M., Hoffmann, M. R. The sonochemical degradation of azobenzene and related azo dyes: rate enhancements via Fenton's reactions. *Journal of Physical Chemistry A*, 2000, 104(2), 301–307. DOI: 10.1021/jp992354m.

Date despre autori:



Elena TUTOVAN, doctor în științe chimice, conferențiar universitar, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: elena.tutovan@usm.md
ORCID: 0000-0002-1731-4992



Tatiana ISAC-GUȚUL, doctor în științe chimice, conferențiar universitar, Universitatea de Stat din Modova.
e-mail: tatiana.isac.gutul@usm.md
ORCID: 0000-0003-1448-0722

CZU: 574.5:543.3:504.5 https://doi.org/10.59295/mabt2026.39

METODE AVANSATE DE EVALUARE A POLUĂRII ȘI DEPOLUĂRII DE SUBSTANȚE EMERGENTE A SISTEMELOR ACVATICE NATURALE

Vladislav BLONSCHI, Viorica GLADCHI, Elena BUNDUCHI, Angela LIS

Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Rezumat

În prezentul studiu sunt caracterizați patru indicatori utilizați la evaluarea poluării și autopurificării mediului acvatic natural și metodele de determinare a acestora. Doi indicatori standardizați la nivel internațional pentru sistemul de monitoring al calității apelor: *consumul biochimic de oxigen* și *consumul chimic de oxigen*. Alți doi indicatori, nestandardizați, dar care evaluează poluarea/depoluarea din perspectiva realizării compoziției chimice a apei naturale adecvate valorii biologice de habitare. Parametrul *capacitatea de inhibiție a apelor*, folosit de cca 40 ani în cercetări științifice și de monitorizare a apelor și *parametrul inhibiția*, indicator brevetat în cadrul laboratorului de cercetări științifice „Chimie ecologică și Tehnologii chimice moderne" al Universității de Stat din Moldova. Sunt prezentate avantajele și limitările acestor indicatori în evaluarea calității apelor pe exemplul perioadei de monitorizare, iunie 2024-iulie 2025, a apelor nistrene.

Cuvinte-cheie: poluare, autopurificare, fluviul Nistru, poluanți emergenți, consumul biochimic de oxigen, consumul chimic de oxigen, capacitate de inhibiție, inhibiția apei.

ADVANCED METHODS FOR EVALUATION OF POLLUTION AND DEPOLLUTION OF EMERGING SUBSTANCES OF NATURAL AQUATIC SYSTEMS

Abstract

In the present study, four indicators and their corresponding determination methods are presented for assessing pollution and self-purification processes in the natural aquatic environment. Two of these are internationally standardized indicators used in water quality monitoring systems: biochemical oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD). The other two indicators are non-standardized but evaluate pollution/depollution from the perspective of achieving a chemical composition of natural water that is suitable for biological habitation. These include the parameter inhibition capacity of water, used for approximately 40 years in scientific research and water monitoring, and the parameter inhibition, an indicator developed and patented within the Scientific Research Laboratory „Ecological Chemistry and Modern Chemical Technologies" of Moldova State University. The advantages and limitations of these indicators in assessing water quality are presented using the example of the monitoring period of the Dniester waters June 2024-July 2025.

Keywords: pollution, self-purification, Dniester River, emerging pollutants, biochemical oxygen demand, chemical oxygen demand, inhibition capacity, water inhibition.

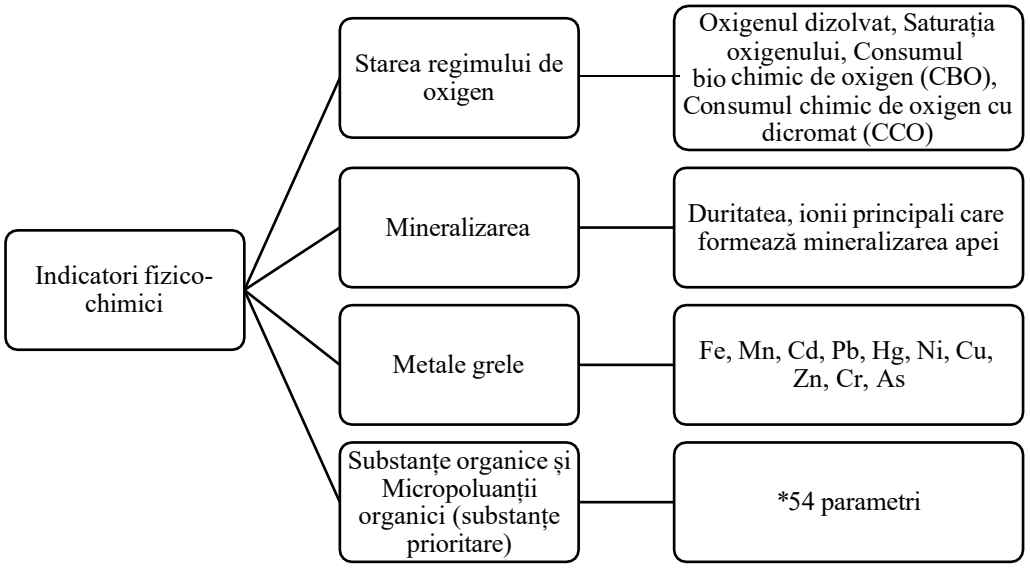
Introducere

În ultimele decenii, progresul rapid al științei a condus la dezvoltarea unor materiale avansate cu proprietăți funcționale superioare, utilizate pe scară largă în domenii precum medicină, electronică, energie, cataliză, biotehnologie și protecția mediului. Procesele de sinteză a acestor materiale implică utilizarea unor materii prime specifice, care pot genera produse secundare sau reziduuri sub formă de emisii lichide, solide sau gazoase cu potențial impact asupra mediului ambiant. În acest context, evaluarea performanței de mediu ca răspuns la sinteza a materialelor avansate devine un element esențial în dezvoltarea unor tehnologii sustenabile, în concordanță cu principiile chimiei verzi [1] și ale Agenției Europene pentru produse chimice [2].

În paralel cu dezvoltarea tehnologică, monitorizarea calității mediului, în special a apelor de suprafață, a evidențiat apariția unei categorii tot mai diverse de contaminanți, cunoscuți sub

denumirea de poluanți emergenți [3]. Acești compuși includ, printre altele, substanțe farmaceutice, compuși proveniți din produse cosmetice și de îngrijire personală, hormoni, aditivi industriali, produse de degradare ale pesticidelor, precum și nanomateriale și alte tipuri de materiale avansate. Deși, în general, acești contaminanți sunt prezenți în concentrații reduse, studiile recente au demonstrat că pot avea efecte ecotoxicologice semnificative asupra hidrobionților și pot perturba procesele de autopurificare a ecosistemelor acvatice [4-9].

Prezența poluanților emergenți în apele de suprafață evidențiază limitările sistemelor tradiționale de monitorizare a calității apei, care se bazează în principal pe indicatori fizico-chimici convenționali (Fig. 1) [10].



** în Anexa 1 a HG nr. 890 din 12.11.2013 sunt specificați 54 parametri, la indicatorul substanțe organice, ce pot fi determinați, dar nici unul nu este reglementat (adică indicator al calității apelor de care nu se ține cont în mod obligatoriu la stabilirea clasei de calitate a apelor de suprafață).*

Figura 1. Indicatorii fizico-chimici privind cerințele de calitate a mediului pentru apele de suprafață aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 890 din 12.11.2013 (modificată prin HG nr. 368 din 29.05.2024)

Acești parametri, deși esențiali pentru evaluarea poluării clasice, nu reflectă în mod adecvat complexitatea contaminării moderne, caracterizată prin prezența unor amestecuri de compuși organici persistenți, bioactivi sau cu proprietăți nano-structurate [11]. Prin urmare, devine necesară dezvoltarea unor noi parametri și metode de evaluare sustenabile a stării ecologice a apelor de suprafață, capabile să caracterizeze prezența, comportamentul și efectele potențiale ale poluanților emergenți.

Calitatea apei, fie pentru utilizare în anumite scopuri (potabile, de recreare etc.), fie valoarea ei biologică, se stabilește, comparând rezultatele măsurărilor cu valori de referință, concentrațiile maxime admisibile (CMA) prevăzute în normativele de calitate [10] sau concentrațiile de fon. Numărul în creștere de substanțe care ajung în sistemele naturale constituie o provocare legată de evaluarea calității apelor, deoarece sunt necesare date cu privire la CMA, metode analitice de determinare, care implică substanțe și aparate. Ținând cont de multitudinea de substanțe ce acced și se formează în apele naturale, este imposibil și chiar nerelevant de a monitoriza fiecare compus în parte.

Fiind mediu de viaţă pentru organismele vii care o populează, apa se găseşte într-o stare dinamic echilibrată prin schimbul de substanţe cu biocenoza acvatică. Astfel, calitatea apei naturale trebuie evaluată și din perspectiva că aceasta este un sistem format din două subsisteme legate între ele, apa și hidrobionții care viețuiesc în ea. Iar fenomenul de poluare al apelor trebuie corelat cu compoziția chimică adecvată valorii biologice de habitare a hidrobionților.

În acest context, evaluarea performanței de mediu a oricărei produceri, sinteze chimice, substanțe, inclusiv sinteza materialelor avansate trebuie să depășească abordările tradiționale bazate exclusiv pe eficiența proceselor sau pe reducerea consumului de resurse. O abordare modernă implică integrarea unor indicatori de impact asupra mediului care să reflecte potențialul de generare, eliberare și acumulare a compușilor emergenți în ecosistemele acvatice [12,13].

Astfel, identificarea, elaborarea și implementarea unor metode moderne de evaluare a performanței de mediu ca răspuns la sintezele noi, chiar dacă acestea se referă la materiale cu proprietăți avansate pentru sănătate și tehnică reprezintă o direcție actuală de cercetare. În același timp, dezvoltarea unor noi parametri pentru evaluarea stării ecologice a apelor de suprafață, care să includă poluanții emergenți proveniți din activități industriale sau din utilizarea produselor de consum, este esențială pentru îmbunătățirea sistemelor de monitorizare și pentru protecția pe termen lung a ecosistemelor acvatice.

Prin urmare, scopul cercetării constă în validarea unei metode complexe de evaluare a stării ecologice a apelor de suprafață, care să ofere o informație/un rezultat cumulat despre impactul individual al poluanților diverși sub aspect calitativ și cantitativ asupra proceselor de autopurificare.

Metode și materiale aplicate

Pentru realizarea părții practice a studiului au fost utilizate următoarele materiale: peroxid de hidrogen (35%) și p-nitrozodimetilanilină, PNDMA (Sigma-Aldrich, Germania), soluții pentru determinarea consumului chimic de oxigen (compania HACH, SUA), alți reagenți cu gradul de puritate chimic pur; spectrofotometre UV-VIS model Selecta UV-2005 și Agilent Cary 60 UV-Vis, lampa cu lumină policromatică DRT-400 în calitate de sursă de iradiere.

Puncte de prelevare a probelor de apă. Probele de apă au fost captate în 7 puncte geografice din bazinul hidrografic al fluviului Nistru (Tab. 1).

Tabelul 1. Coordonatele punctelor de captare ale probelor de apă

Nr. probei	Punct de prelevare / captare	Coordonate geografice		
		Latitudine (N)	Longitudine (E)	Format DMS
1	Nistru – barajul hidrocentralei electrice de la Dubăsari	47.282° N	29.127° E	47°16′52.26″ N 29°07′39.52″ E
2	Nistru (s. Ustia) – gura de vărsare a r. Răut	47.309° N	29.117° E	47°18′32″ N ; 29°07′01″ E
3	Nistru – aval or. Criuleni	47.214° N	29.160° E	47°12′50″ N ; 29°09′36″ E
4	Nistru – gura de vărsare a r. Ichel	47.116° N	29.070° E	47°06′58″ N ; 29°04′12″ E
5	Nistru – or. Vadul lui Vodă	47.090° N	29.076° E	47°05′24″ N ; 29°04′33″ E

Determinarea consumului biochimic de oxigen (CBO_5) [14]. Indicatorul CBO_5 a fost determinat ca diferența dintre conținutul de oxigen dizolvat în ziua prelevării probei și după 5 zile de la recoltare, proba fiind incubată la întuneric și t = 20°C. Concentrația oxigenului dizolvat a fost determinată prin metoda titrimetrică redox iodometria (metoda Winckler).

Determinarea consumului chimic de oxigen cu dicromat (CCO_{Cr}) [15]. A fost folosită metoda spectrofotometrică dezvoltată de compania HACH, care utilizează dicromat de potasiu ca agent oxidant.

Determinarea capacității de inhibiție ($\sum k_i[S_i]$, s^{-1}) [16]. Principiul metodei constă în stabilirea vitezei de decolorare a colorantului 4-nitrozo-N,N-dimetilanilină (PNDMA), sub acţiunea radicalilor •OH, în apă distilată şi în prezenţa adaosurilor de apă naturală. Radicalii •OH sunt generați la fotoliza peroxidului de hidrogen sub acţiunea radiaţiei UV a unei surse artificiale. Capacitatea de inhibiție se calculează conform:

$$\sum_i k_i [S_i] = \frac{V_{tot.}}{V_{a.n.}} \cdot \mathrm{k(PNDMA)} \cdot [\mathrm{PNDMA}]_0 \cdot \left[\frac{W_{a.d.}}{W_{a.n.}} - 1\right]$$

unde: $W_{a.d}$ ($W_{a.n.}$) – viteza inițială de decolorare a PNDMA la fotoliza peroxidului de hidrogen în apă distilată (naturală), mol·L^{-1}·s^{-1}; k_{PNDMA} = 1,25·10^{10} - constanta bimoleculară a vitezei de reacție a colorantului cu radicalii •OH, mol^{-1}·L·s^{-1}; $[PNDMA]_0$ - concentrația inițială a colorantului, mol·L^{-1}; V_{tot} – volumul total al amestecului, mL; $V_{a.n.}$ – volumul de apă naturală în proba analizată, mL.

Determinarea inhibiției apelor de suprafață [17]. Inhibiția probelor de apă s-a determinat cu cu reactivul ABTS (acidul 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6 sulfonic) și s-a calculat cu formula:

$$I = \frac{A_0 - A_{30}}{A_0} \cdot 100\%,$$

unde: I – inhibiția, %; A_0 – absorbanța inițială a soluției; A_{30} – absorbanța soluției după 30 min de incubare.

Rezultate obținute și discuții

Testul consumul biochimic de oxigen (CBO), în special metoda standard de 5 zile, a fost selectat și popularizat de Comisia Regală pentru Eliminarea Apelor Uzate din Regatul Unit, în anul 1908, pentru a măsura poluarea organică din râuri. Acesta a fost elaborat pentru a aborda poluarea din râul Tamisa, durata de 5 zile fiind aleasă pe baza timpului estimat de deplasare a apei râului către mare.

Parametrul CBO utilizat pe scară largă pentru evaluarea poluării organice din sistemele de apă, oferă informații despre capacitatea microorganismelor aerobe de a descompune substanțele organice. Este un test autorizat (ISO 5815:2019) pentru analiza compușilor organici biodegradabili [17]. Deși, produce rezultate bune, are totuși o precizie mai mică, dat fiind faptul că este un test de natură biologică; consumă mult timp și nu poate fi utilizat pentru analize și decizii rapide în cazul unor deversări accidentale; prezența unor substanțe toxice (metale grele) poate inhiba sau omorî bacteriile, ducând la valori fals scăzute; pot avea loc interferențe din cauza NH_3, conducând la supraestimarea încărcăturii organice, deoarece bacteriile pot utiliza oxigenul la oxidarea acestuia.

Deși utilizarea oxidanților chimici pentru analiza apei datează de la mijlocul secolului al XIX-lea (când se folosea preponderent „metoda cu permanganat" propusă de K. Forchhammer în 1849), metoda cu dicromat a devenit preferată datorită capacității sale superioare de a oxida aproape toți compușii organici. Metoda pentru determinarea CCO_{Cr} a fost propusă și dezvoltată, prin contribuțiile a mai mulți cercetători (anii ′40-′50), ca standard pentru evaluarea calității apelor. A devenit o metodă standard pentru analiza apelor uzate, cu îmbunătățiri semnificative pentru interferența clorurilor (anii ′60-′70). În prezent, această metodă este reglementată internațional prin standardul ISO 6060:1989 [18]. Dezavantajele acestei metode constau în aceea că: determină în general 60-70% dintre substanţele organice, unele substanțe organice complexe (hidrocarburile aromatice, piridina) nu sunt complet oxidate prin această metodă; există interferențe din partea unor compuși anorganici (sulfuri, fierul bivalent), obținându-se valori mai

mari decât în realitate; indică poluarea, dar nu pune în evidenţă toxicitatea mediului acvatic pentru hidrobionţi. În funcţie de compoziţia calitativă a substanţelor organice ce determină valoarea CCO_{Cr}, mediul acvatic poate fi netoxic la valori înalte ale CCO_{Cr}, şi, invers, să prezinte toxicitate la valori mici ale CCO_{Cr}.

O soluţie sustenabilă pentru sistemul de monitorizare a calităţii apelor naturale îl constituie indicatorii integrativi (complecși), care relevă dacă compoziţia chimică a apei naturale este adecvată valorii biologice de habitare și nu doar dacă este conformă valorilor de referință pentru CMA. Valorile CMA nu sunt suficient de informative, deoarece au fost și sunt stabilite, mai des, în apa distilată, în condiţii diferite de cele din apele naturale. Acest fapt şi explică lipsa asocierii, frecvent atestate, între CMA şi calitatea apei ca mediu de viaţă pentru hidrobionţi.

Studiile cu referire la identificarea a noi parametri integrativi de evaluare a fenomenului de poluare și a capacității de depoluare au adus în atenția cercetătorilor radicalii $^{\bullet}OH$. Aceștia fac parte din compoziția chimică a apelor, sunt particule cu activitate electrofilă puternică, non-selective față de substraturi și cu constante de viteză ale reacţiilor de interacțiune egale cu cele de difuzie. Astfel pentru evaluarea poluării cu substanțe captori de radicali $^{\bullet}OH$, a fost propus parametrul *capacitatea de inhibiţie* ($\Sigma k_i[S_i]$) [19]. Acesta prezintă constanta efectivă de întrerupere a lanțului radicalic în procesele de oxidare cu participarea particulelor.

După acest indicator, apele sunt împărţite în trei grupe: *ape nepoluate,* $\Sigma k_i[S_i] < 3 \cdot 10^4$ s^{-1}; *ape moderat poluate*, $\Sigma k_i[S_i] = 3 \cdot 10^4$-$3 \cdot 10^5$ s^{-1}; *ape poluate*, $\Sigma k_i[S_i] > 3 \cdot 10^5$ s^{-1}. Este important de menționat că a fost identificată asociere directă între valorile indicatorului şi toxicitatea apei. Coeficientul de corelare dintre parametru și rezultatele biotestelor a fost de peste 0,9 unităţi, atunci când valorile acestuia erau peste $3 \cdot 10^5$ s^{-1}. Un alt avantaj al indicatorului este că poate previziona fenomenul de poluare cu substanțe captori de raducali $^{\bullet}OH$ atunci când acesta nu este încă la scară mare. La fel, indicatorul poate semnala și despre dezvoltarea unor condiţii nefavorabile pentru ambianța comunității acvatice așa ca creșterea concentrației particulelor non-selective – radicalii $^{\bullet}OH$, poluarea radioactivă și perturbarea ciclului biogeochimic al manganului.

