

CZU: 547.792.2

SINTEZA UNOR DERIVAȚI AI 1,2,4-TRIAZOLULUI ÎN BAZA N-[4-(3-METIL-5-SULFANIL-4H-1,2,4-TRIAZOL-4-IL)FENIL]ACETAMIDEI

Roman RUSNAC, Olga GARBUZ, Nicanor BARBĂ,
Aurelian GULEA, Greta BĂLAN*, Olga BRUDUNIUC**

Universitatea de Stat din Moldova

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”

**Agenția Națională pentru Sănătate Publică

În articol sunt descrise metodele de sinteză a 8 compuși organici din seria 1,2,4-triazol-3-tiolilor, dintre care 7 compuși sunt noi, a căror structură a fost confirmată prin sinteză și cu ajutorul metodelor spectrale: ¹H-RMN, ¹³C-RMN și IR (FTIR). Compușii (2) și (3) au fost investigați cu ajutorul difracției razelor X pe monocristal. Unii compuși obținuți au demonstrat proprietăți antiproliferative moderate: inhibă creșterea celulelor de HEP-2 și BxPC-3. Activitate antifungică au demonstrat compușii (2) și (7), cu o valoare a CMI de 0,125 μg/mL. Proprietățile antioxidative au fost studiate cu ajutorul metodei ABTS și DPPH; astfel, cel mai bun antioxidant s-a dovedit a fi 2-[(2-hidroxfenil)metiliden]-N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]hidrazin-1-carbotioamida (7).

Cuvinte-cheie: 1,2,4-triazol, tiosemicarbazone, anticancer, antioxidant, N-fenil-acetamidă.

SYNTHESIS OF DERIVATIVES OF 1,2,4-TRIAZOL BASED ON N-[4-(3-METHYL-5-SULFANYL-4H-1,2,4-TRIAZOL-4-YL)PHENYL]ACETAMIDE

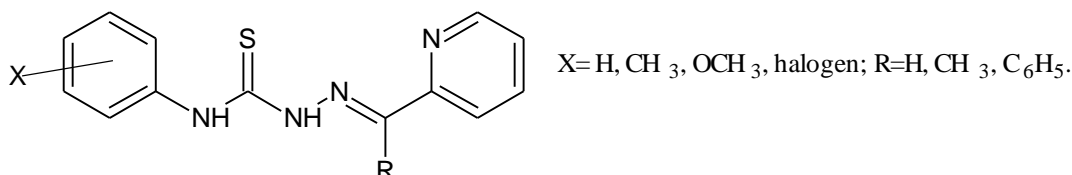
The article describes the synthesis methods of 8 organic compounds from the 1,2,4-triazole-3-thiol series, of which 7 compounds are new. The structure of compounds was confirmed by spectral methods: ¹H-NMR, ¹³C -RMN and IR (FTIR). The triazoles (2) and (3) were investigated by X-ray diffraction on monocystal. Some compounds have demonstrated moderate antiproliferative properties, in growth of HEP-2 and BxPC-3 cells. Antifungal activity is characteristic for compounds (2) and (7) with a MIC of 0.125 μg/mL. Antioxidative properties were studied using the ABTS and DPPH method where the best one was found to be 2-[(2-hydroxyphenyl)methylidene]-N-[4-(3-methyl-5-sulfanyl-4-triazol-4-yl)phenyl]hydrazine-1-carbothioamide (7).

Keywords: 1,2,4-triazole, thiosemicarbazones, anticancer, antioxidant, N-phenyl-acetamide.

Introducere

Se cunosc derivați ai 1,2,4-triazol-3-tiolului care manifestă un spectru larg de activități biologice, cum ar fi: antidepresante, hipoglicemice [1-3], inhibitori de VCP [2], antimicrobiene [2-5], antifungice, antiturbeculoase [6]. Sunt cunoscute preparate medicinale (cum ar fi Fluconazol, Intraconazol, Voriconazol), precum și medicamente (de exemplu, Triazolam, Alprazolam, Etizolam), care conțin gruparea 1,2,4-triazol. 1,2,4-Triazol-3-tiolii reprezintă un grup important de compuși ce conțin sulf, care sunt promițători pentru utilizare în aplicații practice. Sistemele ciclice 1,2,4-triazolice mercapto- și tiono-substituite sunt bine studiate și până în prezent au fost raportate o varietate de activități biologice pentru un număr mare de derivați ai 1,2,4-triazol-3-tiolului [1].

Unele 4-feniltiosemicarbazone cu structura:



posedă proprietăți anticancer evidente [7-9]. Recent, o activitate redusă împotriva tipurilor de cancer HeLa (cancer cervical), BxPc-3 (cancer pancreatic), RD (cancer muscular) a fost depistată în cazul N-[4-((2-[(piridin-2-il)metiliden]hidrazincarbotioil)amino)fenil]acetamidei, care s-a dovedit a fi activă la concentrații de 10⁻⁴ μmol/L [10].

Scopul lucrării constă în obținerea unor 4-feniltiosemicarbazone noi cu nuclee 1,2,4-triazol-3-tiol pentru a corela dependența activității biologice de structură.

I. Partea experimentală

I.1. Reactivi și metode de cercetare

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați de la companiile „Aldrich”, „Acros Organics” și „Alfa Aesar”. Spectrele FTIR au fost înregistrate în formă de pulbere la aparatul Bruker ALPHA, în diapazonul numerelor de undă 4000–400 cm^{-1} . Spectrele de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ^1H și ^{13}C au fost efectuate la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. În calitate de solvent a fost utilizat DMSO- d_6 . Analiza cu difracția razelor X pe monocristal a fost efectuată la difractorul Xcalibur-Gemini „Oxford Diffraction”, cu monocromator de grafit înzestrat cu sursă de raze X de tip Mo-K α . Cristalele au fost plasate la o distanță de 40 mm față de detectorul CCD. Procedeele de determinare a parametrilor celulei elementare și de integrare a datelor experimentale au fost efectuate cu ajutorul setului de programe „Crys Alis package Oxford Diffraction”. Pentru ambele structuri soluțiile au fost determinate prin metoda directă cu ajutorul programului SHELXS-97 și fitate prin metoda pătratelor minime pe bază de Fo^2 în cadrul programului SHELXL-97 în varianta anizotropică pentru toți atomii cu masă molară mai mare decât a atomului de hidrogen.

