

CZU: 547.497.1:541.49

SINTEZA ȘI STUDIUL UNOR N'-(n-DIMETILFENIL)-N,N-DIMETILTIOUREI ȘI N(4)-n-DIMETILFENIL-TIOSEMICARBAZIDE

Tatiana ERHAN, Olga GARBUZ, Aurelian GULEA

Universitatea de Stat din Moldova

În lucrare este descrisă sinteza și activitatea antiproliferativă a 6 tiourei și a 6 tiosemicarbazide. Puritatea și identitatea compușilor obținuți a fost confirmată cu ajutorul spectroscopiei ^1H și ^{13}C RMN, IR, cromatografiei pe strat subțire CSS și al temperaturii de topire. Toate substanțele sintetizate au fost testate *in vitro*, pentru activitatea antiproliferativă pe liniile celulare umane de cancer, și anume: carcinom cervical (HeLa), carcinom pancreatic (BxPc-3), rhabdomiosarcomă (RD) și celule sănătoase de MDCK. S-a urmărit studiul relației structură-activitate.

Cuvinte-cheie: N(4)-dimetilfeniltiosemicarbazide, N'-(n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiourei, activitate antiproliferativă, HeLa, BxPc-3, RD, MDCK.

THE SYNTHESIS AND STUDIES OF THE SOME N'-(n-DIMETHYLPHENYL)-N,N-DIMETHYLTHIOUREAS AND N(4)-n-DIMETHYLPHENYL-3-THIOSEMICARBAZIDES

The present paper describes the synthesis of 6 new thiosemicarbazides and 6 thioureas. The identity and purity of obtained organic compounds was proved by chromatography TSS, melting points, as well as by ^{13}C and ^1H NMR, IR spectra. The synthesized substances were tested, *in vitro* for the antiproliferative activity on cancer and normal cells of: HeLa (cervical cancer) cells, BxPc-3 (pancreatic cancer) cells, RD (rhabdomyosarcoma) cells and on normal MDCK cells. Structure-activity relationships were carried out.

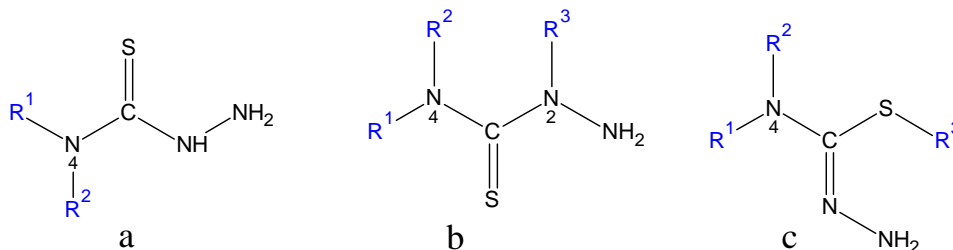
Keywords: N(4)-n-dimethylphenyl-3-thiosemicarbazide, N'-(n-dimethylphenyl)-N,N-dimethylthiourea, antiproliferative activity, HeLa, BxPc-3, RD, MDCK.

Introducere

Sinteza și studiul unor noi compuși inovatori, non-toxici cu efecte antitumorale, antibacteriene, antivirale, antifungice etc. eficiente poate oferi o abordare alternativă la tratamentele clasice ale cancerului, ale bolilor infecțioase și virale, unele dintre cele mai grave amenințări la adresa sănătății umane.

Tiosemicarbazidele reprezintă substanțe cu un spectru larg de proprietăți. Aplicațiile lor biomedicale au fost dezvoltate mai intens în ultimele decenii, având la bază particularitatea că modelarea structurii lor moleculare contribuie decisiv la valorificarea acestora.

Tiosemicarbazidele sunt o clasă de compuși ce provin de la tiosemicarbazidă $\text{H}_2\text{N}(4)\text{-CS}(2)\text{NH}(1)\text{NH}_2$ [1], care pot fi obținute prin substituirea (a) la atomul de azot tioamidic, (b) la un atom de azot hidrazinic și (c) la un atom de sulf:



Tiosemicarbazidele, precum și precursorii lor azometinici – tioureele [2-5], sunt compuși care conțin grupa funcțională ($>\text{N}-\text{C}(\text{S})-\text{N}<$) și prezintă un interes farmaceutic considerabil datorită proprietăților anticancerigene [6-10], antibacteriene [11-14], antifungice [15-17] etc. Însă, cea mai mare atenție au atras datorită potențialului biologic ridicat, în special activității antitumorale.

Există un studiu impunător care implică sinteza și activitatea biologică a compușilor complecși formați la cuplarea metalelor de tranziție cu tiosemicarbazidele și tioureele în calitate de liganzi. Însă, rămâne foarte actuală sinteza a noi derivați din seria tiosemicarbazidelor și studiul relației structură-activitate.

