



UNIVERSITATEA **POLITEHNICA** DIN BUCUREȘTI

Facultatea CHIMIE APLICATĂ ȘI ȘTIINȚA MATERIALELOR
Departamentul Chimie Anorganică, Chimie Fizică și Electrochimie (CAFE)

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**COMBINAȚII COMPLEXE ALE UNOR METALE
TRANZIȚIONALE CU LIGANZI MICȘTI
(POLIAMINE, POLIACIZI)**

Conducător științific:

Prof.Dr.Emerit Aurelia Meghea

Doctorand:

Chim. Mădălina Mihalache

**BUCUREȘTI
2019**

CUPRINS

(Corespunzător tezei de doctorat)

INTRODUCERE	6
I. PARTEA TEORETICĂ	9
I.1. Liganzi cu activitate terapeutică	9
I.1.1. Biguanide și derivați de biguanide	9
I.1.1.1. Structura biguanidelor	10
I.1.1.2. Proprietăți biologice ale biguanidelor	13
I.1.1.3. Combinații complexe cu biguanide	16
I.1.2. Acidul usnic	23
I.1.2.1. Structura acidului usnic	23
I.1.2.2. Proprietăți biologice ale acidului usnic	27
I.1.2.3. Combinații complexe cu acid usnic	32
I.1.3. Acidul α-cetoglutamic	39
I.1.3.1. Structură, obținere și proprietăți biologice ale acidului α -cetoglutamic	40
I.1.3.2. Combinații complexe cu acid α -cetoglutamic	43
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE	52
II.1. Sinteza, caracterizarea și stabilirea activității biologice pentru combinații complexe noi ale Ni(II), Cu(II), Mn(II), Mn(III), Zn(II), Pd(II), Pt(II), Pt(IV) și Co(II), având ca liganzi acidul α-cetoglutamic și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	55
II.1.1. Sinteza unor combinații complexe ale Ni(II) cu liganzi acidul α-cetoglutamic și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	55
II.1.1.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	55
II.1.1.2. Analiza termică	56
II.1.1.3. Spectre UV-Vis-NIR și măsurători magnetice	58
II.1.1.4. Spectre FT-IR	61
II.1.1.5. Testarea activității biologice	62
II.1.1.5.1. Activitatea antimicrobiană	63
II.1.1.5.2. Activitatea antitumorală	66
II.1.1.6. Concluzii parțiale	67
II.1.2. Sinteza unor combinații complexe ale Cu(II) cu liganzi acidul α-cetoglutamic și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	69
II.1.2.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	69
II.1.2.2. Analiza termică	70
II.1.2.3. Spectre UV-Vis-NIR și spectre RPE	72
II.1.2.4. Spectre FT-IR	75
II.1.2.5. Testarea activității biologice	77
II.1.2.5.1. Activitatea antimicrobiană	77
II.1.2.5.2. Activitatea antifungică	79
II.1.2.5.3. Activitatea antitumorală	80
II.1.2.6. Concluzii parțiale	81
II.1.3. Sinteza unor combinații complexe ale Mn(II) și Mn(III) cu liganzi acidul α-cetoglutamic și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	83

II.1.3.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	83
II.1.3.2. Analiza termică	84
II.1.3.3. Spectre UV-Vis-NIR	86
II.1.3.4. Spectre FT-IR	87
II.1.3.5. Testarea activității biologice	89
II.1.3.5.1. Activitatea antimicrobiană	89
II.1.3.5.2. Activitatea antitumorală	91
II.1.3.6. Concluzii parțiale	92
II.1.4. Sinteza unor combinații complexe ale Zn(II) cu liganzi acidul	
α-cetoglutaric și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	95
II.1.4.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	95
II.1.4.2. Analiza termică	96
II.1.4.3. Spectre UV-Vis-NIR	98
II.1.4.4. Spectre FT-IR	100
II.1.4.5. Testarea activității biologice	101
II.1.4.5.1. Activitatea antimicrobiană	101
II.1.4.5.2. Activitatea antifungică	103
II.1.4.6. Concluzii parțiale	103
II.1.5. Sinteza unor combinații complexe ale Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu liganzi	
acidul α-cetoglutaric și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	105
II.1.5.1. Analiza elementală	105
II.1.5.2. Analiza termică	106
II.1.5.3. Spectre UV-Vis-NIR	108
II.1.5.4. Spectre FT-IR	110
II.1.5.5. Testarea activității biologice	111
II.1.5.5.1. Activitatea antimicrobiană	111
II.1.5.5.2. Activitatea antifungică	112
II.1.5.5.3. Activitatea antitumorală	113
II.1.5.6. Concluzii parțiale	113
II.1.6. Sinteza unor combinații complexe ale Co (II) cu liganzi acidul	
α-cetoglutaric și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	115
II.1.6.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	115
II.1.6.2. Analiza termică	116
II.1.6.3. Spectre UV-Vis-NIR	117
II.1.6.4. Spectre FT-IR	119
II.1.6.5. Testarea activității biologice	121
II.1.6.5.1. Activitatea antimicrobiană	121
II.1.6.5.2. Activitatea antifungică	122
II.1.6.5.3. Activitatea antitumorală	123
II.1.6.6. Concluzii parțiale	124
II.2. Sinteza, caracterizarea și stabilirea activității biologice pentru combinații	
complexe noi ale Ni(II), Cu(II), Pd(II), Pt(II), Pt(IV) și Co(II), având ca liganzi	
acidul usnic și 1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	126
II.2.1. Sinteza unor combinații complexe ale Ni(II) cu liganzi acidul usnic și	
1-(<i>o</i>-tolil) biguanida	126
II.2.1.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	127
II.2.1.2. Analiza termică	127
II.2.1.3. Spectre UV-Vis-NIR și măsurători magnetice	129