I.2. Metode de sinteză

Sinteza 4-feniltiosemicarbazonelor 6,7 și 8 noi cu nuclee 1,2,4-triazolice au fost sintetizate în baza *N*-[4-(3-metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidei (1) conform schemei:

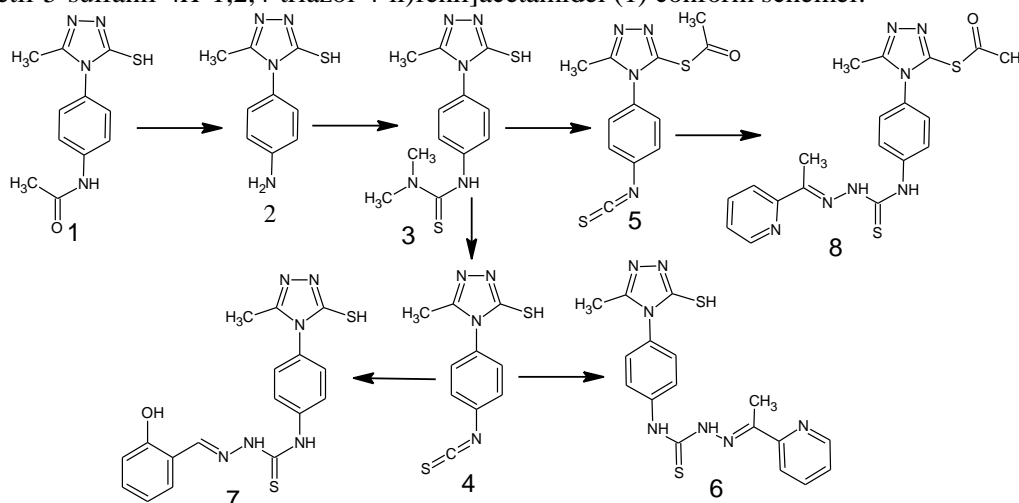


Fig.1. Schema transformărilor chimice în baza *N*-[4-(3-metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidei (1).

N-[4-(3-Metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidă (1)

Amestecul format din 0,38 g (2 mmol) *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidă, 0,15 g (2 mmol) acetohidrazidă, 1 mL dimetilformamid (DMF) se încălzește la 100°C timp de 3 h (consumul *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidei se determină cu ajutorul cromatografiei în strat subțire), se adaugă 0,26 g (3 mmol) de tetrametiletildiamină (TMED) și se mai încălzește 2 h la temperatura de 100°C. În continuare se verifică cromatografic sfârșitul reacției de ciclizare a intermediarului *N*-{4-[(2-acetilhidrazincarbotioil)amino]fenil}acetamidei, apoi se distilează mai întâi TMED, după care dimetilformamida la presiune redusă. Produsul solid obținut se dizolvă în soluție apoasă de NaOH (5%), se filtrează impuritățile, iarăși se neutralizează cu acid acetic glacial, până la pH neutru. Cristalele de culoare albă care cristalizează se filtrează și se usucă. Se obțin: 0,32 g (65%) acetamidă (1), $R_f = 0,78$ (benzen-izopropanol 3:1), p.t. = 268–269°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(\text{N}^4\text{H})$ 3125.7; $\nu(\text{C-H, Ar})$ 3051.6; $\nu(\text{C-H, CH}_3)$ 2942.1_{as}, 2812.5_{si}; $\nu(\text{SH})$ 2756.1; $\nu(\text{C=O})$ 1666.8; $\nu(\text{C=N})_{\text{inel}}$ 1584.3; $\nu(\text{C=C, Ar})$ 1547.4; $\nu(\text{C-N})_{\text{inel}}$ 1314.5; $\nu(\text{N-N})_{\text{inel}}$ 1079.2; (1,4-substituție aril) 865.2

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^1H , 400 MHz: 2.09 (s, 3H, CH_3CO); 2.50 (s, 3H $\text{CH}_3\text{C=N}$); 3.35 (s, 1H SH); 7.32, 7.34, 7.71, 7.74 (m, 4H (fenil)); 10.20 (s, 1H {HNC(O)}).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 12.1, ($\text{CH}_3\text{C=N}$); 24.5, (CH_3CO); 119.8, 128.7, 128.9, 140.518 (carbon aromatic, 6C); 149.8 (C^5 triazol); 168.0 (C=O); 169.1 (C-S).

4-(4-Aminofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (2)

Amestecul format din 0,50 g (2 mmol) N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidă (1), 0,73 g 20 (mmol) HCl_{conc.} se încălzește la 100°C timp de 1,5 h, se răcește la temperatura camerei, apoi se neutralizează cu NaHCO₃ până la un pH neutru. Cristalele de culoare albă care se cristalizează se filtrează și se usucă. Se obțin: 0,36 g (88%) *tiol* (2); R_f = 0,83 (benzen-izopropanol 3:1), p.t. = 230°C (se sublimă).

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(N^4H_2)$ 3443.5_{as}, 3354_{si}; $\nu(C-H, Ar)$ 3052.0; $\nu(C-H, CH_3)$ 2928.1_{as}, 2822.5_{si}; $\nu(SH)$ 2737.4; $\nu(C=N)_{inel}$ 1580.6; $\nu(C=C, Ar)$ 1560.1; $\nu(C-N)_{inel}$ 1300.2; $\nu(N-N)_{inel}$ 1085.8; (1,4-substituție aril) 845.5.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹H, 400 MHz: 2.06 (s, 3H, CH₃C=N); 3.40 (s, 1H, SH); 5.52 (s, 2H, NH₂); 6.63, 6.63, 6.65, 6.95 (m, 4H, fenil).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹³C 100 MHz: 12.1, (CH₃C=N); 114.1, 121.9, 128.9, 150.0, (carbon aromatic, 6C); 150.2 (C-5 triazol); 168.1, (C-S).

N,N-Dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree (3)

Amestecul format din 0,41 g (2 mmol) 4-(4-aminofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (2), 0,48 g (2 mmol) tetrametiltiuram disulfid (TMTD) și 1 mL dimetilsulfoxid se încălzește 1 h la temperatura de 100°C, apoi se distilează solutul la presiune redusă. Produsul obținut se tratează cu soluție de NaOH (5%), se filtrează impuritățile, se trece în soluție tioureea sub formă de tiolat, se filtrează sulful, se neutralizează cu acid acetic glacial până la un pH = 7, solidul obținut se recrystalizează din dioxan. Din soluția de dioxan cristalizează cristale microcristaline de culoare albă. Se obțin: 0,50 g (86%) *tiouree* (3); R_f = 0,49 (benzen-izopropanol 8:1), p.t. = 215-218°C (cu descompunere).

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(N^4H)$ 3269.8; $\nu(C-H, Ar)$ 3063.0; $\nu(C-H, CH_3)$ 2920.1_{as}, 2832.5_{si}; $\nu(SH)$ 2728.0; $\nu(C=C, Ar)$ 1581.0; $\nu(C=N)_{inel}$ 1545.8; $\nu(C-N)_{inel}$ 1326.0; $\nu(C=S)$ 1285; $\nu(N-N)_{inel}$ 1085.9; $\delta(C=S)$ 886; (1,4-substituție aril) 855.2.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹H, 400 MHz: 2.06, s, 3H (CH₃C=N); 3.32 s, 1H (SH); 3.24, s, 6H{(CH₃)₂N}; 7.21; 7.24, 7.45; 7.47, m, 4H (fenil); 9.13, s, 1H {HNC(S)}.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹³C 100 MHz: 12.2, (CH₃C=N); 34.7, {N(CH₃)₂}; 119.0; 123.7; 128.0; 129.1, 129.6, 142.4 (carbon aromatic, 6C); 149.8 (C-5 triazol); 168.0, (C-S); 181.3, (C=S).

