

SINTEZA COMBINAȚIILOR COORDINATIVE NOI ALE UNOR METALE 3d ÎN BAZA N(4)-(ACETAT DE ETIL)TIOSEMICARBAZONELOR 2-FORMIL ȘI 2-ACETIL PIRIDINEI. PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE

CZU: 546.057+547

DOI: <https://doi.org/10.52673/18570461.22.4-67.02>Doctorandă **Anna RUSNAC**¹E-mail: zzannagg@mail.ruORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2517-8927>Doctor în științe biologice **Olga GARBUZ**^{1,2}E-mail: olhamos@mail.ruORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8783-892X>Doctor în științe chimice **Sergiu ȘOVA**³E-mail: shova@icmpp.roORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1222-4373>Academician **Aurelian GULEA**¹E-mail: guleaaurelian@gmail.comORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2010-7959>¹Universitatea de Stat din Moldova²Institutul de Zoologie³Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași, România

SYNTHESIS OF NEW COORDINATION COMPOUNDS OF SOME 3d METALS BASED ON N(4)-(ETHYL ACETATE) THIOSEMICARBAZONES 2-FORMIL AND 2-ACETYL PYRIDINE. ANTIOXIDATIVE PROPERTIES

Summary. The given work includes the description of methods for the synthesis of new coordinative combinations of Cu(II), Mn(II), Fe(III) Co(III), Ni(II) and Zn(II) with N(4)-(ethyl acetate) thiosemicarbazones of 2-formylpyridine and 2-acetylpyridine. The characterization of the newly synthesized compounds was carried out using ¹H NMR, ¹³C NMR, FTIR spectroscopy, conductivity, and elemental analysis. In addition, the structures of N(4)-(ethyl acetate) thiosemicarbazide and N(4)-(ethyl acetate) thiosemicarbazone 2-acetylpyridine (HL2) were determined using single crystal X-ray diffraction. The antioxidant activity of coordinative combinations was studied and compared with that of free ligands. The most pronounced antioxidant properties are possessed by [Ni(L2)Cl], whose value of IC₅₀=15,05 μM is three times higher than the IC₅₀=46,76 μM of the non-coordinating ligand and about 2,5 times higher than the reference substances Rutin and Trolox.

Keywords: synthesis, ethyl acetate, thiosemicarbazones, coordination compounds, antioxidant activity.

Rezumat. Lucrarea dată include descrierea metodelor de sinteză a combinațiilor coordinative noi ale Cu(II), Mn(II), Fe(III) Co(III), Ni(II) și Zn(II) cu N(4)-(acetat de etil) tiosemicarbazone ai 2-formilpiridinei și 2-acetilpiridinei. Caracterizarea compușilor noi sintetizați a fost efectuată cu ajutorul spectroscopiilor ¹H RMN, ¹³C RMN, FTIR, conductivității și analizei elementale. În plus, structurile N(4)-(acetat de etil)tiosemicarbazidei și N(4)-(acetat de etil)tiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei (HL²) au fost determinate utilizând difracția cu raze X pe monocristal. A fost studiată activitatea antioxidantă a combinațiilor coordinative și comparată cu cea a liganzilor liberi. Cele mai pronunțate proprietăți antioxidante le posedă [Ni(L²)Cl], a cărui valoare IC₅₀=15,05 μM este de trei ori mai mare decât IC₅₀=46,76 μM a ligandului necoordinat și aproximativ de 2,5 ori mai mare decât a substanțelor de referință Rutin și Trolox.

Cuvinte-cheie: sinteza, acetat de etil, tiosemicarbazone, combinații coordinative, activitate antioxidantă.

INTRODUCERE

Activarea excesivă a reacțiilor de oxidare cu participarea radicalilor liberi este un proces patologic tipic întâlnit în cazul diferitor boli și al acțiunilor distructive asupra organismului. Radicalii liberi reprezintă molecule cu electroni decuplați, plasați pe învelișul electronic exterior al atomului sau al moleculei, care posedă o reactivitate înaltă și, ca rezultat, o acțiune pronunțată de distrugere a macromoleculilor celulare [1].

Este cunoscută participarea radicalilor liberi în patogeneza unui număr mare de boli: arterioscleroză [2], dereglări ale circulației sanguine cerebrovasculare, coronariene și periferice [3], diabet zaharat [4], boli reumatice [5], inflamatorii [6], pulmonare [7], patologii canceroase [8], îmbătrânire prematură [9] etc.

Apariția radicalilor liberi în organism este condiționată și de administrarea medicamentelor pro-oxidative, a unui șir de proceduri medicale (terapie cu oxigen, terapie cu oxigen hiperbaric, iradiere cu raze ultraviolete, corectarea vederii cu laser, radioterapie), precum și de acțiunea factorilor ecologic nefavorabili ai mediului ambiant [10]. Respectiv, una dintre direcțiile prioritare ale chimiei constituie sinteza noilor compuși, a așa-numiților antioxidanți, care inhibă sau încetinesc esențial procesele oxidative în organismul uman [11].

Cel mai des în calitate de antioxidanți în practica medicală se utilizează extracte din produse naturale [12]. Dar cantitățile de substanțe biologice active în aceste produse sunt limitate, prin urmare eficacitatea lor este mică. În calitate de etalon pentru determinarea activității antioxidante în analiza biochimică se utilizează Trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxilic), analogul vitaminelor E și C solubile în apă [13].

Tiosemicarbazonele și combinațiile coordinative ale acestora oferă o gamă largă de aplicații biologice. Activitatea biologică a tiosemicarbazonei rezultă din capacitatea lor de a forma chelați cu ionii metalici. Tiosemicarbazonele există în cele două forme tautomere: tiona și tiol. Forma tiona acționează ca un ligand bidentat neutru, în timp ce forma tiol deprotează și acționează ca un ligand anionic [14].