II.2.1.4. Spectre FT-IR	132
II.2.1.5. Testarea activității biologice	134
II.2.1.5.1 Activitatea antimicrobiană	134
II.2.1.5.2. Activitatea antifungică	136
II.2.1.5.3. Activitatea antitumorală	137
II.2.1.6. Concluzii parțiale	137
II.2.2. Sinteza unor combinații complexe ale Cu(II) cu liganzi acidul usnic și 1-(o-tolil) biguanida	140
II.2.2.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	140
II.2.2.2. Analiza termică	141
II.2.2.3. Spectre UV-Vis-NIR și spectre RPE	143
II.2.2.4. Spectre FT-IR	147
II.2.2.5. Testarea activității biologice	149
II.2.2.5.1. Activitatea antimicrobiană	149
II.2.2.5.2. Activitatea antifungică	150
II.2.2.5.3. Activitatea antitumorală	150
II.2.2.6. Concluzii parțiale	151
II.2.3. Sinteza unor combinații complexe ale Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu liganzi acidul usnic și 1-(o-tolil) biguanida	153
II.2.3.1. Analiza elementală	153
II.2.3.2. Analiza termică	154
II.2.3.3. Spectre UV-Vis-NIR	155
II.2.3.4. Spectre FT-IR	157
II.2.3.5. Testarea activității biologice	158
II.2.3.5.1. Activitatea antimicrobiană	158
II.2.3.5.2. Activitatea antifungică	159
II.2.3.5.3. Activitatea antitumorală	160
II.2.3.6. Concluzii parțiale	161
II.2.4. Sinteza unor combinații complexe ale Co(II) cu liganzi acidul usnic și 1-(o-tolil) biguanida	163
II.2.4.1. Analiza elementală și conductanța electrică molară	163
II.2.4.2. Analiza termică	164
II.2.4.3. Spectre UV-Vis-NIR	165
II.2.4.4. Spectre FT-IR	167
II.2.4.5. Testarea activității biologice	168
II.2.4.5.1 Activitatea antimicrobiană	168
II.2.4.5.2. Activitatea antifungică	169
II.2.4.5.3. Activitatea antitumorală	170
II.2.4.6. Concluzii parțiale	171
III. CONCLUZII GENERALE	173
Perspective de dezvoltare ulterioară	178
IV. ANEXE	179
1. Metode de analiză și tehnici de lucru	179
2. Sinteza combinațiilor complexe	181
3. Testarea activității biologice	191
BIBLIOGRAFIE	195
Listă de lucrări	208

(numerotarea figurilor și a trimerelor bibliografice este cea din teza de doctorat)

Abrevieri

H ₂ A	acid α -cetoglutamic
HA	acid α -cetoglutamic deprotonat
A	acid α -cetoglutamic dublu deprotonat
TB	1-(<i>o</i> -tolil) biguanida
H ₃ AU	acid usnic
H ₂ AU	acid usnic deprotonat
DMSO	dimetilsulfoxid
CMI	concentrație minimă inhibitorie
CMEB	concentrație minimă de eradicare a biofilmului

INTRODUCERE

Biochimia anorganică cunoaște în ultimele decenii un progres constant și rapid, datorat în primul rând obținerii de noi specii chimice (combinații complexe sau materiale anorganice) cu proprietăți biologice spectaculoase uneori.

Multe dintre mecanismele biologice esențiale au putut fi explicate folosind instrumente de lucru specifice chimiei coordinative, fapt care a impulsionat dezvoltarea acestei ramuri prin obținerea de noi compuși coordinativi, dar și prin identificarea unor proprietăți/aplicații biologice.

Un număr mare de compuși metalici și de combinații complexe se folosesc în medicină datorită proprietăților lor antiinflamatoare, antibacteriene, antitumorale, antioxidante, antihipertensive [4-10].

Implicarea compușilor de coordinație în aceste fenomene este determinată de posibilitatea de interacție a acestora cu microorganismele (bacterii și fungi) care provoacă diferite boli infecțioase. Ionii metalici se pot lega la anumite părți ale microorganismului sau combinația complexă poate realiza prin intermediul ligandului legături de hidrogen sau legături fizice slabe care pot genera alterări care duc la reducerea sau eliminarea capacității acestora de a produce boala. Se cunoaște și s-a demonstrat în numeroase lucrări științifice faptul că procesul de coordinare a liganzilor organici cu activitate biologică la un ion metalic intensifică această activitate, modul de acțiune al combinației complexe fiind diferit de cel al speciilor organice libere [11-13]. Datele de literatură referitoare la combinațiile complexe care să conțină ambele tipuri de liganzi (din clasa biguanidelor și poliacizilor) sunt restrânse și dintre acestea foarte puține studiază activitatea biologică a acestora; majoritatea sunt caracterizate structural nepunându-se accent pe posibilitatea folosirii lor în scop terapeutic. Având în vedere faptul că în literatura de specialitate nu există informații cu privire la existența unor combinații complexe care conțin 1-(*o*-tolil) biguanidă și poliacizi, precum și aspectele biologice ale acestor tipuri de compuși organici, teza de doctorat **Combinatii complexe ale unor metale tranzitionale cu liganzi micști (poliamine, poliacizi)** abordează sinteza și caracterizarea unor complecși ce conțin liganzi din aceste clase.

Teza de doctorat este structurată în două părți. În prima parte sunt sistematizate date din literatura de specialitate referitoare la compuși din clasa biguanidelor și a poliacizilor (proprietăți generale, activitate biologică și complecși în care aceștia sunt liganzi).

Partea a doua conține contribuții originale referitoare la sinteza și caracterizarea a 22 combinații complexe noi ale Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Mn(II), Mn(III), Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu 1-(*o*-tolil) biguanida și acid α -cetoglutamic ca liganzi.

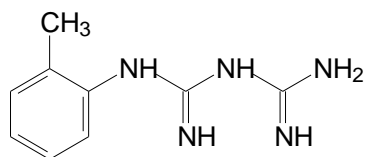
Tot în această parte sunt prezentate contribuțiile originale ce se referă la obținerea și caracterizarea unor complecși noi (în număr de 15) ai Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) având ca liganzi 1-(*o*-tolil) biguanida și acidul usnic.

Formulele pentru combinațiile complexe sintetizate au fost propuse în urma interpretării rezultatelor obținute prin: analiză chimică elementală, spectroscopie electronică UV-Vis-NIR, IR, RPE, analiză termogravimetrică, proprietăți magnetice și conductivitate electrică molară. Interesul pentru acești complecși este acela că pot prezenta activitate biologică apropiată sau mai bună ca a liganzilor liberi.

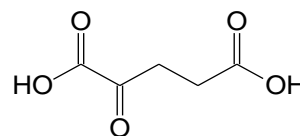
În teză sunt prezentate și rezultatele testării activității antimicrobiene a complecșilor și liganzilor împotriva unor tulpini Gram pozitive – *Pseudomonas aeruginosa* și Gram negative – *Staphylococcus aureus*. În urma cercetărilor efectuate s-a constatat că cele mai multe combinații complexe prezintă activitate antimicrobiană, iar concentrațiile minime inhibitorii au valori mici, ceea ce recomandă utilizarea acestor compuși ca agenți antimicrobieni.

