

**SINTEZA ȘI CARACTERISTICA HIDRAZONELOR  
OBTINUTE ÎN BAZA 2-HIDRAZINOBENZOTIAZOLULUI  
CU PROPRIETĂȚI ANTIMICROBIENE ȘI ANTIPROLIFERATIVE**

*Anastasia PAHOLNIȚAIA, Nicanor BARBĂ, Aurelian GULEA, Angela JALBĂ,  
Carolina LOZAN-TIRȘU\**

*Universitatea de Stat din Moldova*

*\*Universitatea de Medicină și Farmacie „N. Testemițeanu”*

Nine hydrazones have been obtained on the basis of 2-hydrazinobenzothiazole. The obtained hydrazones inhibits the growth of HL-60 cells of human leukemia myeloid within the concentrations of  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  mol/l. The highest activity showed the compounds obtained on the basis of carboxy-2-pyridine and less activity on the basis of salicylic aldehyde. The properties of compounds represent an interest for medicine in terms of expanding of an arsenal of inhibitors of human leukemia HL-60 myeloid. The hydrazones manifest comparable activity with such drugs as doxorubicin (Doxo) used in medicine for the leukemia treatment. The replacement of pycolidinic fragment of azomethine with salicylidinic fragment increase the antimicrobial activity, and with dimethylaminobenzenic fragment decreases the microbial activity. The greater sensitivity in comparison with synthesized substances has expressed gram-positive microorganisms (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ГИСК 8035)).

### Introducere

În ultimii ani a crescut interesul față de hidrazone, fapt determinat de capacitățile lor de coordinare, activitate farmacologică și utilizare în chimia analitică ca agenți de extragere a metalelor [1-4]. Un interes deosebit prezintă hidrazonile care conțin sulf și azot. S-a constatat că hidazonile tiazolului și benzotiazolului exercită o activitate anticonvulsivă, antiinflamatoare, analgetică, antibacteriană și antifungică [5-9]. În multe cazuri, activitatea biologică a acestor substanțe este în concordanță cu structura lor. Benzotiazolii și derivații lor conțin sisteme  $\pi$ -delocalizate care sunt susceptibile să lege molecule de ADN prin interacțiuni  $\pi$ - $\pi$  legături [10].

### I. Partea experimentală

#### *Reactivi și metode de cercetare*

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurate de la firma „Aldrich”. Spectroscopia Rezonanței Magnetice Nucleare (RMN)  $^1\text{H}$  și  $^{13}\text{C}$  a fost efectuată la temperatura camerei utilizând spectrometru Bruker DRX-400. Toate datele ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) sunt prezentate în ppm față de  $\text{SiMe}_4$ . În calitate de solvent a fost utilizat  $\text{DMSO-d}_6$ .

#### *Metodica de cercetare a activității antiproliferative a celulelor leucemice HL-60*

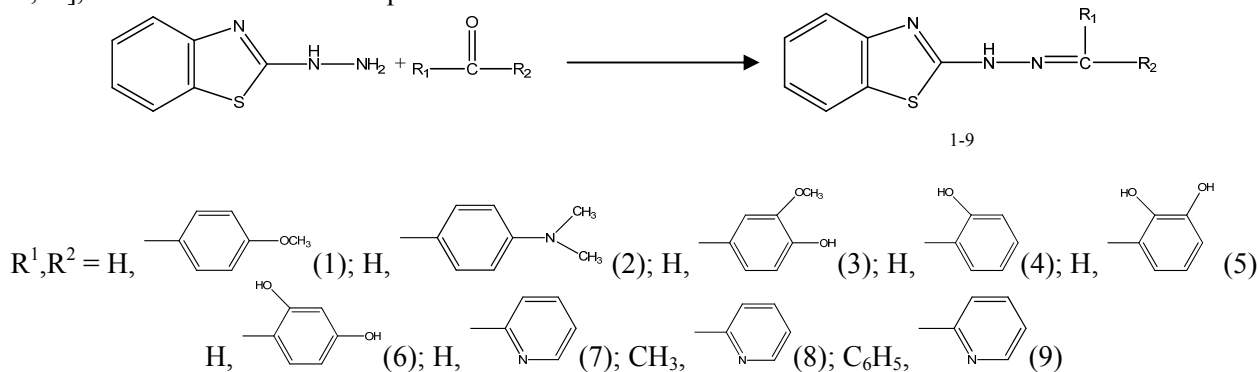
Celulele leucemiei umane mioeloid HL-60, obținute din Colecția Culturilor Tip American (*American Type Culture Collection, Rockville, MD*), au fost cultivate în formă de suspensie în mediul RPMI-1640, suplimentat cu 10% (V/V) ser embrionic de bovine, 2 mM de L-glutamină, 100 IU penicilină/ml și 100  $\mu\text{g}$  de streptomycină/ml, și incubate în atmosferă umedă de 95% aer / 5%  $\text{CO}_2$  la 37°C. Celulele au fost amestecate de 2-3 ori pe parcursul săptămânii, pentru a le păstra în fază omogenă. După aceasta, celulele au fost plasate în vase Falcon din plastic pentru culturi cu 24 de compartimente (2  $\text{cm}^2$ /celulă) la densitatea inițială de  $1 \cdot 10^5$  celule/ml/compartiment și tratate cu soluții de diferită concentrație ale compusului în apă sterilă. Fiecare procedură de tratare cu aceeași concentrație a fost efectuată în câte trei compartimente.