Radicalii $^{\bullet}OH$ interacționează cu substanțele organice prin mecanism radical-înlănțuit, ca rezultat conduc la formarea altor particule radicalice cu proprietăți oxidante, care participă la oxidarea poluanților. Această particularitate de mecanism poate conduce la cuantificarea eronată a cantității reale de reducători. Astfel, pentru a depăși această limitare, a fost propus parametrul *inhibiția*. Indicatorul a fost elaborat și brevetat în cadrul laboratorului de cercetări științifice „Chimie ecologică și Tehnologii chimice moderne" al Universității de Stat din Moldova [20]. În metoda propusă cation-radicalul ABTS interacționează cu substanțele reducătoare din apele naturale conform cineticii lente, în care, datorită timpului de interacțiune de 30 minute se produce interacțiunea completă și într-o singură etapă a reducătorilor cu radicalul, iar produsul oxidat, din cauza potențialului de oxidare a cation-radicalului ABTS mai redus comparativ cu radicalii $^{\bullet}OH$, nu mai este antrenat în reacții radicalice. Acest tip de interacțiune, bine studiat, oferă o imagine de ansamblu mai reală a concentrației substanțelor reducătoare. Astfel, mecanismul de interacțiune a radicalului avantajează indicatorul inhibiția față de capacitatea de inhibiție.

În funcție de valoarea *inhibiției* apele se deosebesc după 4 grade de poluare: ape nepoluate ($I < 15\%$), ape poluate moderat ($15\% < I < 55\%$), ape poluate ($55\% < I < 80\%$) și ape poluate puternic ($I > 80\%$).

Pentru a evalua poluarea și capacitatea de diminuare/eliminare a poluării prin autopurificare a apelor nistrene cu cei 4 indicatori discutați mai sus, în perioada anilor 2024-2025, au fost efectuate prelevări de probe de apă, 3 - de pe cursul fluviului Nistru și 2 - la gurile de vărsare ale afluenților Răut și Ichel (Tab. 1). Fenomenele de poluare și autopurificare ale apelor nistrene au

fost monitorizate cu indicatorii: CBO_5 – autopurificarea biologică, CCO_{Cr} – șarja de substanțe organice, inclusiv bionedegradabile, ($\sum k_i[S_i]$) – capacitatea de inhibiție și I – inhibiția.

Intensitatea proceselor de autopurificare biologică, procese dominante în diminuarea concentrației de poluanți în sistemele acvatice, a fost evaluată cu ajutorul parametrului CBO_5. Astfel, indicatorul plasează apele fluviului Nistru în clasele de calitate I – III, cu calificativele de la „foarte bune" la „poluate moderat" (Tab. 2).

Tabelul 2. Valorile CBO_5 (mgO_2/L) și clasa de calitate a apelor în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024	Clasa de calitate	10.10.2024	Clasa de calitate	11.04.2025	Clasa de calitate	02.07.2025	Clasa de calitate
1	5,60	*III*	2,56	*I*	1,76	*I*	1,44	*I*
2	3,68	*II*	2,56	*I*	1,92	*I*	4,16	*II*
3	4,00	*II*	1,28	*I*	2,08	*I*	3,04	*II*
4	3,04	*II*	3,84	*II*	2,88	*I*	2,08	*I*
5	2,56	*I*	2,40	*I*	1,28	*I*	0,96	*I*

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Pe cursul fluviului, pe durata monitorizării, se observă o descreștere ușoară a valorii CBO_5, astfel că pentru a 5-a probă clasa de calitate este I. Acest rezultat indică că autopurificarea biologică nu este interferată de apele afluenților fluviului, râurile Răut și Ichel. Apele afluenților se încadrează în clasele de calitate I și II.

Prin urmare, conform CBO_5, atât apele fluviului Nistru, cât și ale afluenților au fost afectate ușor de activitatea antropică, însă funcționarea ecosistemului acvatic nu a fost influențată, exceptând data de 19.06.2024, când valoarea înregistrată în priza 1 de captare, plasează apele în clasa a III-a de calitate.

Conținutul sumar al substanțelor organice, determinat prin parametrul CCO_{Cr}, indică despre o încărcătură cu aceste substanțe cuprinsă în limitele 10 – 24 mgO/L pentru apele fluviului Nistru (Tab. 3) și 22 – 40 mgO/L pentru apele afluenților.

Conform datelor înregistrate, apele fluviului Nistru se încadrează în clasele de calitate II și III, cu calificativele „bune" și „poluate moderat". Clasele de calitate ale apelor afluenților sunt III și IV, respectiv „poluate moderat" și „poluate".

Tabelul 3. Valorile CCO_{Cr} (mgO/L) și clasa de calitate a apelor în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024	Clasa de calitate	10.10.2024	Clasa de calitate	11.04.2025	Clasa de calitate	02.07.2025	Clasa de calitate
1	14,32	*II*	15,60	*III*	13,44	*II*	15,84	*II*
2	37,81	*IV*	26,90	*III*	26,38	*III*	37,97	*IV*
3	21,99	*III*	14,70	*II*	18,59	*III*	23,77	*III*
4	26,75	*IV*	27,17	*III*	21,62	*III*	26,53	*IV*
5	12,32	*II*	13,15	*II*	10,08	*II*	13,07	*II*

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Datele CCO_{Cr} pentru apa pe cursul fluviului denotă despre impactul apelor râului Răut asupra apelor nistrene, astfel practic la fiecare prelevare (excepție 10.10.2024) clasa de calitate a apelor nistrene se modifica din II în III. Pentru râul Ichel nu a fost atestată nicio influență.

Conform claselor de calitate atribuite apelor fluviului Nistru în baza parametrilor CCO_{Cr} și CBO_5, rezultă că tipul apei „foarte bune" nu este pertinent. Mai mult, după vărsarea râului Răut

în apele Nistrului se înregistrează semne moderate de dereglare a funcționării ecosistemului. Această poluare este atenuată pe cursul fluviului, apele revin la clasa a II-a de calitate.

Diminuarea poluării pe cursul fluviului observată la interpretarea datelor pentru CBO_5 nu indică neapărat despre creșterea intensității proceselor de autopurificare biologică, dimpotrivă, despre o epuizare a lor, deoarece după datele indicatorului CCO_{Cr}, apele devin „încărcate" cu substanțe organice (Tab. 4).

Tabelul 4. Clasa de calitate după valorile CBO_5 (mgO_2/L) și CCO_{Cr} (mgO/L) a apelor în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024		10.10.2024		11.04.2025		02.07.2025	
	CBO_5	CCO_{Cr}	CBO_5	CCO_{Cr}	CBO_5	CCO_{Cr}	CBO_5	CCO_{Cr}
1	*III*	*II*	*I*	*III*	*I*	*II*	*I*	*II*
2	*II*	*IV*	*I*	*III*	*I*	*III*	*II*	*IV*
3	*II*	*III*	*I*	*II*	*I*	*III*	*II*	*III*
4	*II*	*IV*	*II*	*III*	*I*	*III*	*I*	*IV*
5	*I*	*II*	*I*	*II*	*I*	*II*	*I*	*II*

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Diferența de clase de calitate este explicată de faptul că șarja de acești compuși este constituită din substanțe bionedegradabile (nedetectate cu CBO_5).

Evaluarea poluării cu substanțe captori de radicali $^{\bullet}OH$ a relevat că acest tip de poluare, dacă și are loc, este minimizat eficient de către sistemul de autopurificare a apelor nistrene. Valorile capacității de inhibiție fiind, mai des, sub valoarea $3{,}0 \cdot 10^5\ s^{-1}$, limite caracteristice unei poluări ușoare. Măsurările arată la fel că, apele afluenților aduc cu sine o poluare mai mare cu captori de radicali $^{\bullet}OH$ ($5{,}2 \le \Sigma k_i[S_i] \le 9{,}8) \cdot 10^5\ s^{-1}$). Analizând aceleași date se observă o lipsă a impactului încărcăturii apelor afluenților asupra proceselor de autopurificare radicalică ale captorului, fluviul Nistru (Tab. 5).

Tabelul 5. Valorile capacității de inhibiție ($\Sigma k_i[S_i]$, s^{-1}) și gradul de poluare a apelor în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024		10.10.2024		11.04.2025		02.07.2025	
	$\Sigma k_i S_i \cdot 10^{-5}$, s^{-1}	grad de poluare	$\Sigma k_i S_i \cdot 10^{-5}$, s^{-1}	grad de poluare	$\Sigma k_i S \cdot 10^{-5}$, s^{-1}	grad de poluare	$\Sigma k_i S \cdot 10^{-5}$, s^{-1}	grad de poluare
1	4,7	poluare moderată	0,4	poluare ușoară	0,8	poluare ușoară	1,4	poluare ușoară
2	7,9	poluat	1,2	poluare ușoară	6,5	poluat	5,3	poluat
3	5,1	poluat	0,3	poluare ușoară	2,5	poluare ușoară	1,2	poluare ușoară
4	9,8	poluat	5,2	poluat	8,8	poluat	7,0	poluat
5	3,3	poluare moderată	0,2	poluare ușoară	2,8	poluare ușoară	1,1	poluare ușoară

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Datele pentru indicatorul inhibiția denotă despre o poluare moderată a apelor nistrene (18%-47%), iar apele afluenților nu contribuie la creșterea concentrației de substanțe organice în apele fluviului (excepție 10.10.2024) (Tab. 6). În cazul afluenților Răut și Ichel apele sunt poluate moderat și poluate, valorile inhibiției fiind cel puțin duble față de apele Nistrului.

Tabelul 6. Valorile inhibiției (*I*, %) și gradul de poluare a apelor în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024		10.10.2024		11.04.2025		02.07.2025	
	I, %	Tipul apei	*I*, %	Tipul apei	*I*, %	Tipul apei	*I*, %	Tipul apei
1	24,7	poluate moderat	17,7	poluate moderat	23,2	poluate moderat	34,6	poluate moderat
2	53,4	poluate	43,4	poluate moderat	39,3	poluate moderat	57,6	poluate
3	26,9	poluate moderat	46,5	poluate moderat	23,0	poluate moderat	29,3	poluate moderat
4	62,3	poluate	54,1	poluate moderat	32,2	poluate moderat	49,4	poluate moderat
5	23,9	poluate moderat	37,3	poluate moderat	21,4	poluate moderat	27,2	poluate moderat

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Prin urmare, conținutul substanțelor organice indigene și exogene din apele afluenților sunt oxidate de particulele reactive formate în procesele de autopurificare chimică ale apelor fluviului. Datele obținute ale parametrilor integrativi ($\Sigma k_i[S_i]$, *I*) indică despre importanța lor în stabilirea reală a gradului de poluare a apelor, care arată o poluare mai accentuată decât indicatorii clasici (CBO_5, CCO_{Cr}) (Tab. 7).

Tabelul 7. Gradul de poluare a apelor stabilit după parametrii capacitatea de inhibiție ($\Sigma k_i[S_i]$, s^{-1}) și inhibiția (*I*, %) în prizele de captare

Nr. probei	19.06.2024		10.10.2024		11.04.2025		02.07.2025	
	$\Sigma k_i[S_i]$	*I*, %	$\Sigma k_i[S_i]$	*I*, %	$\Sigma k_i[S_i]$	*I*, %	$\Sigma k_i[S_i]$	*I*, %
1	poluare moderată	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat
2	poluat	poluate	poluare ușoară	poluate moderat	poluat	poluate moderat	poluat	poluate
3	poluat	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat
4	poluat	poluate	poluat	poluate moderat	poluat	poluate moderat	poluat	poluate moderat
5	poluare moderată	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat	poluare ușoară	poluate moderat

Nr. probei: 1 – Nistru, aval baraj Dubăsari; 2 – Nistru, gura de vărsare Răut; 3 – Nistru, amonte or. Criuleni; 4 –Nistru, gura de vărsare Ichel; 5 – Nistru, or. Vadul lui Vodă.

Așadar, parametrii utilizați în determinarea proceselor de poluare a apelor nistrene, capacitatea de inhibiție ($\Sigma k_i[S_i]$, s^{-1}) și inhibiția (*I*, %) oferă o imagine mult mai amplă privind cantitatea de substanțe organice cu caracter reducător, inclusiv cele bionedegradabile și cel mai important, comportamentul chimic al acestora în raport cu radicalii liberi responsabili de autopurificarea apei.

Concluzii

1. Fenomenele de poluare și autopurificare ale apelor nistrene monitorizate cu indicatorul CBO_5 relevă despre intensitatea satisfăctătoare a autopurificării biologice, astfel că apele nistrene corespund claselor I și III de calitate, iar afluenții Răut și Ichel nu au impact negativ asupra fluviului.

2. Dinamica conținutului sumar de substanțe organice determinate cu indicatorul CCO_{Cr} este una favorabilă proceselor de atenuare a poluării, apele fluviului atribuindu-se la clasele II și III de calitate. A fost înregistrată influență negativă doar urmare a deversării apelor râului Răut, situația care a fost atenuată pe cursul fluviului.

3. Parametrii integrativi de evaluare a poluării ($(\Sigma k_i[S_i]$, I) au demonstrat eficacitatea în aprecierea complexă a gradului de poluare a apelor fluviului, indicând un nivel moderat de poluare, dar mai accentuat decât indicatorii CBO_5 și CCO_{Cr}. Și acești parametri, similar celor clasici, confirmă despre micșorarea fenomenului de poluare pe cursul fluviului produs urmare a deversării afluenților Răut și Ichel.

Notă

Lucrarea a fost realizată în cadrul Subprogramului 010603 Identificarea Procedeelor Tehnologice de Tratare, Formare a Calității și Cantității Apelor și Cercetări Avansate în Chimia Computațională și Ecologică.

Referințe:

1. Anastas, P., Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. Chem. Soc. Rev., 2009, 39, 301–312. DOI: 10.1039/B918763B.
2. Agenția Europeană pentru Produse Chimice (ECHA). Disponibil: https://echa.europa.eu/home [Accesat: 10.03.2026].
3. O'Flynn, D., Lawler, J., Yusuf, A., Parle-McDermott, A., Harold, D., Mc Cloughlin, T., Holland, L., Regan, F., White, B. A review of pharmaceutical occurrence and pathways in the aquatic environment in the context of a changing climate and the COVID-19 pandemic. *Anal. Methods*, 2021, 13, 575–594. DOI: 10.1039/d0ay02098b.
4. Muzammal, M. Emerging health risks of pharmaceutical pollutants in water sources: public health perspectives and policy recommendations. *AIDASCO Reviews*, 2025, 3(1), 36–43. DOI: 10.59783/aire.2025.73.
5. Lau, H. L., Sofian, R., Aedy Aewandy, S. N., Bazilah Awang Idris, N. D., Abdul Munir, N. A., Roslan, N. N., Abdul Majid, A. F., Usman, A., Nur, M. Pharmaceuticals as Emerging Contaminants in the Environment: Impacts and Remediation Processes. In: *Latest Research in Contaminants of Emerging Concern*. IntechOpen, 2025. DOI: 10.5772/intechopen.1013552.
6. Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman, C. U., Mohan, D. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects and removal methods. *Chem. Rev.*, 2019, 119(6), 3510–3673. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00299.
7. Szarka, A., Vnuková, L., Keršnáková, Z., Viktoryová, N., Hrouzková, S. Contamination with pharmaceuticals in aquatic environment: focus on analytical methodologies. *Appl. Sci.*, 2024, 14, 8645. DOI: 10.3390/app14198645.
8. Mariano, S. M. F., Angeles, L. F., Aga, D. S., Villanoy, C. L., Jaraula, C. B. Emerging pharmaceutical contaminants in key aquatic environments of the Philippines. *Front. Earth Sci.*, 2023, 11, 1124313. DOI: 10.3389/feart.2023.1124313.
9. Khan, A. H. A., Barros, R. Pharmaceuticals in water: risks to aquatic life and remediation strategies. *Hydrobiology*, 2023, 2, 395–409. DOI: 10.3390/hydrobiology2020026.
10. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 890 din 12-11-2013 pentru aprobarea Regulamentului cu privire la cerințele de calitate a mediului pentru apele de suprafață. Disponibil: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=143696&lang=ro [Accesat: 09.03.2026].
11. Zolkefli, N., Sharuddin, S. S., Yusoff, M. Z. M., Hassan, M. A., Maeda, T., Ramli, N. A review of current and emerging approaches for water pollution monitoring. *Water*, 2020, 12, 3417. DOI: 10.3390/w12123417.
12. European Parliament and Council. Regulation (EC) No 1907/2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). *Official Journal of the European Union*, L396, 2006.

13. European Parliament and Council. Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures (CLP). *Official Journal of the European Union*, L353, 2008.
14. SM SR EN 1899-1:2012. Calitatea apei. Determinarea consumului biochimic de oxigen după n zile (CBOn).
15. HACH Company. *Water Analysis Handbook*, 7th ed. Loveland, CO: HACH Company, 2012.
16. РД 52.18.24.83-89. Методические указания. Методика определения кинетических показателей качества поверхностных (пресных) вод. М.: Гидрометеоиздат, 1990.
17. ISO 5815:2019. Water quality – Determination of biochemical oxygen demand after n days (BODn). Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition.
18. ISO 6060:1989. Water quality – Determination of the chemical oxygen demand.
19. Bunduchi, E., Duca, G., Gladchi, V. New Kinetic Parameters for Natural Water Quality Assessment. In: *Handbook of Water Sciences and Society*. Ed.: Duca Gh., Vaseashta A., IGI Global, 2022, 257–270. DOI: 10.4018/978-1-7998-7356-3.ch011.
20. Blonschi, V., Gladchi, V., Bunduchi, E., Cisteacov, M., Lis, A., Duca, G. Procedeu de evaluare a gradului de poluare a apelor de suprafaţă. *Brevet de invenție MD 1905*. Nr. depozit s 2025 0047, publicat 30.11.2025. In: *BOPI*, 2025, 11, 40.

Date despre autori:



Vladislav BLONSCHI, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: vlad.blonschi@usm.md
ORCID: 0000-0001-8628-6756



Viorica GLADCHI, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: viorica.gladchi@usm.md
ORCID: 0000-0002-5847-4466



Elena BUNDUCHI, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: egbunduchi@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2275-9918



Angela LIS, Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: angela.lis@usm.md
ORCID: 0000-0003-2275-9918

CZU: 544.142.3:546.56:547.497 https://doi.org/10.59295/mabt2026.40

COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CARE CONȚIN SULFANILAMIDE ȘI 4-HEXILTIOSEMICARBAZONE ALE ALDEHIDEI SALICILICE

Victor ȚAPCOV, Olga GARBUZ, Roman RUSNAC,
Aliona COTOVAIA, Aurelian GULEA

Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat

Aldehida salicilică în soluție etanolică participă în reacția de condensare template cu ciclohexil- sau hexiltiosemicarbazida în prezența acetatului de cupru și așa medicamente ca streptocida (Sf^1), sulfacetamida (Sf^2), norsulfazol (Sf^3), etazol (Sf^4), sulfadiazina (Sf^5) sau sulfadimezina (Sf^6) cu formarea compușilor coordinativi, pentru care în baza datelor analizei elementale a fost stabilită compoziția $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}$ nH_2O, unde H_2L^1 – 4-ciclohexiltiosemicarbazona, iar H_2L^2 - hexiltiosemicarbazona aldehidei salicilice, n = 1 - 5. Compușii coordinativi dați se obțin și în rezultatul reacției directe între tetraacetatul de dicupru dihidrat cu H_2L^{1-2} în prezența sulfanilamidelor Sf^{1-6}, luați în raportul molar 1:2:2. Conform datelor cercetării magnetochimice, compușii sintetizați au structură monomerică. Tiosemicarbazonele H_2L^{1-2} în componența complecșilor se comportă ca liganzi tridentați dublu deprotonizați, coordinând la atomul central prin oxigenul fenolic, azotul azometinic și atomul de sulf în forma tiolică, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. Sulfanilamidele Sf^{1-6} în complecșii investigați se comportă ca liganzi monodentați. În intervalul de concentrații 10^{-5} - 10^{-7} M compușii coordinativi $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}$ nH_2O manifestă activitate antioxidativă cu concentrația de inhibare semimaximală (IC_{50}) cuprinsă între 1,45 - > 100 μM. Asupra IC_{50} influențează natura liganzilor din sfera internă a complexului și pentru compușii cu compoziție asemănătoare se modifică conform următorului șir: $H_2L^1 > H_2L^2$; $Sf^1 > Sf^3 > Sf^6 > Sf^2 > Sf^4 > Sf^5$.

Cuvinte-cheie: compuși coordinativi, sinteză, tiosemicarbazide, tiosemicarbazone, sulfanilamide, proprietăți antioxidative.