Analizând influența complecșilor sintetizați asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert s-a observat că unii din aceștia inhibă aderența la substrat inert a tulpinilor studiate într-o mare măsură pe un interval larg de concentrații. A fost testată și activitatea antifungică a unor complecși sintetizați și a liganzilor pe *Candida albicans* și activitatea antitumorală pe celule HeLa.

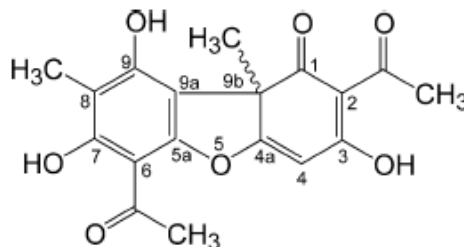
Formulele liganzilor utilizați în sinteze:



1-(*o*-tolil) biguanidă



acid α -cetoglutamic

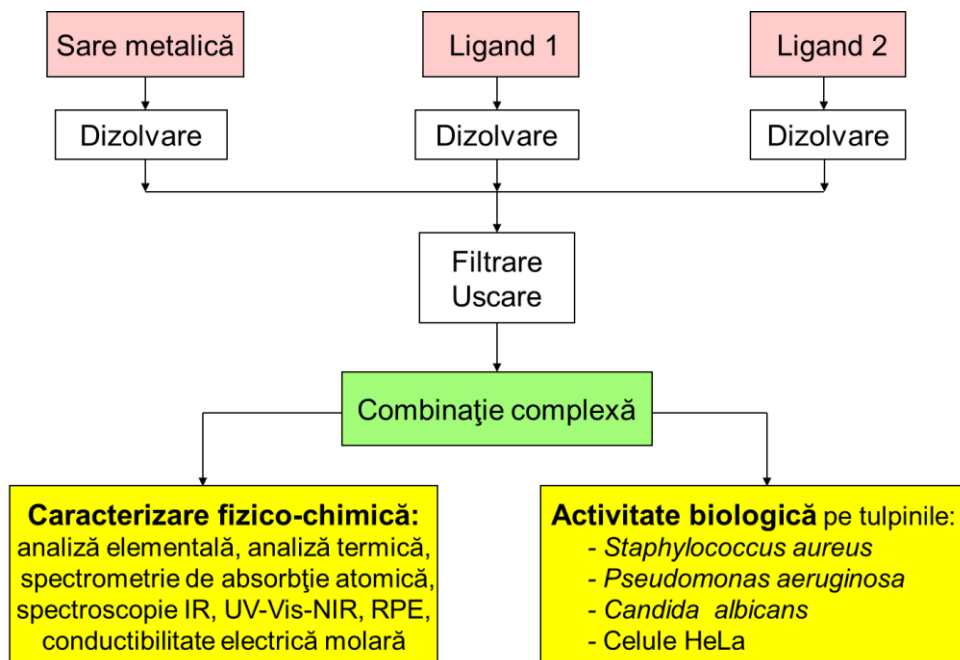


acid usnic

Obiectivele tezei de doctorat sunt:

- obținerea unor combinații complexe ale Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Mn(II), Mn(III), Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu 1-(*o*-tolil) biguanida și acidul α -cetoglutaric ca liganzi micști;
- obținerea unor combinații complexe ale Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) având ca liganzi 1-(*o*-tolil) biguanida și acidul usnic;
- caracterizarea compuşilor obținuți în vederea stabilirii structurii acestora prin:
 - analiză elementală,
 - spectre UV-Vis-NIR, FT-IR, RPE
 - analiză termogravimetrică,
 - conductivitate electrică molară,
 - măsurători magnetice,
- testarea activității biologice:
 - activitate antibacteriană,
 - activitate antifungică,
 - activitate antitumorală,
 - influența combinațiilor complexe asupra aderenței la substrat a tulpinilor bacteriene.

În principiu, schema de lucru folosită pentru sinteza celor 37 de combinații complexe este următoarea:



II.1.1. Sinteza și caracterizarea unor combinații complexe ale Ni(II) cu liganzi acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida

Au fost sintetizați patru complecși ai Ni(II) pornind de la sărurile acestuia (clorură, bromură, azotat, acetat) și cei doi liganzi (acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida) [221]. S-a lucrat în raportul molar sare metalică: acid α -cetoglutamic: 1-(*o*-tolil) biguanidă de 1:1:1. Acest raport s-a regăsit și în complecșii obținuți.

Combinațiile complexe obținute au fost caracterizate pe baza datelor furnizate de analiza elementală, conductanța electrică molară, analiza termică, spectrele UV-Vis-NIR, FT-IR și susceptibilitatea magnetică.

Formulele propuse pentru acești complecși sunt:

$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}$	verde deschis	(C1)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Br}$	verde închis	(C2)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	portocaliu	(C3)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})]\text{CH}_3\text{COO}$	bej	(C4)

Conductanța electrică molară

A fost determinată în soluție de N,N-dimetilformamidă, de concentrație 10^{-3}M la 25°C . Pentru complexul C1 s-a obținut o conductanță molară de $79,5 \text{ S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, pentru C2 $81,7 \text{ S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, pentru C3 $72,6 \text{ S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, iar pentru C4 $77,2 \text{ S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$. Valorile obținute indică un electrolit de tip 1:1 pentru toți cei patru complecși [222].

II.1.1.2. Analiza termică

Interpretarea rezultatelor analizei termogravimetrice a confirmat prezența moleculelor de apă în compoziția combinațiilor complexe C1-C3.

Pentru toți cei patru complecși analizați reziduul obținut este NiO (verde), din care se poate determina procentul de nichel și anume: pentru C1 (12,73% experimental, 12,58% calculat), pentru C2 (11,28% experimental, 11,49% calculat), pentru C3 (11,98% experimental, 12,36% calculat), iar pentru C4 (13,42% experimental, 13,00% calculat).

II.1.1.3. Spectre UV-Vis-NIR și măsurători magnetice

Spectre UV-Vis-NIR

Stereochimia combinațiilor complexe sintetizate a fost apreciată cu ajutorul spectrelor în ultraviolet-vizibil-infraroșu apropiat ale acestora, comparativ cu cele ale liganzilor (acid α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanidă).

Susceptibilitatea magnetică

Determinările de susceptibilitate magnetică au condus la următoarele valori ale momentului magnetic pentru complexii C1-C4: 3,19 μ B pentru C1, 3,27 μ B pentru C2 și zero pentru C3 și C4. În cazul complexilor C3 și C4 momentul magnetic nul presupune că aceștia sunt diamagnetici, în timp ce primii doi complecși sunt paramagnetici.