I. Partea experimentală

Reactivi și metode de cercetare

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați din „Aldrich”. Spectroscopia Rezonanței Magnetice Nucleare (RMN) ^1H și ^{13}C a fost efectuată la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. Toate datele (^1H , ^{13}C) sunt prezentate în ppm (părți pe milion) față de SiMe₄. În calitate de solvent a fost utilizat DMSO-d₆.

Metodica de cercetare a activității antiproliferative

Celule de linie MDCK, de linie HeLa și de linie RD au fost cultivate ca monostraturi în mediu Eagle modificat Dulbecco (D-MEM), glucoza (Invitrogen) conținând L-glutamină, fracțiunea albumină bovină (V7,5%) 0,2% v/v (Invitrogen), tampon HEPES (N-acid sulfonic 2 hidroxiethylpiperazin-N'-2-etan) 20 mM (Invitrogen), antibiotice – penicilină-streptomycină (concentrație finală de 100 U/ml penicilină și 100 pg/ml sulfat de streptomycină) (Invitrogen), suplimentate cu ser embriotic de bovine (FBS-iradiate) 10% v/v (Cambrex) în condiții de cultură (2% CO₂, 78% aer în cameră umidificat la 37°C).

Celulele de linie BxPc-3 au fost cultivate în mediu de (RPMI) 1640 [18-19].

Testul de proliferare celulară

Celulele au fost tripsinizate cu acid etilendiaminotetraacetic Tripsina (tripsină-EDTA) 0,05% (Invitrogen) și numărate cu un microscop inversat (OLYMPUS). Testul de proliferare celulară a fost realizat folosind resazurin (sarea de sodiu 7-hidroxi-3H-phenoxazin-3-onă-10-oxid), care permite măsurarea numărului de celule viabile.

Celulele au fost plasate în plăci de microtitrare cu 96 de godeuri (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, USA), 100 μl, în trei exemplare a câte 1 x 10⁴ celule, apoi au fost incubate la 37°C, 2% CO₂, umiditate înaltă. Compușii au fost dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) pentru a prepara soluția de 10 mM. Acești compuși și doxorubicina (DOXO) (SC Balkan Pharmaceuticals SRL) au fost diluați multiplu, cu medii de cultură, apoi au fost adăugate în fiecare godeu și incubate timp de 24 de ore. După fiecare tratament, 20 g de soluție resazurin au fost adăugate la fiecare godeu și incubate timp de 4 ore. Ulterior, a fost măsurată absorbanta la lungimi de undă 570 nm și 600 nm. Măsurările au fost făcute de către cititorul hibrid de imagistică (Synergy H1, Biotek).

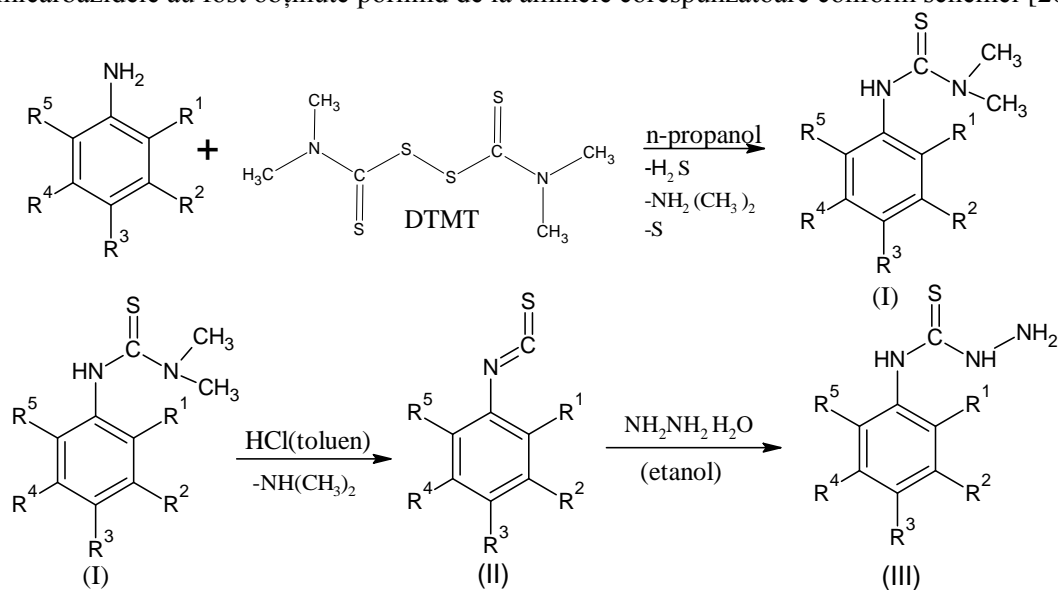
Inhibarea procentuală a fost calculată conform formulei:

$$100 - ((Abs_{570nm\ sample} - Abs_{600nm\ sample}) / (Abs_{570nm\ control} - Abs_{600nm\ control}) \times 100).$$

Datele pentru IC₅₀ au fost evaluate cu programul GraphPad.