A fost cercetată activitatea antioxidantă a combinațiilor coordinative ale Fe(III), Co(III) cu saliciliden-4-alil-S-metilzotiosemicarbazonei, a căror valoare a inhibiției semimaximale, $IC_{50} = 0,5-0,7 \mu\text{mol/L}$, activitatea antioxidantă a acestora depășește de 66,7-47,6 ori activitatea Troloxului [13].

Există studii despre tiosemicarbazonele N(4)-substituite ale derivaților de 2-formilpiridinei și complec-

șii lor metalici, unde sunt raportate cercetări spectrale ale complexilor de cupru(II) și fier(III) cu tiosemicarbazone, care au demonstrat un efect antioxidant ridicat împotriva cationilor radicali $ABTS^{+\cdot}$, precum și toxicitate scăzută asupra *Daphnia magna*, care este mai mică decât toxicitatea Doxorubicinei [15; 16]. Complecșii sintetizați prezintă activități antimicrobiene, antifungice, antioxidative și anticancerogene [17].

Cuprul și zincul sunt metale esențiale necesare organismelor pentru a efectua un șir de procese biologice importante. Chelații organici ai acestor metale au fost studiați ca substanțe alternative cu toxicitate scăzută și selectivitate înaltă în tratamentul anticancer [18].

Prin urmare, scopul lucrării constă în sinteza combinațiilor coordinative ale metalelor 3d (Cu(II), Mn(II), Fe(III), Co(III), Ni(II) and Zn(II)) în baza tiosemicarbazonei 2-formil și 2-acetil piridinei care conține în poziția N(4) o grupare amino acetat de etil (în English "Glycine ethyl ester"). Aminoacetatul de etil este un intermediar important pentru prepararea acidului crizantemic utilizat în sinteza unor medicamente cu proprietăți antiinflamatoare [19]. În literatura de specialitate nu sunt descrise tiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetil piridinei ce conțin în poziția N(4) amino acetat de etil, prin urmare, sinteza și studiul activității antioxidante ale acestora prezintă interes științific.

MATERIALE ȘI METODE

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați de la firmele Sigma-Aldrich®, Acros Organics® și Alfa Aesar®.

1) Analiza elementală, punctele de topire ale tiosemicarbazonei au fost determinate prin metode specifice [20].

2) Spectrele FTIR au fost înregistrate la spectrometrul Bruker Alpha, 4000-400 cm^{-1} și interpretate conform [21].

3) Spectrele de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ^1H și ^{13}C au fost înregistrate la spectrometrul Bruker DRX-400. Deplasările chimice sunt prezentate în ppm față de $\text{Si}(\text{Me})_4$. DMSO- d_6 a fost utilizat ca solvent. Spectrele au fost interpretate conform [22].

4) În ce privește studiul difracției cu raze X pe monocristal, măsurătorile cristalografice au fost efectuate folosind difractometrul cu raze X Oxford-Diffraction Xcalibur-Gemini cu un monocromator de grafit echipat cu o sursă de raze X Mo- K_α . Cristalele au fost plasate la o distanță de 40 mm de detectorul CCD. Procedurile de determinare a parametrilor celulei elementare și de integrare a datelor experimentale au fost

efectuate cu ajutorul setului de programe "CrysAlis package Oxford Diffraction". Structurile au fost determinate prin metoda directă și stabilite folosind metoda pătratelor minime în apropiere anizotrope pentru atomii de hidrogen după programele SHELX-97 [23].

5) Analiza conductometrică a fost realizată prin intermediul ADWA AD8000 (pH/mV/EC/TDS & Temperature Meter). Calibrarea electrodului (AD 76309) a fost efectuată cu ajutorul soluțiilor standard de 1 430,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ și 12 880,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Probele au fost solubilizate în DMSO. Concentrația probelor investigate a fost de $1 \cdot 10^{-3}\text{M}$ [24], [25].

6) Pentru determinarea activității antioxidante s-a aplicat metoda spectrofotometrică, în care la soluțiile ce conțin radicali liberi colorați specific (radicalul cation ABTS^+ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolină-6-sulfonat)) se adaugă compușii (4, 4,1-4,6, 5, 5,1-5,6) în concentrații variate și se determină absorbanta. Astfel se măsoară capacitatea substanței de a interacționa cu radicali ABTS^+ . Radicalul ABTS^+ , necesar pentru experiment, a fost format prin reacția între soluția de ABTS de 7 mM cu soluție de persulfat de potasiu, 2,45 mM, incubate la 25 °C la întuneric timp de 12-16 ore. Soluția apoasă ABTS^+ formată a fost diluată cu soluție tampon de acetat salin (0,02 M, pH 6,5). Au fost preparate diluții de compuși (4, 4,1-4,6, 5, 5,1-5,6) în DMSO. După aceea, 20 μL din fiecare diluție a substanței experimentale au fost transferate într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri și 180 μL de soluție de lucru ABTS^+ a fost adăugată cu modulul de distribuire a cititorului hibrid (Synergy H1, Biotek). Acest amestec se agită 15 sec. Schimbarea absorbantei a fost măsurată la lungime de undă de 734 nm după 30 de minute de incubare la 25 °C. Experimentul a fost efectuat în trei repetări. DMSO a fost utilizat ca marker. Troloxul (soluție metanolică de 2 mM) a fost utilizat ca referință în concentrații de diluție variind de la 0,1 până la 100 μM . Partea de radicali ABTS^+ inhibate a fost calculată după formula: $[(A_0 - A_1) / A_0] \cdot 100$, unde A_0 - absorbanta controlului, iar A_1 - absorbanta probei [13].