COPPER(II) COORDINATION COMPOUNDS CONTAINING SULFANILAMIDES AND SALICYLALDEHYDE 4-HEXYLTHIOSEMICARBAZONES

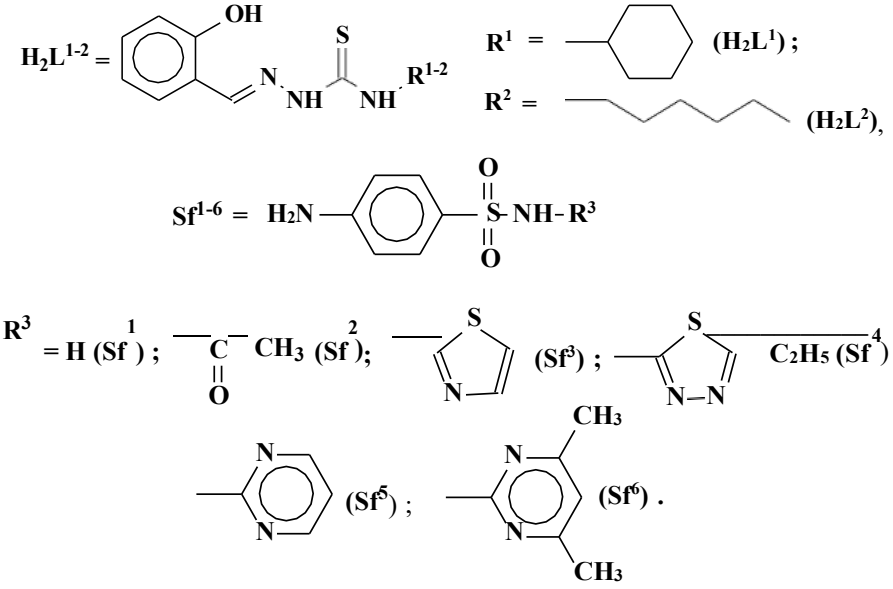
Abstract

Salicylaldehyde in ethanol solution undergoes a template condensation reaction with cyclohexyl- or hexylthiosemicarbazides in the presence of copper(II) acetate and such drugs as streptocide (Sf^1), sulfacetamide (Sf^2), norsulfazole (Sf^3), etazole (Sf^4), sulfadiazine (Sf^5), or sulfadimezine (Sf^6), leading to the formation of coordination compounds. Based on elemental analysis data, their composition was established as $Cu(Sf^{1–6})L^{1–2}\cdot nH_2O$, where H_2L^1 is the 4-cyclohexylthiosemicarbazone and H_2L^2 is the 4-hexylthiosemicarbazone of salicylaldehyde, n = 1–5. The given coordination compounds are also obtained as a result of the direct reaction between dicopper tetraacetate dihydrate with H_2L^{1-2} in the presence of sulfanilamides Sf^{1-6} taken in a molar ratio of 1:2:2. According to magnetochemical studies, the synthesized compounds have a monomeric structure. Thiosemicarbazones $H_2L^{1–2}$ in these complexes behave as doubly deprotonated tridentate ligands, coordinating to the central atom via phenolic oxygen, azomethine nitrogen, and sulfur atom in the thiolic form, forming two metallacycles of six and five members. Sulfanilamides $Sf^{1–6}$ in the investigated complexes act as monodentate ligands. In the concentration range of 10^{-5}–10^{-7} M, the coordination compounds $Cu(Sf^{1–6})L^{1–2}\cdot nH_2O$ exhibit antioxidant activity with half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) in the range of 1.45 to >100 μM. The IC_{50} values are influenced by the nature of the ligands in the inner coordination sphere, and for compounds with similar composition, they change according to the following order: $H_2L^1 > H_2L^2$; $Sf^1 > Sf^3 > Sf^6 > Sf^4 > Sf^5 > Sf^1$.

Keywords: coordination compounds, synthesis, thiosemicarbazones, sulfanilamides, antioxidant properties.

Introducere

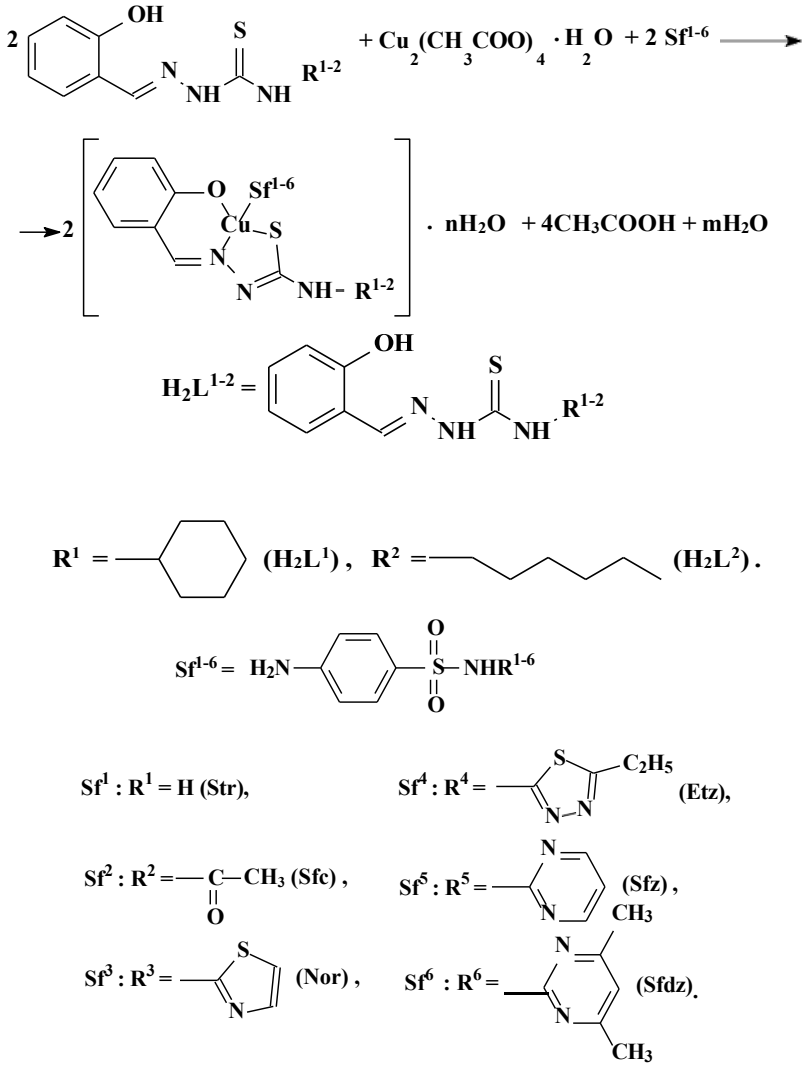
Tiosemicarbazonele aldehidelor și cetonelor formează cu metalele de tranziție o gamă largă de compuși coordinativi ce se deosebesc prin compoziție, structură și proprietăți. Unii din acești complecși manifestă proprietăți biologice, fapt ce permite utilizarea lor în calitate de inhibitori ai diferitor celule de cancer, radicalilor superoxizi, substanțe cu proprietăți antifungice și antimicrobiene [1-3]. Astfel sinteza și investigarea noilor compuși ai biometalelor cu tiosemicarbazonele prezintă un interes atât științific, cât și practic. Anterior în laboratorul „Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică" USM au fost sintetizați și investigați un șir de compuși coordinativi cu liganzi micști, care conțin tiosemicarbazonele diverselor aldehide sau cetone și sulfanilamide [4-9]. A fost stabilit, că proprietățile anticancer, antimicrobiene, antifungice și antiradicalice ale acestor substanțe depind, în mare măsură, de natura atomului central, a substituienților în tiosemicarbazonă și natura sulfanilamidelor. În legătură cu aceasta, scopul lucrării date constă în identificarea condițiilor de sinteză, stabilirea compoziției și proprietăților antioxidative a compușilor coordinativi ai cuprului(II) cu 4-ciclohexiltiosemicarbazona (H_2L^1) sau 4-hexiltiosemicarbazona (H_2L^2) aldehidei salicilice și așa sulfanilamide ca: steprocida (Sf^1), sulfacilul (Sf^2), norsulfazolul (Sf^3), etazolul (Sf^4), sulfadiazina (Sf^5) și sulfadimezina (Sf^6).



Rezultate obținute și discuții

Metode de sinteză a compușilor coordinativi

Pentru a realiza sinteza compușilor coordinativi ai cuprului care conțin 4-ciclohexiltiosemicarbazona (H_2L^1) sau 4-hexiltiosemicarbazona (H_2L^2) aldehidei salicilice și sulfanilamide a fost folosită metoda directă. Complecșii cu compoziția $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\square nH_2O$ (n = 1 - 5) au fost obținuți la interacțiunea a 4-ciclohexiltiosemicarbazonei (H_2L^1) sau 4-hexiltiosemicarbazonei (H_2L^2) aldehidei salicilice cu acetatul de cupru și sulfanilamide, luate în raport molar de 2:1:2 conform schemei:



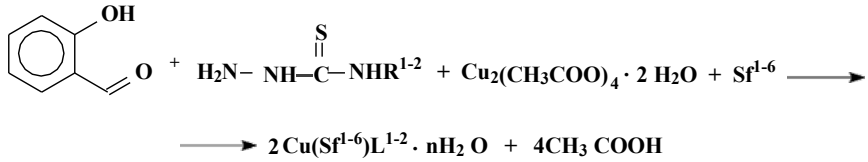
Exemplu de obţinere a $Cu(Sf^{1})L^{1}\cdot 2H_2O$

La suspensia etanolică, care conţine 5 mmol de dihidrat al tetraacetatului de dicupru(II) în 60 ml etanol, încălzită (50…55ºC) şi amestecată în permanenţă cu ajutorul agitătorului magnetic, se adaugă soluţie de 10 mmol de 4-ciclohexiltiosemicarbazona (H_2L^{1}) aldehidei salicilice şi 10 mmol de streptocidă (4-aminobenzensulfamidă) în 100 ml de alcool etilic. Amestecul reactant se încălzeşte în continuare cu refregerent ascendent pe parcurs de 50…60 min. La răcire din amestecul reactant se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care se filtrează prin filtru din sticlă, se spală cu C_2H_5OH, eter şi se usucă în aer.

În mod analog, folosind în calitate de substanţe iniţiale dihidratul tetraacetatului de dicupru, tiosemicarbazone H_2L^{1} sau H_2L^{2} şi sulfamidele Sf^{1-6}, luate în raportul molar 1:2:2 se sintetizează compuşii $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\cdot nH_2O$ (n = 1- 5). Unele caracteristici fizico-chimice ale compușilor sintetizați sunt prezentate în tabelul 1.

Complecși cu aceeași compoziție $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\cdot nH_2O$ au fost sintetizați și prin metoda template în rezultatul reacției suspensiei etanolice de $Cu_2(CH_3COO)_4 \cdot 2H_2O$ cu aldehida salicilică și 4-ciclohexil- sau 4-hexiltiosemicarbazida în prezență Sf^{1-6}.

Reacția de sinteză în acest caz decurge conform schemei:



$$\longrightarrow 2\,Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\cdot nH_2O + 4CH_3COOH$$

Randamentul compusului final în acest caz este mai mic cu 15 - 20%, dar reacția decurge în timp mai scurt.

Cercetarea vizuală sub microscop a compușilor coordinativi sintetizați demonstrează că ei sunt omogeni. Pentru determinarea individualităţii compoziției şi structurii lor au fost utilizate metode de analiză a elementelor, conductibilitatea electrică, spectroscopia FT-IR și magnetochimia (Tabelul 1).

În baza determinării conductibilităţii electrice molare a compușilor $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\cdot nH_2O$ în dimetilformamidă s-a determinat, că ei sunt neelectroliți [æ =3-6 $Ohm^{-1}\cdot cm^2\cdot mol^{-1}$, 20°C, C_M=0,001 mol/L].

Cercetarea magnetochimică la temperatura camerei (294 K) a compușilor investigați a stabilit, că valorile momentelor magnetice efective ($\mu_{ef.}$ =1,73 – 1,90 M.B.) corespund cu valoarea pur spinică caracteristică pentru un electron necuplat, fapt care vorbește despre structura lor monomerică.

Tabelul 1. Unele proprietăți fizico-chimice ale compușilor coordinativi sintetizați

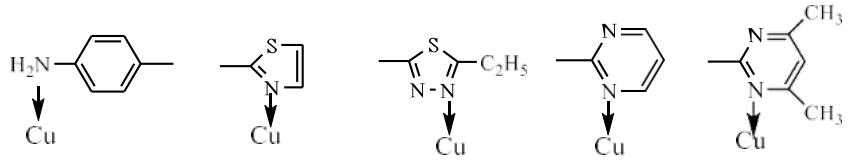
№	Formula moleculară	Formula brută	Randa-mentul, %	$\mu_{ef.}$, M.B. 294 K	Determinat / calculat, %	
					Cu	H_2O
1.	$Cu(Sf^1)L^1\cdot 2H_2O$	$C_{20}H_{28}CuN_5O_5S$	65	1,76	11,54 / 11,74	5,59 / 5,50
2	$Cu(Sf^2)L^1\cdot 4H_2O$	$C_{22}H_{34}CuN_5O_8S_2$	72	1,90	12,91 / 13,15	12,24 / 12,30
3	$Cu(Sf^3)L^1\cdot H_2O$	$C_{24}H_{25}CuN_6O_4S_3$	63	1,81	11,32 /11,26	3,02 /3,22
4	$Cu(Sf^4)L^1\cdot 3H_2O$	$C_{24}H_{33}CuN_7O_6S_3$	70	1,75	9,32 / 9,30	7,01 / 7,10
5	$Cu(Sf^5)L^1\cdot 5H_2O$	$C_{24}H_{36}CuN_7O_8S_2$	88	1,77	9,01 / 9,27	14,23 / 14,15
6	$Cu(Sf^6)L^1\cdot H_2O$	$C_{26}H_{32}CuN_7O_3S_2$	61	1,73	11,37 / 11,76	1,15 / 1,25
7	$Cu(Sf^1)L^2\cdot 2H_2O$	$C_{20}H_{30}CuN_5O_5S_2$	68	1,78	10,50 / 10,56	7,67 / 7,89
8	$Cu(Sf^2)L^2\cdot 3H_2O$	$C_{22}H_{34}CuN_5O_7S_2$	67	1,82	12,55 / 12,45	9,88 / 9,90
9	$Cu(Sf^3)L^2\cdot 2H_2O$	$C_{23}H_{31}CuN_6O_5S_3$	63	1,74	9,75 / 9,60	3,90 / 4,02
10	$Cu(Sf^4)L^2\cdot 5H_2O$	$C_{24}H_{38}CuN_7O_6S_3$	67	1,76	11,25 / 11,05	13,60 / 13,45
11	$Cu(Sf^5)L^2\cdot H_2O$	$C_{24}H_{28}CuN_7O_3S_2$	71	1,79	11,01 / 11,24	2,99 / 3,19

Pentru determinarea modului de coordinare a liganzilor la ionul de cupru(II) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor FT-IR ale compușilor sintetizați cu spectrele tiosemicarbazonelor și sulfanilamidelor corespunzătoare (Tabelul 2).

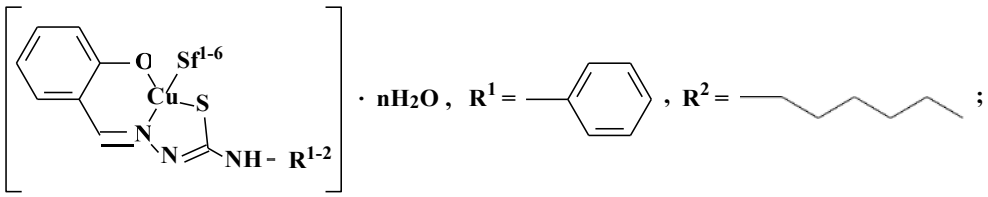
S-a stabilit, că tiosemicarbazonele H_2L^{1-2} în $Cu(Sfm^{1-6})L^{1-2}\cdot nH_2O$ se comportă ca liganzi tridentați dublu deprotonizați, coordinând la atomul central prin intermediul atomului de oxigen fenolic, a azotului azometinic și a sulfului, formând două metalocicluri din cinci și șase atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția din spectrele FT-IR ale substanțelor sintetizate a benzilor de absorbție δ(OH), ν(NH) și ν(C=S), care în tiosemicarbazonele libere se manifestă la 1252, 1512 și 1123 cm^{-1} corespunzător. În spectrele tuturor complecșilor se observă banda de

absorbție ν(C-S) în domeniul 750-740 cm^{-1}, iar ν(C=N) se deplasează cu 15 - 20 cm^{-1} spre domeniul de frecvențe mai mici (în tiosemicarbazonele inițiale ν(C=N) se observă în domeniul 1620 - 1602 cm^{-1}, fiind însoțită de scindarea în două componente. În spectrele complecșilor sintetizați se observă o bandă suplimentară de absorbție, care este condiționată de oscilațiile de valență ν(>C=N-N=C<). Acest caracter al spectrelor FT-IR demonstrează enolizarea tiosemicarbazonelor în procesul de formare a compușilor coordinativi. În afară de aceasta, în domeniul 600 - 400 cm^{-1} în spectrele compușilor coordinativi se observă o serie de benzi de absorbție noi, care, conform datelor din literatură, se detectează ca ν(Cu-N), ν(Cu-O) și ν(Cu-S).

După cum se observă din datele Tabelului 2, sulfanilamidele în compușii sintetizați se comportă ca liganzi monodentați, coordinând la atomul central prin atomii de azot ai grupei amine în cazul streptocidei (Sf^1) și sulfacilului (Sf^2), prin atomul de azot tiazolic și tiadiazolic în cazul norsulfazolului (Sf^3) și a etazolului (Sf^4) și unul din atomii de azot pirimidinici în cazul sulfadiazinei (Sf^5) și sulfadimezinei(Sf^6):



În baza datelor analizei elementale, a cercetărilor magnetochimice, spectrelor FT-IR și după analogie cu complecșii asemănători descriși în literatură [4-9], se poate de presupus următoarea schemă de repartizare a legăturilor chimice:



n = 1-5

Pentru confirmarea ei sunt necesare cercetări suplimentare.