Metode de sinteză

Tiosemicarbazidele au fost obținute pornind de la aminele corespunzătoare conform schemei [20]:



	a	b	c	d	e	f
R ¹	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	H
R ²	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₃
R ³	H	CH ₃	H	H	CH ₃	H
R ⁴	H	H	CH ₃	H	H	CH ₃
R ⁵	H	H	H	CH ₃	H	H

Sinteza 1 – a *N'-(n,n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureeleor (Ia - f)*. Amestecul format din 12,1 g (0,1 mol) n,n-dimetilanilină, 24 g (0,1 mol) disulfură de tetrametiltiuram (DTMT) și 30 ml n-propanol se încălzește (95°C) timp de 4 ore. Sfârșitul reacției se determină cu ajutorul CSS (cromatografie în strat subțire). Soluția se decantează, pentru a îndepărta resturile de S, apoi se lasă la rece. Tioureea formată se filtrează și ulterior se recrystalizează din etanol. *N'-(n,n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureele* reprezintă substanțe cristaline de culoare albă.

Sinteza 2 – a *n,n-dimetilfenilizotiocianaților (IIa - f)*. Amestecul format din 20,8 g (0,1 mol) *N'-(n,n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiouree* și 52,14 ml (0,16 mol) HCl conc. și 50 ml toluen se fierbe (110°C) la reflux timp de 4 ore. Se separă stratul organic și se spală cu apă până la pH=7. Se usucă cu CaCl₂ și se distilează solventul. Izotiocianatul format se purifică prin distilare în vid.

Sinteza 3 – a *4-n,n-dimetilfeniltiosemicarbazidelor (IIIa - f)* 1,63 g (0,01 mol) n,n-dimetilfenil izotiocianat se dizolvă în 5 ml etanol, 0,75 g hidrat de hidrazină se dizolvă în 5 ml etanol, apoi la rece (5°C) cu agitare continuă soluția de izotiocianat se picură la soluția de hidrat de hidrazină. Amestecul format se agită la rece 0,5 h, apoi la temperatura camerei încă 1,5 h; precipitatul format se filtrează și se spală cu apă până la pH=7. Tiosemicarbazida formată se recrystalizează din etanol. Tiosemicarbazidele reprezintă substanțe cristaline de culoare albă.

Metode fizice de cercetare

Rezultatele metodelor fizice de cercetare: temperatura de topire/fierbere(°C), spectroscopia H¹-NMR (DMSO-d₆), C¹³ RMN (DMSO-d₆), IR.

(Ia) *N'-(2,3-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 170-172°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.03(s, 3H o-CH₃); 2.24(s, 3H, m-CH₃); 3.45(s, 6H N(CH₃)₂); 6.8-7 (m, 3H, Ar); 8.8 (s.1H, NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 14.7(o-CH₃); 20.6 (m-CH₃); 41.1(N(CH₃)₂); 125.3; 127.2; 128; 134.7; 137.1(Ar); 181.9(C=S); IR, cm⁻¹: 1316(C=S); 1526(C-N); 3267(NH);

(Ib) *N'-(2,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 160-162°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.12(s, 3H o-CH₃); 2.27(s, 3H, p-CH₃); 3.26(s, 6H N(CH₃)₂); 6.9-7.01(m, 3H, Ar); 8.76 (s, 1H, NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 18.32 (o-CH₃); 21.05 (p-CH₃); 41.14 (N(CH₃)₂); 126.88; 129.3; 131; 135.7; 137.76(Ar); 182.07(C=S); IR, cm⁻¹: 1332(C=S); 1522(C-N); 3224(NH).

(Ic) *N'-(2,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 145-147°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.12(s, 3H o-CH₃); 2.26(s, 3H, m-CH₃); 3.45(s, 6H N(CH₃)₂); 6.8-7.12(m, 3H, Ar); 8.75 (s.1H,NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 17.9(o-CH₃); 20.87 (m-CH₃); 41.13(N(CH₃)₂); 127, 129, 130, 133, 135, 140(Ar); 181.9(C=S); IR, cm⁻¹: 1335(C=S); 1522(C-N); 3199(NH).