SINTEZA LIGANZILOR

N(4)-(acetat de etil)tiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetil piridinei (4, 5) au fost obținute conform următoarelor etape (figura 1):

Izotiocianatoacetat de etil (2). Soluția formată din 10,31 g (100 mmol) aminoacetat de etil, 8,40 g (100 mmol) NaHCO_3 în 120 mL apă, se plasează în baia cu gheață pe agitator magnetic. La amestecul obținut se adaugă cu picătura, la agitare, soluția formată din 11,50 g (100 mmol) de CSCl_2 în 50 mL hexan. Se formează la început un intermediar [(clorocarbonotioil)amino]acetat de etil. După adăugarea totală a soluției de CSCl_2 , se mai adaugă 8,40 g (100 mmol) NaHCO_3 . Amestecul se agită timp de 2 ore la 0-10 °C, apoi timp de 1 oră se ridică temperatura până la 60 °C. În acest timp intermediarul se transformă în izotiocianat 2 și se acumulează în hexan. Stratul organic se separă de cel apos și se usucă cu CaCl_2 anhidru. Soluția se plasează în colonița cu silicagel și produsul se purifică cromatografic (eluent: hexan-benzen raport 9:1). După distilarea solventului la presiune redusă (20 mmHg), se obțin 11,20 g. (80 %) izotiocianat 2, p.f. = 104-106 °C (7 mmHg), ce corespunde cu cel din literatură [26].

[(Hidrazincarbonotioil)amino]acetat de etil (3). Soluția obținută din 11,20 g (80 mmol) izotiocianatoacetat de etil 2 în 10 mL de alcool se adaugă cu picătura la soluția etanolică de 4,00 g (80 mmol) monohidrat de hidrazină la temperatura camerei (se observă apariția unui precipitat alb). După adăugarea totală a izotiocianatului amestecul se agită la temperatura camerei timp de o oră. Cromatografic se confirmă consumul total al izotiocianatului 2. Produsul obținut se filtrează și se usucă. Se obțin 11,21 g de tiosemicarbazida 3 cu un randament de 79 %, p.t.=155-156 °C. $R_f = 0,28$ (eluent: benzen - etilacetat, 1:1). **FTIR**(ν_{max} , cm^{-1}): 3345, m, (N-H); 3310, m, (N-H); 3266, p, (N-H, NH_2); 2977, m, as, (C-H, CH_2); 2929, m, si, (C-H, CH_3); 1742, p, (C=O, ester); 1200, p, as, (C-O); 1145, p, si, (C-O); **$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) δ (ppm):** 8,90(s, 1H, N-H), 8,13(s, 1H, N-H), 4,55(s, 2H, NH_2), 4,23, 4,22(d,

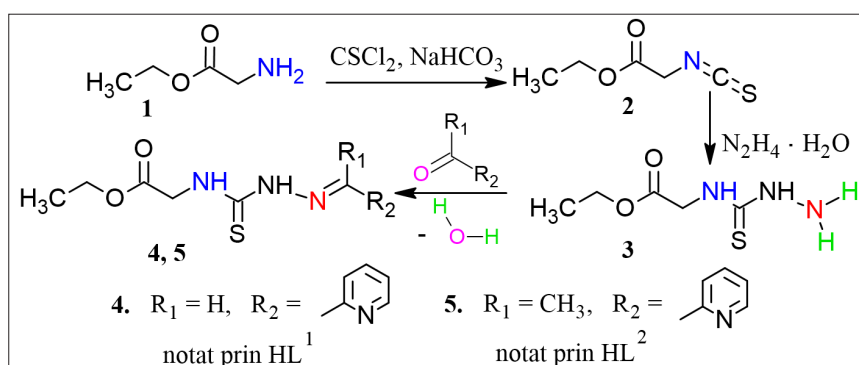


Figura 1. Schema sintezei N(4)-(acetat de etil)tiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetil piridinei 4, 5.

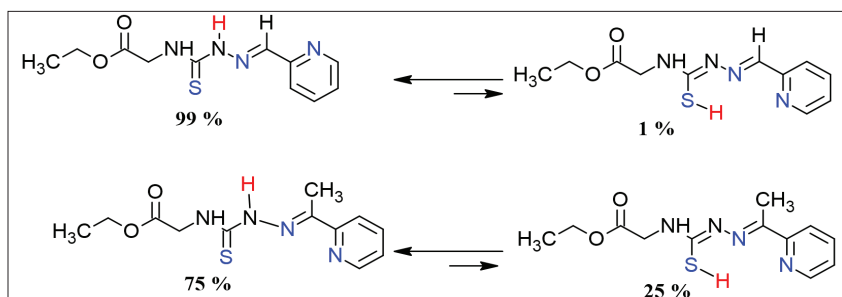


Figura 2. Forme tautomere (tiol, tion) a tiosemicarbazoneilor 4, 5.

2H, CH₂), 4,12, 4,10, 4,08, 4,06(q, 2H, CH₂), 1,21, 1,19, 1,17(t, 3H, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO) δ(ppm): 182,31(C=S), 170,40(C=O), 60,76(CH₂), 45,24(CH₂), 14,59(CH₃).