#### *Activitatea antimicrobiană a hidrazonelor*

Activitatea antimicrobiană a derivaților 2-hidrazinobenzotiazolului și a compușilor coordinați ai cuprului (II) a fost determinată în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne de 2%, pH 7,0) prin metoda diluțiilor succesive. În calitate de cultură de referință în experimentul *in vitro* au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ГИСК 8035), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Shigella sonnei* și de *Salmonella abony* (ГИСК 03/03). Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și a concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în literatură.

## II. Rezultate și discuții

Prezintă interes sinteza unor hidrazone cu nuclee ale benzotiazolului și cercetarea lor ca preparate anti-canceroase. Pentru cercetări au fost obținute hidrazonile 1-9 conform unei proceduri cunoscute, descrise în [12,13], cu anumite modificări după următoarea schemă:



În amestecul reactant, acidul acetic este înlocuit cu dimetilsulfoxid, care mărește solubilitatea reagenților și accelerează reacția. În cazul hidrazonilor 8,9, obținute din 2-acetil- sau din 2-benzoilpiridină, mai puțin active, reacțiile se efectuează în propanol la reflux. Sfârșitul reacției se determină cromatografic pe plăci de silufol după consumul compușilor carbonilici în mediul reactant. Randamentul hidrazonilor 1-9 constituie 72-95% (se recristalizează din etanol).

### 2-((2-(4-Metoxibenziliden)hidrazono)metil)benzo[d]tiazol (1)

Amestecul format din 1,36 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol, 1,36 g (0,01 mol)

4-metoxibenzaldehidă, 7 ml etanol și 4-5 picături de dimetilsulfoxid se refluxează 1,5 ore, se răcește, iar produsul cristalin se filtrează și se spală pe filtru cu etanol rece. După concentrarea soluției, din filtrat se mai izolează o cantitate mică de produs. Se obțin 2,67 g (94,5%) hidrazonă 1, p.t.=195-196°C (lit.<sup>13</sup> p.t.=194-195°C).

Spectrul <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 12.1 (s, 1H, NH), 8.1 (s, 1H, N=CH), 7.75, 7.43, 7.29, 7.11 (m, 4H, benzotiazol), 7.02, 7.02, 7.64, 7.64 (m, 4H, benzen), 4.2 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). Spectrul <sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 55.77 (O-CH<sub>3</sub>), 114.85, 114.85, 128.58 și 128.58 (benzen), 121.89, 121.93, 126.37, 127.47 și 129.65 (benzotiazol), 144.56 (N=CH), 160.98 (C-O), 167.38 (C-NH).

### 4-((2-(Benzo[d]tiazol-2-il)hidrazono)metil) – N,N- dimetilanilină (2)

Hidrazona 2 a fost obținută analogic hidrazonului 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,49 g (0,01 mol) 4-dimetilaminobenzaldehidă cu un randament de 83,3%; p.t.=242-243°C (lit.<sup>13</sup> p.t. =244-244,5°C.)

Spectrul <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 11.93 (s, 1H, NH), 8.01 (s, 1H, N=CH), 7.75, 7.52, 7.50, 7.41 (m, 4H, benzotiazol), 7.29, 7.29, 7.09, 6.76 (m, 4H, benzen), 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). Spectrul <sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 40.6 (N-CH<sub>3</sub>), 111.52, 112.38, 121.64 și 121.87 (benzen), 117.80, 122.25, 126.30, 128.34 și 133.05 (benzotiazol), 129,65 (CH-C), 151,46 (N=CH), 145,46 (C-N), 167,12 (C-NH).