Stereochimiile propuse pentru cei 4 complecși sunt:

(C1) [Ni(TB)(HA)(H ₂ O) ₂]Cl	Octaedrică distorsionată rombic
(C2) [Ni(TB)(HA)(H ₂ O) ₂]Br	Octaedrică distorsionată rombic
(C3) [Ni(TB)(HA)]NO ₃ •H ₂ O	Plan pătrată
(C4) [Ni(TB)(HA)]CH ₃ COO	Plan pătrată

II.1.1.4. Spectre FT-IR

În vederea stabilirii modului de coordinare a liganzilor la ionul metalic au fost analizate spectrele FT-IR ale complexilor C1-C4 prin comparație cu ale liganzilor H₂A și TB.

În spectrele celor patru combinații complexe se observă o deplasare a benzii datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, de la 1610 cm^{-1} la valori mai mari. Acest lucru este în acord cu coordinarea ligandului TB la ionii metalici prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului iminic, iar deplasarea acestei benzi spre numere de undă mai mari se explică prin distrugerea delocalizării electronilor π [231]. Coordinarea 1-(*o*-tolil) biguanidei prin atomii de azot iminici este susținută și de deplasarea benzilor datorate vibrațiilor cuplate $\delta(\text{NH})+\nu(\text{C}-\text{N})$.

Gruparea ceto din poziția α a ligandului H₂A este implicată în coordinare în toți complecșii analizați, lucru confirmat de deplasarea benzii corespunzătoare acesteia, $\nu(\text{C}=\text{O})$, sub 1720 cm^{-1} .

Acesta coordinează sub forma deprotonată HA^- prin atomul de oxigen din gruparea cetonică din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil alăturate.

II.1.1.5.1. Activitatea antimicrobiană

Evaluarea activității antimicrobiene a liganzilor și complexilor sintetizați s-a făcut pe speciile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. S-a observat că DMSO (solventul folosit la diluții) nu influențează activitatea antimicrobiană a compușilor testați la concentrațiile de lucru alese situate în intervalul 5,00 – 0,039 mg/mL.

Determinarea concentrației minime inhibitorii

Pentru determinarea cantitativă a activității antimicrobiene a compușilor testați împotriva celor două tulpini s-a determinat concentrația minimă inhibitorie, CMI. În cazul speciei Gram pozitive *Staphylococcus aureus*, complexul C2 a prezentat o activitate identică cu a liganzilor iar complexii C1, C3 și C4 au o activitate mai bună. Astfel cea mai bună activitate o are combinația complexă C4 a cărei valoare a CMI este de 0,312 mg/mL.

Activitatea complexilor sintetizați împotriva bacteriei Gram negative *Pseudomonas aeruginosa* este mai bună pentru complexii sintetizați decât pentru ligandul H_2A , dar asemănătoare cu a ligandului TB. Complexul C4 are cea mai bună activitate dintre substanțele testate împotriva acestei bacterii (CMI este 0,625 mg/mL).

Studiul influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert

Complexii sintetizați și liganzii folosiți pentru obținerea acestora au fost investigați în ceea ce privește capacitatea de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert.

Toți compușii testați inhibă acest proces într-o manieră dependentă de doză până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului, (CMEB), de 0,039 mg/mL (C3,C4), 0,078 mg/mL (TB, H_2A , C2) și 0,156 mg/mL (C1), în cazul *Staphylococcus aureus*. Pentru *Pseudomonas aeruginosa* toți compușii au capacitate de inhibare până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului de 0,039 mg/mL (TB, C1-C4), iar pentru H_2A de 0,078 mg/mL.

II.1.1.5.2. Activitatea antitumorală

Metabolismul celulelor HeLa variază în funcție de tipul de material utilizat. Astfel, liganzii și complecșii C1, C2 prezintă un efect foarte slab asupra celulelor tumorale HeLa în condițiile testate scăzând viabilitatea acestora cu 12%, respectiv 13%, în timp ce combinațiile complexe C3 și C4 au demonstrat un efect citotoxic moderat asupra lor (scăzându-le viabilitatea cu 17%, respectiv 24,3%). În cazul probelor analizate (la o concentrație de 500 $\mu\text{g/mL}$ timp de 24h incubare la 37°C) și a probei de control netratate s-au citit absorbantele la 570 nm, din care s-au calculat procentele de viabilitate a celulelor HeLa în prezența compușilor testați. Pentru proba de control netratată viabilitatea acestor celule a fost 100% și în funcție de această valoare și a absorbanțelor citite s-au calculat viabilitățile și pentru compușii C1-C4, H₂A și TB.

II.1.1.6. Concluzii parțiale

În acest subcapitol au fost descrise sintetiza și caracterizarea a patru combinații complexe noi ale nichelului având ca liganzi acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida [221].

Pe baza analizelor efectuate (analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, FT-IR, analiză termică, conductanță electrică molară, susceptibilitate magnetică) s-au propus formulele complecșilor C1-C4.

Complecșii $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}$ și $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Br}$ au stereochemie octaedrică distorsionată rombică în timp ce $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{HA})]\text{CH}_3\text{COO}$ adoptă stereochemie plan pătrată.

Atât acidul α -cetoglutamic cât și 1-(*o*-tolil) biguanida funcționează ca liganzi bidentați în cei patru complecși. Acidul α -cetoglutamic participă sub formă deprotonată HA^- și coordinează la ionul metalic prin atomul de oxigen din gruparea cetonică din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil alăturate în timp ce 1-(*o*-tolil) biguanida este sub formă neutră și coordinează la ionul de nichel prin atomii de azot iminici.

Pentru combinațiile complexe sintetizate s-au propus următoarele formule (figura II.1.14):

