

# AGENȚII NOI ANTI-HIV PE BAZĂ DE ISATINĂ, SCLAREOL ȘI LEUCINĂ

DOI: 10.5281/zenodo.3631301  
CZU: 542.05:615.31:616.98:575.821HIV

Cercetător științific **Dmitrii BILAN**

E-mail: dmibilan@yandex.ru

Doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător **Fliur MACAEV**, laureat al Premiului AȘM 2018 „Nicolae Gărbălău”

E-mail: flmacaev@cc.acad.md flmacaev@gmail.com

Institutul de Chimie

## NEW ANTI-HIV AGENTS BASED ON ISATINE, SCLAREOL AND LEUCIN

**Summary.** Synthesis of optic active hybrid compounds derivatives of oxindole has been performed via condensation of isatin with photosensible *p*-acetoazobenzene and transformational products of sclareol and leucine. It has been demonstrated that cytotoxicity of the sesquiterpenoids derivatives based on (+)-sclareol diminishes at change from the five-membered lactamic ring to diole, as well as at the change of nature of the bicyclic fragment, while increases at the change from the multisubstituted derivative of oxindole with a pyrrole fragment. The lowest cytotoxicity has been detected for acetoacetate **11**, which is comparable to that of the azoderivative **4a** with values  $CC_{50}$  (cytotoxicity concentration 50 %) 0.0315 and  $CC_{50} = 0.0301$  mM, respectively, while the hybrid compound based on leucine has a twice lower toxicity ( $CC_{50}$  0.0116 mM). It has been established that the compound **5a** has affected the human immunodeficiency virus (HIV) replication at 24 times lower concentrations  $IC_{50}$  (inhibitory concentration 50 %) 0.0031 mM than the antiretroviral agent didanosine ( $IC_{50}$  0.075 mM), a reverse transcriptase inhibitor used in the HIV therapy.

**Keywords:** isatin, diterpenoids sclareol, leucine, cytotoxicity, anti-HIV.

**Rezumat.** A fost efectuată sinteza compușilor hibridi optici din rândul oxindolilor prin condensarea isatinei cu *p*-acetoazobenzenă fotosensibilă și produse de transformare a diterpenoidului sclareol și leucină. S-a demonstrat că citotoxicitatea derivaților sesquiterpenelor pe bază de (+)-sclareol se reduce la trecerea de la pentaciclu lactamic la diol, se diminuează la modificarea naturii fragmentului biciclic și crește la trecerea spre derivatul polifuncționalizat al oxindolului cu fragment de pirol. Cea mai mică citotoxicitate o posedă acetoacetatul **11** și aceasta este comparabilă cu cea a azoderivatului **4a** cu valorile  $CC_{50} = 0,0315$  și  $CC_{50}$  0,0301 mM, respectiv, în timp ce compusul hibrid pe baza de leucină are o toxicitate de două ori mai mică (valorile  $CC_{50}$  0,0116 mM). După cum s-a stabilit, compusul **5a** a afectat replicarea virusului HIV la concentrații de 24 de ori mai mici ( $IC_{50}$  0,0031 mM) decât remediu antiretroviral didanozină ( $IC_{50}$  0.075 mM) din grupul inhibitorilor reverse transcriptazei utilizat în terapia HIV.

**Cuvinte-cheie:** isatină, diterpenoidă sclareol, leucină, citotoxicitate, anti-HIV.

## INTRODUCERE

Actualmente chimia compușilor organici de origine naturală devine o știință integrală. Obiectivele ei coincid cu cele ale medicinei contemporane în domeniul identificării noilor substanțe cu activitate anti-HIV [1]. Această abordare, cu tradiții în elaborarea medicamentelor noi, este una actuală, servind drept bază pentru obținerea analogilor sintetici ai substanțelor naturale cu o activitate superioară.

Deși un progres evident se atestă, chimia substanțelor organice naturale cu activitate anti-HIV rămâne un domeniu puțin studiat [2]. Diterpenoid labdanic sclareolul, izolat din deșeurile rămase în urma obținerii uleiului volatil de salvie tămâioasă *Salvia sclarea* L., molecula căruia include multe centre optice active, oferă posibilități vaste de sinteză a compușilor biologic

activi noi [3]. Din multitudinea compușilor terpenici, sesquiterpenoidele prezintă un interes deosebit datorită unui spectru larg de activitate biologică.

În ultimele decenii chimia medicinală a acumulat un șir de exemple de elaborare a hibridilor compușilor naturali cu fragmente heterociclice care au permis amplificarea activității lor biologice intrinsece [4-6]. Concomitent, dezvoltarea cu succes a chimiei oxindolelor a fost determinată de numeroase cercetări privind extragerea acestora din sursele naturale, sinteza compușilor noi și căutarea noilor compuși fiziologic activi. Studiul caracteristicilor chimice și stereochemice ale oxindolelor polifuncționalizate, proprietăților lor fizico-chimice și legităților de formare necesită elaborarea unor metode simple și eficiente de sinteză a izomerilor și izomerilor geometrici ai compușilor aceștia. Una dintre cele mai accesibile și univer-

sale strategii de sinteză a oxindolilor funcționalizați se bazează pe aplicarea reacțiilor de transformare a isatinelor în derivații heterociclici oxindolici [7]. Principalele avantaje de utilizare a isatinelor sunt accesibilitatea lor, unicitatea structurii și în multe cazuri – activitatea biologică pronunțată.

Este important de menționat că un loc aparte în rândul heterociclicurilor azotați aparține pirolilor, interesul față de care este legat de rolul lor unic în organismele vii. Pirolii naturali și sintetici, la fel ca și analogii lor hetero și carboxi, manifestă un spectru larg de activitate biologică.

Azobenzenele au atras o atenție deosebită prin faptul că ele sunt supuse transformărilor chimice fotoreversibile ale configurației *trans* în configurația *cis* dezavantajată din punct de vedere termodinamic [8]. Reacția opusă poate fi inițiată cu o altă lungime de undă. În contextul biologic, fotocromismul respectiv a fost valorificat pentru obținerea inhibitorilor enzimelor și a canalelor ionice. În legătura cu aceasta, identificarea metodelor sintetice de obținere a materialelor hibride optic active cu fragmente de isatină **1a** comportă un interes practic, cum ar fi terapia fotodinamică bazată pe aplicarea substanțelor fotosensibile din grupul azobenzenele, precum și a luminii de o anumită lungime de undă.

## MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Au fost utilizate o serie de metode fizico-chimice de cercetare și de caracterizare structurală a compușilor noi sintetizați. Temperaturile de topire au fost determinate la aparatul "Boetius", unghiurile de rotație specifică  $[\alpha]_D$  – la polarimetrul Jasco P-2000 în CHCl<sub>3</sub>. Spectrele IR s-au înregistrat la spectrofotometrul "Perkin Elmer Spectrum100 FT-IR". Spectrele <sup>1</sup>H și <sup>13</sup>C RMN au fost înregistrate la spectrometrul "Avance III Bruker 400" (400, 100 și 40 MHz). Monitorizarea procesului reacțiilor s-a realizat cu ajutorul cromatografierii în strat subțire (CSS) pe plăci de Silufol, dezvoltate în vapori de I<sub>2</sub>. Pentru cromatografie pe coloană s-a utilizat silicagel L 100/400 μm sau silicagel 60 Fluka. Extractele au fost uscate cu MgSO<sub>4</sub> anhidru. Solvenții din extracte și amestecurile reactante au fost distilate la presiune joasă. Substanțele și reagenții chimici sunt comercial accesibili și au fost utilizați fără purificare suplimentară. Toți solvenții au fost purificați prin tehnici standard și uscați înainte de utilizare. Spectrele s-au înregistrat la spectrofotometrul Specord UV-VIS în cuvă din cuarț cu grosimea stratului de absorbție 1,97 mm la diluțiile 1:20, 1:50, 1:80, 1:110 și 1:130 cu indicarea proporției de diluție. Datele analizei elementelor tuturor compușilor corespund celor calculate.

## Metoda generală de alchilare a isatinelor

Isatina (0,01 mol) a fost solubilizată în 7,5 ml dimetilformamidă (DMF), s-a adăugat K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,025 mol) și amestecul a fost supus agitării timp de 5 minute, după care s-a adăugat halogenură de alchil respectivă (0,0105 mol). Agitarea a continuat la 50 °C timp de câteva ore (control prin CSS). La sfârșitul reacției (lipsa compusului inițial) amestecul reactant a fost turnat în apă cu gheață și la o agitare intensă s-a adăugat soluția acidului sulfuric sau clorhidric (până la pH≈3). Precipitatul format a fost filtrat, spălat pe filtru de 3 ori cu apă și uscat. Dacă randamentul este insuficient, se efectuează extracția adăugătoare cu etilacetat, după care extractul se spală cu apă, se usucă de asupra sulfatului de sodiu anhidru, iar solvenții se evaporă. Dacă produsul conține impurități, acesta poate fi recristalizat din etanol.

**N-Butilindolin-2,3-dionă 1b.** Cristale de culoare oranjînchis. Punctul de topire (Pt.) 38 °C. Randamentul 94 %. Agentul alchilant: C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>Br. Spectru în IR, (ν/cm<sup>-1</sup>): 2939,6 (aromatic), 2877,4 (CH<sub>3</sub>), 717,8 (aromatic), 705,8 (aromatic). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 1,28 t (3H, H-10, J=7,6 Hz), 3,75 q (2H, H-9), 6,89 d (1H, H-3, J=7,8 Hz), 7,08 t (1H, H-5, J=7,5 Hz), 7,55 d (2H, H-4, H-6, J=7,3 Hz). Spectru RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 183,7 (C8), 158,1 (C1), 151,0 (C2), 138,3 (C7), 125,4 (C5), 123,6 (C4), 117,5 (C3), 110,2 (C6), 40,0 (N-CH<sub>2</sub>), 29,2 (N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 20,1 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 13,6 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>). S-a calculat, %: C, 70,92; H, 6,45; N, 6,89; O, 15,74. C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. S-a depistat, %: C, 70,62; H, 6,21; N, 6,96.

**N-octilindolin-2,3-dionă 1c.** Cristale roșii. Pt. 37-38 °C. Randamentul 76 %. Agentul alchilant: C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>I. Spectru în IR (ν/cm<sup>-1</sup>): 2913,2 (aromatic), 2847,6 (CH<sub>3</sub>), 1465,0 (CH<sub>3</sub>), 1350,6 (CH<sub>3</sub>), 721,8 (aromatic), 703,0 (aromatic). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 7,62 – 7,54 suprapun. (2H), 7,10 td (1H, H-5, J=7,6, 1,0), 6,89 dt (1H, H-7, J=8,0, 1,0), 3,70 t (2H, N-CH<sub>2</sub>, J=7,4), 1,74 – 1,16 suprapun, CH<sub>2</sub> grup, (12H), 0,91 – 0,81 m (3H, CH<sub>3</sub>). Spectru NMR <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 183,8 (C8), 158,3 (C1), 151,3 (C2), 138,4 (C7), 125,5 (C5), 123,7 (C4), 117,8 (C3), 110,3 (C6), 40,4 (N-CH<sub>2</sub>), CH<sub>2</sub> grup: 31,9, 29,3, 29,2, 27,4, 27,0, 22,7, 14,2 (CH<sub>3</sub>). S-a calculat, %: C, 74,10; H, 8,16; N, 5,40; O, 12,34. C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>. S-a depistat, %: C, 74,08; H, 8,20; N, 5,37.

## Metoda de obținere a p-acetobenzenei 3

La 6,75 g (0,05 mol) p-aminoacetofenonă s-a adăugat 13,5 ml acid clorhidric concentrat și 100 ml apă. Amestecul a fost introdus în baia de apă. La amestecul răcit s-a adăugat soluția de nitrit de sodiu (3,5 g (0,05 mol) NaNO<sub>2</sub> în 15 ml apă) prin pică-