(Id) *N'-(2,6-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 140-142°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.27 (s, 6H (o-CH₃)₂); 3.42 (s, 6H N(CH₃)₂); 7.48-7.72 (m, 3H, Ar); 8.8 (s.1H,NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 19 ((o-CH₃)₂); 40,6 (N(CH₃)₂); 125.6, 126.7 128.3, 128.8, 129.6, 135.5(Ar); 176.8 (C=S); IR,cm⁻¹: 1331(C=S); 1517(C-N); 3231(NH);

(Ie) *N'-(3,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 180-182°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.18 (s, 3H m-CH₃); 2.28 (s, 3H, p-CH₃); 3.25 (s, 6H N(CH₃)₂); 6.8-7.2 (m, 3H, Ar); 8.88 (s.1H,NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 19.32 (m-CH₃); 19.9 (p-CH₃); 41.2 (N(CH₃)₂); 123; 127; 129; 132; 135 (Ar); 181.8 (C=S); IR, cm⁻¹: 1316(C=S); 1532(C-N); 3274(NH).

(If) *N'-(3,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*: t.top. 190-192°C; H¹-NMR (DMSO-d₆) δ: 2.24 (s, 6H (m-CH₃)₂); 3.25(s, 6H N(CH₃)₂); 6.74-6.89 (m, 3H, Ar); 8.8 (s.1H,NH); C¹³ RMN (DMSO-d₆) δ: 21.4 ((m-CH₃)₂); 41.4(N(CH₃)₂); 123; 126.1; 126.4; 136; 137; 141(Ar); 181.6 (C=S); IR, cm⁻¹: 1325(C=S); 1542(C-N); 3263(NH).

(IIa) 1-izotiocianato-2,3-dimetilbenzen: lichid de culoare galbenă pal; randamentul 80% t.f. 130°C/14mmHg; IR cm^{-1} , ν : 1382,3; 1461,4; 1577,4; 2080,42.

(IIb) 1-izotiocianato-2,4-dimetilbenzen: cristale de culoare galbenă; randamentul 72% t.f. 143°C/14mmHg; t.top. 26-28°C; IR cm^{-1} , ν : 1377,7; 1485,5; 1629,2; 2082,0.

(IIc) 2-izotiocianato-1,4-dimetilbenzen: lichid de culoare galbenă pal; randamentul 75% t.f. 137°C/16mmHg; IR cm^{-1} , ν : 1378,7; 1447,6; 1613,1; 2062,12.

(IId) 2-izotiocianato-1,3-dimetilbenzen: lichid de culoare galbenă-verzuie; randamentul 68% t.f. 155°C/30mmHg; IR cm^{-1} , ν : 1368,6; 1464,1; 1591,4; 2068,6.

(IIE) 4-izotiocianato-1,2-dimetilbenzen: lichid de culoare galbenă-verzuie; randamentul 70% t.f. 147°C/25mmHg; IR cm^{-1} , ν : 1382,0; 1491,6; 1609,5; 2061,1.

(IIF) 1-izotiocianato-3,5-dimetilbenzen: cristale de culoare galbenă; randamentul 75%; t.top. 147-149°C; IR cm^{-1} , ν : 1376,6; 1465,5; 1602,3; 2055,7.

(IIIa) 4-(2,3-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 190-192°C; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,06(s, 3H, o- CH_3); 2,24(s,3H, m- CH_3); 4,74(s,2H,NH $_2$); 7,03-7,21(m,3H,fenil); 9,0(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,34(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 14,47(o- CH_3); 20,5(m- CH_3); 125,13; 125,93; 127,79; 133,13; 136,86; 138,19; 181,12(C=S); IR cm^{-1} , ν : 765; 1240(C=S); 1497-1520(C=N); 1624(C=C); 2969(N $_2$ -H); 3162(N $_1$ -H).

(IIIb) 4-(2,4-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 150-152°C; randamentul 86%; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,16(s, 3H, o- CH_3); 2,26(s,3H, p- CH_3); 4,75(s,2H,NH $_2$); 6,96-7,34(m,3H,fenil); 9,0(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,31(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 18,14(o- CH_3); 21,01(p- CH_3); 126,65; 127,58; 130,9; 133,7; 135,0; 135,8; 180,9(C=S); IR cm^{-1} , ν : 771; 1223-1260 (C=S); 1473-1581(C=N); 1602(C=C); 2939(N $_2$ -H); 3186(N $_1$ -H).

(IIIc) 4-(2,5-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 162-164°C; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,15(s, 3H, o- CH_3); 2,24(s,3H, m- CH_3); 4,74(s,2H,NH $_2$); 6,89-7,33(m,3H,fenil); 9,09(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,30(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 17,67(o- CH_3); 21,13(m- CH_3); 126,73; 127,79; 130,19; 134,99; 135,2; 138,18; 180,59(C=S); IR cm^{-1} , ν : 746; 1229-1271 (C=S); 1482-1525(C=N); 1615(C=C); 2956(N $_2$ -H); 3194(N $_1$ -H).