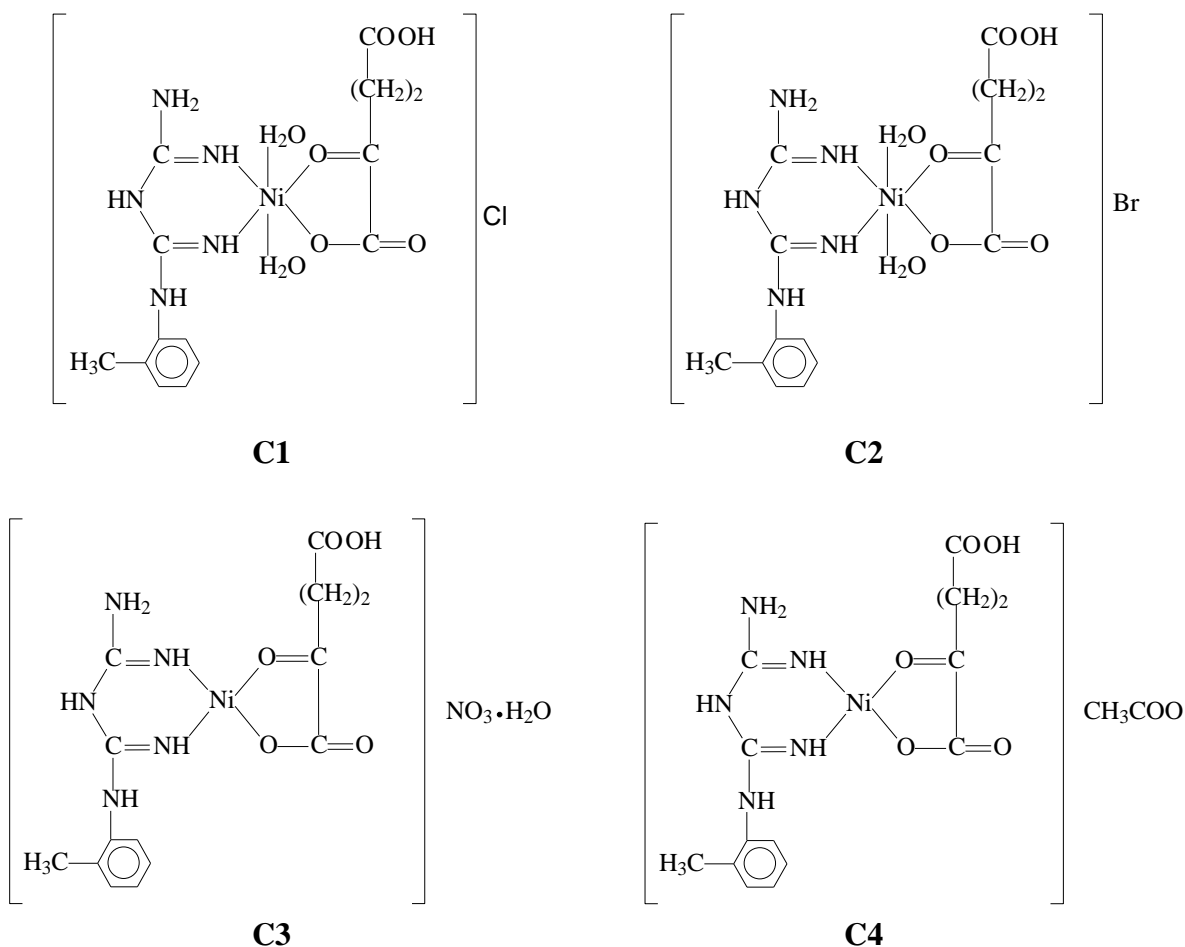


Fig. II.1.14. Formulele propuse pentru combinațiile complexe C1 - C4

A fost testată activitatea antitumorală pe celule tumorale HeLa a acestor complecși și a liganzilor utilizați în sinteze. Cel mai bun efect citotoxic asupra acestui tip de celule îl are complexul C4. În ceea ce privește activitatea antibacteriană a complecșilor obținuți împotriva bacteriilor *Staphylococcus aureus* și *Pseudomonas aeruginosa*, aceasta este comparabilă sau mai bună decât cea a liganzilor.

Deoarece complecșii C1-C4 sunt de tip electrolit activitatea biologică a acestora poate proveni din interacția electrostatică a cationului complex din aceste specii cu componentele încărcate negativ ale membranei și inactivarea acestora. Pe de altă parte activitatea antimicrobiană poate fi asociată și cu stereochemia, precum și efectul combinat al ligandului și ionului metalic de a inactiva o anumită componentă implicată în patogeneza microorganismului.

II.1.2. Sinteza unor combinații complexe ale Cu(II) cu liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida

Pentru sinteza unor complecși ai cuprului divalent s-au folosit săruri ale acestuia (clorură, azotat, acetat, clorat), iar ca liganzi acid α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanidă [236-237]. În urma analizelor efectuate asupra acestor complecși s-au propus următoarele formule:

[Cu(TB)(HA)]Cl	albastru deschis	(C5)
[Cu(TB)(HA)]NO ₃	violet	(C6)
[Cu(TB)(HA)CH ₃ COO]•H ₂ O	albastru deschis	(C7)
[Cu(TB)(HA)ClO ₄]•5H ₂ O	verde	(C8)

Conductanța electrică molară

Pentru complecșii C5-C8 a fost determinată conductanța electrică molară la 25°C în soluție de N,N-dimetilformamidă de concentrație 0,001 mol/L. Astfel, pentru complexul C5 s-a obținut o conductanță electrică molară de 72,1 S•cm²mol⁻¹, 81,1 S•cm²mol⁻¹ pentru C6, 36,5 S•cm²mol⁻¹ pentru C7, iar pentru C8 35,5 S•cm²mol⁻¹. Valorile obținute indică un electrolit de tip 1:1 pentru complecșii C5 și C6, în timp ce complecșii C7 și C8 sunt de tip neelectrolit [222].

II.1.2.2. Analiza termică

Având în vedere că în compoziția complexului C8 există un anion perchlorat, nu s-a putut face analiza termică a acestuia fiind pericol de explozie.

În cazul complexului C7 se observă că sub 160°C are loc o pierdere de masă ce corespunde unei molecule de apă de cristalizare (pierdere experimentală 3,72%, calculată 3,77%).

Reziduul obținut în urma analizei termice este CuO, din care se poate determina procentul de cupru și anume: pentru C5 (14,81% experimental, 14,60% calculat), pentru C6 (13,58% experimental, 13,76% calculat, iar pentru C7 (13,05% experimental, 13,32% calculat).

II.1.2.3. Spectre UV-Vis-NIR și spectre RPE

Corelarea rezultatelor obținute pe baza spectrelor de rezonanță paramagnetică electronică (RPE) și benzile observate în spectrele electronice UV-Vis-NIR au condus la informații importante

privind stereochemia complexelor obținuți și caracterul legăturilor metal-ligand din complexii analizați [238-246].

Din spectrul RPE al complexului C5 pentru coeficienții α^2 , β^2_1 , β^2 s-au obținut următoarele valori: $\alpha^2 = 0,61$ ceea ce înseamnă că legăturile sigma în plan sunt puternice având caracter predominant covalent; $\beta^2_1 = 0,57$ presupune legături π puternice în planul xoy iar $\beta^2 = 0,93$ indică legături π slabe în afara planului.