4-(4-Izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (4)

Amestecul cu un conținut de 0,59 g (2 mmol) N,N-dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree (3), 10 mL dioxan și 0,14 g (2.3 mmol) clorură de hidrogen se încălzește într-o fiolă închisă 1 h la temperatura de 100°C. În fiolă se observă depunerea clorhidratului de N-metilmetanamină insolubil în dioxan. După răcire fiola se deschide, se decantează soluția, iar precipitatul se spală de 2 ori cu dioxan fierbinte și din soluțiile unite se distilează solutul. Produsul obținut se recrystalizează din THF. Se obțin: 0,48 g (81%) *izotioceanat* (4); R_f = 0,56 (benzen-etilacetat 3:1), p.t. = 182-183°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(C-H, Ar)$ 3063.1; $\nu(C-H, CH_3)$ 2928.1_{as}, 2822.5_{si}; $\nu(NCS)$ 2103.3; $\nu(SH)$ 2731.1; $\nu(C=N)_{inel}$ 1581.6; $\nu(C=C, Ar)$ 1581.0; $\nu(C-N)_{inel}$ 1322.6; $\nu(N-N)_{inel}$ 1065.4; (1,4-substituție aril) 835.6.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹H, 400 MHz: 2.13 (s, 3H, CH₃C=N); 3.38 (s, 1H, SH); 7.54; 7.54; 7.55; 7.62 (m, 4H, (fenil)); 13.72 (s, 1H, {HNC(S)}).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ¹³C 100 MHz: 12.1, (CH₃C=N); 127.4, 130.3, 131.4, 133.3 (carbon aromatic, 6C); 149.5, (C-5 triazol); 167.8, (C-S)_{tiol}.

S-[4-(4-Izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]etantioat (5)

Amestecul format din 0,59 g (2 mmol) N,N-dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree (3), 0,41 g (4 mmol) anhidridă acetică și 6 mL dioxan se încălzește 1 h la temperatura de 100°C, apoi se distilează solutul la presiune redusă. Produsul obținut se recrystalizează din tetrahidrofuran. În urma cristalizării se sedimentează un solid cristalin de culoare albă. Se obțin: 0,32 g (55%) *izotioceanat* (4); R_f = 0,7 (benzen-izopropanol 8:1), p.t. = 145-146°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(C-H, Ar)$ 3094.6; $\nu(C-H, CH_3)$ 2922.6_{as}, 2828.2_{si}; $\nu(NCS)$ 2106.6; $\nu(C=O)_{Ac}$ 1651.2; $\nu(C=N)_{inel}$ 1577.6; $\nu(C=C, Ar)$ 1596.1; $\nu(C-N)_{inel}$ 1321.3; $\nu(N-N)_{inel}$ 1025.4; (1,4-substituție aril) 851.0.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 2.13 (s, 3H, CH₃C=N); 2.50 (s, 3H, CH₃CO); 7.40, 7.42, 7.56, 7.75 (m, 4H, fenil).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 12.1, (CH₃C=N); 25.2, (CH₃CO); 124.0, 127.6, 129.0, 130.7, 131.9, 132.8, (carbon aromatic, 6C); 149.7, (C-3 triazol); 150.0, (C-5 triazol); 168.1, (C-S)_{tiol}.

N-[4-(3-Metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamidă (6)

Amestecul format din 0,50 g (2 mmol) 4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3- tiol (5), 0,27 g (2 mmol) 2-[1-hidrazinilidenetil]piridină și 5 mL THF se refluxează 1 h, apoi se răcește. Produsul solid se recrystalizează din etanol, cad cristale albe microcristaline. Se obțin: 0,51 g (95%) *carbotioamidă* (6); R_f = 0,74 (benzen-izopropanol 2:1), p.t. = 232-233°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(N^4H/N^2H)$ 3282.2, 3265.1; $\nu(C-H, Ar)$ 3047.0; $\nu(C-H, CH_3)$ 2915.0_{as}, 2851.2_{si}; $\nu(SH)$ 2749.5; $\nu(C=N)_{azometin}$ 1588.9; $\nu(C=N)_{inel}$ 1578.1; $\nu(C=C, Ar)$ 1541.0; $\nu(C-N)_{inel}$ 1322.4; $\nu(C=S)$ 1279.4; $\nu(N-N)_{inel}$ 1035.2; $\delta(C=S)$ 869.2; (1,4-substituție aril) 831.2.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 2.14 (s, 3H, CH₃C=N triazol); 2.51 (s, 3H, CH₃C=N) 3.46 (s, 1H, SH); 7.42, 7.43, 7.43, 7.44 (m, 4H, fenil); 7.79, 7.83, 8.54, 8.60 (m, 4H, piridin); 10.34 (s, 1H, {HNC(S)}); 13.69 (s, 1H, NH-N=).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 13.0, (CH₃C=N-triazol); 25.6, (CH₃C=N); 121.7, 124.7, 126.8, 128.3, 136.9, 140.3 (carbon aromatic, 6C); 131.0, 148.9, 149.7 (piridin); 150.1, (azometinic); 154.9 (C-5 triazol); 168.0, (C-S); 177.4, (C=S).

2-[(2-Hidroxifenil)metiliden]-N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]hidrazin-1-carbotioamidă (7)

Amestecul format din 0,50 g (2 mmol) 4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (5), 0,30 g (2 mmol) 2-[hidrazinilidenetil]fenol și 5 mL THF se încălzește la reflux timp de 40 min, apoi se răcește, solidul se filtrează și se recrystalizează din etanol; cad cristale de culoare albă. Se obțin: 0,67 g (87%) *carbotioamidă* (7); R_f = 0,69 (benzen-izopropanol 2:1), p.t. = 221-222°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(OH)$ 3420.3; $\nu(N^4H/N^2H)$ 3245.4, 3185.6; $\nu(C-H, Ar)$ 3010.0; $\nu(C-H, CH_3)$ 2910.0_{as}, 2869.5_{si}; $\nu(SH)$ 2700.0; $\nu(C=N)_{azometin}$ 1601.9; $\nu(C=N)_{inel}$ 1598.7; $\nu(C=C, Ar)$ 1514.3; $\nu(C-N)_{inel}$ 1303.7; $\nu(C=S)$ 1278.9; $\nu(N-N)_{inel}$ 1055.8; $\delta(C=S)$ 879.6; (1,4-substituție aril) 841.4.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 2.13 (s, 3H, CH₃C=N triazol); 2.51 (s, 1H, SH); 6.83, 6.85, 7.23, 7.25 (m, 4H, fenil); 7.40, 7.41, 7.81, 7.83 (m, 4H, hidroxifenil); 8.52 (s, 1H, OH); 11.92 (s, 1H, {HNC(S)}); 13.67 (s, 1H, NH-N=).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 12.2, (CH₃C=N-triazol); 116.5, 119.7, 126.2, 128.2, 130.6, (carbon aromatic, 6C); 126.2 (azometinic); 131.9, 140.5, 140.4, 149.7, 157.1 (hidroxifenil); 178.0, (C=S).

S-[5-Metil-4-[4-((2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotioil)amino)fenil]-4H-1,2,4-triazol-3-il]etantioat (8)

Amestecul format din 0,58 g (2 mmol) S-[4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]etantioat, 0,27 g (2 mmol) 2-[1-hidrazinilidenetil]piridină și 3 mL THF se refluxează timp de 30 min., apoi se răcește, solidul se recrystalizează din etanol; cade un solid microcristalin de culoare albă. Se obțin: 0,60 g (71%) *1,2,4-triazol* (8); R_f = 0,61 (benzen-izopropanol 3:1), p.t. = 241-242°C.