turi, cu menținerea temperaturii în limitele 0-5 °C. În continuare, amestecul se menține în baie timp de 15 min, apoi se adaugă picurat soluția de fenol (4,7 g (0,05 mol) în 30 ml metanol). Reacția se menține timp de 30 min. Amestecul reactant a fost neutralizat cu acetat de sodiu, lăsat la temperatura camerei timp de o oră, după care i s-a adăugat un volum triplu de soluție saturată de sare. Amestecul a fost lăsat peste noapte pentru acumularea precipitatului. Precipitatul format a fost supus filtrării, spălării cu apă distilată și uscării. Au fost obținute 11,5 g (96%) de produs. Acesta reprezintă un compus solid de culoare oranj fără miros, care are un Pt.=192-196 °C. Spectru în IR( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3267,8 (OH), 2988,8 (aromatic), 1659,7 (CO), 1467,2 ( $\text{C}\underline{\text{H}}_3$ ), 1356,6 ( $\text{CO}-\text{C}\underline{\text{H}}_3$ ), 1467,2 ( $\text{CH}_3$ ), 1382,5 ( $\text{CH}_3$ ). Spectru RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm, J/Hz): 8,09 d (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{C}\underline{\text{H}}$ ,  $J = 8,4$ ), 7,87 d (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{C}\underline{\text{H}}$ ,  $J = 8,4$ ), 7,83 d (2H,  $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}-\text{C}\underline{\text{H}}$ ,  $J = 8,8$ ), 6,95 d (2H,  $\text{HO}-\text{C}-\text{C}\underline{\text{H}}$ ,  $J = 8,8$ ), 2,60 s (3H,  $\text{CO}-\text{C}\underline{\text{H}}_3$ ). Spectru  $^{13}\text{C}$  RMN (101 MHz, DMSO)  $\delta$  197,90 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161,92 ( $\text{C}-\text{OH}$ ), 154,83 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{C}$ ), 145,65 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{C}$ ), 137,77 ( $\text{CO}-\text{C}$ ), 129,81 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}$ ), 125,67 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ), 122,47 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ), 116,39 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}$ ), 27,13 ( $\text{CO}-\text{C}\underline{\text{H}}_3$ ). Spectru RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO)  $\delta$  197,90 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161,92 ( $\text{C}-\text{OH}$ ), 154,83 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{C}$ ), 145,65 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{C}$ ), 137,77 ( $\text{CO}-\text{C}$ ), 129,81 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}$ ), 125,67 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ), 122,47 ( $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ), 116,39 ( $\text{HO}-\text{C}-\text{CH}$ ), 27,13 ( $\text{CO}-\text{C}\underline{\text{H}}_3$ ). S-a calculat, %: C, 69,99; H, 5,03; N, 11,66; O, 13,32,  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ . S-a depistat, %: C, 71,05; H, 5,51; N, 10,89.

#### Metoda generală de condensare aldolică a isatinelor cu *p*-acetoazobenzen

Isatina (0,01 mol) se dizolvă la amestecarea și încălzirea ușoară în etanol (la 1 g isatină 10 ml etanol), se adaugă catalizatorul dietil- sau trietilamină (0,001 mol) și se amestecă timp de 5 min, preventiv deconectând încălzirea. În amestecul reactant se adaugă o cantitate echimolară de *p*-acetoazobenzen (0,01 mol) și se agită la temperatura camerei timp de 12 ore. La sfârșitul reacției (control după CSS) conținutul balonului se toarnă în soluția de sare saturată. Precipitatul format se filtrează, se spală cu apă și se usucă.

#### Metoda generală de dehidratare a alcoolilor

La alcoolul respectiv se adaugă acidul acetic glacial și se încălzește. Dacă substanța nu s-a dizolvat, se mai adaugă acidul acetic până la solubilizarea totală. Încălzirea se deconectează și se adaugă 2-3 picături de acid clorhidric (densitatea 1,18 g/cm<sup>3</sup>) la agitare. Amestecul se lasă la temperatura camerei până la răci-

re, se toarnă peste gheață și se neutralizează mai întâi cu soluția alcalină, iar ulterior cu hidrocarbonat de sodiu până la pH neutru. Precipitatul format se filtrează, se spală de patru ori cu apă și se usucă.

#### 3-(2-Oxo-2-feniletiliden)indolin-2-onă 12

Cristale roșii. Pt. 196-197 °C. Randamentul 96 %. Spectru în IR, ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 779, 3440 (C=C), 1682, 3085 (amidă), 1708 (C=O), 1604 (aromatic). Spectru RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm, J/Hz): 6,90 d (1H, H-3,  $J=7,8$  Hz), 6,95 t (1H, H-5,  $J=7,7$  Hz), 7,34 t (1H, H-4,  $J=7,7$  Hz), 7,60 t (2H, H-13, H-15,  $J=7,8$  Hz), 7,70 t (2H, H-9, H-14,  $J=3,7$  Hz), 7,96 d (1H, H-6,  $J=7,5$  Hz), 8,05 d (2H, H-12, H-16,  $J=7,7$  Hz), 10,83 s (1H, NH). Spectru RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 110,9 (C3), 120,3 (C7), 122,4 (C5), 126,7 (C9), 127,0 (C6), 129,0 (C12, C16), 129,7 (C13, C15), 133,5 (C4), 134,7 (C14), 136,7 (C8), 137,4 (C11), 145,0 (C2), 169,0 (C1), 192,0 (C10).

#### (Z)-3-(2-(4-((E)-(4-Hidroxifenil)diazenil)fenil)-2-oxoetilidene)indolin-2-one 5a

Cristale roșii. Pt.=290 °C. Randamentul: 75 % după recristalizare din etanol. Spectru în IR, ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3400,7 (NHCO), 3283,6 (OH), 2972,6, 2901,7 (aromatic), 1706,7 (Ar-NH-CO), 1658,9 (CO), 782,5, 748,9, 724,9 (aromatic). Spectru RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm, J/Hz): 10,85 s (1H, NH), 10,61 s (1H, OH), 8,24 m (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}$ ), 8,07 d (1H, NH-C-C- $\text{CH}$ ,  $J=7,77$  Hz), 7,96 m (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ), 7,87 m (2H, HO-C-CH-CH), 7,76 s (1H,  $\text{CO}-\text{CH}-\text{C}$ ), 7,36 t (1H, NH-C-CH- $\text{CH}$ ,  $J=7,8$ ), 6,98 (3H, HO-C- $\text{CH}$  și NH-C-C-CH- $\text{CH}$ ), 6,91 d (1H, NH-C- $\text{CH}$ ,  $J=7,74$ ). Spectru RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 191,0 (C=O), 168,7 (NH-CO), 162,3 (C-OH), 155,4 (CO-C-CH-CH-C), 145,9 (HO-C-CH-CH-C), 145,4 (NH-C), 138,2 (CO-C), 137,1 (NH-CO-C), 133,6 (NH-C-CH- $\text{CH}$ ), 130,5 (CO-C- $\text{CH}$ ), 127,3 (NH-C-C- $\text{CH}$ ), 126,2 (CO- $\text{CH}_2$ ), 126,0 (HO-C-CH- $\text{CH}$ ), 123,1 (CO-C-CH- $\text{CH}$ ), 122,3 (NH-C-C-CH- $\text{CH}$ ), 120,4 (NH-C-C), 116,6 (HO-C- $\text{CH}$ ), 110,9 (NH-C- $\text{CH}$ ). S-a calculat, %: C, 71,54; H, 4,09; N, 11,38; O, 12,99,  $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ . S-a depistat, %: C, 72,02; H, 4,31; N, 11,97.