(IIId) 4-(2,6-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 223-225°C; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,15(m,3H, (o- CH_3) $_2$); 4,71(s,2H,NH $_2$); 7,05(m,3H,fenil); 8,89(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,37(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 18,33(o- CH_3); 123,79; 126,99; 127,79; 133,13; 136,0; 136,8; 181,39(C=S); IR cm^{-1} , ν : 770; 1244-1269 (C=S); 1487-1522(C=N); 1609(C=C); 2944(N $_2$ -H); 3181(N $_1$ -H).

(IIIe) 4-(3,4-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 155-157°C; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,18(m, 3H, CH_3); 4,74(s,2H,NH $_2$); 7,03-7,35(m,3H,fenil); 9,02(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,5(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 19,27(m- CH_3); 20,07(p- CH_3); 121,39; 125,13; 129,39; 132,59; 136,06; 137,39; 179,79(C=S); IR cm^{-1} , ν : 760; 1231-1276 (C=S); 1446-1495(C=N); 1614(C=C); 2965(N $_2$ -H); 3193(N $_1$ -H).

(IIIf) 4-(3,5-dimetilfenil)tiosemicarbazidă: t.top. 112-115°C; ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ : 2,24(s,3H, (m- CH_3) $_2$); 4,76(s,2H,NH $_2$); 6,73-6,75(m,3H,fenil); 8,32(s, 1H,C $_{\text{fenil}}$ -NH); 9,06(s,1H,Cs-NH); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ : 21,01(m- CH_3); 121,39; 125,93; 126,19; 136,06; 137,6; 139,53; 179,52(C=S); IR cm^{-1} , ν : 727; 1238-1271 (C=S); 1494-1539(C=N); 1599(C=C); 2907(N $_2$ -H); 3184(N $_1$ -H).

II. Rezultate și discuții

Tiosemicarbazidele, precum și precursorii lor – tioureele, posedă o activitate biologică sporită, fapt pentru care sunt pe larg utilizate în practica medicală. O atenție deosebită actualmente se acordă relației structură-activitate.

Compușii sintetizați au fost testați pentru prima dată *in vitro* pentru activitatea antiproliferativă pe liniile celulare umane de cancer, și anume: adenocarcinomul cervical (HeLa), cancerul pancreatic (BxPc-3), rhabdomiosarcoma (RD) și celule sănătoase de MDCK.

Toate substanțele au fost testate la 4 concentrații (0,1 μM , 1 μM , 10 μM , 100 μM) și s-au dovedit a fi moderat-active sau inactive. Cercetările proprietăților proliferative ale tioureele și tiosemicarbazidelor sintetizate au fost efectuate în laboratorul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Rezultatele testărilor tioureeilor

Tabelul 1

Rezultatele testărilor tioureeilor (Ia - f)

	Denumirea	Concentrația, μM	Tipuri de celule			MDCK
			HeLa	RD	BxPc-3	
Ia	<i>N'-(2,3-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	40,4	25,1	14,7	-14,0
		10	25,1	17,3	12,5	8,0
		1	22,3	13,9	9,0	-4,2
		0,1	6,1	10,0	2,0	13,2
		<i>IC₅₀</i>	<i>≥100</i>	-	-	-
Ib	<i>N'-(2,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	32,2	4,4	25,7	-5,7
		10	16,4	5,1	12,2	2,1
		1	22,7	3,5	21,2	4,0
		0,1	0,1	1,9	15,0	1,7
		<i>IC₅₀</i>	<i>≥100</i>	-	-	-
Ic	<i>N'-(2,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	25,8	21,6	28,8	13,7
		10	8,1	9,0	13,3	-3,1
		1	8,1	9,9	16,7	-3,0
		0,1	-3,3	-8,0	3,2	7,4
		<i>IC₅₀</i>	<i>≥100</i>	-	-	-
Id	<i>N'-(2,6-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	44,0	62,5	28,7	11,7
		10	26,1	14,3	17,3	3,9
		1	9,3	3,0	11,5	-0,2
		0,1	9,4	-7,1	4,3	1,2
		<i>IC₅₀</i>	<i>≥100</i>	<i>60,04±5,7</i>	-	-
Ie	<i>N'-(3,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	54,7	98,6	31,8	30,3
		10	11,3	13,5	14,7	0,7
		1	3,3	1,1	12,3	1,4
		0,1	2,3	-3,6	7,7	-7,5
		<i>IC₅₀</i>	<i>82,51±3,3</i>	<i>20,2±8,5</i>	<i>≥100</i>	<i>≥100</i>
If	<i>N'-(3,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea</i>	100	28,6	17,7	32,2	21,9
		10	13,6	13,8	12,7	1,9
		1	8,2	7,5	6,2	0,1
		0,1	-0,6	4,5	0	4,9
		<i>IC₅₀</i>	-	-	<i>≥100</i>	-