Tabelul 2. Unele frecvențe caracteristice în spectrele FT-IR ale $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2}\square nH_2O$, H_2L^{1-2} și Sf^{1-6}

Compusul	ν(NH_2), ν(NH)	ν(C=O)	ν(C=N)	ν(C-OH)	$\nu_{as}(SO_2)$ $\nu_s(SO_2)$	δ(C-N)	ν(C-O)
H_2L^1	3130, 1512	-	1620, 1602	1252	-	1184, 1110	1213
Streptocida (Sf^1)	3440, 3330, 3210, 1530	-	-	-	1320, 1145	1330, 1115	-
$Cu(Sf^1)L^1 \square 2H_2O$	3339, 3250, 2928, 2851	-	1606, 1586	-	1309, 1149	1379, 1191, 1126	-

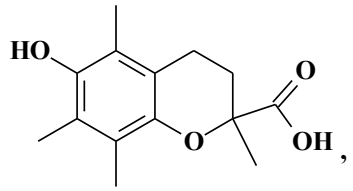
Sulfacil (Sf^2)	3440, 3320, 3210, 1540	1675	-	-	1325, 1140	1330, 1115	-
$Cu(Sf^2)L^1 \cdot 4H_2O$	2924, 1530	1599	1580	-	1317, 1142	1362, 1186	1200
Norsulfazol (Sf^3)	3435, 3335, 3200, 1530	-	1625	-	1315, 1130	1320, 1110	-
$Cu(Sf^3)L^1 \cdot H_2O$	2929, 1531	-	1608, 1580	-	1319, 1136	1184, 1014	-
Etazol (Sf^4)	3435, 3330, 3200, 1535	-	1620	-	1320, 1145	1330, 1120	-
$Cu(Sf^4)L^1$	2929, 1535	-	1614, 1593, 1572	-	1140	1187, 1140	1084
Sulfadimezina (Sf^6)	3460, 3350, 3245, 1535	-	1630	-	1320, 1145	1335, 1110	-
$Cu(Sf^6)\ L^1 \cdot H_2O$	3356, 1502	-	1593, 1550	-	1348, 1139	1184, 1106	-
H_2L^2	3130, 1512	-	1620, 1602	1252	-	1184, 1110	1213
$Cu(Sf^1)L^2 \cdot 2H_2O$	3287, 1516	-	1593	-	1322, 1152	1338, 1126	-
$Cu(Sf^2)L^2 \cdot 3H_2O$	3287, 1522	1592	1553	-	1337, 1151	1151, 1125	1202
Sulfadiazina (Sf^5)	3460, 3350, 3245, 1535	-	1630	-	1320, 1145	1335, 1110	-
$Cu(Sf^5)L^2 \cdot H_2O$	3437, 3294, 1522	-	1648, 1592, 1553	-	1323, 1151	1302, 1126	1254

Tabelul 2. (continuare) Unele frecvențe caracteristice în spectrele FT-IR ale $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2} \cdot nH_2O$, H_2L^{1-2} și Sf^{1-6}

Compusul	ν(C=S)	ν(C-N)	ν(S-N)	ν(C-S)	δ(SO_2)	ν(Cu-N), ν(Cu-O), ν(Cu-S)
H_2L^1	1123	981, 943	-	-	-	-
Streptocida (Sf^1)	-	975, 930	860	745	560	-
$Cu(Sf^1)L^1 \cdot 2H_2O$	-	981, 903	862	758	563	542, 499, 465, 421
Sulfacil (Sf^2)	-	985, 935	865	740	560	-
$Cu(Sf^2)L^1 \cdot 4H_2O$	-	891	859	755	596	538, 490, 441, 415
Norsulfazol (Sf^3)	-	980, 925	870	745	560	-
$Cu(Sf^3)L^1 \cdot H_2O$	-	937	835	757, 710	551	530, 504, 460, 405
Etazol (Sf^4)	-	985, 930	870	750	560	-
$Cu(Sf^4)L^1$	-	927	834	754	572	530, 499, 448, 410
Sulfadimezina (Sf^6)	-	980, 940	870	755	570	-
$Cu(Sf^6)\ L^1 \cdot H_2O$	-	983	864	758	548	511, 480, 458, 415
H_2L^2	1123	981, 943	-	-	-	-
$Cu(Sf^1)L^2 \cdot 2H_2O$	-	947	824	748	585	543, 478, 470, 415

$Cu(Sf^2)L^2 \cdot 3H_2O$	-	944	827	760, 747	585	545, 478, 472, 418
Sulfadiazina (Sf^5)	-	980, 940	870	755	570	-
$Cu(Sf^5)L^2 \cdot H_2O$	-	938	841	748	547	521, 478, 470, 430

Este cunoscut, că sinteza noilor compuşi ce posedă activitate antioxidativă reprezintă o direcţie de studiu deosebit de actuală. Amploarea cercetărilor în acest domeniu se datorează faptului, că organismul uman nu întotdeauna reuşeşte să neutralizeze toţi radicalii liberi formaţi în rezultatul diverselor procese metabolice. Ca urmare, se iniţiază un mecanism în lanţ, care este însoţit de apariţia şi dezvoltarea unui şir de maladii, precum şi de îmbătrânirea organismului. Respectiv, una din direcţiile prioritare ale chimiei aplicative moderne reprezintă sinteza noilor compuşi, care inhibă sau încetinesc esenţial procesele de oxidare ale moleculelor organice în organismul uman. Substanţele capabile să transforme radicalii liberi într-o formă inactivă sunt numite antioxidanţi. Cel mai des, în calitate de antioxidanţi, în practica medicinală se utilizează extracte din produse naturale (ceai, sucuri din fructe şi legume), care conţin vitaminele E şi C sau aşa polifenoli ca rutina, catechina, quercetina, citrina etc. Cantităţile de antoxidanţi în aceste produse naturale sunt limitate, și, respectiv, eficacitatea lor este mică. În calitate de etalon pentru determinarea activităţii antioxidante a produselor naturale şi sintetice în analiza biochimică se utilizează *Troloxul* (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxilic) cu formula:



care reprezintă analogul vitaminelor E şi C.

Exemplu al utilizării compușilor sintetizați în calitate de antioxidanți. Pentru determinarea activităţii antioxidante s-a folosit metoda spectrofotometrică, în care la soluţiile ce conţin radicali liberi coloraţi specific (radicalul cation $ABTS^{\bullet+}$ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolină-6-sulfonat) se adaugă substanța cercetată în diferite concentraţii şi se determină absorbanţa. Astfel se măsoară capacitatea substanţei de a interacţiona cu radicalii $ABTS^{\bullet+}$. Radicalul $ABTS^{\bullet+}$ necesar pentru experiment a fost format prin reacţia între soluţia de ABTS de 7 mM cu soluţia de persulfat de potasiu 140 mM, incubate la 25°C la întuneric timp de 12-16 ore. Soluţia apoasă $ABTS^{\bullet+}$ formată a fost diluată cu soluţie tampon de acetat salin (0,02 M, pH 6,5). Au fost preparate diluţii de substanţe cercetate în DMSO. După aceasta, 20 µL din fiecare diluţie a substanţei experimentale au fost transferate într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri şi 180 µL de soluţie de lucru $ABTS^{\bullet+}$ a fost adaugată cu modulul de distribuire a cititorului hibrid (Synergy H1, Biotek). Acest amestec se agită 15 s. Schimbarea absorbanţei a fost măsurată la lungimea de undă de 734 nm după 30 de minute de incubare la 25°C. Experimentul a fost efectuat în 3 repetari. DMSO a fost utilizat ca martor. *Troloxul* (soluţie metanolică de 2 mM) a fost utilizat ca referinţă în concentraţii de diluţie variind de la 0,1 până la 100 µM.

Partea de radicali $ABTS^{\bullet+}$ inhibați a fost calculată după formula:

$[(A_0-A_1) / A_0] \times 100$,

unde A_0 - absorbanţa controlului, iar A_1- absorbanţa probei.

Datele experimentale obţinute privind studiul proprietăţilor antioxidative ale compușilor sintetizați sunt prezentate în Tabelul 3, din care se observă, că în intervalul de concentrații

10^{-5} - 10^{-7} M compușii sintetizați posedă concentrația de inhibare semimaximală IC_{50} cuprinsă între 1,45 - ≥ 100 μmol/L. Pentru comparație, în tabelul 3 sunt prezentate caracteristicile antioxidative ale *Troloxului* utilizat în analiza biochimică în calitate de etalon la studierea proprietăților antioxidative. Din tabel se observă, că proprietățile antioxidative ale compușilor coordinativi studiați depind de natura tiosemicarbazonei și a sulfanilamidelor: în toate cazurile compușii obținuți în baza ciclohexiltiosemicarbazonei aldehidei salicilice H_2L^1 manifestă activitate antioxidativă mai înaltă decât complecșii în baza hexiltiosemicarbazonei aldehidei salicilice (H_2L^2). Proprietățile antioxidative depind și de natura sulfanilamidelor din sfera internă a compusului coordinativ și se schimbă conform șirului: **$Sf^1 > Sf^3 > SF^6 > Sf^2 > Sf^4 > Sf^5$.**

Atrage atenția activitatea compusului coordinativ $Cu(Sf^1)L^1 \square 2H_2O$, care conține 4-ciclohexiltiosemicarbazona aldehidei salicilice și streptocida. Acest complex posedă o activitate de 10 ori mai înaltă decât activitatea *Troloxului* utilizat în medicină. Activitate mai bună decât *Troloxul* manifestă și compușii $Cu(Sf^3)L^1 \square H_2O$ și $Cu(Sf^6)L^1 \square H_2O$, iar în cazul compusului $Cu(Sfc)L^1 \square 4H_2O$, activitatea este ca nivelul etalonului. Compușii cu activitate antioxidativă înaltă prezintă interes practic, din punctul de vedere al extinderii arsenalului de antioxidanți sintetici efectivi.

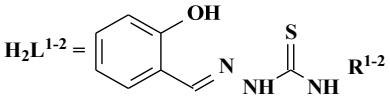
Tabelul 3. Activitatea de captare a radicalilor ABTS·+

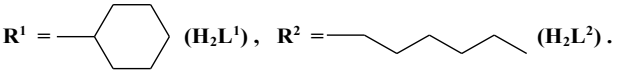
#	Formula	C, μM	(ABTS) % inh	SD	IC_{50}, μM	SD
1	Trolox				15,6	0,4
2	4-ciclohexiltiosemicarbazona aldehidei salicilice (H_2L^1)	100	75,38	0,33	5,90	0,20
		10	63,04	0,31		
		1	25,29	0,69		
3	Streptocida (Sf^1)	100	12,17	0,26	≥100	
		10	6,08	0,29		
		1	5,71	0,19		
4	$Cu(Sf^1)L^1 \square 2H_2O$	100	92,88	0,13	1,45	0,04
		10	90,29	0,26		
		1	39,79	0,71		
5	Etazol (Sf^4)	100	9,58	0,07	≥100	
		10	11,58	0,72		
		1	12,00	0,33		
6	$Cu(Sf^4)L^1 \square 3H_2O$	100	54,71	0,75	68,02	4,14
		10	27,13	0,94		
		1	5,25	0,13		
7	Sulfadimezina (Sf^6)	100	11,42	0,47	≥100	
		10	6,54	0,14		
		1	5,46	0,19		
8	$Cu(Sf^6)L^1 \square H_2O$	100	71,46	0,26	11,01	0,44
		10	57,33	0,88		
		1	13,63	0,76		
9	Sulfacil (Sf^2)	100	10,33	0,31	≥100	
		10	7,04	0,14		
		1	4,00	0,25		
10	$Cu(Sf^2)L^1 \square 4H_2O$	100	78,29	0,63	15,92	0,85
		10	44,00	0,90		
		1	6,83	0,51		
11	Norsulfazol (Sf^3)	100	40,13	0,63	≥100	
		10	19,42	0,19		

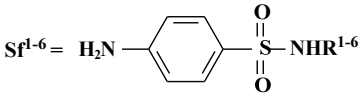
		1	13,50	0,00		
12	$Cu(Sf^5)L^1 \square H_2O$	100	74,38	0,57	9,13	0,63
		10	60,83	1,08		
		1	11,83	0,89		
13	Sulfazina (Sf^5)	100	16,71	0,07	≥100	
		10	17,25	0,12		
		1	16,04	0,14		
14	$Cu(Sf^5)L^1 \square 5H_2O$	100	5,88	0,33	≥100	
		10	10,88	0,50		
		1	8,29	0,75		
15	4-hexiltiosemicarbazona aldehidei salicilice (H_2L^2)	100	99,04	0,92	2,22	0,08
		10	84,83	0,44		
		1	28,63	0,82		
16	$Cu(Sf^1)L^2 \square 2H_2O$	100	24,33	0,69	≥100	
		10	13,88	0,66		
		1	5,79	0,38		
19	$Cu(Sf^5)L^2 \square H_2O$	100	39,04	0,44	≥100	
		10	18,25	0,57		
		1	8,54	0,26		

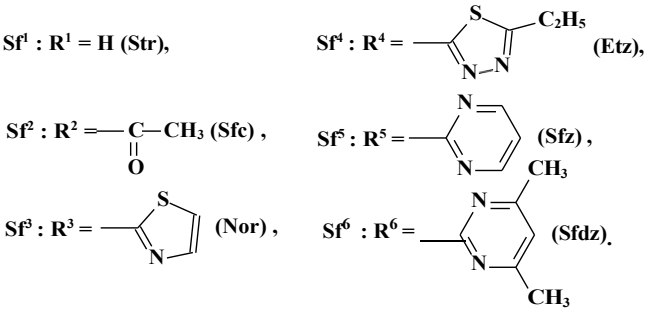
Concluzii

1. Au fost sintetizați 11 compuși coordinativi ai cuprului(II) care conțin 4-ciclohexil- (H_2L^1) sau 4-hexil- (H_2L^2) tiosemicarbazona aldehidei salicilice și așa sulfanilamide (Sf^{1-6}) ca streptocida (Sf^1), sulfacilul (Sf^2), norsulfazolul (Sf^3), etazolul (Sf^4), sulfadiazina (Sf^5) și sulfadimezina (Sf^6), pentru care în baza datelor analizei elementale a fost stabilită compoziția $Cu(Sf^{1-6})L^{1-2} \cdot nH_2O$, unde: n = 1-5:









2. Conform datelor cercetării magnetochimice, compușii sintetizați au structura monomerică (μ_{ef} = 1,73 - 1,90 MB).

3. Tiosemicarbazonele H_2L^{1-2} în componența complecșilor se comportă ca liganzi tridentați dublu deprotonizați, coordinând la atomul central prin oxigenul fenolic, azotul azometinic și atomul de sulf în forma tiolică, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. Sulfanilamidele Sf^{1-6} în complecșii investigați se comportă ca liganzi monodentați.

4. În intervalul de concentrații 10^{-5} - 10^{-7} M compușii coordinativi investigați manifestă activitate antioxidantă cu concentrația de inhibare semimaximală (IC_{50}) cuprinsă între 1,45 - >100 μM. Asupra IC_{50} influențează natura liganzilor din sfera internă a complexului și pentru compușii cu compoziție asemănătoare se modifică conform următorului șir: $H_2L^1 > H_2L^2$; $Sf^1 > Sf^3 > Sf^6 > Sf^2 > Sf^4 > Sf^5$.

Notă

Lucrarea dată a fost efectuată în cadrul Proiectului Sinteza și studiul materialelor noi în baza combinațiilor complexe cu liganzi polifuncționali și cu proprietăți utile în medicină, biologie și tehnică (SSMCCLP) (cod: 010602).

Referințe:

1. Garbuz, O., Gudumac, V., Toderaș, I., Gulea, A. *Antioxidant properties of synthetic compounds and natural products. Action mechanisms*. Chișinău: CEP USM, 2023, 298 p.
2. Graur, V., Gulea, A. *Novel biological agents based on metal complexes of N4-allylthiosemicarbazones and their derivatives*. Chișinău: CEP USM, 2024, 275 p.
3. Garbuz, O., Toderaș, I., Gulea, A. *Biological properties of some synthetic and natural compounds. Correlation of anticancer and antioxidant activities*. Chișinău: Tipografia Centrală, 2024, 271 p.
4. Gulea, A., Prisacari, V., Țapcov, V., Buraciova, S., Spînu, S., Bejenari, N. Naftalidentiosemicarbazidaţii de cupru(II) care conţin sulfanilamide. Brevet de invenţie MD 3032 F1, 2005. *BOPI*, 2006, (4), 33–34.
5. Gulea, A. P., Spynu, S. N., Tsapkov, V. I., Poirier, D., Roy, J. Sulfanilamide-containing Coordination Compounds of Cu(II) with Isatin and N-Methylisatin Thiosemicarbazones. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2006, 76(9), 1458–1463. DOI: 10.1134/S1070363206090179.
6. Prisacari, V., Gulea, A., Țapcov, V., Buraciova, S., Spînu, S., Bejenari, N. Salicilidentiosemicarbazidaţii de cupru(II) care conţin sulfanilamide. Brevet de invenţie MD 3124 B1, 2005. *BOPI*, 2006, (8), 30–31.
7. Gulea, A., Gudumac, V., Garbuz, O., Țapcov, V., Pahonțu, E. M. Utilizarea di(m-S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazidato-(1-)]cupru(II)} în calitate de antioxidant. Brevet de invenţie MD 4469 B1, 2017. *BOPI*, 2017, (3), 27–28.
8. Gulea, A., Istrati, D., Țapcov, V., Garbuz, O., Gudumac, V., Groppa, S. Utilizare a di(M-S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)-cloro-{N-[fenil-2-(piridin-2-ilmetiliden)hidrazin-1-carbotioamido)(1-)]}cupru în calitate de inhibitor al proliferării celulelor cancerigene. Brevet de invenție MD 4620 B1, 2019. *BOPI*, 2019, (2), 48–49.
9. Gulea, A., Țapcov, V., Poirier, D., Lozan, V. Utilizarea di(m-S)-bis{cloro-[N-(fenil)-N'-(piridin-2-il-metiliden)carbamohidrazonotioat][4-amino-N-(1,3-tiazol-2-il)benzensulfonamid]cupru} dihidrat în calitate de inhibitor al activității enzimei 17b-HSD Tipul 1. Brevet de invenție MD 4903 B1, 2024. *BOPI*, 2024, (10), 25–26.

Date despre autori:



Victor ȚAPCOV, doctor în chimie, conferențiar universitar, cercetător științific coordonator, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: vtsapkov@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1732-3116



Olga Garbuz, Dr., Laboratory of Systematics and Molecular Phylogenetics, Institute of Zoology, Moldova State University, 1 Academiei Street, MD-2028 Chisinau, Moldova
e-mail: olga.garbuz@sti.usm.md
ORCID: 0000-0001-8783-892X



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



Aliona COTOVAIA, doctor în chimie, conferențiar universitar, cercetător științific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: cotovaia@gmail.com
ORCID: 0000-00025299-2887



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

CZU: 544.142.3:547.77:615 https://doi.org/10.59295/mabt2026.41

PIRAZOLONELE: DE LA FARMACOLOGIA CLASICĂ LA SISTEME COORDINATIVE CU ACTIVITATE BIOLOGICĂ REMARCABILĂ

Andrei NEGUȚA

Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat.

Lucrarea prezintă o analiză detaliată a clasei pirazolonelor, explorând versatilitatea acestora de la descoperirea istorică a lui Ludwig Knorr (1883) până la aplicațiile contemporane în medicina de precizie și chimia coordinativă. Sunt evaluate proprietățile structurale și tautomeria nucleului heterociclic, evidențiind impactul acestora asupra farmacocineticii unor medicamente de referință precum metamizolul și edaravona. O secțiune centrală este dedicată tranziției de la pirazolonele clasice la 4-acil-5-pirazolone, utilizate ca liganzi în designul unor noi sisteme hibrizi de tip tiosemicarbazonă, care demonstrează că procesul de chelatare a acestor liganzi cu metale de tranziție (Cu,Ni,Co,V) amplifică semnificativ activitatea biologică. Rezultatele experimentale pe linia celulară de leucemie umană HL-60 indică o eficiență remarcabilă a complecșilor de cupru(II), cu valori IC_{50} de până la 0,24 μM, consolidând ipoteza că hibridizarea structurală a pirazolonelor reprezintă o strategie viabilă pentru dezvoltarea unor noi agenți antitumorali și antibacterieni de înaltă performanță.

Cuvinte-cheie: Pirazolone; 4-acil-5-pirazolone; tiosemicarbazone; chimie coordinativă; complecși metalici; activitate antitumorală.

PYRAZOLONES: FROM CLASSICAL PHARMACOLOGY TO COORDINATION SYSTEMS WITH REMARKABLE BIOLOGICAL ACTIVITY

Abstract

This paper presents a detailed analysis of the pyrazolone class, exploring its versatility from Ludwig Knorr's historical discovery in 1883 to contemporary applications in precision medicine and coordination chemistry. The structural properties and tautomerism of the heterocyclic core are evaluated, highlighting their impact on the pharmacokinetics of reference drugs such as metamizole and edaravone. A central section is dedicated to the transition from classical pyrazolones to 4-acyl-5-pyrazolones, utilized as ligands in the design of new thiosemicarbazone-type hybrid systems. These systems demonstrate that the chelation process of these ligands with transition metals (Cu,Ni,Co,V) significantly amplifies biological activity. Experimental results on the HL-60 human leukemia cell line indicate remarkable efficiency for copper(II) complexes, with IC_{50} values as low as 0.24 μM. These findings consolidate the hypothesis that the structural hybridization of pyrazolones represents a viable strategy for the development of high-performance antitumoral and antibacterial agents.

Keywords: Pyrazolones; 4-acyl-5-pyrazolones; thiosemicarbazones; coordination chemistry; metal complexes; antitumor activity.