#### (Z)-1-Butil-3-(2-(4-((E)-(4-hidroxifenil)diazenil)fenil)-2-oxoetilidene)indolin-2-one 5b

Cristale portocalii. Pt.=223 °C. Randamentul: 80% după recristalizare din etanol. Spectru în IR, ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3303,0 (OH), 2935,3 (aromatic), 1692,1 (Ar-NH-CO), 1652,9 (CO), 1463,2 ( $\text{CH}_2$ ), 1374,4 ( $\text{CH}_2$ ), 778,7, 750,8, 725,8 (aromatic). Spectru RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm, J/Hz): 8,25 d (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}$ ,  $J = 8,5$ ), 8,06 d (1H, NH-C-C- $\text{CH}$ ,  $J=7,9$ ), 7,97 d (2H,  $\text{CO}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}$ ,  $J = 8,5$ ), 7,87 m (2H, HO-C-CH-CH), 7,84 s (1H,  $\text{CO}-\text{CH}-\text{C}$ ), 7,44 t (1H, NH-C-CH- $\text{CH}$ ,  $J=7,8$ ), 7,12 d (1H, HO-C- $\text{CH}$ ,  $J = 7,8$ ),

7,03 t (1H, NH-C-C-CH-CH,  $J = 7,6$ ), 6,97 d (2H, HO-C-CH-CH,  $J = 8,9$ ), 3,75 t (2H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>,  $J = 7,1$ ), 1,60 p (2H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>,  $J = 7,2$ ), 1,33 h (2H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>,  $J = 7,3$ ), 0,91 t (3H, CH<sub>3</sub>,  $J = 7,3$ ). Spectru RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 190,6 (C=O), 166,74 (N-CO), 162,0 (C-OH), 155,0 (CO-C-CH-CH-C), 145,4 (HO-C-CH-CH-C), 145,3 (N-C), 137,6 (CO-C), 135,4 (N-CO-C), 133,0 (N-C-CH-CH), 130,1 (CO-C-CH), 127,7 (N-C-C-CH), 126,5 (CO-CH<sub>2</sub>), 125,6 (HO-C-CH-CH), 122,6 (CO-C-CH-CH), 122,3 (N-C-C-CH-CH), 119,4 (N-C-C), 116,2 (HO-C-CH), 110,4 (N-C-CH), 39,19 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 29,06 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 19,54 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 13,62 (CH<sub>3</sub>). S-a calculat, %: C, 73,39; H, 4,45; N, 9,88; O, 11,28, C<sub>26</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. S-a depistat, %: C, 74,12; H, 4,55; N, 10,20.

**(Z)-3-(2-(4-((E)-(4-hydroxyphenyl)diazenyl)phenyl)-2-oxoethylidene)-1-octylindolin-2-one 5c**

Cristale brune. Pt.=205-206 °C. Randamentul: 90% după recristalizare din etanol. Spectru în IR, (v/cm<sup>-1</sup>): 3295,0 (OH), 2953,0, 2921,1 (aromatic), 2852,2 (CH<sub>2</sub>), 1698,3 (Ar-NH-CO), 1654,8 (CO), 1465,8 (CH<sub>2</sub>), 1372,6 (CH<sub>2</sub>), 779,3, 747,7, 725,1 (aromatic). Spectru RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 10,56 s (1H, OH), 8,24 d (2H, CO-C-CH,  $J = 8,3$ ), 8,06 d (1H, NH-C-C-CH,  $J = 7,6$ ), 7,96 d (2H, CO-C-CH-CH,  $J = 8,3$ ), 7,87 d (2H, HO-C-CH-CH,  $J = 8,5$ ), 7,83 s (1H, CO-CH-C), 7,43 t (1H, NH-C-CH-CH,  $J = 7,7$ ), 7,10 d (1H, HO-C-CH,  $J = 7,8$ ), 7,02 (1H, NH-C-C-CH-CH,  $J = 7,6$ ), 6,97 d (2H, HO-C-CH-CH,  $J = 8,6$ ), 3,73 t (2H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>,  $J = 6,9$ ), 1,60 m (2H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1,37 - 1,16 suprapun. CH<sub>2</sub> grupări (12H), 0,83 t (3H, CH<sub>3</sub>,  $J = 6,3$ ). Spectru RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 190,5 (C=O), 166,7 (N-CO), 161,9 (C-OH), 155,0 (CO-C-CH-CH-C), 145,5 (HO-C-CH-CH-C), 145,2 (N-C), 137,6 (CO-C), 135,4 (N-CO-C), 132,9 (N-C-CH-CH), 130,0 (CO-C-CH), 126,6 (N-C-C-CH), 126,4 (CO-CH-C), 125,4 (HO-C-CH-CH), 122,5 (CO-C-CH-CH), 122,2 (N-C-C-CH-CH), 119,3 (N-C-C), 116,1 (HO-C-CH), 109,3 (N-C-CH), 40,0 (CO-N-CH<sub>2</sub>), CH<sub>2</sub> grupări: 31,1, 28,5, 28,5, 26,8, 26,2, 22,0, 13,8 (CH<sub>3</sub>). S-a calculat, %: C, 74,82; H, 6,49; N, 8,73; O, 9,97. C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. S-a depistat, %: C, 74,32; H, 7,00; N, 9,24.

**Metoda de obținere a pirolindolinonelor**

În etanol în raport egal se amestecă enonă **12**, acetilacetat **11**, acetat de amoniu și 10 mol % de catalizator (clorură de 3-(carboximetil)-1-metil-1H-imidazol-3-ium). Soluția se supune refluxului timp de 10-12 ore, controlând sfârșitul reacției prin CSS. Precipitatul format se trece pe filtru și se spală cu etanol.