({2-[(Piridin-2-il)metiliden]hidrazinacarbotoil}amino)acetat de etil (4) (notat prin HL¹). Amestecul format din 6,00 g (33,85 mmol) [(hidrazinacarbotoil)amino]acetat de etil 3 și 3,62 g (33,85 mmol) piridin-2-carbaldehidă în 10 mL etanol și 4 picături de acid acetic glacial se refluxează timp de 3 ore. Se verifică cromatografic consumul tiosemicarbazidei 3, apoi se răcește la 0 °C. Produsul obținut se recrystalizează din etanol. Se obțin: 8,11 g (90 %) HL¹⁴, p.t. = 150-151 °C, solid alb, R_f= 0,70 (benzen:etil acetat, 1:2). FTIR(ν_{\max} , cm⁻¹): 3361, m, (N-H); 3138, s, (C-H, Ar); 2975, m, as, (C-H, CH₂); 2927, m, si, (C-H, CH₃); 1733, p, (C = O, ester); 1516, p, (C = N); 1278, p, as, (C-O); 1200, p, si, (C-O); ρ 623 p (C-H Py). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ(ppm): 14,28(s, 1% H, SH), 11,95(s, 99% 1H, N-H), 9.01 (t, 1H, C-H), 8,59(m, 1H, C-H), 8,23(d, 1H, N-H), 8,13(d, 1H, = C-H), 7,87 (m, 1H, C-H), 7,40(m, 1H, C-H), 4,32(d, 2H, CH₂), 4,14(q, 2H, CH₂), 1,22(t, 3H, CH₃). ¹³CRMN(101 MHz, DMSO) δ(ppm): 178,96(C=S), 169,86(C=O), 153,60(C=N), 149,93, 143,25, 137,06, 124,73, 120,61(C-Ar), 60,97(CH₂), 45,69(CH₂), 14,60(CH₃).

({2-[1-(Piridin-2-il)etiliden]hidrazinacarbotoil}amino)acetat de etil (5) (notat prin HL²). Amestecul format din 4,70 g (26,49 mmol) [(hidrazinacarbotoil)amino]acetat de etil 3 și 3,21 g (26,49 mmol) 1-(piri-

din-2-il)etan-1-onă în 10 mL etanol și 4 picături de acid acetic glacial se refluxează timp de 6 ore (se verifică cromatografic consumul tiosemicarbazidei 3), apoi se diluează cu puțină apă și se răcește la 0 °C. Produsul se recrystalizează din etanol. Se obțin: 6,03 g (81 %) HL², p.t.=140-141 °C, cristale albe, R_f=0,44 (benzen:etil acetat, 1:2). FTIR(ν_{\max} , cm⁻¹): 3370, s, (N-H); 3356, s, (C-H, Ar); 3186, m, as, (C-H, CH₂); 2979, m, si, (C-H, CH₃); 1740, p, (C=O, ester); 1678, p, (C=N); 1204, p, as, (C-O); 1148, p, si, (C-O); ρ 619 p (C-H Py). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ(ppm): 14,69(s, 25 % H, SH), 8,9-27,26(m, 4H, Ar), 8,18(s, 1H, NH), 7,33(s, 75 % H, NH), 4,48(d, 2H, CH₂), 4,24(q, 2H, CH₂), 2,36(s, 3H, CH₃), 1,28(t, 3H, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ(ppm): 178,28(C=S), 169,76(C=O), 152,73(C=N), 147,90 -120,57(C-Ar), 61,72(CH₂), 46,13(CH₂), 22,25(CH₃), 14,15(CH₃).

În spectrele ¹H RMN (solvent DMSO_d) a compușilor 4, 5 se observă semnale dublate care provin de la forme tautomere ale compușilor 4, 5 (figura 2). În spectrul ¹H RMN a tiosemicarbazonei 4 la deplasarea chimică de 14,28 ppm se atestă prezența formei tiolice (S-H) în proporție de 1 %. Forma tautomeră tionică (S = C-N²-H) este confirmată la deplasarea chimică de 11,95 ppm, care este în proporție de 99 %. În cazul tiosemicarbazonei 5, în spectrul ¹H RMN la deplasarea chimică de 14,69 ppm, sunt 25 % forma tautomeră tiol (S-H) și la deplasarea chimică de 7.33 ppm sunt 75 % forma tautomeră tionică (S=C-N²-H). Formele tautomere sunt reprezentate în figura 2.

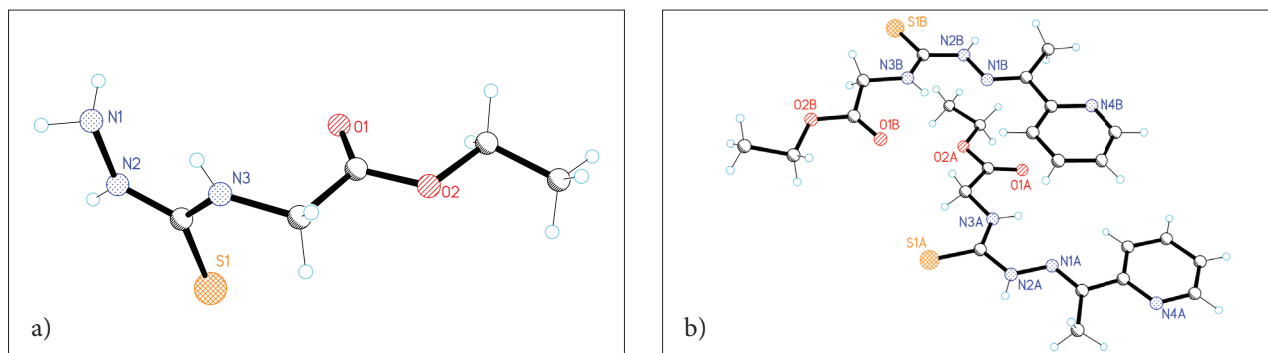


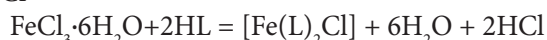
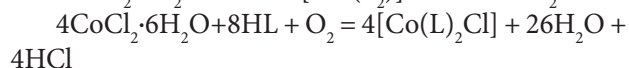
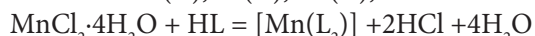
Figura 3. Structura moleculară: a) N(4)-(acetat de etil) tiosemicarbazidei 3; b) N(4)(acetat de etil) tiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei 5.