Introducere

Pirazolonele reprezintă o clasă de compuși heterociclici cu cinci membri, ce se caracterizează prin prezența a doi atomi de azot adiacenți în inel (Fig.1).

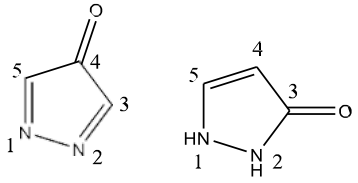


Figura 1. Structura inelului pirazolonic

Din punct de vedere structural, pirazolona este un derivat al pirazolului care posedă o grupare funcțională suplimentară, carbonil (C=O), fiind astfel o lactamă heterociclică. Configurația structurală a nucleului pirazolonic permite existența a trei izomeri de poziție fundamentali: 3-pirazolona, 4-pirazolona și 5-pirazolona. Este important de menționat că, în cazul compușilor nesubstituiți la atomii de azot, 3-pirazolona și 5-pirazolona reprezintă forme tautomerice între care există un echilibru dinamic. Acești izomeri se pot interconverti prin procese de tautomerie lactamă-lactim și imină-enamină (Fig.2). Aceste conversii moleculare sunt adesea asociate cu fenomenul de fotocromism (schimbarea reversibilă a culorii sub influența luminii).

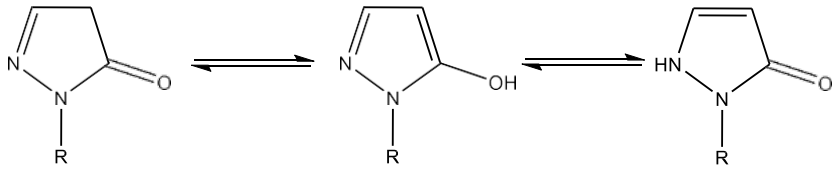


Figura 2. Tautomeria pirazalonelor

În cazul derivaților substituiți, echilibrul poate fi influențat prin factori structurali: de exemplu, forma 3-pirazolonă poate fi stabilizată prin introducerea unor substituenți de tip N-alchil sau N-aril.

Medicamente

Evoluția chimiei pirazolonelor a fost intrinsec legată de ascensiunea industriei chimice germane de la finele secolului al XIX-lea, având ca punct de plecare anul 1883, când Ludwig Knorr [1] a descris primul derivat prin condensarea fenilhidrazinei cu acetoacetatul de etil, numit fenazona (antipirina). Această metodologie, identificată ulterior în 1887 drept „sinteza Knorr", a devenit o referință standard în mediul academic și industrial, declanșând o eră de aur pentru farmacologie. Succesul inițial a fost marcat de lansarea unor agenți analgezici și antipiretici de referință (Fig.3) precum antipirina (1883), aminopirina (1897) și celebrul metamizol (1922), acesta din urmă rămânând și astăzi un pilon global în managementul durerii (Fig.3). Această descoperire nu a reprezentat doar succesul unei noi sinteze organice, ci a deschis calea către dezvoltarea unei întregi familii de substanțe farmacologic active, demonstrând că utilizarea hidrazinelor permite construirea unor catene azotate complexe, capabile de ciclizări regioselective care ar fi fost imposibil de realizat utilizând baze aminice clasice.

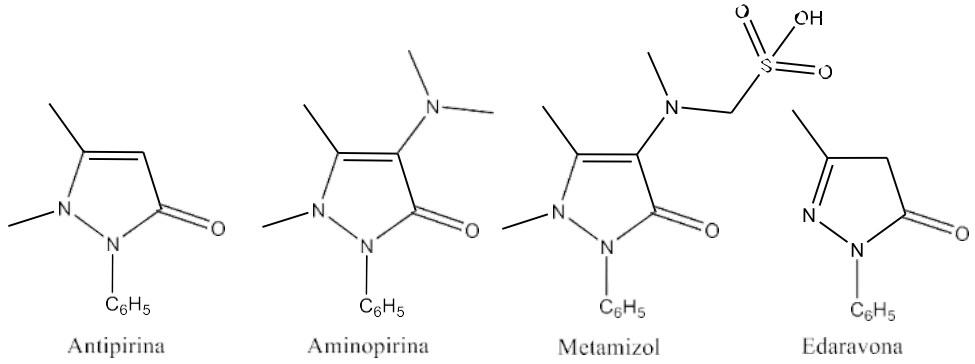


Figura 3. Pirazalone biologic active

Lucrarea lui Knorr rămâne, astfel, pilonul teoretic pe care s-a clădit ulterior chimia analgezicelor moderne, precum antipirina, care este un analgezic și antipiretic, fiind unul dintre

primele medicamente de sinteză utilizate pe scară largă. Deși clasificată retrospectiv ca antiinflamator nesteroidian (AINS), utilizarea sa sistemică a scăzut odată cu apariția aspirinei și a paracetamolului. În medicina modernă, aplicarea sa principală include: terapie topică - utilizată frecvent în picături otice (în combinație cu lidocaina) pentru tratamentul simptomatic al otitelor medii, datorită efectului analgezic rapid; marker metabolic - în farmacologie, este utilizată pentru determinarea activității enzimelor citocromului P450, servind drept indicator al capacității metabolice hepatice; farmacodinamică - acționează prin inhibarea ciclooxigenazei (COX), reducând sinteza de prostaglandine, având un timp de înjumătățire de aproximativ 12 ore.

Aminofenazona (4-dimetilamino-fenazona) (Fig.3), cunoscută sub denumirea comercială Pyramidon, reprezintă un derivat de tip pirazolonă sintetizat la sfârșitul secolului al XIX-lea de către Friedrich Stolz și Ludwig Knorr [2], fiind utilizată decenii la rând ca un agent analgezic și antiinflamator eficient în special în terapia reumatismului. Deși s-a dovedit extrem de eficientă și accesibilă, utilizarea sa a fost sever restricționată sau interzisă în majoritatea statelor dezvoltate începând cu anii '70, din cauza riscului ridicat de inducere a agranulocitozei fatale, fiind înlocuită treptat de propifenazonă; totuși, molecula rămâne un instrument valoros în diagnosticul medical modern, fiind utilizată sub formă marcată (^{13}C) în testele respiratorii pentru evaluarea funcției metabolice a citocromului P450 sau pentru determinarea volumului total de apă din organism.

Metamizolul ([(2,3-dimetil-5-oxo-1-fenil-3-pirazolin-4-il)metilamino]metansulfonat de sodiu) (Fig.3) cunoscut în nomenclatura internațională și sub numele de dipironă reprezintă cel mai eficient derivat din clasa pirazolonelor cu utilizare clinică extinsă. Sintetizat în 1920 de către Ludwig Knorr și introdus în terapeutică de compania Hoechst sub denumirea de Novalgin, acesta rămâne un subiect de dezbatere intensă în farmacovigilența globală, fiind privit diferit în funcție de regiunea geografică. Din punct de vedere etimologic și comercial, se observă o dihotomie geografică interesantă: în spațiul vestic (Europa Centrală, America Latină), compusul a fost consacrat sub branduri precum *Novalgin* sau *Dipirona*, fiind adesea supranumit informal „aspirina mexicană" în anumite regiuni americane, în timp ce în blocul estic (fostele state sovietice, India, China), s-a impus sub denumirea trivială de Analgin, devenind cel mai utilizat analgezic non-opioid din aceste jurisdicții [3]. Activitatea sa farmacologică este marcată de un profil multimodal, depășind simpla inhibare a ciclooxigenazei. Deși istoric a fost clasificat ca un antiinflamator nesteroidian (AINS), metamizolul posedă o activitate antiinflamatorie periferică slabă, dar un efect analgezic și antipiretic central potent. Mecanismul de acțiune implică inhibarea selectivă a COX-3 la nivel cerebral, interacțiunea cu sistemul canabinoid prin receptorii CB1 și, crucial, un efect spasmolitic marcat. Acesta din urmă se datorează inhibării eliberării de Ca^{2+} intracelular, ceea ce îl face medicamentul de elecție în tratamentul colicilor biliare, renale și gastrointestinale, unde AINS-urile clasice sunt adesea ineficiente [3, 4]. În ciuda eficacității sale, statutul legal al metamizolului rămâne polarizat. În timp ce unele țări precum SUA, Marea Britanie și Suedia l-au restricționat din cauza riscului de agranulocitoză, studii epidemiologice extinse desfășurate în Germania și Brazilia au demonstrat că acest risc este extrem de scăzut (<1 caz la un milion de utilizatori), fiind influențat mai degrabă de predispoziția genetică a populației (haplotipurile HLA) decât de toxicitatea intrinsecă a moleculei. Mai mult, metamizolul prezintă un profil de siguranță gastrointestinală și renală net superior aspirinei sau diclofenacului, nefiind asociat cu riscul crescut de sângerări digestive sau nefrotoxicitate la doze terapeutice [4].

Edaravona (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-onă) (Fig.3), cunoscută sub denumirile comerciale Radicava sau Radicut, reprezintă un derivat pirazolonic de o importanță majoră în medicina contemporană, fiind utilizată ca agent neuroprotector în tratamentul accidentului vascular cerebral (AVC) ischemic și al sclerozei laterale amiotrofice (SLA). Sintetizată inițial la sfârșitul anilor '80, edaravona a fost aprobată pentru uz clinic în Japonia (2001) și ulterior de

către FDA în Statele Unite (2017), fiind clasificată drept un medicament „first-in-class” pentru gestionarea patologiilor neurodegenerative [5].

Din punct de vedere chimic, molecula păstrează nucleul de bază al pirazolonei, însă mecanismul său specific de acțiune este atribuit proprietăților sale antioxidante remarcabile. Edaravona acționează ca un agent de neutralizare al radicalilor liberi, reducând stresul oxidativ și prevenind peroxidarea lipidică, procese fundamentale în distrugerea neuronală și în leziunile de reperfuzie. Deși mecanismul său unic de eficacitate rămâne parțial elucidat, capacitatea sa de a suprima daunele oxidative o recomandă ca un model structural valoros pentru designul de noi liganzi organici cu potențial biologic [6]. Evoluția farmacologică a edaravonei a dus la diversificarea formelor de administrare, de la perfuzia intravenoasă la formulări orale moderne. Totuși, aplicabilitatea sa clinică rămâne un subiect de monitorizare riguroasă, meta-analizele recente indicând necesitatea unor studii suplimentare pentru a confirma reproducerea efectelor terapeutice în populații eterogene. De asemenea, au fost dezvoltate formulări combinate, precum edaravonă/dexborneol, care demonstrează un efect sinergic superior în tratamentul AVC ischemic. În contextul cercetării actuale, versatilitatea acestui derivat pirazolonic este explorată nu doar în neuroprotecție, ci și în potențiale terapii oncologice (cum ar fi glioblastomul), subliniind polivalența terapeutică a acestui schelet heterociclic [5, 7].

Pe lângă compușii enumerați, clasa pirazolonelor cuprinde o familie extinsă de substanțe cu structuri derivate, care au servit drept agenți terapeutici sau intermediari cheie în sinteza medicamentelor, multe dintre ele păstrându-și relevanța în cercetarea chimico-farmaceutică actuală. Printre aceștia se numără Propifenazona (4-izopropil-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-onă), utilizată pe scară largă ca succesor mai sigur al aminofenazonei în tratamentul cefaleei și stărilor febrile, și Fenilbutazona (4-butil-1,2-difenilpirazolidin-3,5-dionă), un antiinflamator potent utilizat în prezent preponderent în medicina veterinară pentru afecțiuni osteoarticulare. În aceeași sferă a antiinflamatoarelor se regăsesc Oxifenbutazona (analogul hidroxilat al fenilbutazonei) și Feprazona (4-(3-metilbut-2-enil)-1,2-difenilpirazolidin-3,5-dionă), substanțe cu activitate analgezică marcată, dar cu utilizare restricționată din cauza riscurilor hematologice. O importanță deosebită în chimia analitică și clinică o are Ampirona (4-amino-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-onă), folosită ca reactiv pentru determinarea activității enzimatice și ca precursor în sinteza altor liganzi. Alți derivați precum Azapropazona (3-dimetilamino-7-metil-1,2-(propilmalonil)-1,2-dihidro-1,2,4-benzotriazină) și Sulfinpirazona (1,2-difenil-4-[2-(fenilsulfinil)etil]pirazolidin-3,5-dionă) au fost dezvoltați pentru proprietăți specifice, cea din urmă fiind utilizată istoric ca agent uricozuric în tratamentul gutei. Familia este completată de compuși cu utilizări de nișă sau hibrizi moleculari precum Clofezona (un amestec echimolar de clofebuzonă și fenilbutazonă), Difenamizolul (1,3-difenil-2-metil-4-dimetilaminopirazolin-5-onă) - utilizat pentru proprietățile sale analgezice - și Famprofazona (un promedicament care eliberează metamfetamină și un derivat pirazolonic), subliniind multifuncționalitate structurală enormă a nucleului pirazolonic în obținerea de molecule cu activitate biologică diversă, de la antipiretice clasice la agenți antispastici și antiagreganți.

Coloranți și Pigmenți

Nucleul pirazolonic joacă un rol esențial nu doar în farmacologie, ci și în industria chimică a coloranților, fiind un precursor fundamental pentru obținerea unei subfamilii importante de coloranți azoici, cunoscuți sub denumirea de azopirazolone. Acești compuși rezultă din combinarea grupărilor pirazolonice cu grupări azo, generând o paletă cromatică stabilă și intensă, utilizată pe scară industrială.

Printre cei mai întâlniți reprezentanți ai acestei clase se enumără Tartrazina (Acid Yellow 23), un colorant galben de referință utilizat pe scară largă, alături de alți compuși precum Orange B, Mordant Red 19 și Yellow 2G. Relevanța lor economică și tehnică este demonstrată de volumul masiv de producție, substanțe precum Acid Yellow 17 și Pigment Red 38 fiind

sintetizate anual la o scară de mii de tone [11]. Această utilizare extensivă subliniază stabilitatea chimică remarcabilă a scheletului pirazolonic și capacitatea sa de a funcționa ca un cromofor versatil în sinteza pigmenților și coloranților industriali. Pe lângă utilizarea în medicină, unele dihidropirazolone sunt utilizate în industrie ca pigmenți, cum ar fi Pigmentul Yellow 10, un derivat de dihidropirazolonă al 2,5-dicloranilinei, este utilizat în SUA pentru marcajele rutiere.

Liganzi

În analiza evoluției liganzilor polidentați cu arhitectură pirazalonică, lucrarea de sinteză semnată de Marchetti și col. [12] constituie un reper fundamental în chimia 4-acil-5-pirazolonelor. Autorii sistematizează proprietățile unei clase de compuși care, deși structural înrudiți cu β-diketonele clasice, prezintă avantaje nete datorate acidității mai pronunțate (valori pKa mai scăzute) și versatilității conferite de nucleul heterociclic. Acest studiu subliniază importanța metodologiei introduse de Jensen, care rămâne calea principală de obținere a acestor liganzi prin acilarea 1-fenil-3-metil-5-pirazolonei cu cloruri de acil în prezența calciului sau a altor baze, în mediu de dioxan, pentru a obține anionul 4-acilpirazolonat, capabil de o deprotonare facilă pentru a permite coordonarea metalică. În stare solidă și în soluție, 4-acil-5-pirazolonele pot exista în mai multe forme: ceto-ceto, ceto-enol și enol-enol. Această dinamică structurală dictează comportamentul lor de liganzi bidentați O,O-donatori. În prezența centrilor metalici, aceștia formează chelați stabili, ceea ce le conferă o aciditate mai pronunțată și o capacitate de chelatare superioară în comparație cu β-dicetonele clasice. Pirazolonele pot satisface necesitățile de coordinare ale unei game vaste de elemente, de la metalele alcaline până la lantanide și actinide. Acești liganzi modulează permeabilitatea celulară, conferind complecșilor de staniu și cupru o activitate biologică cu potențial antibacterian și antifungic.

Capacitatea 4-acil-5-pirazolonelor de a prezenta un echilibru tautomeric complex (keto-enol), a fost explorată de către Gulea A. și col. [9,10] unde 4-benzoil-5-pirazolona a fost condensată cu diferite tiosemicarbazide pentru a obține noi tiosemicarbazone cu inel pirazalonic. În cadrul eforturilor a fost studiată capacitatea de chelatare și profilul biologic al derivaților de pirazolonă. O atenție deosebită a fost acordată sintezei și caracterizării unui nou ligand de tip tiosemicarbazonă, identificat ca 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirazolonă 4-etil-tiosemicarbazonă (HL), și a complecșilor metalici rezultați prin interacțiunea acestuia cu ioni de Cu(II), V(V) și Ni(II).

Designul molecular al liganzilor (Fig.4) a urmărit obținerea unei structuri tridentate, capabile să stabilizeze centrii metalici prin intermediul atomilor de azot, sulf și oxigen. Analiza structurală prin difracție de raze X pe monocristal a confirmat versatilitatea acestui sistem, evidențiind formarea unor unități moleculare cu geometrii variate, de la plan-pătrată la piramidă pătrată distorsionată. Printre entitățile chimice sintetizate, se remarcă seriile de complecși de cupru(II), cu formula generală: $[Cu(L)(Cl)]\cdot C_2H_5OH$, $[Cu(L)_2]\cdot H_2O$, $[Cu(L)(NO_3)]\cdot 2C_2H_5OH$. Din perspectivă teoretică, cercetarea subliniază că procesul de chelatare induce o modificare substanțială a densității electronice la nivelul ligandului, fapt ce mărește semnificativ interacțiunea cu membranele biologice și țintele intracelulare. Evaluarea *in vitro* a demonstrat o superioritate netă a complecșilor metalici față de ligandul liber. În mod particular, complecșii de Cupru(II) au manifestat o activitate antibacteriană remarcabilă, depășind de până la 25 de ori eficacitatea furacilinei împotriva tulpinii *Salmonella abony*.

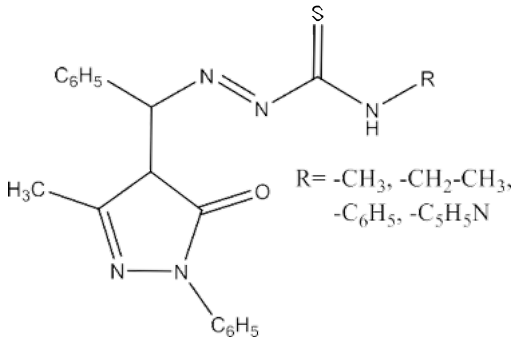


Figura 4. Structura liganzilor hibrizi

Efectul antibacterian s-a dovedit a fi dependent de natura anionului coordinat și de geometria sferei de coordinare, complecșii de tip $[Cu(L)(NO_3)]\cdot 2C_2H_5OH$ prezentând cele mai scăzute concentrații minime inhibitorii (CMI) față de bacteriile Gram-pozitive (*S. aureus* și *B. cereus*).

Dincolo de proprietățile antimicrobiene, studiul fundamentează potențialul antileucemic al acestor compuși. Investigarea citotoxicității pe linia celulară de leucemie umană HL-60 a revelat un pronunțat efect antiproliferativ. Acesta este atribuit capacității centrilor metalici de a modula procesele redox celulare și de a inhiba sinteza ADN-ului, consolidând astfel ipoteza că tiosemicarbazonele derivate de la pirazolonă reprezintă o clasă strategică de compuși în chimia farmaceutică modernă. Coordinarea metalică nu acționează doar ca un simplu suport structural, ci ca un catalizator al activității biologice, transformând un ligand organic într-un agent terapeutic multifuncțional.

În continuitatea cercetărilor orientate spre identificarea unor noi agenți terapeutici cu potențial antiproliferativ, studiile întreprinse de Gulea A. și col [10]. au adus contribuții semnificative în domeniul chimiei coordinative a derivaților de 4-benzoil-5-pirazolonă. Aceasta a vizat obținerea unor sisteme tridentate prin condensarea 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirazolonei cu diverse tiosemicarbazide substituite la azotul terminal (N4), unde substituenții R includ grupări metil (CH_3), fenil (C_6H_5) și piridinil (C_5H_4N). Acești liganzi au fost ulterior utilizați pentru a obține chelați noi de Cu(II), Ni(II), Co(II) și altele, rezultând un set de unsprezece complecși metalici noi.