**2-(1,2,5,5-Tetrametil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidronaftalen-1-il)etil 2-metil-4-(2-oxoindolin-3-il)-5-fenil-1H-pirol-3-carboxilat 13**

Substanță amorfă. Pt.>260 °C. Randamentul 67%.  $[\alpha]_D^{16} + 3,96$  (c 0,0059, MeOH). Spectru în IR (v/cm<sup>-1</sup>): 3048,8 (NH-CO), 2962,5, 2923,3, 2876,6 (aromatic), 1623,2 (NH-CO), 1199,9 (ester), 785,4, 762,7, 746,6, 732,3 (aromatic). Spectru RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 11,62 s (1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-C-NH), 10,35 s (1H, NH-CO), 7,52 d (2H, fenil. la C2,  $J = 7,0$ ), 7,46 t (2H, fenil. la C3,  $J = 7,7$ ), 7,35 t (1H, fenil. la C4,  $J = 7,2$ ), 7,11 m (1H), 6,87 - 6,81 m (2H), 6,79 d (1H,  $J = 7,5$ ), 4,56 s (1H, NH-CO-CH), 3,65 - 3,44 m (2H), 2,43 s (3H), 1,97 - 1,81 m (3H), 1,57 s (2H), 1,49-1,16 suprapun. CH<sub>2</sub> grupări (8H), 0,92 suprapun CH<sub>3</sub> grupări (6H), 0,78 d (3H,  $J = 5,7$ ), 0,71 s (3H). Spectru RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 178,23 (NH-CO), 164,10 (O-CO), 142,72 (C7' fr. indolic), 136,44, 136,06, 131,76 (C4' fr. indolic), 131,71, 128,73 (fenil. C3), 127,77 (fenil. C2), 127,29 (fenil. C4), 126,71, 122,26, 120,77, 113,45, 109,67, 108,69, 59,19, 44,81 (NH-CO-CH), 34,00, 33,84, 33,73, 28,82, 27,53, 26,60, 25,07, 24,23, 20,81, 20,76, 19,37, 16,14, 16,03, 13,07. S-a calculat, %: C, 78,51; H, 7,69; N, 5,09; O, 8,72. C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. S-a depistat, %: C, 77,98; H, 7,82; N, 5,11.

**Etil 1-(1-(ciclopentiloxi)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-2-metil-4-(2-oxoindolin-3-il)-5-fenil-1H-pirol-3-carboxilat 15**

Compus amorf de culoare albă. Spectru RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 7,96 sl (1H, NH), 7,57 d (2H, C-CH-CH-CH,  $J = 7,36$ ), 7,41-7,39 m (2H, C-CH-CH-CH), 7,37-7,34 m (1H, C-CH-CH-CH), 7,17-7,12 m (1H, NH-C-CH-CH), 6,94 suprapun. (1H, NH-C-C-CH-CH), 6,92 suprapun. (1H, NH-C-CH), 6,84 d (1H, NH-C-C-CH-CH,  $J = 7,7$ ), 5,21 m (1H, CO-O-CH), 4,34 s (1H, NH-CO-CH), 4,2 d (1H, N-CH-CO,  $J = 11,1$ ), 3,97-3,84 m (2H, CO-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2,66-2,55 suprapun. (1H, CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>), 2,59 s (3H, CH<sub>3</sub>-C), 1,94-1,48 suprapun. (8H, protonii a 4 grupuri metilenice din ciclul ciclopentanilic), 0,93 suprapun (6H, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub> și CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>), 0,68 d (3H, CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>,  $J = 6,7$ ). Spectru RMN <sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 179,17 (NH-CO-CH), 169,24 (O-CO-CH), 164,77 (O-CO-C), 141,41 (NH-C), 137,66 (CH<sub>3</sub>-C), 132,94 (C-CH-CH-CH), 131,88 (NH-C-C), 131,35 (C-CH-CH-CH), 128,88 (C-CH-CH-CH), 128,46 (C-CH-CH-CH), 127,21 (NH-C-CH-CH), 122,91 (NH-C-CH), 121,91 (NH-C-C-CH-CH), 110,8 (O-CO-C), 108,83 (NH-C-C-CH-CH), 78,79 (CO-O-CH), 65,33 (N-CH-CO), 58,97 (CO-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 45,78 (NH-CO-CH), 32,66 (O-CH-CH<sub>2</sub>), 32,58 (O-CH-CH<sub>2</sub>), 29,28 (CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>), 23,55 (O-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 21,21 (CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>), 18,89 (CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>), 14,11 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 12,80 (CH<sub>3</sub>-C).

## ANALIZA REZULTATELOR OBȚINUTE

În cadrul prezentului studiu s-a stabilit că diazotarea 4-aminoacetofenonei **2** cu prelucrarea ulterioară a amestecului de reacție cu fenol a dus la formarea derivatului **3** conform schemei.

3-Hidroxiindolul este un fragment structural cheie în multitudinea de compuși naturali și sintetici cu un spectru larg de activitate biologică, care depinde de configurația și natura substituenților la nivelul atomului de carbon C-3.

S-a demonstrat recent că menținerea la temperatura camerei a cantităților echimolare de isatină **1a** cu *p*-acetoazobenzen **3** în prezența a 0,1 echivalent molar (echiv.) de dietilamină ( $\text{Et}_2\text{NH}$ ) în etanol de 96 %, contribuie la formarea aldolului **4** (figura 1). În spectrul IR al compusului **4a** se observă benzile de absorbție a grupărilor ceto ( $1680\text{ cm}^{-1}$ ), amide ( $1688\text{ cm}^{-1}$ ) și hidroxil ( $3278\text{ cm}^{-1}$ ).

Fierberea alcoolului **4a** în amestec HCl/AcOH are loc cu dehidratarea moleculei și formarea enonei **5a** (figura 1), al cărei spectru  $^1\text{H}$  RMN conține semnale caracteristice ale grupării amide la 10,83 ppm și ale protonului vinilic la 7,75 ppm.

În spectrul  $^{13}\text{C}$  în domeniul câmpurilor slabe și medii se observă 18 semnale de carbon, patru dintre care din zona aromatică sunt dublate, un semnal la 191 ppm corespunde grupării ceto și la 168,7 – grupării amide din fragmentul isatinic.

Adăugător a fost realizată alchilarea isatinei **1a** cu bromură de butil și iodură de octil în sistemul  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{DMF}$ . Produsele reacției **1b** și **1c** separate cu randamentele 75 % și 76 % respectiv, au fost supuse reacției cu metilcetonă **3**. Aducele **4b**, **4c** după dehidratare s-au transformat în compuși respectivi **5b-c**. Cu scopul determinării lungimii de undă la care *p*-acetoazobenzenă **3** (figura 2-a) manifestă fotosensibilitate ma-

ximă au fost înregistrate spectrele UV/VIS în DMF în domeniul 260-800 nm.

Din rezultatele prezentate în figura 2 constatăm că maximul benzii de absorbție s-a deplasat în direcția regiunii cu lungimi de undă mari după deshidratarea moleculelor **5a-c** (figura 2b). Radicalul alchil la atomul de azot nu influențează asupra amplasării maximumului de absorbție, însă la mărirea lungimii lanțului radicalului alchil intensitatea absorbției scade.