### 4-((2-(Benzo[d]tiazol-2-il)hidrazono)metil)-2-metoxifenol (3)

Hidrazona 3 a fost obținută analogic hidrazonului 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,52 g (0,01 mol) 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehidă cu un randament de 95% și p.t.=197-198°C.

Spectrul <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 12.1 (s, 1H, OH), 9.5 (s, 1H, NH), 8.05 (s, 1H, N=CH), 7.75, 7.43, 7.29, 7.29 (m, 4H, benzotiazol), 7.1, 7.1, 6,87 (m, 3H, benzen), 3,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). Spectrul <sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 56.02 (O-CH<sub>3</sub>), 109.82, 116.11, 121.92 (benzen), 117.8, 121.43, 121.81, 129.63 și 150.43 (benzotiazol), 145.1 (CH-C), 148.46 (N-CH), 149.05 (C=O), 167.31 (C-OH), 172.46 (C-NH).

### 2-((2-(Benzo[d]tiazol-2-il)hidrazono)metil)fenol (4)

Hidrazona 4 a fost obținută analogic hidrazonului 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,22 g (0,01 mol) aldehydă salicilică cu un randament de 96,2% și p.t. =250°C.

Spectrul <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 12.19 (s, 1H, OH), 10.48 (s, 1H, NH), 8.46 (s, 1H, N=CH), 7.76, 7.63, 7.38, 7.32 (m, 4H, benzotiazol), 7.30, 7.1, 6.93, 6.92, (m, 4H, benzen).

### 3-((2-(Benzo[d]tiazol-2-il)hidrazono)metil)benzen-1,2-diol (5)

Hidrazona 5 a fost obținută analogic hidrazonului 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,38 g (0,01 mol) 2,3-dihidroxibenzaldehidă cu un randament de 90,9% și p.t. =255°C.

Spectrul  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 12.17 (s, 1H, OH), 9.99 (s, 1H, OH), 9.38 (s, 1H, NH), 8.45 (s, 1H, N=CH), 7.75, 7.37, 7.28, 7.13 (m, 4H, benzotiazol), 7.06, 6.85, 6.70 (m, 3H, benzen). Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 117.26, 117.26, 119.01 (benzen), 119.80, 119.80, 120.41, 120.41, 122.04 (benzotiazol), 122.33 (CH-C), 148.46 (N=C), 145.89 (C-OH), 146.03 (C-OH), 166.74 (C-NH).

**4-((2-(Benzo[d]tiazol-2-il)hidrazono)metil)benzen-1,3-diol (6)**

Hidrazona 5 a fost obținută analogic hidrazonei 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,38 g (0,01 mol) 2,4-dihidroxibenzaldehidă cu un randament de 72,7% și p.t.=257°C.

Spectrul  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 11.96 (s, 1H, OH), 10.61 (s, 1H, OH), 9.91 (s, 1H, NH), 8.35 (s, 1H, N=CH), 7.72, 7.41, 7.29, 7.29 (m, 4H, benzotiazol), 7.05, 6.36, 6.36 (m, 3H, benzen). Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 102.9, 102.9, 121.78 (benzen), 111.78, 122.32, 126.69, 126.69, 159.12 (benzotiazol), 130.38 (N=C), 160.83 (C-OH), 160.83 (C-OH), 165.99 (C-NH).

**2-[2-(Piridin-2-ilmetiliden)hidrazino]-1,3-benzotiazol (7)**

Hidrazona 7 a fost obținută analogic hidrazonei 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,07 g (0,01 mol) 2-piridincarboxialdehidă cu un randament de 80% și p.t.=230-231°C.

Spectrul  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 12.53 (s, 1H, NH), 8.6 (s, 1H, N=CH), 8.14, 7.9, 7.86 și 7,80 (m, 4H, piridină), 7.60, 7.38, 7.35 și 7.15 (m, 4H, benzotiazol).

**2-[2-(1-Piridin-2-iletiliden)hidrazino]-1,3-benzotiazol dihidrat (8)**

Hidrazona 8 a fost obținută analogic hidrazonei 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,21 g (0,01 mol) 2-acetilpiridină cu un randament de 52,8% și p.t.=143-145°C.

Spectrul  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 11.87 (s, 1H, NH), 8.6 (s, 1H, N=CH), 8.1, 7.8, 7.8 și 7.76 (m, 4H, piridină), 7.40, 7.38, 7.32 și 7.15 (m, 4H, benzotiazol), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 13.2 (CH<sub>3</sub>), 120.3, 120.3, 122.24, 122.24 și 136.92 (benzotiazol), 124.06, 124.06, 126.5, 126.5 (piridină), 149.11(N=C), 155.58 (C-C), 168.71 (C-NH).