IR (FTIR, ν_{max} , cm^{-1}): $\nu(N^4H/N^2H)$ 3286.3, 3182.1; $\nu(C-H, Ar)$ 3087.1; $\nu(C-H, CH_3)$ 2935.2_{as}, 2896.1_{si}; $\nu(C=O)_{Ac}$ 1678.5; $\nu(C=N)_{azometin}$ 1602.3; $\nu(C=N)_{inel}$ 1578.1; $\nu(C=C, Ar)$ 1541.0; $\nu(C-N)_{inel}$ 1322.4; $\nu(C=S)$ 1379.4; $\nu(N-N)_{inel}$ 1051.0; $\delta(C=S)$ 890.6; (1,4-substituție aril) 861.1.

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 1.09 (s, 3H, CH₃C=N); 2.14 (s, 3H, CH₃C=N triazol); 2.51 (s, 3H, CH₃CO); 7.44, 7.44, 7.47, 7.81 (m, 4H, fenil); 7.83, 7.83, 7.84, 8.54 (m, 4H, piridin); 10.35 (s, 1H {HNC(S)}); 13.76 (s, 1H, NH-N=).

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 12.2, (CH₃C=N-triazol); 13.1, (CH₃CO); 25.6, (CH₃C=N); 121.7, 124.7, 127.0, 128.6, 136.9, 140.3 (carbon aromatic, 6C); 131.0, 148.9, 149.7, (piridin); 149.9, (azometinic); 150.1, (C-3 triazol); 154.8, (C-5 triazol); 168.5, (C=O); 169.3, (C-S); 177.4, (C=S)

I.3. Metode de cercetare a activităților biologice

Metoda de cercetare a activității antioxidante

Pentru obținerea datelor referitoare la activitatea antioxidantă ai derivaților 1,2,4-triazol-3-tiolilor obținuți au fost utilizate două metode: ABTS și DPPH. A fost folosită măsurarea spectrofotometrică a densității optice a

soluțiilor care conțin radicali liberi - colorați (cation radicalul ABTS (acidul 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic) și radicalul DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)), la care se adaugă substanțe (rutinul, troloxul și derivații 1,2,4-triazol-3-olului) de diferite concentrații, unde troloxul și rutinul sunt utilizați în calitate de martori. În acest fel a fost determinată capacitatea substanțelor ce reacționează cu radicali ABTS și DPPH. Activitatea antioxidantă prin metoda ABTS a fost evaluată în conformitate cu metoda descrisă de Re și colab. în [14]. Activitatea antioxidantă prin metoda DPPH a fost evaluată în conformitate cu metoda descrisă de Burits M. în [15].

Metoda de cercetare a activității antifungice

Proprietățile antifungice ale compușilor 2 și 7 au fost cercetate „*in vitro*” pe tulpina de laborator *Candida albicans*. Activitatea s-a determinat în mediul nutritiv lichid Sabouroud (pH 6,8). Inoculatele se pregăteau din tulpine de fungi recoltate în decurs de 3-7 zile. Concentrația lor în suspensie constituie $(2-4) \cdot 10^6$ unități formatoare de colonii într-un mililitru [16].

Metoda de cercetare a activității antiproliferative

Celulele de cancer epitelial (celule HEP-2), de cancer pancreatic (celule BxPC-3) au fost cultivate în formă de monostraturi în mediul DMEM cu conținut înalt de glucoză, L-glutamină, suplimentat cu (V 7,5%) 02 % v/v, soluție tampon HEPES (acidul N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etansulfonic) 20 mM, antibiotic: penicilină-streptomycină (concentrația finală de 100 U/mL penicilină și de 100 μg/mL sulfat de streptomycină) și suplimentat cu ser fetal bovin 10% v/v în condiții de cultură (2% CO₂, în atmosferă 78% umiditate și temperatura de 37°C). Celulele au fost tratate cu acidul tripsin etilendiaminotetraacetic (tripsină-EDTA) 0,05% și numărate sub un microscop inversat (OLYMPUS). Testul de proliferare celulară a fost realizat folosind resazurin (sarea de sodiu 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-onă-10-oxid), care permite stabilirea numărului de celule viabile [17]. Compușii studiați au fost dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrația de 10 mM. Compușii studiați au fost diluați cu medii de cultură, la fiecare s-a adăugat godeu și s-au incubat timp de 24 de ore. Apoi la fiecare probă s-a adăugat 20 μL soluție de resazurin și s-a incubat timp de 4 ore. Ulterior, absorbanta a fost înregistrată la 570 nm și 600 nm cu filtru. Datele au fost prelucrate de către aparatul hibrid imagistic (Synergy H1, BioTek). Rezultatele screeningului pentru identificarea substanțelor care inhibă proliferarea celulelor canceroase următoarele linii: cancer epitelial (celule HEP-2), cancer pancreatic (celule BxPC-3).

II. Rezultate și discuții

Rezultatele cercetărilor biologice

Cercetarea proprietăților antifungice

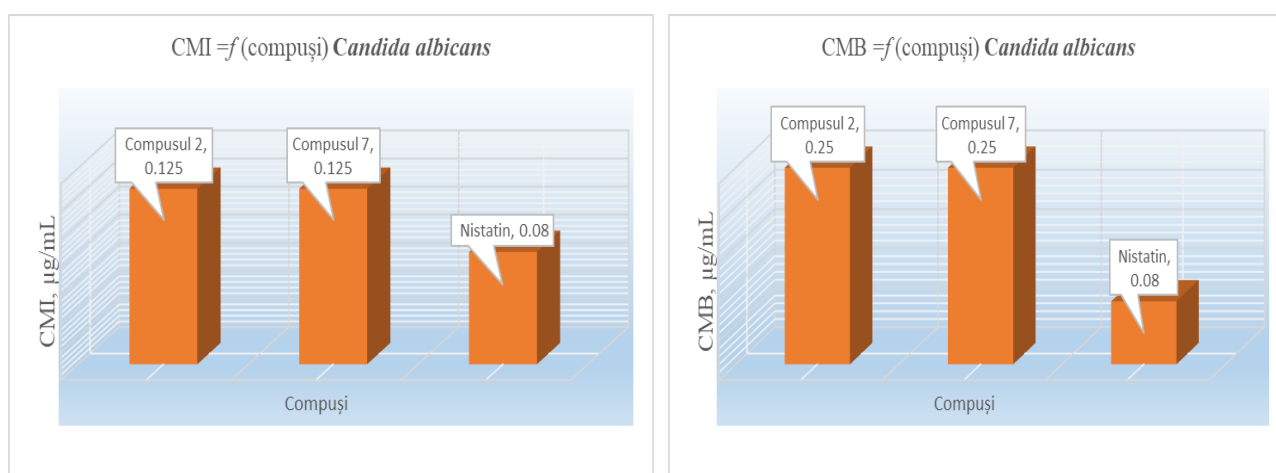
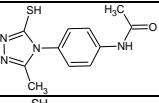
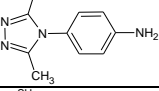
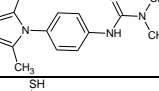
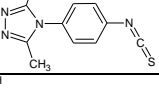
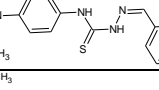
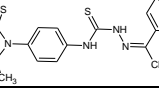
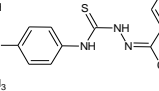


Fig.2. Rezultatul testărilor antifungice, pe tulpini de *Candida albicans*.