Din punct de vedere structural, cercetarea evidențiază o diversitate impresionantă a geometriilor de coordinare, elucidate prin difracție de raze X pe monocristal, care definesc o serie de entități chimice reprezentative. În cadrul complecșilor de cupru(II), studiul a identificat structuri precum $[Cu(L_1)(Cl)]\cdot C_2H_5OH$, caracterizată printr-o geometrie plan-pătrată distorsionată, și $[Cu(L_2)(NO_3)]$, care prezintă o configurație de piramidă pătrată distorsionată. Această versatilitate se extinde și asupra complecșilor de nichel(II), unde structurile de tipul $[Ni(L_1)_2]\cdot 2DMF$ demonstrează o coordinare octaedrică ușor distorsionată prin intermediul unui set de donatori $O_2N_2S_2$, rezultat din participarea a două molecule de ligand deprotonat. În final, sinteza complexului de cobalt(II) $[Co(L_1)(Cl)(H_2O)_2]$ confirmă capacitatea remarcabilă a ligandului de a se adapta flexibil la cerințele specifice ale diferitelor sfere de coordonare metalice. Studiul proprietăților biologice a revelat faptul că procesul de complexare cu ioni metalici de tranziție amplifică substanțial activitatea inițială a liganzilor organici. Evaluarea activității antiproliferative *in vitro* pe linia celulară de leucemie umană HL-60 a evidențiat rezultate remarcabile pentru complecșii de cupru. În mod specific, complecșii ($[Cu(L_1)_2]$) și ($[Cu(L_2)_2]$) au prezentat valori deosebit de scăzute ale concentrației inhibitorii medii, cu IC_{50} de 0,24 μM și respectiv 0,36 μM.

Aceste date confirmă ipoteza conform căreia utilizarea tiosemicarbazonelor derivate de la pirazolonă ca agenți de chelatare reprezintă o strategie eficientă pentru dezvoltarea unor compuși metalici cu activitate antitumorală sporită. Studiul fundamentează importanța relației structură-activitate, demonstrând că natura centrului metalic și a substituenților de pe fragmentul tiosemicarbazonic modulează în mod direct eficacitatea biologică a acestor sisteme complexe.

Rezultatele studiului dat conduc la următoarele **concluzii** principale:

- utilizarea liganzilor derivați de la pirazolonă reprezintă o strategie eficientă în dezvoltarea de noi compuși antitumorali.
- eficacitatea biologică a compușior complecși este determinată de sinergia dintre centrul metalic și fragmentul organic.
- relația structură-activitate constituie pilonul central în optimizarea proprietăților terapeutice ale acestor compuși.

Referințe:

1. KNORR, L. Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin. (I. Mittheilung). In: *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 1883, vol. 16, nr. 2, pp. 2597-2599. DOI: https://doi.org/10.1002/cber.188301602194
2. SNEADER, W. *Drug Discovery: A History*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. 468 p. ISBN: 978-0-471-89980-8.
3. JASIECKA, A., MAŚLANKA, T., JAROSZEWSKI, J. J. Pharmacological characteristics of metamizole. In: *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2014, vol. 17, nr. 1, pp. 207-214. DOI: https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0030
4. SCHUG, S. A., MANOPAS, A. Update on the role of non-opioids for postoperative pain treatment. In: *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 2007, vol. 21, nr. 1, pp. 15-30. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bpa.2006.12.002
5. KÖTTER, T., DA COSTA, B. R., FÄSSLER, M., BLOZIK, E., LINDE, K., JÜNI, P., REICHENBACH, S., SCHERER, M. Metamizole-Associated Adverse Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: PLOS ONE 2015, vol. 10, nr. 4, e0122918. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122918
6. AL-CHALABI, A., ANDERSEN, P. M., CHANDRAN, S., CHIÓ, A., CORCIA, P., COURATIER, P., DANIELSSON, O., et al. July 2017 ENCALS statement on edaravone. In: *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2017, vol. 18, nr. 7-8, pp. 1-4. DOI: https://doi.org/10.1080/21678421.2017.1369125
7. KAWAI, H., NAKAI, H., SUGA, M., YUKI, S., WATANABE, T., SAITO, K.-I. Effects of a Novel Free Radical Scavenger, MCI-186, on Ischemic Brain Damage in the Rat Distal Middle Cerebral Artery Occlusion Model. In: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1997, vol. 281, nr. 2, pp. 921-927. DOI: https://doi.org/10.1016/S0022-3565(24)36676-5
8. BAILLY, C., HECQUET, P.-E., KOUACH, M., THURU, X., GOOSSENS, J.-F. Chemical reactivity and uses of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP), also known as edaravone. In: Bioorganic & Medicinal Chemistry 2020, vol. 28, nr. 10, pp. 115463. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115463
9. PAHONTU, E., JULEA, F., ROSU, T., PURCAREA, V., CHUMAKOV, Y., PETRENCO, P., GULEA, A. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. In: Journal of Cellular and Molecular Medicine 2015, vol. 19, nr. 4, pp. 865-878. DOI: https://doi.org/10.1111/jcmm.12508
10. PAHONȚU, E., JULEA, F., CHUMAKOV, Y., PETRENCO, P., ROȘU, T., GULEA, A. Synthesis, characterization, crystal structure and antiproliferative activity studies of Cu(II), Ni(II) and Co(II) complexes with 4-benzoyl-5-pyrazolones derived compounds. In: Journal of Organometallic Chemistry 2017, vol. 836-837, pp. 44-59. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.01.018
11. KORNIS, G. I. Pyrazoles, Pyrazolines, and Pyrazolones. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000. DOI: https://doi.org/10.1002/0471238961.1625180111151814.a01

12. MARCHETTI, F., PETTINARI, C., PETTINARI, R. Acylpyrazolone ligands: Synthesis, structures, metal coordination chemistry and applications. In: *Coordination Chemistry Reviews,* 2005, vol. 249, nr. 24, pp. 2909-2945. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.03.013

Date despre autori:

Andrei NEGUȚA, cercetător științific, Institutul de Chimie, USM
e-mail: andrei.negutza@gmail.com
ORCID: 0000-0001-9801-0765

CZU: 582.998.4:615.322:577.152.1:612.111 https://doi.org/10.59295/mabt2026.42

EFFECTS OF *TARAXACUM OFFICINALE* ON OXIDATIVE STRESS MARKERS IN HUMAN ERYTHROCYTES

Ala FULGA

Departamentul de Chimie, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova, str. Alexei Mateevici 60, MD-2009, Chișinău, Republica Moldova

Abstract

Oxidative stress (OS), caused by an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defenses, is implicated in aging and the pathogenesis of cardiovascular, neurodegenerative, and neoplastic diseases. One of the key enzymatic defenses against oxidative damage is catalase (CAT), which decomposes hydrogen peroxide into water and oxygen, thus protecting cells from oxidative injury. Red blood cells (RBCs) / erythrocytes, due to their high oxygen exposure and hemoglobin content, are particularly vulnerable to oxidative stress. Natural antioxidants derived from plants have attracted significant attention for their potential to mitigate oxidative stress and enhance cellular antioxidant defenses. *Taraxacum officinale* (TO), commonly known as *dandelion*, has been widely used in traditional medicine for its anti-inflammatory, hepatoprotective, and antioxidant properties.

The chemical composition of TO varies by plant part: roots are rich in phenolic compounds, terpenes, sesquiterpene lactones, fructans, and inulin, while leaves contain flavonoids, phenolic acids, coumarins, and vitamins, particularly vitamin A. Previous studies indicate that the antioxidant activity of TO depends on multiple factors: including the plant part, extraction solvent, and extraction duration. Despite its well-documented antioxidant properties, the effects of TO extracts on RBC antioxidant enzymes, especially catalase, remain underexplored. Investigating these effects could provide insights into its therapeutic potential for oxidative stress-related disorders. The present study aimed to evaluate and compare the effects of alcoholic extracts from TO roots and leaves on catalase activity in human erythrocytes, contributing to a better understanding of its cellular antioxidant mechanisms.

Keywords: Taraxacum officinale (TO) roots and leaves, oxidative stress (OS), reactive oxygen species (ROS), Catalase (CAT) activity, erythrocytes (RBCs).

EFECTELE *TARAXACUM OFFICINALE* ASUPRA MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV ÎN ERITROCITELE UMANE

Rezumat

Stresul oxidativ (SO), rezultat al dezechilibrului dintre speciile reactive de oxigen (SRO) și mecanismele antioxidante ale organismului, se află în centrul multor procese de îmbătrânire și contribuie semnificativ la apariția bolilor cardiovasculare, neurodegenerative și neoplazice. Catalaza (CAT), una dintre principalele enzime protectoare împotriva efectelor oxidative, transformă peroxidul de hidrogen în apă și oxigen, protejând astfel celulele de daunele ireversibile provocate de acești compuși reactivi.

Eritrocitele sunt expuse constant stresului oxidativ datorită conținutului ridicat de hemoglobină și rolului lor în transportul oxigenului, ceea ce le face vulnerabile, în ciuda existenței unor mecanisme antioxidante de protecție. În acest context, antioxidanții naturali, extrași din plante, reprezintă aliați valoroși, capabili să atenueze efectele SRO și să susțină echilibrul antioxidant al celulelor. *Taraxacum officinale* (TO), cunoscută sub numele popular de *păpădie*, se distinge printr-o tradiție îndelungată în medicina populară, fiind apreciată pentru proprietățile sale antiinflamatorii, hepatoprotectoare și antioxidante.

Compoziția chimică a TO este impresionant de diversă și variază în funcție de partea plantei. Rădăcinile abundă în compuși fenolici, terpeni, lactone sesquiterpenice, fructani și inulină, în timp ce frunzele sunt bogate în flavonoide, acizi fenolici, cumarine și vitamine, cu un conținut deosebit de vitamina A. Studiile anterioare arată că potențialul antioxidant al plantei depinde nu doar de partea utilizată, ci și de solventul ales și de durata procesului de extracție. În ciuda multitudinii de dovezi care îi susțin activitatea

antioxidantă, efectele extractelor de TO asupra enzimelor antioxidante din eritrocite, și în mod special asupra catalazei, rămân insuficient explorate. Studiul de față își propune să aducă lumină asupra acestor mecanisme, evaluând și comparând efectele extractelor alcoolice obținute din rădăcinile și frunzele TO asupra activității catalazei în eritrocitele umane. Prin această abordare, ne dorim să evidențiem rolul său protector la nivel celular și potențialul terapeutic în condițiile asociate SO.

Studiul de față a avut drept scop evaluarea și compararea efectelor extractelor alcoolice obținute din rădăcinile și frunzele de TO asupra activității catalazei în eritrocitele umane, contribuind astfel la o mai bună înțelegere a mecanismelor sale antioxidante la nivel celular.

Cuvinte-cheie: Taraxacum officinale (TO) rădăcini și frunze, stres oxidativ (SO), speciile reactive de oxigen (SRO), Catalaza (CAT), eritrocite.

Introduction

Reactive oxygen species (ROS) are naturally produced as byproducts of cellular metabolism and play a dual role in physiology and pathology. Molecules containing unpaired electrons, known as free radicals (FR), exhibit high reactivity and can damage cellular components. Among ROS, the superoxide anion (O_2^-), hydroxyl radical (•OH), and hydrogen peroxide (H_2O_2) are of particular physiological significance [1,2].

Hydrogen peroxide, although generated during normal metabolic processes, can be harmful at elevated levels. It is produced by enzymes such as xanthine oxidase, amino acid oxidase, and NAD(P)H oxidase, as well as during oxygen metabolism in peroxisomes [3,4]. In the presence of transition metals like Fe^{2+} or Cu^{2+}, H_2O_2 can undergo the Fenton and Haber–Weiss reactions, forming highly reactive hydroxyl radicals [5] (fig.1).

1. Oxygen transport by hemoglobin → ROS production
O_2 → partially reduced → superoxide ($O_2^{\bullet-}$) and H_2O_2
2. Iron from hemoglobin
$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$ (**Fenton reaction**)
3. Haber–Weiss cycle
$O_2^{\bullet-}$ reduces $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$
Fe^{2+} reacts again with H_2O_2 → more •OH (**the Fenton and Haber–Weiss reactions)**

Figure 1. Fenton and Haber–Weiss reactions

This molecule diffuses easily across membranes, and its redox activity depends on pH: acting as a strong oxidizer in acidic conditions and a reducing agent in basic environments. Excess H_2O_2 contributes to OS, leading to damage of proteins, lipids, and DNA [3].

To protect against oxidative damage, cells have evolved enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses. Glutathione (GSH) reduces H_2O_2 to water and oxygen, while superoxide dismutase converts superoxide anions into H_2O_2 and O_2. Hydrogen peroxide is further detoxified by catalase, a tetrameric heme-containing enzyme predominantly located in peroxisomes [1,6]. Catalase decomposes H_2O_2 into water and oxygen (fig.2) and can oxidize other substrate such as alcohols, phenols, formic acid, and formaldehyde.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{catalase} 2H_2O + O_2$$

Figure 2. Hydrogen peroxide decomposition reaction

The enzyme exhibits optimal activity near pH 7, with minimal changes in reaction rate between pH 6.8 and 7.5 [3,7]. The search for natural compounds capable of enhancing cellular antioxidant defenses has gained increasing interest.

Taraxacum officinale (TO), commonly known as dandelion, has been widely used in traditional medicine and shows promising antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, and antimicrobial properties. TO contain diverse bioactive compounds, including terpene derivatives (taraxerol, taraxasterol, taraxacoside), sterols (β-sitosterol, stigmasterol), rubber, tannins, fatty acids, flavonoids, carotenoids, saponins, and inulin. It is also rich in minerals such as iron, copper, and potassium, as well as vitamins A, C, B1, PP, and D [8,9]. These compounds collectively contribute to its potent antioxidant activity and therapeutic potential. Despite evidence supporting TO antioxidant properties, the effects of its extracts on RBCs antioxidant enzymes, particularly CAT, remain underexplored. Understanding this interaction is important because RBCs are highly exposed to oxidative stress due to their oxygen transport function. The present study aimed to evaluate and compare the effects of alcoholic extracts of TO roots and leaves on CAT activity in human erythrocytes, providing insights into its cellular antioxidant mechanisms.

Extracts from *Taraxacum officinale* (TO) exhibit significant antioxidant activity, largely attributed to their high content of phenolic compounds. However, in plasma systems, the most pronounced protective effects against H_2O_2/Fe-induced oxidation have been observed in enriched fractions containing flavonoids, sesquiterpene lactone (SL) amino acid adducts, and inositol 4-hydroxyphenylacetate esters [10,11].

The complex chemical composition of TO makes it challenging to fully elucidate its mechanisms of action, which remain largely incompletely, understood. Currently, there is no comprehensive data describing how different types of extractants and their concentrations influence the bioactive content of TO, nor are there detailed comparative studies assessing the effects of root versus leaf extracts on catalase activity. Clarifying these aspects is essential for understanding the therapeutic potential of TO as a natural antioxidant and for optimizing its application in medical and nutraceutical contexts.

Materials and Methods

Leaves and roots of *Taraxacum officinale* F. H. Wigg were collected from a natural habitat in the Republic of Moldova in May 2019. The plant material was air-dried under laboratory conditions at room temperature for two weeks. Once dried, the leaves and roots were manually ground into a fine powder. Ethanolic extracts were prepared at five different concentrations: 20%, 25%, 40%, 50%, and 80%. The biomass-to-solvent ratio was 10:1 (mg/ml). Extraction was performed in 100 ml containers at room temperature for 24 hours. The extracts were subsequently filtered using Whatman No. 1 filter paper and stored at 4°C. Aliquots of 1.5 ml were centrifuged (MPW 370, 5 min, 5000 rpm), and the supernatants were used for further assays. Red blood cell (RBC) catalase activity was determined following the method described by [12]. Blood from healthy volunteers *(all participants gave both, oral and written informed consent according to the World Medical Association Helsinki Declaration of Ethical principles for medical research involving human subjects)* was diluted 1:4 (v/v) with Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) and supplemented with gentamicin (100 µg/ml), heparin (2.5 units/ml), and L-glutamine (0.6 mg/ml). For the assay, 0.9 ml of the diluted blood was combined with 0.1 ml of TO ethanol extract in the test wells. Control wells received an equivalent volume of ethanol in isotonic NaCl solution (0.9%). The microplates were incubated for 24 hours at 37°C in a humidified atmosphere containing 3.5% CO_2, followed by centrifugation at 1500 rpm for 5 minutes. The resulting RBC pellet was used to assess catalase activity according to [7]. This method is based on the enzyme's ability to catalyze the decomposition of hydrogen peroxide (H_2O_2) into water and oxygen. In the presence of ammonium tetrathiomolybdate, H_2O_2 forms a yellow complex, which loses color as H_2O_2 is cleaved. The degree of color loss, measured spectrophotometrically at 410 nm, corresponds to catalase activity. For control samples, distilled

water replaced H_2O_2. Catalase activity was expressed as µM/g hemoglobin (Hb). All experiments were conducted in triplicate using 24-well microplates.

Statistical Analysis and Ethics

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 8.0. Data are presented as mean ± standard deviation (M±SD). The percentage difference between experimental groups and controls was calculated. Comparisons between groups (control *vs*. experimental and leaves *vs*. roots extracts) were assessed using the Mann–Whitney U test. Spearman's rank correlation coefficient (r_s) was used to evaluate the relationship between ethanol concentration and catalase activity in the tested samples. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant for all analyses. *Asterisks indicate statistically significant differences between the control and treated groups.

This study was approved by the Research Ethics Committee of the "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy (approval no. 81, dated 19.09.2020).

Results

Catalase activity varied across different ethanolic extracts of *Taraxacum officinale* (TO). For leaf extracts, the enzyme activity measured 23.8 ± 2.3 µM/g Hb at 20% ethanol, representing a 47.2% decrease compared to the control ($p < 0.05$). At 25% ethanol concentration, catalase activity increased slightly to 47.6 ± 0.4 µM/g Hb, which was 5.7% higher than control, though this difference was not statistically significant (p = 0.51). Similar trends were observed for 40% and 50% ethanol extracts, with catalase activities of 43 ± 2 µM/g Hb (2.2% higher than control, p = 0.51) and 43.6 ± 1.1 µM/g Hb (7.3% higher than control, p = 0.51), respectively. For the 80% ethanol leaf extract, catalase activity reached 43.8 ± 1.2* µM/g Hb, which was 15.2% higher than control and achieved statistical significance ($p = 0.05$). The correlation analysis showed a weak, negative, and non-significant relationship between ethanol concentration and catalase activity for leaf extracts (r_s = -0.33, p = 0.11).

For root extracts, catalase activity at 20% ethanol was 48.04 ± 0.73 µM/g Hb, representing a 13.3% decrease relative to control (p = 0.05). At 25% ethanol, enzyme activity significantly increased to 56.12 ± 3.26 µM/g Hb, 47.5% higher than control (p = 0.05). Increasing the ethanol concentration led to reduced catalase activity compared to controls: 40% ethanol—41.72 ± 0.16 µM/g Hb (7.3% lower than control, p = 0.51), 50% ethanol—41.88 ± 11.67 µM/g Hb (15.5% lower than control, p = 0.51), and 80% ethanol—41.71 ± 2.49 µM/g Hb (11.4% lower than control, p = 0.51). Spearman correlation analysis revealed a strong, negative, and statistically significant association between ethanol concentration in root extracts and catalase activity (rs = -0.73, p = 0.001).

By comparing the data between leaves and roots, it was observed that catalase activity in 20% ethanol leaf extracts was 24.3% lower than in root extracts prepared with the same concentration (p = 0.05). Leaf extracts at 25% ethanol showed a catalase activity 8.5% lower than root extracts (p = 0.05). For 40% and 50% ethanol, the differences were minimal, with leaf extracts showing 1.3% (p = 0.51) and 1.8% (p = 0.51) lower activity than root extracts, respectively. At 80% ethanol, catalase activity in leaf extracts was 2.1% lower than in roots (p = 0.28).