**2-(2-(Fenil(piridin-2-ilmetilene)hidrazinil)benzo[d]tiazola (9)**

Hidrazona 7 a fost obținută analogic hidrazonei 1 din 1,65 g (0,01 mol) 2-hidrazinobenzotiazol și 1,83 g (0,01 mol) 2-benzoilpiridină cu un randament de 70,5% și p.t.=100-101°C.

Spectrul  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 12.1(s, 1H, NH), 8.47, 8.18, 7.92, 7.74 (m, 4H, piridina), 7.53, 7.53, 7.26, 7.26 (m, 4H, benzen), 7.53, 7.53, 7.29, 7.29 (m, 4H, benzotiazol). Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ ): 121.7, 122.2, 123.85, 135.28 și 149.55 (benzotiazol), 128.46, 128.89, 129.49, 129.96, 136.91 și 137.57 (benzen), 123.8, 125.8, 137.66, 149.06 (piridină), 156.43 (C-C), 168.33 (N=C), 169.26 (C-NH).

**Activitatea antiproliferativă a hidrazonelor**

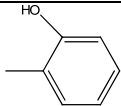
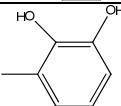
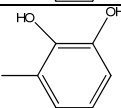
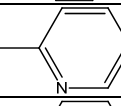
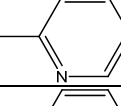
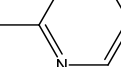
Datele experimentale obținute privind studierea proprietăților anticanceroase ale compușilor sintetizați sunt prezentate în Tabelul 1.

**Tabelul 1**

**Caracteristica hidrazonelor (1-9) 2- hidrazinobenzotiazolului și activitatea antiproliferativă a celulelor leucemice HL-60**

Nr. crt.	Compusul		Timpul de reacție, ore	p.t., °C	η, %	Partea celulelor inhibate ale leucemiei umane mieloide HL-60, %.	
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>				10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1	H		1,5	198-199	99,4	0	0
2	H		1	242-243	83,3	0	0
3	H		1,5	197-198	95,0	0	0

Tabelul 1 (continuare)

4	H		2	250	92,6	20,2	0
5	H		0,5	>250	90,9	82,5	67,8
6	H		0,5	>250	90,9	82,5	67,8
7	H		2	230-231	60,0	92,8	88,9
8	CH <sub>3</sub>		4	143-145	52,8	98,8	94,6
9	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>		4	100-101	70,5	98,8	94,6

Hidrazonile obținute în baza benzaldehidelor substituie (1-3) nu manifestă proprietăți cancerostatice, iar compușii sintetizați în baza aldehydelor salicilică și piridin- 2- carboxialdehidei substituie inhibă creșterea celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane în limitele concentrațiilor  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  mol/l. Asupra activității anticancer a compușilor studiați influențează natura azometinei. Cea mai înaltă activitate anticancer au manifestat compușii obținuți în baza piridin- 2- carboxialdehidei și cea mai mică activitate în baza aldehidei salicilică. Asupra activității cancerostatice a celor mai active grupe de compuși (7,8,9) influențează natura radicalului R<sub>1</sub> și se micșorează conform următorului șir: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> > CH<sub>3</sub> > H. În cazul derivaților aldehidei salicilice activitatea depinde de numărul și de poziția grupei OH în componența radicalului R<sub>2</sub>. Introducerea celei de a doua grupe OH în inelul benzenic duce la creșterea activității de 4-9 ori. Poziția grupei hidroxi de asemenea influențează asupra activității. Dacă fragmentul hidroxibenzelidenic conține OH în poziția 2,4, atunci acest produs inhibă 80% de celule la concentrația de  $10^{-5}$  mol/l. Dacă grupa OH se află în pozițiile 2 și 3, atunci compusul manifestă activitate anticancer atât la concentrația de  $10^{-5}$  (60%), cât și la concentrația de  $10^{-6}$  M (83%).

Proprietățile depistate ale compușilor sintetizați prezintă interes pentru medicină din punctul de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai leucemiei mieloide umane HL-60. Hidrazonile manifestă activitate comparabilă cu cea a unor medicamente, precum doxorubicina (Doxo) utilizată în medicină pentru tratarea leucemiei.