Tabelul 1

Proprietăți antioxidative și antiproliferative ale derivaților 1,2,4-triazol-3-tiol

| Formula | ABTS | DPPH | HEp-2 | BxPC-3 |
|---|------------------------|------------------------|--------------|--------------|
| | IC ₅₀ μM | IC ₅₀ μM | Inhibiție, % | Inhibiție, % |
| Trolox | 26,3 | 48,9 | | |
| Rutin | 20,7 | 64,8 | | |
|  | 17,4 | ≥100 | 10,0 | 3,3 |
|  | 14,1 | 86,3 | 9,5 | 0,3 |
|  | 13,6 | 50,9 | 4,3 | -3,2 |
|  | 14,1 | 32,0 | 0,1 | -0,9 |
|  | 14,8 | 68,7 | 54,8 | 82,3 |
|  | 11,0 | 78,0 | 22,4 | -6,5 |
|  | 7,0 | 29,0 | 58,9 | 85,5 |

În literatura de specialitate [1,11-13] este descrisă metoda de obținere a 1,2,4-triazol-3-tiolilor din hidrazide acide și izotiocianați alifatici sau aromatici în două etape. Tiosemicarbazidele 1-acilate obținute la prima etapă se izolează, apoi se supun transformării în 1,2,4-triazol-3-tioli la încălzire cu bază alcalină în etanol la reflux. Noi am înlocuit hidroxidul de sodiu cu TMED, iar solventul – cu DMF. Am obținut din acetohidrazidă și *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidă, într-o singură etapă, *N*-[4-(3-metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidă (1) cu un randament de 65%, TMED se regenerează prin distilare. În rezultatul hidrolizei acetamidei (1) în soluție de HCl (10%) a fost obținut 4-(4-aminofenil)-5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiol (2) cu un randament de 88%. Transformarea triazolului (2) în tiourea (3) și obținerea derivaților 1,2,4-triazolici (4-8) au fost efectuate analogic metodei cunoscute [10]. În mod deosebit decurge obținerea *S*-[4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il]etantioatului (5) prin dezaminarea tioureei (3) cu anhidridă acetică la un raport molar de 1:2, a fost izolat izotioceanatul (5) acilat la grupa tiolică. Formulele structurale, precum și puritatea acestora a fost dovedită cu ajutorul spectroscopiilor IR, ¹H-RMN și ¹³C-RMN.

Rezultatul difracțiilor razelor X pe monocristal

Tabelul 2

Datele cristalografice și parametrii structurali ai compușilor 2 și 3

| Formula empirică | C ₉ H ₁₃ ClN ₄ OS (2) | C ₁₆ H ₂₃ N ₅ O ₂ S ₂ (3) |
|--------------------|--|--|
| CCDC | 1832570 | 1841362 |
| Masa moleculară | 260.74 | 381.51 |
| Culoarea | surie | albă |
| Temperatura | 293(2) K | 293(2) K |
| Sistemul cristalin | Triclinic | Triclinic |
| Grupul de spațiu | P-1 | P-1 |

| Parametrii celulei elementare | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|
| a | 7.3891(6) Å | 7.9746(6) Å |
| b | 8.3845(7) Å | 8.7732(9) Å |
| c | 10.2664(10) Å | 12.3165(9) Å |
| α | 103.819(8)° | 79.531(7)° |
| β | 91.956(7)° | 78.553(7)° |
| γ | 94.634(7)° | 85.504(7)° |
| V | 614.67(10) Å ³ | 829.69(12) Å ³ |
| Z, densitatea calculată | 2, 1.409 Mg/m ³ | 2, 1.335 Mg/m ³ |
| Coeficientul de absorbție | 0.466 mm ⁻¹ | 0.329 mm ⁻¹ |
| F(000) | 272 | 348 |
| Dimensiunea cristalului | 0.23 x 0.20 x 0.10 mm | 0.3 x 0.24 x 0.18 mm |
| Intervalul θ pentru colectarea datelor | 3.15 la 25.04° | 3.15 la 25.04° |
| Reflecții colectate / unice | 4197 / 2163 [R(int) = 0.0222] | 4310 / 2929 [R(int) = 0.0261] |
| Date / restricții / parametri | 2163 / 0 / 150 | 2929 / 144 / 224 |
| GOOF | 1.056 | 1.055 |
| R [$I > 2\sigma(I)$] | R1 = 0.0378, wR2 = 0.0874 | R1 = 0.0578, wR2 = 0.1323 |
| R (pentru toate reflecțiile) | R1 = 0.0524, wR2 = 0.0937 | R1 = 0.0928, wR2 = 0.1521 |
| Diferența maximă dintre vârf și fantă | 0.179 și -0.208 e.Å ⁻³ | 0.386 și -0.226 e.Å ⁻³ |

Din soluția acidă au fost separate cristale de aminotriazol clorhidrat care au fost analizate cu ajutorul difracțiilor razelor X pe monocristal. Compusul cloro[4-(3-metil-5-sulfaniliden-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]amoniu mono-hidrat cristalizează în sistemul cristalin *triclinic*, *grupul de simetrie P-1*, având două molecule în celula elementară. Rețeaua cristalină este formată prin intermediul legăturilor de hidrogen intermoleculare Cl2...H-N6, N6-H...N5, O1-H...N6 etc.