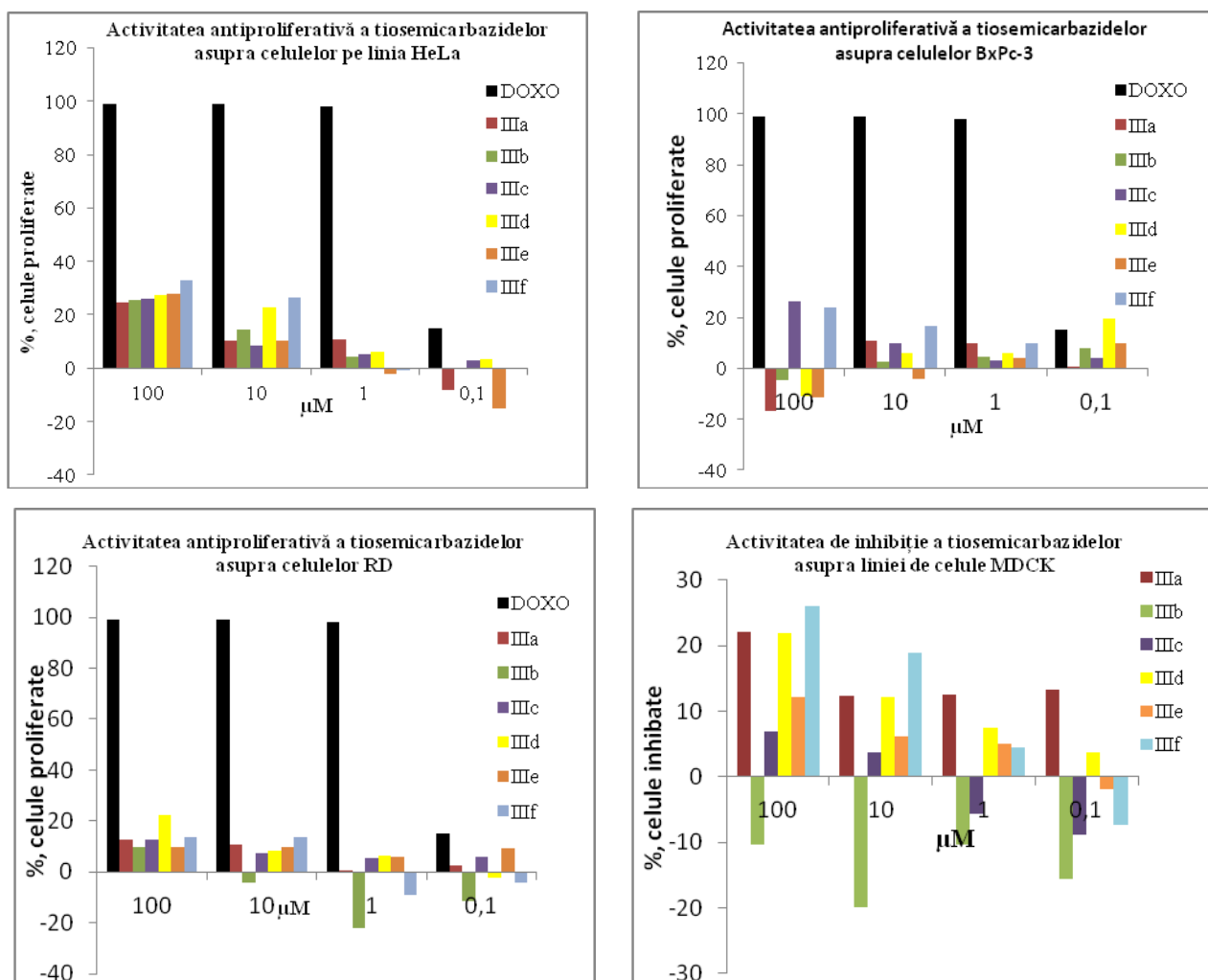
Analizând datele experimentale obținute privind activitatea antiproliferativă a tioureeilor sintetizate pe liniile celulare umane de cancer – adenocarcinom cervical (HeLa), cancer pancreatic (BxPc-3), rhabdomiosarcomă (RD) și asupra celulelor sănătoase de MDCK, putem concluda că cea mai mare activitate antiproliferativă la toate concentrațiile manifestă compusul **Ie** (*N'-(3,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*), unde valoarea IC_{50} (HeLa)=82,2±3,3; (RD)=20,2±8,5; (BxPc-3)=≥100. Dar și faptul că valoarea de inhibiție a celulelor normale este IC_{50} (MDCK)= ≥100 confirmă o toxicitate redusă a acestui compus. Aranjând în ordinea descreșterii activității antiproliferative a tioureeilor Ie>Id>Ia>If>Ib>Ic, deducem că compusul **Ic** (*N'-(2,5-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea*) are cea mai mică valoare. Dacă analizăm structura acestor tioureei și poziția grupelor metil, atunci ordinea va fi următoarea: 3,4-; 2,6-; 2,3-; 3,5-; 2,4-; 2,5-.