Tabelul 2

**Concentrația minimală de inhibare (DMI) și concentrația bactericidă minimală (CBM)  
a compușilor în baza 2-hidrazinobenzotiazolului revendicate față de  
microorganismele gram-pozitive și gram-negative (mg/ml)**

Compusul	Microorganismele gram-pozitive				Microorganismele gram-negative					
	<i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 25923		<i>Bacillus cereus</i> , ГИСК 8035		<i>Escherichia coli</i> , ATCC 25922		<i>Shigella sonnei</i>		<i>Salmonella abony</i> , ГИСК 03/03	
	DMI	CBM	DMI	CBM	DMI	CBM	DMI	CBM	DMI	CBM
2	0,007	0,007	0,015	0,125	2,5	> 300	0,125	> 300	0,125	> 300
4	0,25	> 300	0,25	> 300	0,5	> 300	0,5	> 300	0,25	> 300
7	0,25	> 300	> 300	> 300	0,5	> 300	0,5	> 300	0,25	> 300
9	0,003	0,007	0,25	> 300	0,5	> 300	0,5	> 300	0,062	0,125

Cea mai mare sensibilitate față de substanțele sintetizate au manifestat microorganismele gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ГИСК 8035)). Datele experimentale demonstrează că activitatea compușilor (2 și 7) depinde de natura fragmentului picolidinic sau benzilidinic al azometinei. Înlocuirea în componența 7 a atomului de hidrogen cu grupa C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> duce la micșorarea activității antimicrobiene. Înlocuirea fragmentului picolidinic al azometinei cu fragmentul salicilidinic duce la mărirea activității antimicrobiene, iar înlocuirea acestuia cu fragmentul dimetilaminobenzenic – la micșorarea activității antimicrobiene.

### Concluzii

Au fost obținute 9 hidrazone în baza 2- hidrazinobenzotiazolului. Hidrazonele obținute inhibă creșterea celulelor HL-60 ale leucemiei mieloide umane în limitele concentrațiilor 10<sup>-5</sup>-10<sup>-6</sup> mol/l. Cea mai înaltă activitate au manifestat compușii obținuți în baza piridin- 2- carboxialdehidei și mai mică activitate în baza aldehidei salicilice. Proprietățile depistate ale compușilor sintetizați prezintă interes pentru medicină din punctul de vedere al extinderii arsenalului de inhibitori ai leucemiei mieloide umane HL-60. Hidrazonele manifestă activitate comparabilă cu cea a unor medicamente farmaceutice, ca doxorubicina (Doxo) utilizată în medicină pentru tratarea leucemiei. Înlocuirea fragmentului picolidinic al azometinei cu fragmentul salicilidinic duce la mărirea activității antimicrobiene, iar cu fragmentul dimetilaminobenzenic – la micșorarea activității microbiene. Cea mai mare sensibilitate față de substanțele sintetizate au manifestat microorganismele gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ГИСК 8035)).

### Referințe:

1. Călinescu M., Ion E., Georgescu R. and Negreanu-Pirjol T. // Revue Roumaine de Chimie, 2008, 53(10), p.911-919.
2. Dutta R.L. and Hossain Md.M. // J. Sci. Ind. Res., 1985, no 44, p.635-674.
3. Gürsoy A., Terzioglu N. and Ötük G. // J. Med. Chem., 1997, no 32, p.753-757.
4. Sharma R.C., Ambwani J. and Varshney V.K. // J. Indian Chem. Soc., 1992, no 69, p.770-772.
5. Tiwari G.D., Tripathi Ar., Tripathi An., Kumari O. and Reddy M.V.B. // J. Indian Chem. Soc., 1994, no 71, p.755-756.
6. Shaikh Kabeer A., Baseer M.A. and Mote N.A. // Asian J.Chem., 2001, no 13, p.496-500.
7. Singh N.K. and Singh D.K. // Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem., 2002, no 32, p.203-218.
8. Cukurovali A., Yilmaz I., Gur S. and Kazaz C. // Eur. J. Med. Chem., 2006, no 41, p.201-207.
9. Vicini P., Incerti M., Doytchinova I.A., La Colla P., Busonera B. and Loddo R. // Eur. J. Med. Chem., 2006, no 41, p.624-632.
10. Pavlovic G., Soldin Z., Popovic Z., Kulenovic V.T. // Polyhedron, 2007, no 26, p.5162-5170.
11. Yilmaz I. and Çukurovali A. // Polish J. Chem., 2004, no 78, p.663-772.
12. Carp E. and Toma A. // Analele Științifice ale Universității „Al.I. Cuza”, Iași, Secț. Chimie, 1965, no 11c, p.67-72.
13. Gheorghiu C.V. and Carp E. // Analele Științifice ale Universității „Al.I. Cuza”, Iași, Secț. I., 1957, no 3, p.367-372.

Prezentat la 27.03.2012