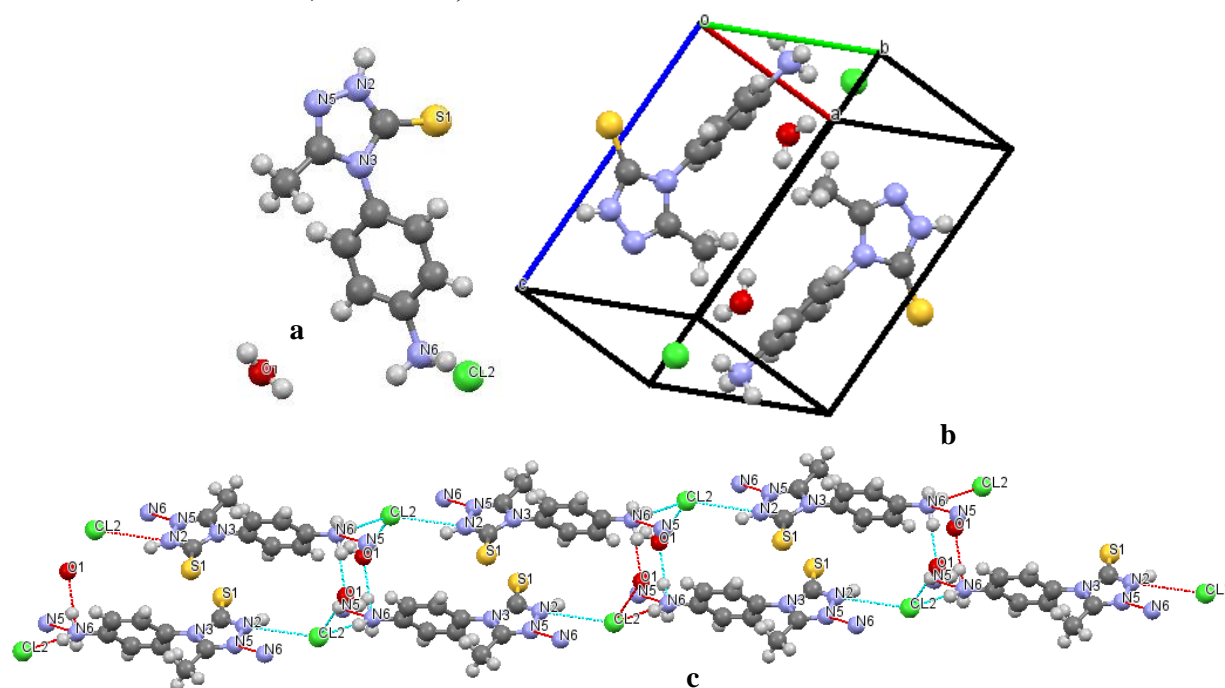
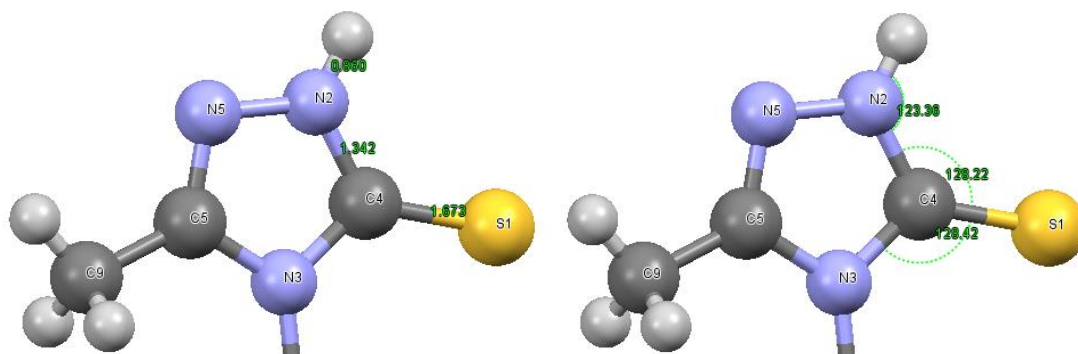


Fig.3. *a* – structura cloro[4-(3-metil-5-sulfaniliden-1,5-dihidro-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]amoniu monohidrat; *b* – reprezentarea în celula elementară; *c* – împachetarea cristalină a unităților de amină-triazol cu reprezentarea interacțiunilor intermoleculare și legăturile de hidrogen.

Conform rezultatelor roentgeno-structurale, în stare solidă este stabilizată tautomeria tionică, care este confirmată prin lungimea legăturilor S1- C4 1.673 Å ce corespunde C=S, precum și unghiul din N2C4S2 egal cu 128.22° formând un unghi obtuz (a se vedea reprezentarea ce urmează).



Din soluția de dioxan au fost separate cristale de triazol-tiouree (3) care au fost analizate cu ajutorul difracțiilor razelor X în monocristal.

N,N-Dimetil-*N'*-[4-(3-metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree cristalizează în sistemul cristalin *triclinic*, grupul de simetrie *P-1*, celula elementară este formată din două molecule de tiouree (3) care sunt orientate paralel-opus una față de alta raportat la inelul 1,2,4-triazolic și la gruparea tionică. Rețeaua cristalină este formată prin intermediul legăturilor de hidrogen intermoleculare O(3)...(2)H-N(2). Prin intermediul legăturilor de hidrogen se formează straturi paralele.

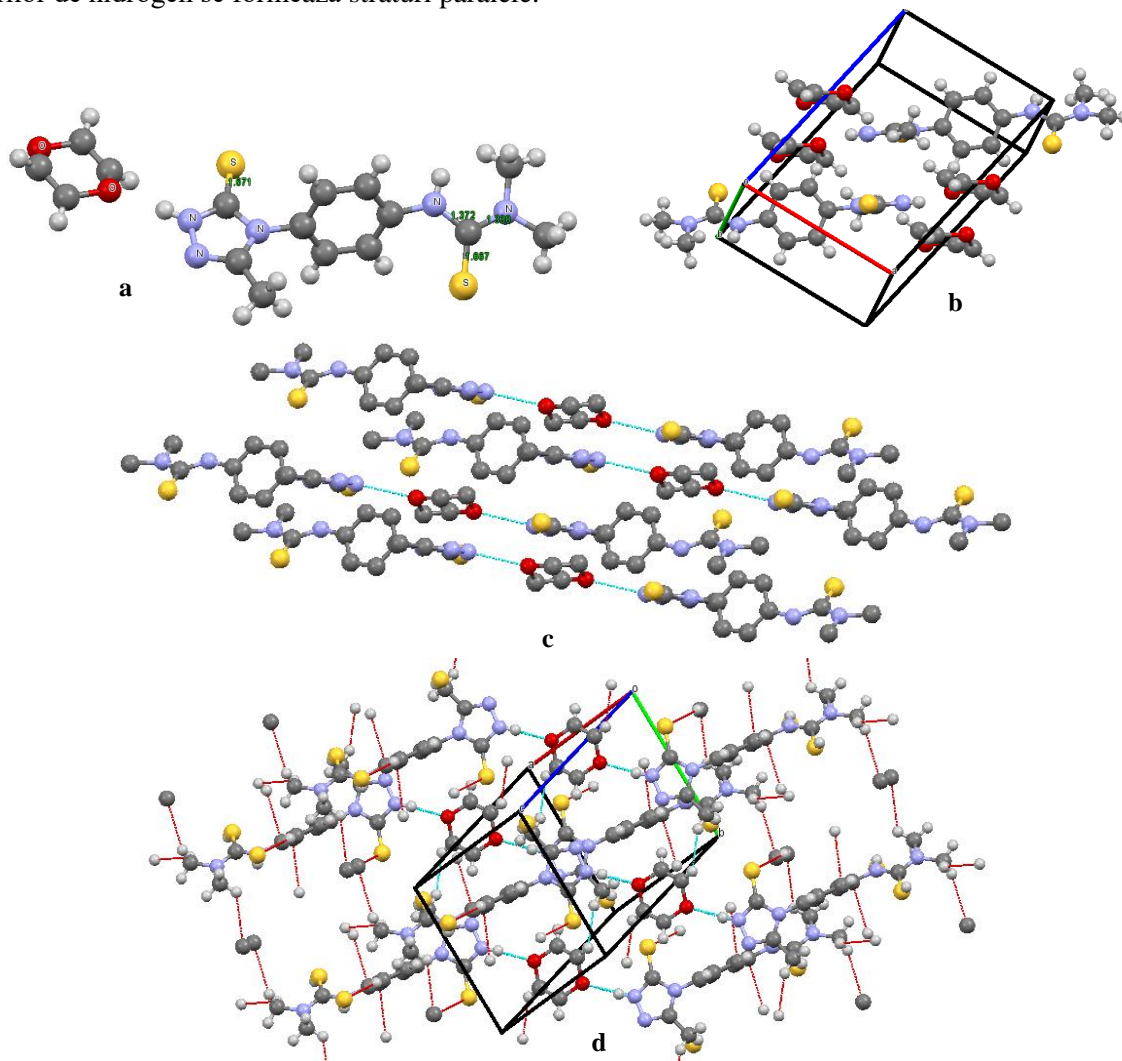


Fig.4. *a* – Structura *N,N*-dimetil-*N'*-[4-(3-metil-5-sulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree; *b* – reprezentarea în celula elementară; *c* – reprezentarea formării straturilor de împachetare cristalină; *d* – împachetarea cristalină a unităților de tiouree cu reprezentarea interacțiunilor intermoleculare și legăturile de hidrogen.