Discussion

Taraxacum officinale (TO) has attracted considerable attention as a source of natural phytochemicals due to its promising antioxidant properties, often considered superior to some synthetic antioxidants. Bioactive compounds from TO have been extensively studied for their potential health benefits, including antioxidant, anti-tumor, anti-inflammatory, and anti-diabetic effects[13,14]. Traditionally, TO have been consumed in the form of infusions or decoctions,

functioning as aperients, laxative, stimulant, and mild diuretic. The TO fascinates us with its chemical content of flavonoids and phenolic acids by high-performance liquid chromatography (HPLC). About 43 compounds, without microelements and vitamins, were detected and the most abundant was chicoric acid, that is a dicaffeoyltartaric acid [15].The chemical composition of TO is highly responsive to environmental and physiological factors, including: climate, soil properties, and plant organ specificity. Free 4-dimethylsterol esters peak in winter, correlating negatively with temperature and solar radiation, whereas sitosterol and cycloartenol esters increase under elevated temperature and light exposure [8]. Furthermore, harvest age significantly influences phytochemical complexity and bioactivity. Chloroform extracts from five-month-old TO leaves exhibited a more diverse chemical profile than those from two-month-old leaves and demonstrated dose-dependent inhibition of yellow fever virus replication, with efficacy approximately eightfold higher than that of extracts from younger leaves[16,17].

The distribution of bioactive compounds in TO varies substantially among plant organs. Hydroxycinnamic acids, including chicoric, monocaffeoyltartaric, and chlorogenic acids, are distributed throughout the plant [18], whereas coumarins such as cichoriin and aesculin are predominantly localized in leaves [17]. Comprehensive qualitative and quantitative analyses of aqueous and methanol extracts from roots, stems, and flowers reveal that flavonoid concentrations are highest in flowers, while saponins, phenolics, and alkaloids accumulate primarily in stems and roots. Popescu et al. (2021) reported that flowers and leaves contain significantly higher levels of polyphenols compared to stems and roots, highlighting the importance of organ-specific harvesting strategies for maximizing bioactive compound yield [19]. Future studies exploring the synergistic effects of these compounds, particularly in relation to enzymatic antioxidant defense mechanisms such as catalase activity in erythrocytes, will help elucidate the full therapeutic potential of TO. Most research on TO has focused on phenolic compounds, which play a critical role in plant defense against biotic and abiotic stress, as well as contributing to human nutrition and well-being. However, TO contains a wide spectrum of bioactive molecules—including terpenes, sterols, inulin, vitamins, and amino acids—whose ratios and combined effects on various biochemical processes remain a subject of ongoing investigation [8] .

These observations suggest that the composition and relative abundance of bioactive compounds, as well as their activity under oxidative stress, are likely to differ. This hypothesis was confirmed in our experiments. Specifically, catalase activity was modulated by ethanol concentration in both roots and leaves. In previous studies, we demonstrated that other biochemical pathways associated with oxidative stress are also influenced by TO in an ethanol concentration-dependent manner [8]. Commission monographs recommend the administration of TO three times daily, either as an herbal preparation or as a 1:1 liquid extract in 25% ethanol. This recommendation aligns with our findings, where the highest catalase activity was observed precisely at this ethanol concentration [16]. *Taraxacum officinale* is not a single example which describes how important is the type of solvent, the literature abounds in fresh data which underlines the importance of extractant type and its concentration [20].

Conclusions

Phytotherapeutic herbs and medicinal plants continue to play a crucial role in drug discovery and development. The leaves and roots of *Taraxacum officinale* represent a rich source of bioactive compounds with significant potential for application in nutraceutical and pharmacological fields. The present study demonstrates that *TO* exhibits pronounced antioxidant activity. Notably, the strongest effect on erythrocyte catalase activity was observed for root extracts prepared with 25% ethanol. These effects are likely mediated by a complex mixture of bioactive constituents, the composition and relative abundance of which appear to depend on

ethanol concentration. Further studies are required to comprehensively characterize the biological activities and underlying mechanisms of these extracts.

Acknowledgment

This study was supported by the State Program (2020-2023) of the Republic of Moldova (research grant No. 20.80009.5007.10).

I would like to thank my thesis supervisors from "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy for their guidance, support and valuable contribution to the completion of this work:

Tagadiuc Olga, MD, PhD, dr. hab. med. sci., prof., Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry;

Todiras Mihail, MD, PhD, dr. hab. med. sci., prof., Scientific Center for Drug Research;

Gudumac Valentin, PhD, dr. hab. med. sci., prof., as well as the team of the Biochemistry Laboratory.

References:

1. SIES, H.; JONES, D.P. Reactive Oxygen Species (ROS) as Pleiotropic Physiological Signalling Agents. In: Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21, pp. 363–383. DOI:10.1038/s41580-020-0230-3.
2. LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. In: Pharmacogn Rev 2010, 4, pp. 118–126. DOI:10.4103/0973-7847.70902.
3. CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P.C. Diversity of Structures and Properties among Catalases. In: Cell Mol Life Sci 2004, 61, pp. 192–208. DOI:10.1007/s00018-003-3206-5.
4. MOHANTY, J.G.; NAGABABU, E.; RIFKIND, J.M. Red Blood Cell Oxidative Stress Impairs Oxygen Delivery and Induces Red Blood Cell Aging. In: Front Physiol 2014, 5, 84 p. DOI:10.3389/fphys.2014.00084.
5. KEHRER, J.P. The Haber-Weiss Reaction and Mechanisms of Toxicity. In: Toxicology 2000, 149, pp. 43–50. DOI:10.1016/s0300-483x(00)00231-6.
6. FULGA, A.; PROTOPOP, S.; ANDRONACHE, L.; TAGADIUC, O. The modulatory action of Taraxacum Officinale on the glutathione system. In: Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Medical Sciences 2022, 74, pp. 235–241. DOI:10.52692/1857-0011.2022.3-74.47.
7. GUDUMAC, V.; RÎVNEAC, V.; TAGADIUC, O.; SARDARI, V.; RÎVNEAC, E.; ANDRONACHE, L.; ȘTÂRBA, O.; PANTEA, V.; POPA, V. Metode de Cercetare a Metabolismului Hepatic. In: Elaborare metodică. Sub red. Gudumac V. USMF „Nicolae Testemiţanu". Chisinau 2012.
8. FULGA, A. Activitatea biochimică a extractelor din specia Taraxacum officinale G.H. Weber ex Wiggers: Teză de doctor în științe medicale: 315.01 – Biochimie medicală. Chisinau, 2023, 184 p.
9. Bioactive Compounds from Vegetal Organs of Taraxacum Species (Dandelion) with Biomedical Applications: A Review Available online: https://www.mdpi.com (accessed on 7 April 2026).
10. FULGA, A.; PANTEA, V. Antioxidant Activity of Taraxacum Officinale. In: The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors USMF "N. Testemitanu". Chisinau, 2020, pp. 267-268.
11. RHAYEM, L.; BOUSSETTA, N.; KUBO, M.T.K.; MERLIER, F.; VOROBIEV, E.; LEBOVKA, N. Bioactive Compounds from Dandelion (Taraxacum Officinale): Advances in Extraction Techniques and Applications. In: Foods 2026, 15, 782 p. DOI:10.3390/foods15040782.
12. RYZHIKOV, S. I; DRUZHININA, I.G.; RIABICHEVA, T.G.; VARAKSIN, N.A. [The standardization of technique of detection of blood cells cytokine production ex vivo]. In: Klin Lab Diagn 2011, pp. 49–53.
13. FULGA, A.; TODIRAS, M.; GUDUMAC, V.; TAGADIUC, O. Taraxacum Officinale Leaves and Roots Suppress Glioma Cell Viability. In: Journal of Biosciences and Medicines 2022, 10, pp. 175–189. DOI:10.4236/jbm.2022.103017.
14. PANDEY, K.B.; RIZVI, S.I. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. In: Oxid Med Cell Longev 2009, 2, pp. 270–278. DOI:10.4161/oxim.2.5.9498.

15. SCHÜTZ, K.; KAMMERER, D.R.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Characterization of Phenolic Acids and Flavonoids in Dandelion (Taraxacum Officinale WEB. Ex WIGG.) Root and Herb by High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Mass Spectrometry. In: Rapid Commun Mass Spectrom 2005, 19, pp. 179–186. DOI:10.1002/rcm.1767.
16. GRAUSO, L.; EMRICK, S.; DE FALCO, B.; LANZOTTI, V.; BONANOMI, G. Common Dandelion: A Review of Its Botanical, Phytochemical and Pharmacological Profiles. In: Phytochemistry Reviews 2019, 18, pp. 1115–1132. DOI:10.1007/s11101-019-09622-2.
17. AMIN, M.M., SAWHNEY, S.S. and JASSAL, M.M.S. (2013) Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemicals of Taraxacum Officinale. Wudpecker Journal of Pharmacy and Pharmocology, 2, 1-5. Available online: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1551859 (accessed on 7 April 2026).
18. FULGA, A.; CASIAN, A.; CASIAN, I.; PROTOPOP, S.; GUDUMAC, V.; TAGADIUC, O. Effects of Taraxacum Officinale on Glioblastoma Cell Culture and Their Correlation with Hydroxycinnamic Acids Content. In: Medical Sciences Forum 2023, 21, 18 p. DOI:10.3390/ECB2023-14363.
19. POPESCU, M.; DINU, M.; URSACHE, D. Contributions to the Pharmacognostical and Phytobiological Study on Taraxacum Officinale (L.) Weber. In: Farmacia 2010, 58, pp. 646–653.
20. KOZUHAROVA, E.; PASDARAN, A.; HAMEDI, A.; BATOVSKA, D.; GEORGIEV, M.; MARCHEV, A.; ATTARD, E.; GIBERNAU, M. Bioactive Compounds and Biological Activities of Arum L. In: Bioactive Compounds in the Storage Organs of Plants; Springer, Cham, 2024; pp. 105–138, ISBN 978-3-031-44746-4.

Date despre autori:



Ala FULGA, doctor în științe medicale, lector universitar, Departamentul de Chimie, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova, str. Alexei Mateevici 60, MD-2009, Chișinău, Republica Moldova
E-mail: agfulga@gmail.com
ORCID: 0000-0002-0623-0857

CZU: 544.142.3:547.497:615.282 https://doi.org/10.59295/mabt2026.43

ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL AGENTS BASED ON 3*d* METAL COORDINATION COMPOUNDS WITH 2-BENZOYLPYRIDINE 4-ALLYL/NORBORNYLTHIOSEMICARBAZONES

Vasilii GRAUR[1], Ianina GRAUR[1], Irina KRAVCHUK[1], Greta BALAN[2], Carolina LOZAN-TÎRȘU[2], Aurelian GULEA[1]

[1]*Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics and Technics, Institute of Chemistry, Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova*
[2]*Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova*

Abstract

Two 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones (4-allylthiosemicarbazone – **HL[1]** and 4-norbornylthiosemicarbazone – **HL[2]**) and their 3*d* metal coordination compounds were synthesized and characterized. The complexes of Cu(II), Ni(II), Co(III), Fe(III), and Zn(II) were evaluated for antibacterial and antifungal activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, and *Candida albicans*. Biological activity was presented in form of MIC, MBC, and MFC values. Metal coordination significantly enhances antibacterial activity, with Cu(II) complexes showing the highest potency and the general activity trend Cu > Zn > Co > Fe > Ni. Gram-negative bacteria exhibit higher resistance than Gram-positive strains. **HL[2]** derivatives demonstrate superior antifungal activity compared to **HL[1]** and reference drugs, even without metal coordination. The most active copper complexes show up to 64-fold higher inhibitory activity against *Candida albicans* than fluconazole. The results highlight the importance of N^4-substitution and metal coordination in modulating antibacterial and antifungal properties.

Keywords: thiosemicarbazones; 2-benzoylpyridine; 3*d* metal coordination compounds; antibacterial activity; antifungal activity.

AGENȚI ANTIBACTERIENI ȘI ANTIFUNGICI PE BAZĂ DE COMPUȘI COORDINATIVI AI METALELOR 3*d* CU 4-ALIL/NORBORNILTIOSEMICARBAZONE 2-BENZOILPIRIDINEI

Rezumat

Două tiosemicarbazone de 2-benzoilpiridină (4-aliltiosemicarbazona – **HL[1]** și 4-norborniltiosemicarbazona – **HL[2]**) și compușii lor coordinativi cu metale 3*d* au fost sintetizați și caracterizați. Complecșii de Cu(II), Ni(II), Co(III), Fe(III) și Zn(II) au fost evaluați din punct de vedere al activității antibacteriene și antifungice împotriva tulpinilor *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* și *Candida albicans*. Activitatea biologică a fost exprimată prin valorile MIC, MBC și MFC. Coordinarea la ionii de metal îmbunătățește semnificativ activitatea antibacteriană, complecșii de Cu(II) prezentând cea mai mare eficiență, iar tendința generală a activității este Cu > Zn > Co > Fe > Ni. Bacteriile Gram-negative prezintă o rezistență mai mare decât tulpinile Gram-pozitive. Derivații **HL[2]** manifestă o activitate antifungică superioară comparativ cu **HL[1]** și cu medicamentele de referință, chiar și în absența coordinării la ionii de metal. Cei mai activi complecși de cupru prezintă o activitate inhibitoare de până la 64 de ori mai mare împotriva *Candida albicans* decât fluconazolul. Rezultatele evidențiază importanța substituției N^4 și a procesului de coordinare în modularea proprietăților antibacteriene și antifungice.

Cuvinte-cheie: tiosemicarbazone, 2-benzoilpiridină, compuși coordinativi ai metalelor 3*d*; activitatea antimicrobiană; activitatea antifungică.

Introduction

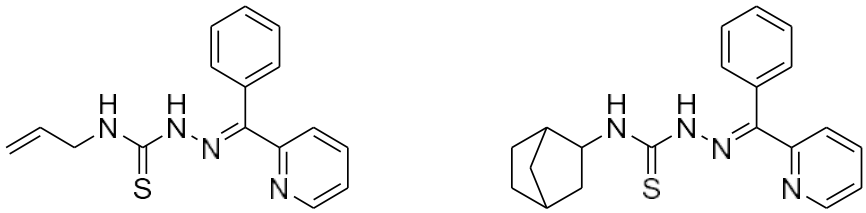
Bacterial resistance to antibiotics poses a major global public health challenge [1]. Resistant strains of pathogenic microorganisms emerge largely as a result of the excessive and improper use of antibiotics. Currently, the spread of resistance is progressing faster than the development of new antibacterial agents. Each year, approximately 1.3 million deaths are attributed to antibiotic resistance. To keep pace with this ongoing evolutionary process, continuous innovation in drug discovery is essential. Notably, around half of the antibiotics in use today were identified between the 1950s and 1970s [2], while since the late 20th century, research and development in this area have significantly declined. Consequently, the design and synthesis of new compounds with enhanced antibacterial activity remain highly relevant.

Thiosemicarbazones constitute an important class of organic compounds that often exhibit a wide range of biological activities, including antibacterial and antifungal [3] effects. Their coordination compounds with metal ions are considered promising candidates for biologically active agents. Furthermore, substitution at the N^4 position of the thiosemicarbazone fragment has been shown to enhance various types of biological activity in both the free ligands and their corresponding metal complexes [4]. Introducing bulky substituents at the N^4 position of the thiosemicarbazone fragment can significantly improve its biological activity [5].

2-Benzoylpyridine has recently emerged as a promising antibacterial compound with significant activity, primarily exerting its effect through disruption of the bacterial cell membrane. Its interaction with the membrane promotes the leakage of ions and low-molecular-weight components, resulting in an imbalance of cellular redox processes. Its structural features enable the formation of intermolecular hydrogen bonds within its coordination framework, which may partly explain its notable antibacterial performance.

In comparison with other pyridine-based derivatives, such as 2-acetylpyridine and 2-formylpyridine thiosemicarbazones, the corresponding 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones are less extensively described in the literature. Nevertheless, available studies indicate that these compounds possess antibacterial [6] and antifungal [7] activities. Moreover, coordination of 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones with metal ions generally results in enhanced biological activity.

Therefore, in this work the comparison of antibacterial and antifungal properties of two series of coordination compounds is made. The first series contains 2-benzoylpyridine 4-allylthiosemicarbazone as ligand [8] while the second series contains complexes of 2-benzoylpyridine 4-allylthiosemicarbazone (Figure 1) [9].



HL^1 **HL^2**

Figure 1. The structural formula of 2-benzoylpyridine 4-allyl/norbornylthiosemicarbazones (HL$^{1-2}$)

Materials and methods

Allyl and norbornyl isothiocyanates, hydrazine hydrate, 2-benzoylpyridine, hydrochloric acid, sodium carbonate, as well as 3d metal salts were obtained from Sigma-Aldrich. The ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX-400 using $CDCl_3$ and aceton-d_6 as solvents.

FTIR spectra were obtained on a Bruker ALPHA FTIR spectrophotometer at room temperature in the range of 4000-400 cm^{-1}. The resistance of solutions of complexes in methanol (20°C, c 0.001 M) was measured using an R-38 rheochord bridge.

Synthesis of thiosemicarbazides

4-Allylthiosemicarbazide and 4-norbornylthiosemicarbazide were obtained by the following general procedure: 0.100 mol of corresponding isothiocyanate was added dropwise to 20 g of aqua solution of hydrazine (60% w/w). The resulting white precipitate of the corresponding thiosemicarbazide is filtered under vacuum and washed with water until a neutral or slightly alkaline reaction is achieved. [10]

Synthesis of thiosemicarbazones ***HL$^{1-2}$***

A two-step process was used for the synthesis of thiosemicarbazones **HL$^{1-2}$**. [11]

At first step 10.0 mmol of corresponding thiosemicarbazide was dissolved in 20 mL of ethanol with the constant steering. After that, the solution of 2-benzoylpyridine (1.83 g, 10.0 mmol) in 20 mL of ethanol was added. Concentrated hydrochloric acid (~10 g, 10.0 mmol) was added to the obtained solutions. These mixtures were steered and heated for 30 minutes. After cooling of the solutions, the yellow precipitates of corresponding hydrochlorides were formed. The precipitates were filtered and washed with small amounts of cold ethanol.

On the second step, the obtained hydrochlorides were dissolved in minimal volume of ethanol with constant steering and neutralized with an aqueous solution of sodium carbonate. The resulting thiosemicarbazones were extracted with chloroform.

*2-benzoylpyridine 4-allylthiosemicarbazone (**HL^{1}**, 2-benzoylpyridine 4-(prop-2-en-1-yl)thiosemicarbazone)* [8]

Pale yellow solid. Yield: 84%; mp 125-127 °C. FW: 296.39 g/mol; Anal Calc. for $C_{16}H_{16}N_4S$: C, 64.84; H, 5.44; N, 18.90; S, 10.82; found: C, 64.69; H, 5.37; N, 18.81; S, 10.75%. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(N–H) 3368, 3135; ν (C=N) 1642, 1583; ν (C=S) 1314. ^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) 13.49 (br s, 1H; NH); 8.88 (d, 1H; CH (aromatic)); 8.59 (br s, 1H; NH); 8.02 (t, 1H; CH(aromatic)); 7.60 (m, 3H; CH(aromatic)); 7.47 (m, 3H; CH(aromatic)); 7.39 (d, 1H; CH(aromatic));5.99 (m, 1H; CH(allyl)); 5.17 (m, 2H; CH_2=C); 4.37 (m, 2H; CH_2-N). ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 100 MHz) 178.89 (C=S); 152.37, 142.63, 137.80, 137.73, 129.09, 128.77, 128.36, 126.23, 124.62 (C(aromatic)); 148.63 (C=N); 134.50 (CH_{allyl}); 115.46 (CH_2(allyl, sp^2)); 46.24 (CH_2(allyl, sp^3)).