Valorile pentru parametrul K_{\perp} pentru complexii C6 și C8, (0,62, respectiv 0,64) indică un caracter predominant covalent al legăturii M-L, în timp ce pentru C7 valoarea $K_{\perp} = 0,85$ presupune legături metal-ligand aproape ionice.

Stereochimiile propuse pentru combinațiile C5-C8 sunt:

(C5) [Cu(TB)(HA)]Cl	Plan pătrată
(C6) [Cu(TB)(HA)]NO ₃	Plan pătrată
(C7) [Cu(TB)(HA)CH ₃ COO]•H ₂ O	Piramidă pătrată
(C8) [Cu(TB)(HA)ClO ₄]•5H ₂ O	Octaedrică distorsionată

II.1.2.4. Spectre FT-IR

Din analiza spectrelor FT-IR ale complexelor C5-C8 și compararea lor cu cele ale liganzilor utilizați în sinteze s-a putut stabili modul de coordonare a celor doi liganzi la ionul de cupru.

Gruparea ceto din poziția α a ligandului H₂A este implicată în coordonare în toți complexii, lucru confirmat prin deplasarea benzii $\nu(\text{C}=\text{O})$ sub 1720 cm⁻¹ în spectrul complexelor față de poziția acesteia în spectrul acidului α -cetoglutamic.

În spectrele celor patru combinații complexe se observă o deplasare a benzii datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, de la 1610 cm⁻¹. Această deplasare este în acord cu coordonarea 1-(*o*-tolil)biguanidei la ionul de cupru prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului iminic.

II.1.2.5.1. Activitatea antimicrobiană

Determinarea concentrației minime inhibitorii

În vederea stabilirii activității antimicrobiene pentru liganzi și complecși, s-a determinat concentrația minimă inhibitorie pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Soluțiile de lucru au avut concentrații cuprinse între 5,00 și 0,039 mg/mL.

În urma testării pe specia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 s-a constatat că cea mai bună activitate antimicrobiană o au complecșii C5 și C6 care au CMI de 0,312 mg/mL. Complexul C7 are o activitate ceva mai slabă decât C5 și C6, dar mai bună decât a liganzilor și C8.

Activitatea ligandul H₂A împotriva speciei *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 este mai slabă decât a celuilalt ligand, TB și a celor patru complecși. Cea mai bună activitate împotriva acestei tulpini o au complecșii C5 și C6 (CMI este 0,625 mg/mL), în timp ce complecșii C7 și C8 o au la fel cu ligandul TB.

Studiul influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert

În ceea ce privește capacitatea de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert toți compușii testați inhibă acest proces în funcție de doză până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului (CMEB). Toți complecșii au o CMEB de 0,039 mg/mL, mai mică decât liganzii TB și H₂A (0,078 mg/mL), împotriva speciei *Staphylococcus aureus*.

În cazul tulpinii *Pseudomonas aeruginosa* toți complecșii și ligandul TB au capacitate de inhibare a biofilmului până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului de 0,039 mg/mL mai puțin ligandul H₂A care are CMEB 0,078 mg/mL.

II.1.2.5.2. Activitatea antifungică

Activitatea antifungică s-a determinat pe *Candida albicans* ATCC 10231. Soluțiile de lucru au avut concentrații cuprinse în intervalul 1,00-0,0019 mg/mL. Liganzii au cea mai slabă activitate, complecșii C5 și C6 au o activitate moderată, iar cea mai bună o au complecșii C7 și C8 care au

CMI de 0,125 mg/mL.

II.1.2.5.3. Activitatea antitumorală

A fost testată activitatea antitumorală a liganzilor și a celor patru complecși pe celule HeLa.

Pentru testare s-au folosit soluții de concentrație 500 $\mu\text{g/mL}$, iar incubarea s-a făcut timp de douăzeci și patru de ore la 37°C.

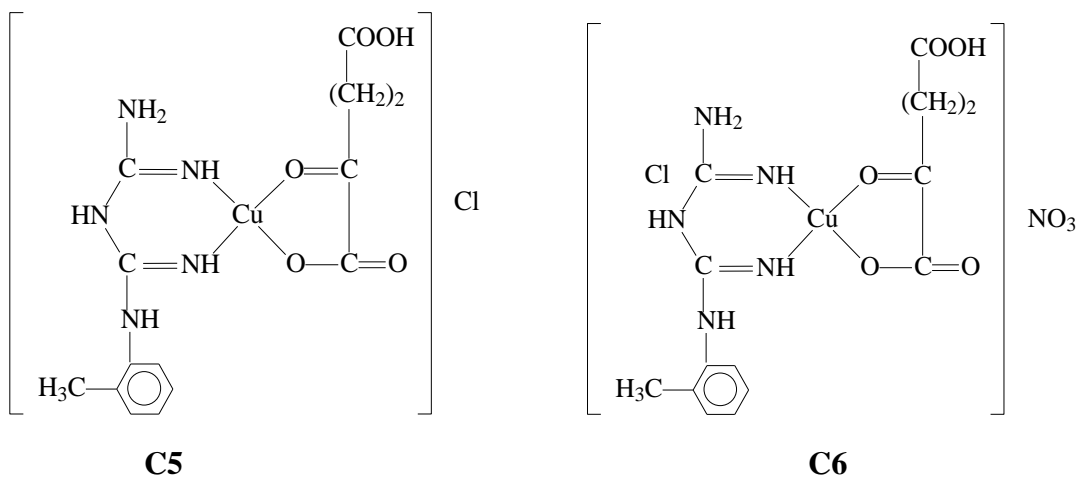
Ligandul H₂A are un efect foarte slab asupra celulelor tumorale HeLa în condițiile testate în timp ce ligandul TB și complecșii C7-C8 au demonstrat un efect citotoxic moderat asupra acestora, reducând viabilitatea acestora cu 18%, respectiv 20%. Complecșii C5 și C6 au un efect citotoxic mai bun împotriva celulelor HeLa scăzându-le viabilitatea cu 27%, respectiv 23%.

II.1.2.6. Concluzii parțiale

Pornind de la diverse săruri de cupru au fost sintetizate, caracterizate și testate din punct de vedere al activității biologice patru combinații complexe ale Cu(II) [236-237]. Liganzii folosiți în sinteza acestora au fost acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida.

Formulele propuse pentru combinațiile sintetizate s-au bazat pe analizele efectuate (analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, FT-IR, RPE, analiză termică, conductanță electrică molară).