Structurile compușilor obținuți au fost stabilite cu ajutorul spectroscopiei IR, ^1H RMN și ^{13}C RMN. În spectrele ^1H RMN toți protonii au fost găsiți în regiunile așteptate și sunt prezente doar picurile caracteristice compușilor investigați, ceea ce confirmă puritatea acestora. În cazul compușilor **3** și **5**, la recristalizare din etanol au fost obținute monocristale, care au fost investigate folosind difracția cu raze X pe monocristal (figura 3a, b). Structurile sunt practic planare. La tiosemicarbazona **5**, distanța legăturii între carbon și sulf este de 1,669 Å, ceea ce corespunde legăturii duble.

SINTEZA COMPUȘILOR COORDINATIVI

Compușii organici sintetizați **4** și **5** în continuare au fost utilizați în calitate de liganzi pentru obținerea combinațiilor coordinative ale metalelor 3d (Cu(II), Mn(II), Fe(III) Co(III), Ni(II) și Zn(II)).

Metoda generală de sinteză a combinațiilor coordinative constă în interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (~ 60-65 °C) ale clorurilor de Cu(II), Mn(II), Fe(III) Co(II), Ni(II), Zn(II) cu N(4) acetat de etil tiosemicarbazona 2-formilpiridinei (notat prin HL^1) și N(4) acetat de etil tiosemicarbazona 2-acetilpiridinei (notat prin HL^2), luate în raport molar 1:1 sau 1:2. Reacția decurge timp de 30 min. la agitare și reflux conform următoarelor reacții:



Prođuși reacțiilor de mai sus sunt compușii coordinativi, apa și acidul clorhidric, pH-ul soluției reactante se schimbă de la neutru spre acid, fapt verificat cu ajutorul pH-metrului, valoarea căruia este pH=1-2.

▪ *Exemplu de sinteză a compușilor coordinativi, unde raportul între metal și ligand în complex este de (1:1):*

[Cu(L¹)Cl] (4.1). La soluția ce conține 0,266 g (1 mmol) HL^1 , 20 mL etanol se adaugă soluția formată din 0,171 g (1 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dizolvat în 3 mL etanol. Amestecul reactant se agită și se refluxează timp de 30 min. Se formează treptat un sediment microcristalin de culoare verde. Apoi amestecul ?? se răcește până la temperatura camerei, se filtrează și se usucă până la o masă constantă. Se obțin 0,290 g (80 %).

▪ *Exemplu de sinteză a compușilor coordinativi, unde raportul între metal și ligand în complex este de (1:2):*

[Mn(L¹)₂] (4.2). La soluția ce conține 0,532 g (2 mmol) HL^1 , 20 mL etanol se adaugă soluția formată din 0,198 g (1 mmol) $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dizolvat în 2 mL EtOH. Amestecul reactant se agită și se refluxează la 80 °C timp de 30 min. Se formează treptat sedimentul microcristalin de culoare portocalie. Apoi se răcește până la temperatura camerei, se filtrează și se usucă. Se obțin 0,580 g (99 %).

Au fost obținute 12 combinații coordinative cu randamente de 80-99 %, acestea fiind cercetate cu ajutorul conductivității, analizei titrimetrică la metal și spectroscopiei IR. Datele acestor cercetări sunt prezentate în (tabelul 1).

Tabelul 1

Randamentul, analiza la metal și conducivitate a combinațiilor coordinative metalelor 3d cu N(4)-(acetat de etil) tiosemicarbazone 2-formil și 2-acetil piridinei (HL^1 , HL^2)

Nr.	Complexul	Culoarea	Formula moleculară	η %	Analiza la metal, azot (calculat/determinat)	C $\mu\text{S/cm}$
4.1	[Cu(L ¹)Cl]	verde	C ₁₁ H ₁₃ ClCuN ₄ O ₂ S	80	17,4; 15,4/17,3; 15,5	54,8
4.2	[Mn(L ¹) ₂]	oranj	C ₂₂ H ₂₆ MnN ₈ O ₄ S ₂	99	9,4; 19,1/9,5; 19,0	20,6
4.3	[Fe(L ¹) ₂]Cl	verde	C ₂₂ H ₂₆ ClFeN ₈ O ₄ S ₂	98	9,0; 18,0/8,9; 18,1	130,5
4.4	[Co(L ¹) ₂]Cl	verde	C ₂₂ H ₂₆ ClCoN ₈ O ₄ S ₂	97	9,4; 17,9/9,3; 17,9	120,6
4.5	[Ni(L ¹)Cl]	roșu-bordo	C ₁₁ H ₁₃ ClNiN ₄ O ₂ S	99	16,3; 15,6/16,4; 15,5	41,3
4.6	[Zn(H ₂ O)(L ¹)Cl]	galben	C ₁₁ H ₁₅ ClN ₄ O ₃ SZn	81	17,0; 14,6/17,1; 14,6	12,9
5.1	[Cu(L ²)Cl]	verde	C ₁₂ H ₁₅ ClCuN ₄ O ₂ S	95	16,8; 14,8/16,7; 14,7	50,2
5.2	[Mn(L ²) ₂]	oranj	C ₂₄ H ₃₀ MnN ₈ O ₄ S ₂	98	9,0; 18,3/8,9; 18,2	15,8
5.3	[Fe(L ²) ₂]Cl	verde	C ₂₄ H ₃₀ ClFeN ₈ O ₄ S ₂	80	8,6; 17,2/8,5; 17,3	129,3
5.4	[Co(L ²) ₂]Cl	verde	C ₂₄ H ₃₀ ClCoN ₈ O ₄ S ₂	82	9,0; 17,2/9,1; 17,1	123,6
5.5	[Ni(L ²)Cl]	roșu-bordo	C ₁₂ H ₁₅ ClNiN ₄ O ₂ S	80	15,7; 15,0/15,6; 15,1	46,3
5.6	[Zn(H ₂ O)(L ²)Cl]	galben	C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ O ₃ SZn	82	16,4; 14,1/16,3; 14,0	14,7

Notă: C – conductivitate, DMSO (solvent) $\mu\text{S/cm}$.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Din datele analizei titrimetrică la metal (tabelul 1) observăm că raportul dintre metal și ligand în complex este de 1:1 în cazul $[\text{Cu}(\text{L}^{1,2})\text{Cl}]$, $[\text{Ni}(\text{L}^{1,2})\text{Cl}]$, $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^1)\text{Cl}]$ și de 1:2 în cazul $[\text{Mn}(\text{L}^{1,2})_2]$, $[\text{Fe}(\text{L}^{1,2})_2\text{Cl}]$, $[\text{Co}(\text{L}^{1,2})_2\text{Cl}]$.