*2-benzoylpyridine 4-norbornylthiosemicarbazone (**HL^{2}**, 2-benzoylpyridine 4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone)* [9]

White solid. Yield: 94%; mp 189-191°C. FW: 350.48 g/mol; Anal Calc. for $C_{20}H_{22}N_4S$: C, 68.54; H, 6.33; N, 15.99; S, 9.15; found: C, 68.43; H, 6.23; N, 15.88; S, 9.05. Main FTIR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3368, 3151, ν(C=N) 1583, ν(C=S) 1313. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 13.55 (s, 1H, NH), 8.82 (d, 1H, NH); 7.76 (t, 1H, CH(pyridine)); 7.60 (d, 1H, CH(pyridine)); 7.45 (m, 5H, CH(phenyl)); 7.37 (t, 1H, CH(pyridine)); 7.27 (d, 1H, CH (pyridine)); 4.23 (t, 1H, CH-N); 2.45, 2.32 (m, 2H, 2×CH (norbornyl); 2.0-1.1 (m, 8H, 4×CH_2 (norbornyl)). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 177.03 (C=S); 152.41, 142.29, 137.72, 137.15, 129.69, 129.13, 128.59, 126.10, 124.13 (C aromatic); 148.68 (C=N); 57.35, 42.32, 40.36, 35.95, 35.88, 28.16, 26.40 (C from norbornyl fragment).

Synthesis of coordination compounds ***1-14***

General procedure for copper(II) coordination compounds ***1–2 and 8–9***

A hot ethanolic solution (20 mL, 65 °C) containing one of the thiosemicarbazones **HL$^{1-2}$** (1.00 mmol) was treated with corresponding copper(II) salt (1.00 mmol). The reaction mixture was stirred and maintained at 65 °C for 40 minutes using a magnetic stirrer. Upon cooling to room temperature, a green solid precipitate was collected by filtration, washed with ethanol, and dried.

*Synthesis of mixed-ligand complexes **3** and **10***

1,10-Phenanthroline (1.00 mmol) was added to a hot ethanolic solutions of complex **2** or **9** (1 mmol). The green precepitates were formed upon cooling. The formed compounds were isolated by filtration, washed with ethanol, and dried.

*Synthesis of nickel, cobalt, iron and zinc complexes (**4**–**7** and **11**–**14**)*

A hot ethanolic solution (20 mL, 65 °C) containing one of the thiosemicarbazones $\mathbf{HL^{1\text{-}2}}$ (1.00 mmol) was treated with corresponding 3d metal salt (0.50 mmol). The reaction mixture was stirred and heated at 65 °C for 40 minutes. Upon cooling to room temperature, a solid precipitate was collected by filtration, washed with ethanol, and dried.

Table 1. Physical and analytical data of the metal complexes 1–14

#	Compound	Formula	Yield, %	Found/calculated, metal %	Molar conductivity, $\Omega^{-1}\cdot cm^2\cdot mol^{-1}$
1	$[Cu(L^1)Cl]_2$	$C_{32}H_{30}Cl_2Cu_2N_8S_2$	76	16.04/16.11	98
2	$[Cu(L^1)(NO_3)]_2$	$C_{32}H_{30}Cu_2N_{10}O_6S_2$	89	15.01/15.10	80
3	$[Cu(phen)(L^1)]NO_3$	$C_{28}H_{23}CuN_7O_3S$	76	10.48/10.57	83
4	$[Ni(HL^1)_2]Cl_2$	$C_{32}H_{32}Cl_2N_8NiS_2$	84	8.02/8.13	148
5	$[Co(L^1)_2]NO_3$	$C_{32}H_{30}CoN_9O_3S_2$	72	8.18/8.28	98
6	$[Fe(L^1)_2]NO_3$	$C_{32}H_{30}FeN_9O_3S_2$	74	7.82/7.88	105
7	$[Zn(L^1)_2]\cdot 0.125H_2O$	$C_{32}H_{30.25}N_8O_{0.125}S_2Zn$	88	9.81/9.93	7
8	$[Cu(L^2)Cl]$	$C_{20}H_{21}ClCuN_4S$	76	14.05/14.17	46
9	$[Cu(L^2)NO_3]$	$C_{20}H_{21}CuN_5O_3S$	80	13.26/13.38	80
10	$[Cu(phen)(L^2)]NO_3$	$C_{32}H_{29}CuN_7O_3S$	78	9.79/9.71	86
11	$[Ni(HL^2)_2](NO_3)_2$	$C_{40}H_{44}N_{10}NiO_6S_2$	72	6.55/6.64	134
12	$[Co(L^2)_2]NO_3$	$C_{40}H_{42}CoN_9O_3S_2$	71	7.08/7.19	70
13	$[Fe(L^2)_2]NO_3$	$C_{40}H_{42}FeN_9O_3S_2$	70	6.73/6.84	70
14	$[Zn(L^2)_2]$	$C_{40}H_{42}N_8S_2Zn$	86	8.43/8.55	5

Antibacterial and antifungal activity

The antibacterial and antifungal properties of thiosemicarbazones $\mathbf{HL^{1\text{-}2}}$ and their coordination compounds **1**–**14** were evaluated against standard strains of Gram-positive bacteria (Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Bacillus cereus (ATCC 11778)), Gram-negative bacteria (Escherichia coli (ATCC 25922), Acinetobacter baumannii (BAA-747)), and Candida albicans (ATCC 10231). Minimum inhibitory concentrations (MIC, μg mL^{-1}), minimum bactericidal concentrations (MBC, μg mL^{-1}), and minimum fungicidal concentrations (MFC, μg mL^{-1}) were determined using the broth microdilution method. Stock solutions of the investigated compounds were prepared in DMSO at 10 mg mL^{-1} concentration, and subsequent dilutions were carried out with 2% peptone broth. Furacillinum and Tetracycline [12, 13] served as the antibacterial reference drugs, while Nystatin [12] and Fluconazole [14] were employed as standard antifungal agents.

Results and discussion

Synthesis and characterization

Two 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones $\mathbf{HL^{1\text{-}2}}$ were obtained using a two-step process (Figure 2). In the first step, condensation between 2-benzoylpyridine and corresponding thiosemicarbazide took place in presence of equimolar amount of hydrochloric acid. In these conditions, this condensation takes place rapidly without need of 6-8 hours of heating. In the second step, the obtained hydrochlorides of thiosemicarbazones were neutralized with sodium

carbonate solution. The composition and structure of the resultant thiosemicarbazones were proved using ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopies. [8, 9]

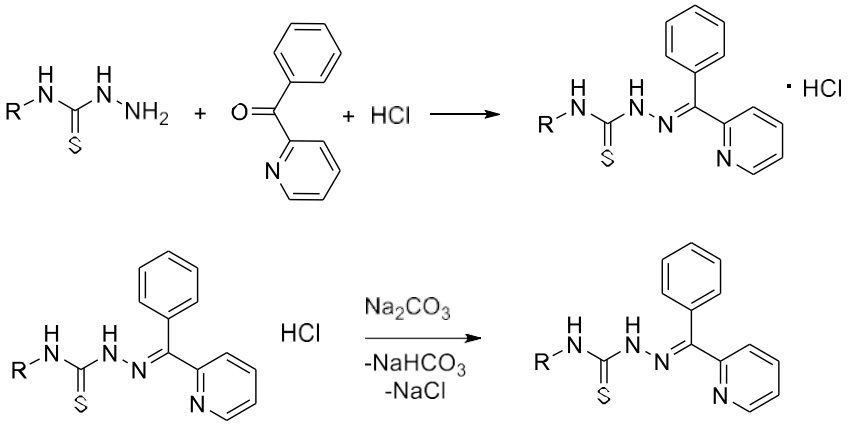


Figure 2. Synthesis of thiosemicarbazones HL^1 (R = allyl) and HL^2 (R = norbornyl)

Coordination compounds were obtained upon interaction of corresponding copper salts and **HL$^{1-2}$** in a 1:1 molar ration, while interaction between HL^{1-2} and other 3*d* metal salts took place in a 2:1 molar ratio: $[Cu(L^1)Cl]_2$ (**1**), $[Cu(L^1)(NO_3)]_2$ (**2**), $[Cu(phen)(L^1)]NO_3$ (**3**), $[Ni(HL^1)_2]Cl_2$ (**4**), $[Co(L^1)_2]NO_3$ (**5**), $[Fe(L^1)_2]NO_3$ (**6**), $[Zn(L^1)_2]\cdot 0.125H_2O$ (**7**), $[Cu(L^2)Cl]$ (**8**), $[Cu(L^2)NO_3]$ (**9**), $[Cu(phen)(L^2)]NO_3$ (**10**), $[Ni(HL^2)_2](NO_3)_2$ (**11**), $[Co(L^2)_2]NO_3$ (**12**), $[Fe(L^2)_2]NO_3$ (**13**), $[Zn(L^2)_2]$ (**14**).

Copper(II), cobalt(III), and iron(III) complexes behave as 1:1 electrolytes with the measured molar conductivity values in the range of 46-105 $\Omega^{-1}\cdot cm^2\cdot mol^{-1}$. Zinc complexes **7** and **14** obtained from zinc acetate are non-electrolytes while nickel(II) complexes behave as 1:2 electrolytes.

Antibacterial activity against Gram-positive microorganisms

Antibacterial properties were studied on two strains of Gram-positive microorganisms, namely: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Bacillus cereus* (ATCC 11778), The values for minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) are provided in the table 2.

4-Allylthiosemicarbazone **HL^1** shows antibacterial properties against *S. aureus* and *B. cereus* and even surpasses Furacillinum by this type of activity while 4-norbornylthiosemicarbazone **HL^2** does not affect these bacteria in the studied range of concentrations. An increase in activity is observed upon coordination of **HL^1** to the ions of all studied metals, except for nickel(II) ions, where the activity decreases significantly. The activity decreases in the following order: Cu > Zn > Co > Fe > Ni. The additional introduction of 1,10-phenanthroline reduced the antibacterial activity.

A similar trend is observed in the case of coordination of **HL^2** to the studied 3d metal ions. For the 4-norbornylthiosemicarbazone, the activity of the complexes decreases in the same order, Cu > Zn > Co > Fe > Ni; however, the MIC and MBC values span a wider range. The introduction of 1,10-phenanthroline did not enhance the activity of the copper complexes.

A comparison of analogous complexes with HL^1 and HL^2 shows that coordination compounds of 4-allylthiosemicarbazone exhibit higher activity than the complexes of 4-norbornylthiosemicarbazone.

The most active complexes, 1, 2, 7, and 8, surpass not only Furacillinum but also Tetracycline, commonly used in medical practice, in activity against *Staphylococcus aureus*.

Table 2. Antibacterial activity of the tested compounds against Gram-positive microorganisms.

Compound	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923		*Bacillus cereus* ATCC 11778	
	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL
HL[1]	1.95	3.91	1.95	1.95
1	0.122	0.244	0.122	0.122
2	0.244	0.488	0.244	0.244
3	0.977	1.95	0.977	1.95
4	250	500	>1000	>1000
5	0.488	0.977	0.488	0.977
6	0.977	0.977	0.488	0.977
7	0.244	0.488	0.244	0.244
HL[2]	>1000	>1000	>1000	>1000
8	0.244	0.488	0.488	0.488
9	0.977	1.95	0.244	0.244
10	0.977	1.95	0.977	0.977
11	>1000	>1000	500	>1000
12	1.95	3.91	0.488	1.95
13	7.81	15.6	7.81	7.81
14	0.977	1.95	0.977	0.977
Furacillinum	9.3	9.3	4.7	4.7
Tetracycline	0.25	1.96	0.06	-

Antibacterial activity against Gram-negative microorganisms

Antibacterial properties were studied on two strains of Gram-negative microorganisms, namely: *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Acinetobacter baumannii* (BAA-747), The values for minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) are provided in the table 3.

If the antibacterial activity of the studied compounds is compared against Gram-positive and Gram-negative bacteria, it becomes evident that they exhibit significantly lower activity against Gram-negative bacteria, which in no case exceeded that of the reference drugs. However, it is noteworthy that, in the case of *Escherichia coli*, the introduction of 1,10-phenanthroline enhanced the antimicrobial activity fourfold.

Antifungal activity against Candida albicans

Antifungal activity of tested substances against *Candida albicans* in the form of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) are given in table 4.

In terms of antifungal activity, the 4-norbornylthiosemicarbazone **HL[2]** exhibits higher activity than the 4-allylthiosemicarbazone. Even without coordination to 3d metals, **HL[2]** surpasses the reference antifungal agents nystatin and fluconazole in activity. The most active compounds are the copper complexes, with complexes **8** and **9** being more active than complexes **1** and **2**. The most active complex, **8**, is 64 times more potent than fluconazole in inhibiting *Candida albicans*.

Table 3. Antibacterial activity against Gram-negative microorganisms.

Compound	*Escherichia coli* ATCC 25922		*Acinetobacter baumannii* BAA-747	
	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL
HL[1]	>1000	>1000	>1000	>1000
1	125	125	125	125
2	125	250	62.5	62.5
3	31.3	62.5	31.3	62.5
4	>1000	>1000	>1000	>1000
5	250	>1000	250	>1000
6	500	500	250	250
7	>1000	>1000	>1000	>1000
HL[2]	>1000	>1000	>1000	>1000
8	500	>1000	31.3	125
9	500	>1000	7.81	15.6
10	62.5	62.5	31.3	62.5
11	500	500	250	500
12	500	500	250	250
13	>1000	>1000	500	>1000
14	>1000	>1000	250	250
Furacillinum	18.5	37.5	4.7	9.4
Tetracycline	0.98	3.91	0.5	5.66

Table 4. Antifungal activity of the tested compounds

Compound	*Candida albicans* ATCC 90028	
	MIC, μg/mL	MFC, μg/mL
HL[1]	125	500
1	0.977	1.95
2	1.95	1.95
3	15.6	31.3
4	7.81	7.81
5	31.3	250
6	7.81	31.3
7	>1000	>1000
HL[2]	0.977	0.977
8	0.244	1.95
9	0.977	0.977
10	0.977	1.95
11	125	>1000
12	15.6	31.3
13	250	500
14	250	>1000
Nystatin	80	80
Fluconazole	15.6	31.3

Conclusion

This work reports the synthesis and evaluation of antibacterial and antifungal properties of two 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones and 14 coordination compounds. The obtained results clearly demonstrate that both substituent in the 4th position of the thiosemicarbazide moiety of the ligand and the nature of the central atom of the coordination compound play decisive roles in tuning the biological properties. Coordination to the 3d metal ions leads to a pronounced enhancement of antibacterial activity, with copper(II) derivatives consistently showing superior performance across all investigated strains. Overall, this study highlights the combined importance of N^4-substitution and metal coordination in controlling activity of 3d metal thiosemicarbazone-based complexes.

Acknowledgment

This work was fulfilled with the financial support of the subprogram 010602 of the institutional project.

References:

1. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization, 2022. ISBN: 978-92-4-006270-2.
2. Aminov, R. I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front. Microbiol.*, 2010, 1, 134. DOI: 10.3389/fmicb.2010.00134.
3. Beraldo, H., Gambino, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2004, 4(1), 31–39. DOI: 10.2174/1389557043487484.
4. Liberta, A. E., West, D. X. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. *Biometals*, 1992, 5(2), 121–126. DOI: 10.1007/BF01062223.
5. Bal, T., Atasever, B., Solakoğlu, Z., Erdem-Kuruca, S., Ülküseven, B. Synthesis, characterisation and cytotoxic properties of the N1,N4-diarylidene-S-methyl-thiosemicarbazone chelates with Fe(III) and Ni(II). *Eur. J. Med. Chem.*, 2007, 42(2), 161–167. DOI: 10.1016/j.ejmech.2006.09.004.
6. Joseph, M., Kuriakose, M., Kurup, M., Suresh, E., Kishore, A., Bhat, S. Structural, antimicrobial and spectral studies of copper(II) complexes of 2-benzoylpyridine N(4)-phenyl thiosemicarbazone. *Polyhedron*, 2006, 25(1), 61–70. DOI: 10.1016/j.poly.2005.07.006.
7. Rebolledo, A., De Lima, G., Gambi, L., Speziali, N., Maia, D., Pinheiro, C., Ardisson, J., Cortés, M., Beraldo, H. Tin(IV) complexes of 2-benzoylpyridine N(4)-phenyl-thiosemicarbazone: spectral characterization, structural studies and antifungal activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2003, 17(12), 945–951. DOI: 10.1002/aoc.547.
8. Graur, V., Graur, I., Bourosh, P., Kravtsov, V., Lozan-Tirșu, C., Balan, G., Garbuz, O., Tsapkov, V., Gulea, A. Synthesis, characterization, and biological evaluation of some 3d metal complexes with 2-benzoylpyridine 4-allylthiosemicarbazone. *Inorganics*, 2025, 13(7), 249. DOI: 10.3390/inorganics13070249.
9. Graur, I., Graur, V., Melnic, E., Lozan-Tirsu, C., Balan, G., Tsapkov, V., Gulea, A. From design to bioactivity: 2-benzoylpyridine 4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone and its 3d metal coordination compounds. *ChemistryOpen*, 2026, 15(4), e202500590. DOI: 10.1002/open.202500590.
10. Zhao, W., Zhao, M. Synthesis and characterization of some multi-substituted thiosemicarbazones as multidentate ligands of metal ions. *Chin. J. Org. Chem.*, 2001, 21, 681–684.
11. Graur, V., Graur, I., Gulea, A., Teleucă, I., Lozan-Tîrșu, C., Bălan, G. Copper(II) coordination compounds with 2-acetylpyridine N4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl) thiosemicarbazone as potential antibacterial agents. *Stud. Univ. Mold. Ser. Științe Reale ale Nat.*, 2023, 171(1), 206–213. DOI: 10.59295/sum1(171)2023_27.
12. Pahontu, E., Usataia, I., Graur, V., Chumakov, Y., Petrenko, P., Gudumac, V., Gulea, A. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. *Appl. Organomet. Chem.*, 2018, 32(12), e4544. DOI: 10.1002/aoc.4544.

13. Pahonțu, E., Proks, M., Shova, S., Lupaşcu, G., Ilieş, D. C., Bărbuceanu, Ş. F., Socea, L., Badea, M., Păunescu, V., Istrati, D., Gulea, A., Drăgănescu, D., Pîrvu, C. E. D. Synthesis, characterization, molecular docking studies and in vitro screening of new metal complexes with Schiff base as antimicrobial and antiproliferative agents. *Appl. Organomet. Chem.*, 2019, 33(11), e5185. DOI: 10.1002/aoc.5185.
14. Borcea, A. M., Marc, G., Ionuț, I., Vodnar, D. C., Vlase, L., Gligor, F., Pricopie, A., Pîrnău, A., Tiperciuc, B., Oniga, O. A novel series of acylhydrazones as potential anti-Candida agents: design, synthesis, biological evaluation and in silico studies. *Molecules*, 2019, 24(1), 184–199. DOI: 10.3390/molecules24010184.

Date despre autori:



Vasilii GRAUR, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific coordonator, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: vasilii.graur@usm.md
ORCID: 0000-0001-8153-2153



Ianina GRAUR, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: ulchina.ianina@usm.md
ORCID: 0000-0002-3345-7539



Irina KRAVCHUK, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
e-mail: irynakravchuk67@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6749-0687



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



Carolina LOZAN-TÎRȘU, doctor în ştiinţe medicale, conferenţiar universitar, Disciplina de microbiologie şi imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu” Chişinău, Republica Moldova
e-mail: carolina.lozan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-3831-2758



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

Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică.
Culegere de articole științifice – dedicate aniversării a 80 de ani de la nașterea ilustrului savant chimist, Academicianul Aurelian Gulea și aniversării a 80 de ani de la fondarea Universității de Stat din Moldova

---

Bun de tipar 13.05.2026. Formatul 70x100 $^{1}/_{12}$
Coli de tipar 35,8. Coli editoriale 28,2
Comanda 34/26. Tirajul 50 ex.

Centrul Editorial-Poligrafic al USM
str. Al. Mateevici, 60, Chișinău, MD 2009