Pentru complecșii sintetizați s-au propus următoarele formule (figura II.1.28):



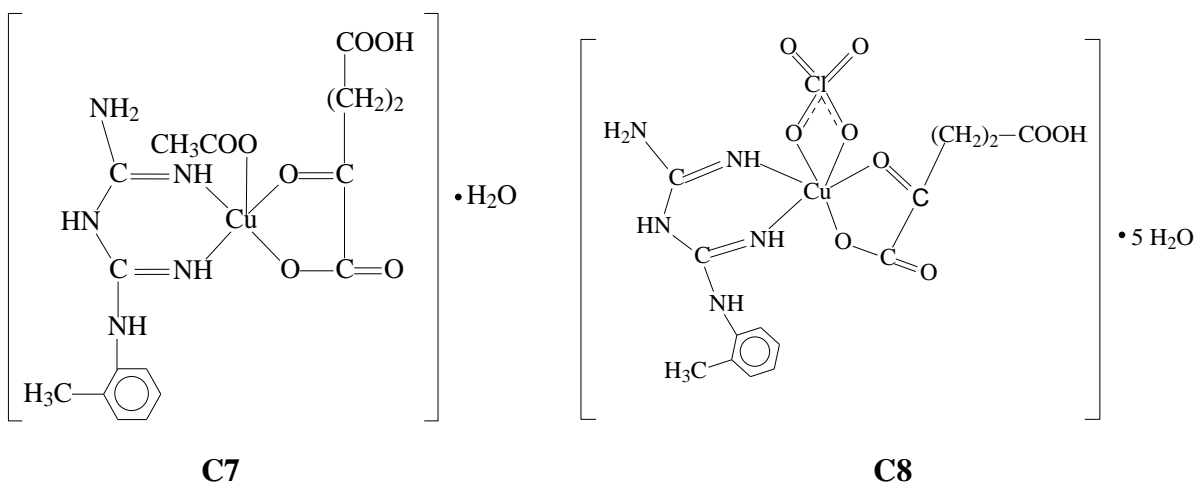


Fig. II.1.28. Structurile propuse pentru complexii sintetizați

Raportul molar folosit în sinteze sare metalică: ligand 1:ligand 2 de 1:1:1 se regăsește și în complexii obținuți.

Acidul α -cetoglutaric funcționează ca ligand bidentat sub formă deprotonată în toți cei patru complexi sintetizați. El coordonează la ionul de cupru prin atomul de oxigen din gruparea cetonică din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil alăturate.

1-(*o*-tolil) biguanida funcționează tot ca ligand bidentat în complexii C5-C8, atomii de azot iminici fiind implicați în coordinarea la ionul metalic.

Pentru cele două tulpini testate (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) cea mai bună activitate antimicrobiană o au complexii C5 și C6.

Toți complexii sintetizați au o activitate antifungică (testată pe tulpina *Candida albicans* ATCC 10231) mai bună decât a liganzilor.

Cea mai bună activitate antitumorală pe celule HeLa o au complexii C5 și C6.

Activitatea biologică diferită pentru cei patru complexi se datorează stereochemiilor diferite ale acestora (plan pătrată C5 și C6, piramidă pătrată C7, octaedru distorsionat C8), precum și inactivării anumitor componente implicate în patogenizarea microorganismului de către ionul metalic și liganzi.

II.1.3. Sinteza unor combinații complexe ale Mn(II) și Mn(III) cu liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida

Utilizând acidul α -cetoglutaric (H_2A) și 1-(*o*-tolil) biguanida (TB) ca liganzi și săruri de Mn(II) au fost sintetizați patru complecși ai manganului [237,248]. Trei dintre aceștia sunt ai Mn(III) și unul al Mn(II), ceea ce înseamnă că în timpul reacțiilor de sinteză manganul a fost oxidat la o stare de oxidare superioară în cazul obținerii complecșilor C10-C12. Deși s-a lucrat în raport molar sare metalică: H_2A : TB de 1:1:1, acesta nu se regăsește în nici un complex.

Formulele propuse pentru combinațiile complexe sintetizate sunt:

$[Mn(TB)_2(H_2A)]Cl_2 \cdot 0,5C_2H_5OH$	roz	(C9)
$[Mn_2(TB)(A)(H_2A)_2(H_2O)_2(NO_3)_2](NO_3)_2 \cdot C_2H_5OH$	bej	(C10)
$[Mn_2(TB)(A)(H_2A)_2(H_2O)_2(CH_3COO)_2](CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	maron	(C11)
$[Mn_2(TB)(HA)_2(OH)(H_2O)_4](ClO_4)_3$	maron deschis	(C12)

II.1.3.2. Analiza termică

Analiza termogravimetrică a furnizat informații ce au confirmat formulările propuse pentru combinațiile complexe, prezența moleculelor de apă și alcool etilic și efectele termice care însoțesc procesele cu pierdere de masă. Pentru complexul C12 care conține anioni perclorat nu s-a putut efectua această analiză din motive de securitate.

Reziduul rămas este Mn_2O_3 pentru toți complecșii, din acesta putându-se determina procentul de mangan; 8,04% experimental, 8,12% calculat pentru C9, 10,37% experimental, 10,30% calculat pentru C10, 10,61% experimental, 10,34% calculat pentru C11.

II.1.3.3. Spectre UV-Vis-NIR

Stereochimiile combinațiilor complexe C9 - C12 propuse pe baza spectrelor în UV-Vis-NIR sunt:

(C9) $[Mn(TB)_2(H_2A)]Cl_2 \cdot 0,5C_2H_5OH$	Octaedrică
(C10) $[Mn_2(TB)(A)(H_2A)_2(H_2O)_2(NO_3)_2](NO_3)_2 \cdot C_2H_5OH$	Octaedrică distorsionată tetragonal
(C11) $[Mn_2(TB)(A)(H_2A)_2(H_2O)_2(CH_3COO)_2](CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	Octaedrică distorsionată tetragonal
(C12) $[Mn_2(TB)(HA)_2(OH)(H_2O)_4](ClO_4)_3$	Octaedrică distorsionată tetragonal

II.1.3.4. Spectre FT-IR

Analizând spectrele FT-IR ale celor patru complecși și comparându-le cu ale liganzilor s-a stabilit modul de coordinare a liganzilor la ionul metalic. Ligandul H₂A coordonează sub forma HA⁻ (deprotonată) prin atomul de oxigen cetonic din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil de alături (în complexul C12). În complexul C9 acidul α-cetogutaric coordonează la ionul metalic sub forma H₂A în timp ce în complecșii C10 și C11 un acid este în punte ca A²⁻, ceilalți doi coordinând ca H₂A.