Rezultatele testărilor tiosemicarbazidelor

Tiosemicarbazidele sintetizate au fost testate *in vitro* pentru activitatea lor antiproliferativă pe linia celulară umană de cancer, și anume: adenocarcinom cervical (HeLa), cancer pancreatic (BxPc-3), rhabdomiosarcomă (RD) și asupra celulelor sănătoase de MDCK.

Tabelul 2

Rezultatele testărilor tiosemicarbazidelor (IIIa - f) redată grafic



Analizând capacitatea de proliferare a tiosemicarbazidelor, constatăm o scădere semnificativă a acestora după introducerea în schelet a grupei hidrazinice. În acest caz, compusul **III f** (4-(3,5-dimetilfenil)tiosemicarbazida) are cea mai mare activitate pentru toate tipurile de celule, dar și valoarea de inhibiție a celulelor normale atestă o toxicitate redusă a acestui compus. Cea mai mică activitate antiproliferativă o manifestă compusul **III b** (4-(2,4-dimetilfenil)tiosemicarbazida). Se poate menționa că în seria tiosemicarbazidelor ordinea de descreștere a activității antiproliferative este următoarea: 3,5-; 2,6-; 2,5-; 3,4-; 2,3-; 2,4-.

Concluzii

Au fost obținute 6 N'-(n,n-dimetilfenil)-N,N-dimetiltiourei (Ia - f) și, respectiv, 6 4-n,n-dimetilfeniltiosemicarbazide (IIIa - f) noi, care conțin în inelul benzenic două grupe metil în variațiile respective (2,3-; 2,4-; 2,5-; 2,6-; 3,4-; 3,5-). Puritatea compușilor organici obținuți a fost confirmată prin cromatografia pe strat subțire (CSS), punctul de topire, precum și prin spectrele ^1H și ^{13}C RMN, IR. Pentru prima dată, toate 12 substanțe au fost testate *in vitro* la activitatea antiproliferativă pe linia celulară umană de cancer, și anume: adenocarcinom cervical (HeLa), cancer pancreatic (BxPc-3), rhabdomiosarcomă (RD) și asupra celulelor normale de MDCK. Substanțele au fost testate la 4 concentrații (0,1 μM, 1 μM, 10 μM și 100 μM). Din seria tioureei cea mai înaltă activitate antiproliferativă manifestă N'-(3,4-dimetilfenil)-N,N-dimetiltioureea, față de linia de celule de cancer rhabdomiosarcoma (RD).

Modificarea fragmentului $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ din tioureei cu fragmentul hidrazinic duce la micșorarea activității antiproliferative a tiosemicarbazidelor sintetizate, datorită centrelor nucleofile ($-\text{NH}-\text{NH}_2$) formate, care nu permit penetrarea membranei celulare.

Studiul a scos în evidență atât tioureele, cât și tiosemicarbazidele care prezintă proprietăți antiproliferative promițătoare, pe liniile celulare umane de cancer, ca: adenocarcinom cervical (HeLa), cancer pancreatic (BxPc-3) și rhabdomiosarcomă (RD), pentru cercetări ulterioare.

Referințe:

- METWALLY, M.A., BONDOCK, S., EL-AZAP, H. and KANDEEL, E.M. Thiosemicarbazides: synthesis and reactions. In: *Journal Sulfur Chemistry*, 2011, vol.32, no.5, p.489-519.
- SCHROEDER, D.C. Thioureas. In: *Chemistry Review*, 1955, vol.55, p.181-228.
- ALY, A.A., AHMED, E.K., EL-MOKADEM, K.M., HEGAZY, M.E.-A.F. Update survey on aroyl substituted thioureas and their applications. In: *Journal of Sulfur Chemistry*, 2007, vol.28, p.73-93.
- BURGESON, J.R., MOORE, A.L., BOUTILIER, J.K., CERRUTI, N.R., GHARAIBEH, D.N., LOVEJOY, C.E., AMBERG, S.M., HRUBY, D.E. et al. In: *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2012, vol.22, p.4263-4272.
- LIMBAN, C., MARUNTESCU, L., CHIFIRIUC, C. Synthesis, Spectroscopic Properties and Antipathogenic Activity of New Thiourea Derivatives. In: *Molecules*, 2011, vol.16, p.7593-7607.
- KLAYMAN, D.L., BARTOSEVICH, J.F., GRIFFIN, T.S., MASON, C.J., SCOVILL, J.P. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 1. A new class of potential antimalarial agents. In: *Journal of Medicinal Chemistry*, 1979, vol.22, no.7, p.855-862.
- HU, W.-X., ZHOU, W., XIA, C.-N., WEN, X. Synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazones. In: *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2006, vol.16, no.8, p.2213-2218.
- KHANDANI, M., SEDAGHAT, T., ERFANI, N., HAGHSHENAS, M.R., KHAVASI, H.R. Synthesis, spectroscopic characterization, structural studies and antibacterial and antitumor activities of diorganotin complexes with 3-methoxysalicylaldehyde thiosemicarbazone. In: *Journal Molecular Structure*, 2013, vol.1037, p.136-143.
- AFRASIABI, Z., SINN, E., CHEN, J., MA, Y., RHEINGOLD, A.L., ZAKHAROV, L.N., RATH, N., PADHYE, S. Appended 1,2-naphthoquinone as anticancer agents 1: synthesis, structural, spectral and antitumor activities of ortho-naphthaquinone thiosemicarbazone and its transition metal complexes. In: *Inorganic Chimica Acta*, 2004, vol.357, no.1, p.271-278.
- LUKMANTARA, A.Y., KALINOWSKI, D.S., KUMAR, N., RICHARDSON, D.R. Synthesis and biological evaluation of substituted 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones: novel structure-activity relationships underpinning their anti-proliferative and chelation efficacy. In: *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2013, vol.23, no.4, p.967-974.
- SHANMUGA, S., SUNDARA, RAJ, PUVIARASAN, K., VELMURUGAN, D., JAYANTHI, G. and FUN H.-K. N-H, S hydrogen bonding in N-benzoyl-N'-methyl-N'-phenylthiourea and N-benzoyl-N'-(3,4-dimethylphenyl)thiourea. In: *Acta Crystallographica C*, 1999, vol.55, no.8, p.1318-1320.
- ARSLAN, H., KULCU, N., and FLORKE, U. Normal coordinate analysis and crystal structure of N,N-dimethyl-N'-(2-chlorobenzoyl)thiourea. In: *Spectrochimica Acta A*, 2006, vol.64, no.4, p.1065-1071.
- ARSLAN, H., DURAN, N., BOREKCI, G., KORAY OZER, C., AKBAY, C. Antimicrobial Activity of Some Thiourea Derivatives and Their Nickel and Copper Complexes. In: *Molecules*, 2009, vol.14, no.1, p.519-527.
- ZHOU, W.Q., LI, B.L., ZHU, L.M., DING, J.G., YONG, Z., LU et al. Structural and spectral studies on N-(4-chloro)benzoyl-N'-(4-tolyl)thiourea. In: *Journal Molecular Structure*, 2004, vol.690, p.145-150.
- MOUAYED A. HUSSEIN, MUHAMMAD ADNAN IQBAL, MUHAMMAD IHTISHAM UMAR et al. Synthesis, structural elucidation and cytotoxicity of new thiosemicarbazone derivatives. In: *Arabian Journal of Chemistry*, 2015.
- ISOLDA C. MENDES, JULIANA P. MOREIRA, NIVALDO L. SPEZIALI, ANTONIO S. MANGRICH et al. N(4)-tolyl-2-benzoylpyridine Thiosemicarbazones and their Copper(II) Complexes with Significant Antifungal Activity. Crystal Structure of N(4)-para-tolyl-2-benzoylpyridine Thiosemicarbazone. In: *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2006, vol.17, no.8, p.1571-1577.
- GULEA, A., POIRIER, D., ROY, J., STAVILA, V., BULIMESTRU, I., TAPCOV, V., BIRCA, M., POPOVSCHI, L. *In vitro* antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure - activity relationships. In: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, vol.23, no.6, p.806-818.
- ANOOPKUMAR-DUKIE, S., CAREY, J.B., CONERE, T., O'SULLIVAN, E., VAN PELT, F.N., ALLSHIRE, A. Resazurin assay of radiation response in cultured cells. In: *The British Journal of Radiology*, 2005, vol.78, no.934, p.945-947.
- GULEA, A., GUDUMAC, V., GARBUZ, O., ANDRONACHE, L. *In vitro* antiproliferative activity and antioxidant capacity of new organometallic coordination compounds, results correlation analysis. In: *Buletinul AȘM. Seria Științele vechii*, 2016, vol.3, nr.330, p.65.
- GULEA, A., SARGUN, A., BARBA, A., JALBA, A., POIRIER, D., PETRENKO, P., CHUMAKOV, Yu. Synthesis and antileukaemia activity of N-(2,4-dimethylphenyl)hydrazine carbothioamide and its azomethine derivatives. In: *Buletinul AȘM. Seria Științele vechii*, 2012, vol.3, nr.318, p.59-66.

Prezentat la 23.01.2017