Datele conductometriei în soluție egale aproximativ cu $120 \mu\text{S}/\text{cm}$ ne confirmă că complexii $[\text{Fe}(\text{L}^{1,2})_2]\text{Cl}$, $[\text{Co}(\text{L}^{1,2})_2]\text{Cl}$ sunt electroliți de tip 1:1 ionici, iar cele egale cu $50 \mu\text{S}/\text{cm}$ ne confirmă faptul că complexii $[\text{Cu}(\text{L}^{1,2})\text{Cl}]$, $[\text{Mn}(\text{L}^{1,2})_2]$, $[\text{Ni}(\text{L}^{1,2})\text{Cl}]$, $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^1)\text{Cl}]$ sunt neelectroliți (tabelul 2).

Tabelul 2

Datele spectrelor IR ale combinațiilor coordinative ale metalelor 3d cu N(4)-(acetat de etil) tiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetil piridinei (HL¹, HL²)

Nr.	Compuși	Benzi de absorbție în domeniul IR (cm ⁻¹)					
		ν (M-S)/(M-N)	ρ (py în plan)	ν (C-S)	ν (=N-N=)	ν (C=S)	ν (C=N)
	HL ¹	-/-	623	-	-	1294/820	1586
4.1	$[\text{Cu}(\text{L}^1)\text{Cl}]$	417/516	647	716	1019	-	1572
4.2	$[\text{Mn}(\text{L}^1)_2]$	419/515	661	748	1023	-	1561
4.3	$[\text{Fe}(\text{L}^1)_2]\text{Cl}$	423/515	703	759	1022	-	1572
4.4	$[\text{Co}(\text{L}^1)_2]\text{Cl}$	434/510	667	742	1088	-	1578
4.5	$[\text{Ni}(\text{L}^1)\text{Cl}]$	424/514	635	744	1015	-	1561
4.6	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^1)\text{Cl}]$	416/516	637	719	1017	-	1559
	HL ²	-/-	619	-	-	1297/880	1678
5.1	$[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Cl}]$	413/524	638	745	1021	-	1563
5.2	$[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$	411/472	641	747	1017	-	1550
5.3	$[\text{Fe}(\text{L}^2)_2]\text{Cl}$	413/515	644	744	1022	-	1551
5.4	$[\text{Co}(\text{L}^2)_2]\text{Cl}$	414/519	650	743	1015	-	1559
5.5	$[\text{Ni}(\text{L}^2)\text{Cl}]$	419/503	639	738	1019	-	1507
5.6	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^2)\text{Cl}]$	412/519	634	745	1200	-	1557

Notă: ν și ρ denotă întindere, îndoire și deformare; py – piridină.

În spectrele IR a complexilor sintetizați apar benzi de absorbție noi cum ar fi: $\nu(\text{M-S}, \text{M-N}, 413, 520)$, ce lipsesc în spectrele liganzilor, $\rho(\text{py}$ în plan, $640, \text{cm}^{-1}$) ai complexilor se deplasează la numere de undă mai mari în comparație cu ligandul necoordinat $\rho(\text{py}$ în plan, $620, \text{cm}^{-1}$). În spectrele complexilor apar benzi noi $\nu(\text{C-S}, =\text{N}=\text{N}=\text{N}=\text{N}=\text{N}, 740, 1020 \text{ cm}^{-1})$ ce lipsesc în spectrul ligandului și dispar benzile de absorbție caracteristice $\nu(\text{C=S},$

$1294/820)$ ce sunt prezente în spectrele liganzilor. În spectrele complexilor, grupa funcțională azometină $\nu(\text{C=N}, 1550 \text{ cm}^{-1})$ se deplasează la lungimi de undă mai mici în comparație cu ligandul necoordinat $\nu(\text{C=N}, 1600 \text{ cm}^{-1})$. Conform datelor obținute, putem presupune că ligandul coordonează tridentat la atomul central, prin intermediu atomului de azot piridinic, azot azometinic și sulf tiolic, formând două metalocicluri din 5 atomi (figura 4).

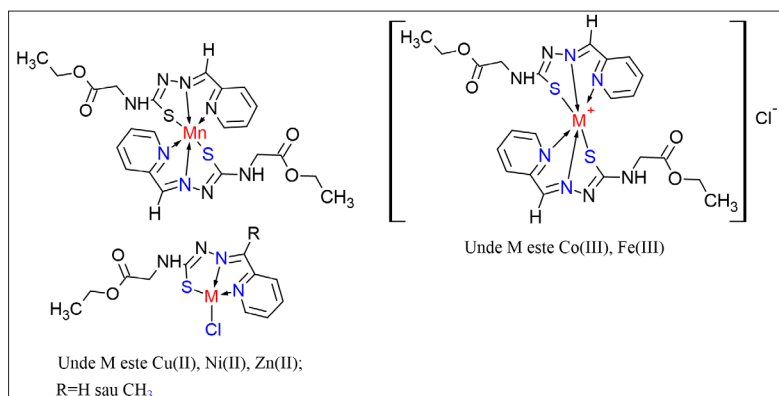


Figura 4. Modalități de coordonare a N(4)-(acetat de etil) tiosemicarbazonele 2-formil și 2-acetil piridinei (HL¹, HL²).