La începutul studiilor efectuate lipseau datele privind sinteza sesquiterpenelor funcționalizate cu 2,3-dihidro-1H-3-indolil-5-aryl-1H-3-pirolcarboxilatele. Metoda sintetică de construire a oxindolilor asemănători poate include condensarea enonelor **5a-c**, a acetatului de amoniu și acetoacetatului optic activ cu fragmentul decalinic cis-orientat. Ultimul intră în componența unor compuși naturali de origine marină, cum ar fi aureolul [9]. Aureolul demonstrează o citotoxicitate selectivă față de celulele tumorale umane, inclusiv față de celulele de cancer pulmonar A549 și adenocarcinomul intestinal HT-29 [10]. De asemenea, acești compuși s-au dovedit a manifesta o activitate antivirală contra gripei A [11].

Sinteza acetoacetatului optic activ a fost realizată prin reducerea compusului **6** cu tetrahidruoaluminat de litiu (LAH) până la diol **7**, care în continuare a fost supus acțiunii anhidridei aceticice ( $\text{AcO}_2$ ) cu *N,N*-dimetilaminopiridină (DMAP) în piridină (Py) cu formarea eterului **8**. Interacțiunea produsului **8** cu eteratul fluorurii de bor are loc cu o transgrupare stereospecifică și formarea produsului **9**. La prelucrarea eterului **9** cu soluție KOH în metanol (MeOH) are loc hidroliza cu formarea alcoolului **10** [9]. S-a stabilit că la temperatura camerei soluția de benzen a amestecului echimolar al alcoolului **10** cu dicetenă în prezența cantităților catalitice de trietilamină contribuie la formarea acetilacetatului **11** (randamentul 92%).

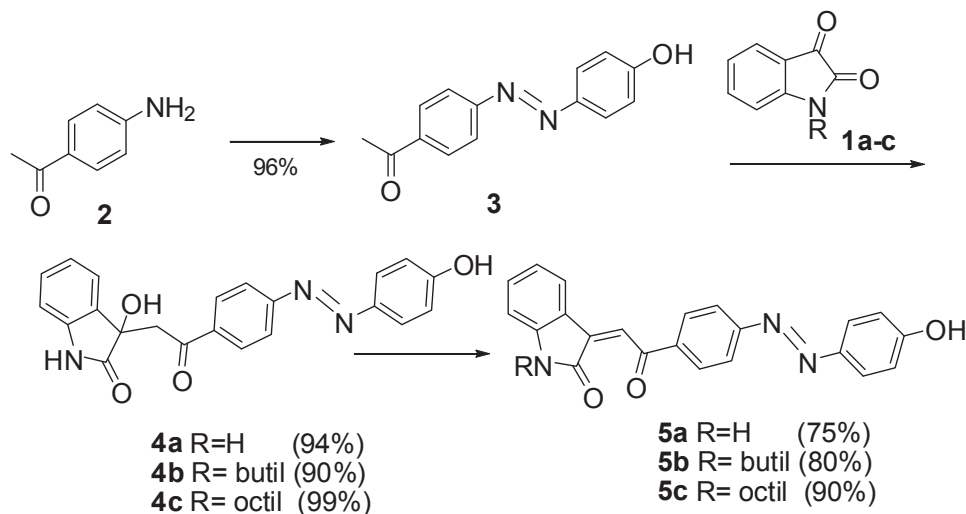


Figura 1. Schema de sinteză a substanțelor **5a-c**.

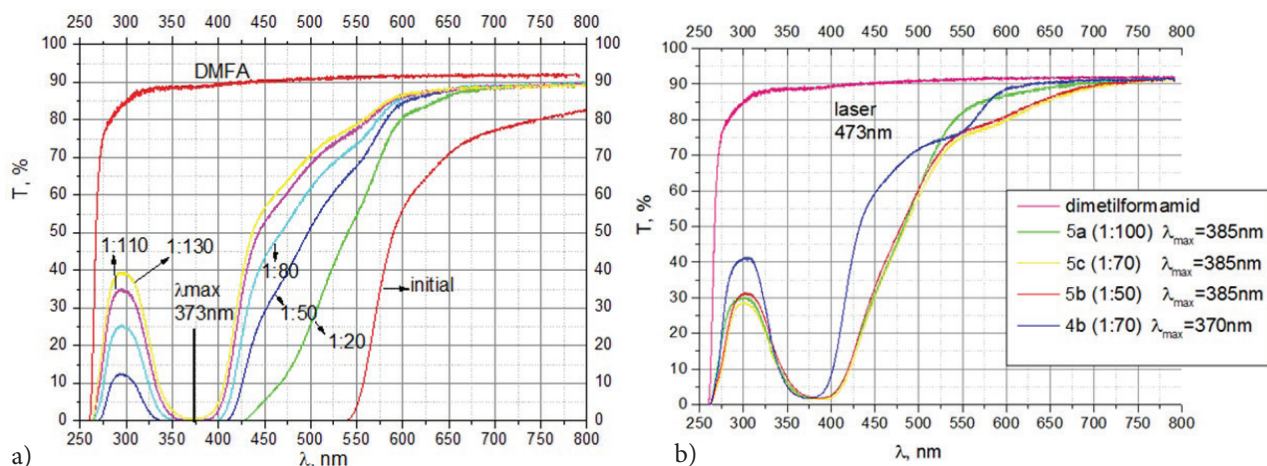


Figura 2. a) – spectrul de absorbție a compusului 3 la diferite diluții; b) – spectre de absorbție a substanțelor 4b, 5a-c.

A fost propus ca formarea pirolcarboxilatului să includă interacțiunea inițială a enonelor cu catalizator printr-o substanță intermediară [12]. În continuare aceasta va intra în interacțiune cu forma enolică a esterului acetoacetic și formarea unui complex intermediar, interacțiunea căruia cu amoniac se va solda cu formarea tetrahidropirolului. La ultima etapă tetrahidropirolul va interacționa cu gruparea carboxil a catalizatorului, ceea ce va duce la eliminarea a două molecule de apă și formarea pirolcarboxilatului.