Tabelul 3

Valorile și lungimile legăturilor interatomice ale compușilor: *cloro[4-(3-metil-5-sulfaniliden-1,5-dihidro-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]ammoniu monohidrat* și *N,N-dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree*

| Compusul <i>cloro[4-(3-metil-5-sulfaniliden-1,5-dihidro-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]ammoniu monohidrat</i> | | | | Compusul <i>N,N-dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiouree</i> | | | |
|---|--------------|----------------|--------------|--|--------------|------------------|--------------|
| Legătura | Valoarea (Å) | Unghiuri | Valoarea (°) | Legătura | Valoarea (Å) | Unghiuri | Valoarea (°) |
| S(1)-C(1) | 1.673(2) | C(1)-N(1)-N(3) | 113.49(17) | S(1)-C(1) | 1.666(4) | C(1)-N(1)C(2) | 122.8(3) |
| N(1)-C(1) | 1.339(3) | C(1)-N(2)-C(2) | 107.97(17) | S(2)-C(11) | 1.671(4) | C(1)-N(1)-C(3) | 120.9(3) |
| N(1)-N(3) | 1.375(2) | C(1)-N(2)-C(4) | 125.08(17) | N(1)-C(1) | 1.345(4) | C(2)-N(1)-C(3) | 115.4(3) |
| N(2)-C(1) | 1.377(3) | C(2)-N(2)-C(4) | 126.93(17) | N(1)-C(2) | 1.452(5) | C(1)-N(2)-C(4) | 128.9(3) |
| N(2)-C(2) | 1.383(3) | N(1)-C(1)-N(2) | 103.27(17) | N(1)-C(3) | 1.456(5) | C(11)-N(3)-C(10) | 108.5(3) |
| N(2)-C(4) | 1.434(2) | N(1)-C(1)-S(1) | 128.37(16) | N(2)-C(1) | 1.369(5) | C(11)-N(3)-C(7) | 124.8(3) |
| N(3)-C(2) | 1.295(3) | N(2)-C(1)-S(1) | 128.34(16) | N(2)-C(4) | 1.418(4) | C(10)-N(3)-C(7) | 126.6(3) |
| N(4)-C(7) | 1.460(3) | C(2)-N(3)-N(1) | 104.46(16) | N(3)-C(11) | 1.369(4) | C(10)-N(4)-N(5) | 103.7(3) |
| C(7)-C(8) | 1.372(3) | C(8)-C(7)-C(6) | 121.8(2) | N(3)-C(10) | 1.380(4) | C(11)-N(5)-N(4) | 113.8(3) |
| C(7)-C(6) | 1.373(3) | C(8)-C(7)-N(4) | 118.8(2) | S(1)-C(1) | 1.666(4) | N(1)-C(1)-N(2) | 113.4(3) |
| C(4)-C(5) | 1.375(3) | C(6)-C(7)-N(4) | 119.4(2) | S(2)-C(11) | 1.671(4) | N(1)-C(1)-S(1) | 122.8(3) |
| C(4)-C(9) | 1.376(3) | C(5)-C(4)-C(9) | 121.1(2) | N(1)-C(1) | 1.345(4) | N(2)-C(1)-S(1) | 123.8(3) |
| C(5)-C(6) | 1.386(3) | C(5)-C(4)-N(2) | 119.91(19) | N(1)-C(2) | 1.452(5) | C(9)-C(4)-C(5) | 119.2(3) |
| C(2)-C(3) | 1.484(3) | C(9)-C(4)-N(2) | 119.02(19) | N(1)-C(3) | 1.456(5) | C(9)-C(4)-N(2) | 116.6(3) |
| C(9)-C(8) | 1.380(3) | C(4)-C(5)-C(6) | 119.2(2) | N(3)-C(7) | 1.436(4) | C(5)-C(4)-N(2) | 124.0(3) |
| | | | | N(4)-C(10) | 1.300(4) | C(4)-C(5)-C(6) | 119.7(3) |
| | | | | N(4)-N(5) | 1.382(4) | C(7)-C(6)-C(5) | 119.9(3) |
| | | | | N(5)-C(11) | 1.339(4) | C(6)-C(7)-C(8) | 120.8(3) |
| | | | | C(4)-C(9) | 1.376(5) | C(6)-C(7)-N(3) | 120.8(3) |
| | | | | C(4)-C(5) | 1.385(5) | C(8)-C(7)-N(3) | 118.4(3) |
| | | | | C(5)-C(6) | 1.391(5) | C(7)-C(8)-C(9) | 119.3(3) |
| | | | | C(6)-C(7) | 1.364(5) | C(4)-C(9)-C(8) | 121.0(3) |
| | | | | | | N(4)-C(10)-N(3) | 110.9(3) |
| | | | | | | N(4)-C(10)-C(12) | 125.6(3) |
| | | | | | | N(3)-C(10)-C(12) | 123.5(3) |
| | | | | | | N(5)-C(11)-N(3) | 103.0(3) |
| | | | | | | N(5)-C(11)-S(2) | 127.9(3) |
| | | | | | | N(3)-C(11)-S(2) | 129.0(3) |

Concluzii

1. În baza N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidei (1) au fost obținuți 7 derivați noi 1,2,4-triazol-3-tioli: 4-(4-aminofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (2); N,N-dimetil-N'-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]tiourea (3); 4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (4); S-[4-(4-izotiocianatofenil)-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]etantioat (5); N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazin-1-carbotioamida (6); 2-[(2-hidroxifenil)metiliden]-N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]hidrazin-1-carbotioamida (7); S-{5-metil-4-[4-({2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotioil} amino)fenil]-4H-1,2,4-triazol-3-il}etantioat (8).

2. Compușii sintetizați au fost confirmați cu ajutorul spectroscopiilor IR, ^1H și ^{13}C RMN și al difracției razelor X pe monocristal.

3. Compușii sintetizați au fost investigați la proprietăți fungicide, antioxidative și antiproliferative. Proprietăți antifungice manifestă compușii (2) și (7) cu o CMI de 0,125 $\mu\text{g/mL}$ și CMB de 0,25 $\mu\text{g/mL}$. Proprietăți antioxidative manifestă toți compușii sintetizați în comparație cu Rutinul și Troloxul. Cel mai bun antioxidant este compusul (6) care este mai activ de 3,7 ori decât Troloxul și de 2,9 ori mai activ decât de Rutinul (metoda ABTS). Conform metodei DPPH, compusul (6) a manifestat cele mai bune proprietăți anti-

oxidative, fiind de 1,6 ori mai activ decât Troloxul și de 2,2 ori mai activ decât Rutinul. Proprietățile anti-proliferative au fost studiate pe două tipuri de cancer: cancer epitelial (celule Hep-2) și cancer pancreatic (celule BxPC-3). La concentrația de 100 $\mu\text{mol/L}$ compușii (6) și (8) inhibă dezvoltarea celulelor de cancer epitelial (Hep-2) 54,8 % și respectiv 58,9 %. Compușii (6) și (8) inhibă proliferarea celulelor de cancer BxPC-3 cu 82,3 % și 85,6 %.