Tabelul 3

Datele activității antioxidative a compușilor sintetizați prin intermediul metodei ABTS

Cod	Formula	% inh, 100 $\mu\text{M} \pm \text{SD}$	% inh, 10 $\mu\text{M} \pm \text{SD}$	% inh, 1 $\mu\text{M} \pm \text{SD}$	IC ₅₀ $\mu\text{M} \pm \text{SD}$
4	HL ¹	70,19±0,54	9,83±0,25	3,22±0,09	52,83±0,35
4.1	[Cu(L ¹)Cl]	12,11±0,34	11,11±0,13	5,83±0,14	-
4.2	[Mn(L ¹) ₂]	77,92±1,42	13,11±0,25	3,25±0,09	40,41±0,93
4.3	[Fe(L ¹) ₂]Cl	76,28±1,00	32,36±0,59	6,00±0,15	24,65±0,66
4.4	[Co(L ¹) ₂]Cl	37,25±2,67	10,00±0,14	2,94±0,08	≥100
4.5	[Ni(L ¹)Cl]	96,28±0,13	14,28±0,05	3,39±0,09	22,75±0,06
4.6	[Zn(H ₂ O)(L ¹)Cl]	77,31±0,93	15,92±0,36	3,31±0,09	37,70±0,67
5	HL ²	72,56±0,46	12,14±0,10	4,36±0,12	46,76±0,47
5.1	[Cu(L ²)Cl]	5,04±0,12	9,28±0,13	6,22±0,13	-
5.2	[Mn(L ²) ₂]	80,39±0,91	18,08±0,36	4,69±0,12	32,10±0,56
5.3	[Fe(L ²) ₂]Cl	28,03±0,78	15,00±0,40	5,94±0,14	≥100
5.4	[Co(L ²) ₂]Cl	38,00±0,55	16,22±0,15	7,69±0,21	≥100
5.5	[Ni(L ²)Cl]	95,53±0,54	34,56±0,09	7,42±0,14	15,05±0,10
5.6	[Zn(H ₂ O)(L ²)Cl]	70,16±0,57	9,73±0,14	3,15±0,05	51,35±0,45

Notă: IC₅₀ – concentrația semi-maximă de inhibiție.

Pentru a determina dacă compușii sintetizați au proprietăți antioxidante și pe cât de prețioase sint ele, compușii sunt comparați cu antioxidanți utilizați în medicină, de exemplu: Rutin, a cărui IC₅₀ este de 41,1 μM și Trolox 39,8 μM – antioxidanți pronunțați luați în calitate de martor. IC₅₀ pentru liganzi: HL¹ – 52,83 μM , HL² – 46,76 μM este aproape similar cu cel al substanțelor Trolox și Rutin. Cele mai pronunțate proprietăți antioxidante dintre combinațiile coordinative sintetizate le posedă [Ni(L²)Cl], a cărui IC₅₀ = 15,05 μM depășește de trei ori activitatea ligandului necoordinat și aproximativ de 2,5 ori activitatea antioxidantă a substanțelor de referință Rutin și Trolox,

CONCLUZII

Au fost obținute trei substanțe organice noi: [(hidrazincarbotoil)amino]acetat de etil (3); ({2-[(Piridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotoil}amino)acetat de etil (4) (notat prin HL¹); ({2-[1-(Piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoil}amino)acetat de etil (5) (notat prin HL²). În baza tiosemicarbazonelor obținute (4 și 5), au fost sintetizate 12 combinații coordinative noi.

Formulele structurale ale compușilor obținuți au fost confirmate cu ajutorul spectroscopiilor IR, ¹H-RMN și ¹³C-RMN, conductivității și analizei elementale. În spectrele ¹H-RMN sunt observate două forme tautomere a tiosemicarbazonelor: tion și tiol.

Datele analizei conductimetrice în soluție sunt aproximativ egale cu 120 $\mu\text{S}/\text{cm}$ și confirmă astfel că

complecșii [Fe(L^{1,2})₂]Cl, [Co(L^{1,2})₂]Cl sunt ionici, iar cele egale cu 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ne confirmă faptul că complecșii [Cu(L^{1,2})Cl], [Mn(L^{1,2})₂], [Ni(L^{1,2})Cl], [Zn(H₂O)(L¹)Cl] sunt neelectroliti. Cu ajutorul analizei titrimetrice la metal s-a determinat raportul dintre metal și ligand în complex, acesta în cazul complecșilor cu ionul central Cu, Ni, Zn fiind de 1:1, iar în cazul complecșilor cu ionul central Mn, Co, Fe este de 1:2.

În cazul N(4)-(acetat de etil)tiosemicarbazidei (3) și N(4)(acetat de etil)tiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei (5) la recristalizare din etanol s-au obținut monocristale care au fost cercetate cu ajutorul difracției cu raze X pe monocristal. Structurile sunt practic planare. La tiosemicarbazona 5, distanța legăturii între carbon și sulf este de 1,669 Å, ceea ce corespunde legăturii duble.

Cele mai pronunțate proprietăți antioxidante le manifestă compusul coordinativ [Ni(L²)Cl], a cărui valoare IC₅₀ = 15,05 μM este de trei ori mai mare decât valoarea IC₅₀ a ligandului necoordinat și activitatea antioxidantă este aproximativ de 2,5 ori mai mare decât a substanțelor de referință Rutin și Trolox.