A fost stabilit că la interacțiunea enonelor 5a-c și a acetatului de amoniu cu acetilacetatul 11 în prezența lichidului ionic nu se formează pirolele țintă. Substituirea enonelor 5a-c cu enonă 12 a dus la formarea produsului 13 (figura 3), în spectrul IR al căruia sunt prezente benzile de absorbție ale esterului, amidei și pirolului. În spectrul  $^1\text{H}$  RMN al compusului 13 toate vârfurile sunt dublate, ceea ce dovedește că produsul reprezintă un amestec din doi compuși anomerici. Așadar, sunt

prezente semnalele a 82 de protoni: singletii caracteristici triprotonici, singletii a patru grupări metilice ( $\delta_{\text{H}}$  0,72 ppm.,  $\delta_{\text{H}}$  0,73 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  0,91 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  0,93 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  0,940 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  0,944 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  2,440 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  2,444 ppm), dubletii grupării metilice  $\text{CH}-\text{CH}_3$  în domeniul  $\delta_{\text{H}}$  0,77-0,81 ppm, protonul aminic este reprezentat de un vârf spectral  $\delta_{\text{H}}$  11,63 ppm, semnalele protonilor ai atomului de nitrogen amidic sunt separate și au valorile de  $\delta_{\text{H}}$  11,36 ppm,  $\delta_{\text{H}}$  11,40 ppm, după care raportul între anomeri se determină a fi de 1:1. Singletii hidrogenului metinic din fragmentul oxindolic au valorile de  $\delta_{\text{H}}$  4,57 ppm, semnalele protonilor aromatici și metilenici se suprapun. Totodată, în spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN este prezent doar un singur set de semnale, ceea ce se explică prin faptul că fragmentele optic active ale moleculei sunt poziționate departe una de alta și interacțiunea între ele este slabă, iar rezoluția spectrului de carbon este redusă. În spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN sunt detectabili 34 de atomi de carbon din care două semnale  $\delta_{\text{C}}$  128,3 ppm și  $\delta_{\text{C}}$  129,3 ppm sunt dublate, ceea ce

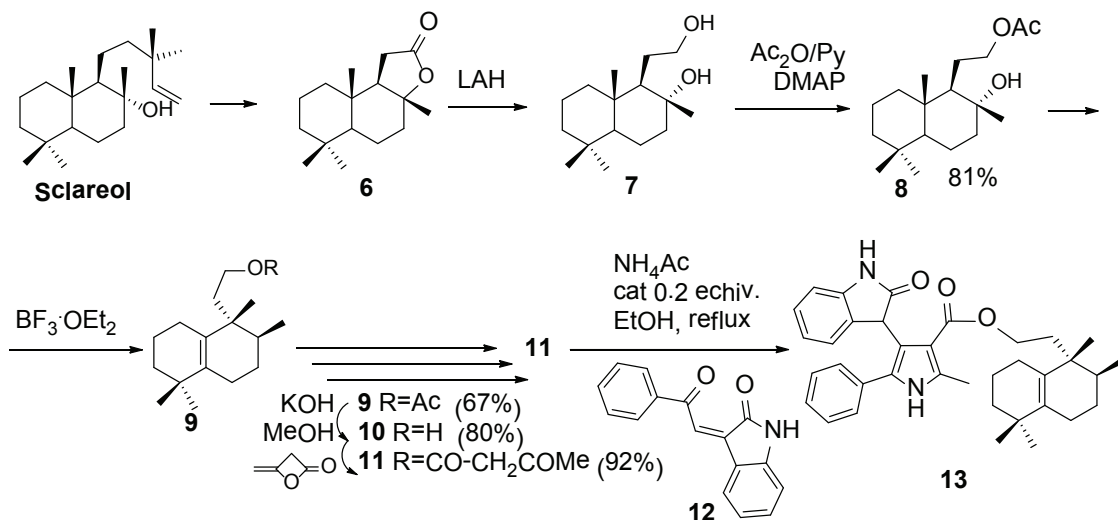


Figura 3. Schema de sinteză a substanței 13.

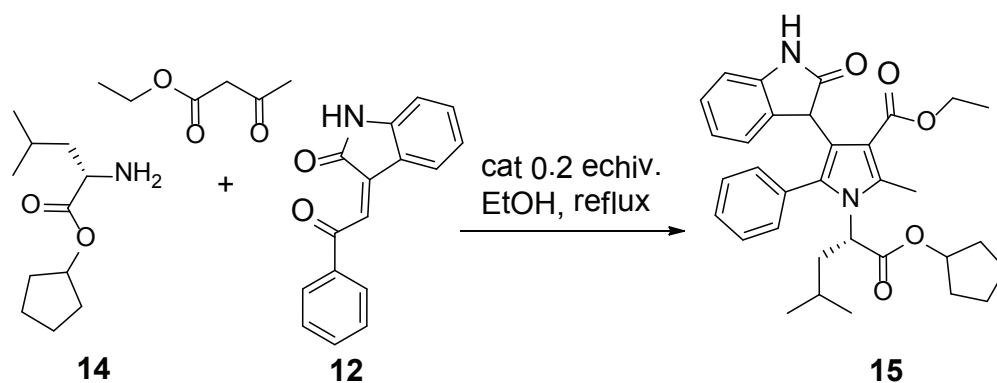


Figura 4. Schema de sinteză a substanței 15.

dovedește prezența fragmentului fenolic. În domeniul câmpurilor slabe sunt prezente semnalele de carbon ale grupărilor carboxilice și amidice  $\delta_C$  164,6 ppm și 178,8 ppm, corespunzător, iar gruparea carbonilică a acetilacetatului inițial lipsește. O bandă de intensitate medie în spectrul IR la  $1606,1\text{ cm}^{-1}$  și benzile înguste la  $762,7\text{ cm}^{-1}$ ,  $746,6\text{ cm}^{-1}$ ,  $732,3\text{ cm}^{-1}$  se referă la grupare aromatică; o bandă de absorbție de intensitate înaltă  $1664,5\text{ cm}^{-1}$  indică prezența legăturilor alifatică, iar benzile ale vibrațiilor de valență  $2962,5\text{ cm}^{-1}$ ,  $2923,3\text{ cm}^{-1}$ ,  $2876,6\text{ cm}^{-1}$  indică prezența legăturilor alifatică și aromatice. O bandă intensivă la  $1696,8\text{ cm}^{-1}$  aparține grupării esterice.

Ulterior a fost realizată sinteza compusului analog 15 prin condensarea enonei 12, esterului acetoacetic și esterului ciclopentilic al leucinei 14 (figura 4).