Referințe:

1. RAAFAT, M.S. The chemistry of mercapto- and thione-substituted 1,2,4-triazoles and their utility in heterocyclic synthesis. In: *Arkivoc*, 2006, vol.9, p.59-112. DOI: 10.3998/ark.5550190.0007.904
2. AISHA, Y.H., MARWA, T.S. et al. Synthesis and anticancer evaluation of some novel 5-amino[1,2,4]triazole derivatives. In: *J. Heterocyclic Chem.*, 2018, [Accesat: 26.05.2018] Disponibil: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jhet.3184>, DOI:10.1002/jhet.3184
3. MHASALKAR, M.Y. ș.a. 4-Alkyl-5-aryl-4H-1,2,4-triazole-3-thiols as hypoglycemic agents. In: *J. of Med. Chem.*, 1970, vol.13, no.4, p.672-674. DOI: 10.1021/jm00298a021
4. POLUCCI, P. et al. Alkylsulfanyl-1,2,4-triazoles, a new class of allosteric valosine containing protein inhibitors. Synthesis and structure-activity relationships. In: *J. of Med. Chem.*, 2013, vol.56, no.2, p.437-450. DOI: 10.1021/jm3013213
5. ŞAHIN, D. et al. Design and synthesis of new 1,2,4-triazole derivatives containing morpholine moiety as antimicrobial agents. In: *Turk. J. Chem.*, 2012, vol.36, p.411- 426. DOI:10.3906/kim-1106-44
6. ESRA, TATAR et al. Synthesis and biological evaluation of some new 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives from L-methionine as ant tuberculosis and antiviral agents. In: *Mar. Phar. J.* 2015, vol.19, p.88-102. DOI: 10.12991/ mpj.2015199639
7. *Utilizarea di(μ-S)-bis{(4-aminobenzensulfamid)cloro-[2-picoliden-4-feniltiosemicarbazidato-(1-)]cupru(II)} în calitate de antioxidant*: Brevet MD nr. 4469, Inventatori: GULEA A., GUDUMAC V., GARBUZ O., ȚAPCOV V., PAHONȚU E.-M. CIB A61K 33/34 Publ. BOPI 3/2017.
8. *Di(μ-S)-bis{cloro[fenil(piridin-2-il)metanontiosemicarbazono-1-]cupru}care manifestă proprietatea de inhibare a proliferării celulelor T-47D ale cancerului mamar*: Brevet MD nr. 4132, Inventatori: GULEA A., ȚAPCOV V., STRAISTARI T., POIRIER D. CIB C07C 337/08 Publ. BOPI 10/2011.
9. ЧУМАКОВ, Ю.М., ЦАПКОВ, В.И., АНТОСЯК, Б.Я., СИМОНОВ, Ю.А., ЯНЕЛЛИ, С., БАЙРАК, Н.Н., ГУЛЯ, А.П., ПАЛОМАРЕС-САНЧЕС, С.А. Кристаллические структуры 4-фенилтиосемикарбазонов 6-метил-и-6-бром-2-формилпиридина. В: *Кристаллография*. 2010, том 56, №1, с.142-146. ISSN: 0023-4761
10. RUSNAC, R., RUSNAC, A., GARBUZ, O., BARBĂ, N., GULEA, A. Sinteza unor tiosemicarbazone în baza N-{4-[(hidrazinil-carbonotioil)amino]fenil}acetamidei. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2016, nr.6 (96), p.189-194. ISSN online 1857-498X
11. PACHUTA-STECA, A. et al. Synthesis and antimicrobial evaluation of novel derivatives of semicarbazide and 1,2,4-triazole. In: *J. Heterocyclic Chem.*, 2017, vol.5, no.45, p.2867-2873. DOI:10.1002/jhet.2893
12. FATMA F. AHMED, AMER ALI ABD EL-HAFEEZ, SAMAR H. ABBAS et al. New 1,2,4-triazole-Chalcone hybrids induce Caspase-3 dependent apoptosis in A549 human lung adenocarcinoma cells. In: *Eur. J. of Med. Chem.*, 2018, vol.151, p.705-722. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.03.073
13. MUHAMAD MUSTAFA, DALIA ABDELHAMID, ELSHIMAA M. N. ABDELHAFEZ et al. Synthesis, antiproliferative, anti-tubulin activity, and docking study of new 1,2,4-triazoles as potential combretastatin analogues. In: *Eur. J. of Med. Chem.*, 2017, vol.141, p.293-305. DOI:10.1016/j.ejmech.2017.09.063
14. RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. RICE-EVANS, C. Antioxidant activitate aplicarea unui ABTS cation radical test îmbunătățită decolorare. In: *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, no.26, p.1231-1237.
15. BURITS, M., BUCAR, F. Activitatea antioxidantă a uleiului de Nigella Sativa esserntial. În: *Phytother Res.*, 2000, vol.14, p.323-328.
16. *Utilizarea N-(2,4-dimetilfenil)-2-(2-hidroxibenziliden)hidrazincarbotioamidei în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia Candida albicans*: Brevet MD nr. 4452. Inventatori: OLTU I., GUȚU T., GULEA A., ȚAPCOV V. A61K 31/175 Publ. BOPI 12/2016.
17. ANOOPKUMAR-DUKIE, S; CAREY, JB; CONERE, T; O'SULLIVAN, E; VANPELT, FN; ALLSHIRE, A. Resazurin assay of radiation response in cultured cells. In: *British Journal of Radiology*, 2005, vol.78, p.945-947.

Notă: Această lucrare a fost realizată în cadrul Proiectului instituțional 15.817.02.24F

Mulțumiri. Autorii aduc mulțumiri dlui Piotr Petrenko, doctor, conferențiar cercetător la Institutul de Fizică Aplicată, pentru investigațiile roentgenografice.

Date despre autori:

Roman RUSNAC, doctorand, Școala doctorală *Științe Chimice*, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică; cercetător științific stagiar în LCȘ *Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: romanrusnac8@gmail.com & roman.rusnac@mail.ru

Olga GARBUZ, cercetător științific în LCȘ *Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: olga.garbuз.78@mail.ru & olhamos@mail.ru

Nicanor BARBĂ, doctor habilitat, profesor universitar, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică; cercetător științific coordonator în LCȘ *Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică*, Universitatea de Stat din Moldova.

Aurelian GULEA, academician AȘM, doctor habilitat, profesor universitar, Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică; șef LCȘ *Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: guleaaurelian@gmail.com

Greta BĂLAN, doctor în științe medicale, conferențiar universitar, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

E-mail: greta.balan@usmf.md

Olga BRUDUNIUC, doctor în științe medicale, conferențiar cercetător la Agenția Națională pentru Sănătate Publică.

E-mail: olgaburduniuc3@gmail.com

Prezentat la 06.06.2018