BIBLIOGRAFIE

1. Graur V. RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL privind executarea proiectului de cercetări științifice fundamentale în cadrul concursului de proiecte independente pentru tineri cercetători pentru anul 2019. Proiectul (titlul) Elaborarea inhibitorilor moleculari de proliferare a celulelor de cancer de proveniență organică în baza sărurilor unor tiosemicar-

bazone N(4)-substituie. Cifrul Proiectului 19.80012.02.02F. pp. 1-28.

2. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis, in: *British journal of experimental pathology*, 70 (6), 1989, 737.

3. Trinity J.D., Ryan M. Broxterman, and Russell S. Richardson, Regulation of exercise blood flow: role of free radicals, in: *Free Radical Biology and Medicine* 98, 2016, 90-102.

4. Bayraktutan U. Free radicals, diabetes and endothelial dysfunction, in: *Diabetes Obesity and Metabolism* 4,4, 2002, 224-238.

5. Smallwood M.J., et al. Oxidative stress in autoimmune rheumatic diseases, in: *Free Radical Biology and Medicine* 125, 2018, 3-14.

6. Biswas S., Rintu D., and Ena R.B. Role of free radicals in human inflammatory diseases, in: *Aims Biophysics* 4,4, 2017, 596-614.

7. Andrade Júnior D.R.D., Souza R. B. D., Santos S. A. D., & Andrade D.R.D. Oxygen free radicals and pulmonary disease, in: *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 2005, 31, 60-68.

8. Dreher D., & Junod A. F. Role of oxygen free radicals in cancer development, in: *European Journal of cancer*, 32(1), 1996, 30-38.

9. Harman D. (2006). Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span, in: *Annals of the New York academy of sciences*, 1067(1), 2006, 10-21.

10. Santo A., Zhu H., & Li Y. R. (2016). Free radicals: From health to disease. *React. Oxyg. Species*, 2, 245-263.

11. Mathew B. B., Tiwari A., & Jatawa S. K. Free radicals and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 2011, 4340-4343.

12. Hamid A.A., et al. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications, in: *African Journal of pure and applied chemistry* 4.8 (2010): 142-151.

13. Gulea A., Usataia I., Garbuz O., Graur V., Țapcov V., Gudumac V. Brevet de invenție: Utilizarea saliciliden-4-alil-S-metilizotiosemicarbazidaților de fier(III) și cobalt(III) în calitate de antioxidanți. MD 4527 C1 2018.06.30.

14. Joseph M., Srekanth A., Suni V., Kurup MR. Spectral characterization of iron(III) complexes of 2-benzoylpyridine N(4)-substituted thiosemicarbazones, in: *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2006 Jun; 64(3):637 p. 41, doi: 10.1016/j.saa.2005.07.067.

15. Gulea A., Toderas I., Garbuz O., Ulchina I., Graur V., and 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, in: *Microscopy and Microanalysis*, pp. 1-7. 2022, doi: 10.1017/S1431927622000733.

16. Garbuz O., Toderash I., Railyan N., Tsapkov V.I.; Gulea A. Some inorganic and organic biological agents, in: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii)*. 2021, nr. 6(146), pp. 132-140.

17. Gulea A.P., Graur V.O., Ulchina I.I. et al. Synthesis, Structure, and Biological Activity of Mixed-Ligand Amine-Containing Copper(II) Coordination Compounds with 2-(2-Hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl)hydrazine-carbothioamide, in: *Russ J Gen Chem* 91, 2021, pp. 98-107, doi:10.1134/S1070363221010114.

18. Mathews N.A., Kurup M.R.P. In vitro biomolecular interaction studies and cytotoxic activities of copper (II) and zinc (II) complexes bearing ONS donor thiosemicarbazones, in: *Applied Organometallic Chemistry*. 2021, t. 35, no. 1, p. e6056.v, doi.org: 10.1002/aoc.6056

19. Matsui M., Kitahara T. Studies on Chrysanthemic Acid: Part XVIII. A New Biologically Active Acid Component Related to Chrysanthemic Acid, in: *Agricultural and Biological Chemistry*. 1967. T. 31, no. 10, pp. 1143-1150.

20. Fries J., Getrost H., and Merck D. E., *Organic Reagents for Trace Analysis*, E. Merck, Darmstadt, Germany, 1977.

21. Nakamoto K. *IK spektry i spektry KR neorganicheskikh i koordinatsionnykh soedineniy*. Per. s angl. Mir, 1991.

22. Nyquist R.A. *Interpreting infrared, Raman, and nuclear magnetic resonance spectra*. Academic Press, 2001.

23. Sheldrick G.M., *Foundations and Advances SHE-LXT-Integrated space-group and crystal-structure determination*, in: *Acta Cryst*, vol. 71, 2015, pp. 3-8, doi: 10.1107/S2053273314026370.

24. Wagner H. Influence of Temperature on Electrical Conductivity of Diluted Aqueous Solutions, in: *Power Plant Chem.*, vol. 14, no. 147, 2012, pp. 1-15.

25. Geary W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds, in: *Coord. Chem. Rev.*, vol. 7, Oct. 1971. pp. 81-122, doi: 10.1016/S0010-8545(00)80009-0.

26. Sigma-Aldrich. Ethyl isothiocyanatoacetate. [online] <https://www.sigmaaldrich.com/MD/en/product/aldrich/279692> (consultat: 06.07.2022).

NOTĂ. Articol elaborat în cadrul proiectului *Produce noi, inovative cu performanțe remarcabile în medicină (biofarmaceutică). Elucidarea mecanismelor moleculare și celulare ale acțiunii acestor produse noi și argumentarea folosirii lor la eficientizarea tratamentului unor patologii*, Cifrul: 20.80009.5007.10

Mulțumim domnului doctor în științe chimice Alic Barbă pentru contribuția sa la acest studiu – înregistrarea spectrelor RMN ale substanțelor sintetizate.