Compușii sintetizați au fost testați în cadrul laboratorului prof. Christophe Pannecouque de la Rega Institute, Katholieke Universiteit Leuven, Belgia, pentru capacitatea lor de a inhiba replicarea HIV-1 (tulpina IIB) și HIV-2 (tulpina ROD) în celulele MT-4 acut infectate. Concomitent a fost determinată citotoxicitatea compușilor pentru același tip de celule. Aldol 4a și produsul dehidratării 5a manifestă diferite niveluri de citotoxicitate cu valorile  $CC_{50}$  0,0301 și 0,0031 mM, respectiv. Azoderivatul 3 manifestă cel mai înalt nivel al citotoxicității dintre toți azocompușii cercetați cu valoare  $CC_{50}$  = 0,1878 mM. Citotoxicitatea terpenoidelor sesquiterpenice se reduce în comparație cu compusul inițial. Astfel, substituția lactonei 6 cu diol 7 reduce citotoxicitatea aproximativ de 2,7 ori.

Reducerea ulterioară a citotoxicității este legată de modificarea scheletului carbonic. Astfel, la alcoolul 10  $CC_{50}$  acesta constituie 0,0404 mM, în timp ce la diolul 7 valoarea  $CC_{50}$  = 0,0996 mM. O citotoxicitate comparabilă cu cea a compusului 10 manifestă compusul 11, fiind derivatul primului. Construirea derivatului polifuncționalizat al oxindolului cu fragmentul de pirol în calitate de substituent duce la manifestarea

citotoxicității la nivelul valorilor  $CC_{50}$  = 0,1602 mM. Așadar, citotoxicitatea derivaților sesquiterpenici pe bază de (+)-sclareol se diminuează la trecerea de la pentaciclu lactamic la diol, se reduce la modificarea naturii fragmentului biciclic și crește la trecerea spre derivatul polifuncționalizat al oxindolului cu fragment de pirol. Cea mai mică citotoxicitate o posedă acetoacetatul 11 care este comparabilă cu cea a azoderivatului 4a cu valorile  $CC_{50}$  = 0,0315 și  $CC_{50}$  0,0301 mM, respectiv, în timp ce compusul hibrid pe baza de leucină are o toxicitate de două ori mai mică ( $IC_{50}$  0,0116 mM).

Este important de menționat că compusul 5a a afectat replicarea virusului HIV la concentrațiile de 24 de ori mai mici ( $IC_{50}$  0,0031 mM) decât remediul anti-retroviral didanozină ( $IC_{50}$  0,075 mM) din grupul inhibitorilor reverstranscriptazei utilizat în terapia HIV.

Așadar, a fost realizată sinteza și au fost cercetate proprietățile materialelor hibride optic active cu fragmentul de oxindol care prezintă un interes practic, e.g. pentru terapia fotodinamică bazată pe aplicarea compușilor fotosensibili din grupul azobenzenelor. S-a demonstrat fezabilitatea utilizării derivaților sclareolului pentru construirea derivatului polifuncționalizat și optic activ al oxindolului cu fragment de pirol.

## CONCLUZII

A fost realizată sinteza și au fost studiate proprietățile materialelor hibride optice cu fragmente de oxindol, care reprezintă un interes practic pentru terapia fotodinamică bazată pe aplicarea substanțelor fotosensibile din grupul azobenzenelor.

S-a demonstrat schema de transformare a sclareolului și leucinei pentru construirea derivatului optic activ polifuncționalizat al oxindolului cu fragmentul de pirol. Pe baza cercetării dependenței dintre structura, citotoxicitatea și acțiunea anti-HIV au fost determinate moleculele hibride pentru cercetări mai ample în scopul obținerii medicamentelor antivirale.

## BIBLIOGRAFIE

1. Zhan P., Pannecouque C., de Clercq E. & Liu X. Anti-HIV drug discovery and development: current innovations and future trends: miniperspective. In: *J. Med. Chem.*, 2015, 59 (7), p. 2849-2878.
2. Duca Gh. G., Macaev F. *Compounds and Materials for Drug Development and Biomedical Applications*. București-Brăvila: Editura Academiei Române-Editura Istros, 2018. 307 p.
3. Aricu A., Ungur N., Duca Gh. Design, targeted synthesis and study of biological activity of some polifunctional chiral terpenic compounds. 2018, p. 101-126. In: *Compounds and Materials for Drug Development and Biomedical Applications*. Ed. Duca Gh. G., Macaev F. București-Brăila: Editura Academiei Române-Editura Istros. 2018. 307 p.
4. Curlat S. N., Barba A. N., Boldescu V. V., Pannecouque C., Macaev F. Z. Synthesis of aminoalkylated aziridines based on (+)-3-carene. In: *Chem. Natur. Compds.* 2019, 2, p. 232-236.
5. Çapcı Karagöz A., Leidenberger M., Hahn F., Hampel F., Friedrich O., Marschall M., Kappes B., Tsogoeva S. B. Synthesis of New Betulinic acid/Betulin-derived Dimers and Hybrids with Potent Antimalarial and Antiviral Activities. In: *Bioorg. Med. Chem.* 2019, 27, p. 110-115.
6. Macaev F. Bioactive natural products from enantiomeric carvones. In: *Studies in Natural Products Chemistry*. Ed. Atta-ur-Rahman, ELSEVIER, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, NY, Oxford, Paris, San Diego, Singapore, Sydney, Tokyo. 2013, V. 39, p. 233-269.
7. Macaev F., Geronikaki A., Sucman N. Recent application of isatins in synthesis of functionalized spirocyclic oxindoles. In: *Targets in heterocyclic systems. Chemistry and Properties*. O. A. Attanasi and D. Spinelli. Pesaro-Urbino, Società Chimica Italiana, 2011, V.15, p. 294-326.
8. Runtsch L.S., Barber D.M., Mayer P., Groll M., Trauner D., Broichhagen J. Azobenzene-based inhibitors of human carbonic anhydrase II Beilstein. In: *J. Org. Chem.* 2015, 11, p. 1129-1135.
9. Kuan K. K. W., Pepper H.P., Bloch W.M., George J.H. Total Synthesis of (+)-Aureol. In: *Org. Lett.*, 2012, 14(18), p. 4710-4713.
10. Longley R. E., McConnell O. J., Essich E., Harmody D. Evaluation of Marine Sponge Metabolites for Cytotoxicity and Signal Transduction Activity. In: *J. Nat. Prod.* 1993, 56, p. 915-920.
11. Wright A. E., Cross S. S., Burren N. S., Koehn F. PCT WO 9112250A1, August 22, 1991 (Harbor Branch Oceanographic Institution, USA).
12. Macaev F., Stângaci E., Radul O., Șargorovschi V., Pogrebnoi S., Sucman N. Catalizator pentru sinteza derivaților 2-pirol-3-iloindolului. Brevet de invenție № 4233 (MD) din 2012.03.02.



Eudochia Robu. *Orhei. Melodie de iarnă*, 2008, u. p., 900 × 780 mm