1-(*o*-tolil) biguanida funcționează ca ligand bidentat coordinând la ionul metalic prin electronii neparticipanți ai azotului iminic [231].

II.1.3.5.1. Activitatea antimicrobiană

Determinarea concentrației minime inhibitorii

Evaluarea activității antimicrobiene a noilor complecși și a liganzilor utilizați s-a făcut pe speciile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. S-a lucrat la concentrații cuprinse între 5,00 mg/mL și 0,039 mg/mL.

În cazul speciei *Staphylococcus aureus*, combinațiile complexe au prezentat o activitate asemănătoare cu a liganzilor (complecșii C10 și C11) și mai bună ca a acestora pentru C9 și C12, având o valoare a CMI de 0,625 mg/mL, respectiv 0,312 mg/mL. Cea mai bună activitate antimicrobiană împotriva *Pseudomonas aeruginosa* o are complexul C12 în timp ce complecșii C9-C11 o au mai bună decât pentru ligandul H₂A, dar mai slabă decât a ligandului TB.

Studiul influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert

Complecșii C10 - C12 au o capacitate de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert a tulpinii *Staphylococcus aureus* mai bună decât a liganzilor și a complexului C9, având o CMEB de 0,039 mg/L.

Pentru tulpina *Pseudomonas aeruginosa* C11, C12 și TB au cea mai scăzută concentrație

minimă de eradicare a biofilmului de 0,039 mg/mL față de C9 și H₂A (0,078 mg/mL) și C10 (0,156 mg/mL).

II.1.3.5.2. Activitatea antitumorală

În urma testelor efectuate pentru complexii C9-C12 și a celor doi liganzi pe celule HeLa s-a observat un efect citotoxic moderat pentru C10 și C11 aceștia scăzând viabilitatea acestor celule cu 26% și un efect slab a celorlalți doi complecși.

II.1.3.6. Concluzii parțiale

Au fost sintetizate și caracterizate patru combinații complexe ale manganului având ca liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida [237,248].

Pe baza interpretării analizelor efectuate pentru acești complecși (analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, IR, analiză termică, conductanță electrică molară) s-au propus formulele acestora.

Deși s-au folosit în sinteze săruri ale manganului divalent, doar complexul C9 conține manganul cu valența doi, ceea ce înseamnă că în celelalte sinteze manganul a fost oxidat astfel că în combinația complexă se regăsește în starea de valență trei.

Ambii liganzi funcționează bidentat în cei patru complecși, TB coordinând la ionul metalic prin atomii de azot iminici, în timp ce H₂A printr-un atom de oxigen din gruparea cetonică situată în poziția alfa și unul din gruparea carboxil alăturată.

Complecșii C10-C12 sunt dinucleari și au un ligand în punte, anume acidul α -cetoglutaric dublu deprotonat în C10 și C11, în timp ce în C12 ionul hidroxil formează punte între doi ioni de mangan trivalent.

Stereochimiile propuse pentru complecșii sintetizați sunt: octaedrică pentru C9 și octaedrică distorsionată tetragonal pentru C10-C12.

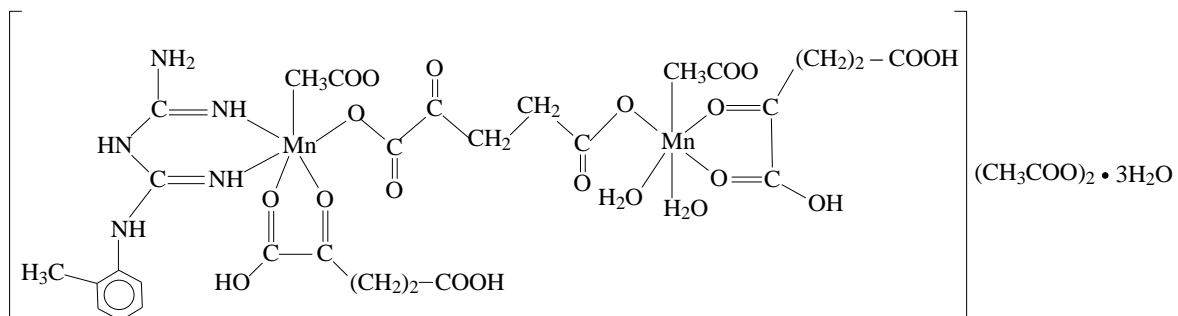
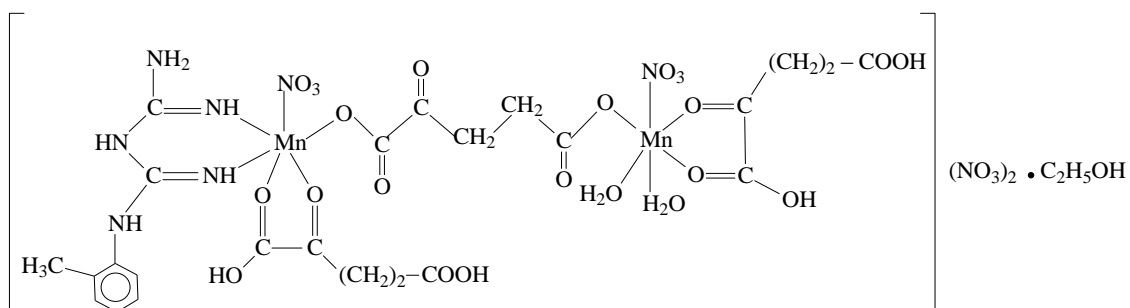
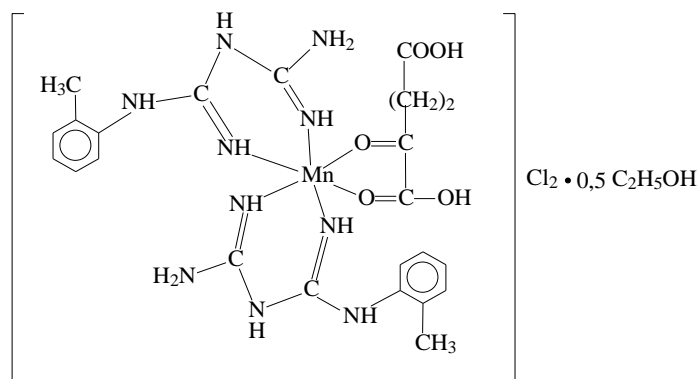
Complecșii C9 și C12 au cea mai bună activitate antibacteriană pe tulpina *S. aureus*, în timp ce pe *P. aeruginosa* o are C12. Cea mai bună capacitate de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert a celor două tulpini testate o au complecșii C11 și C12.

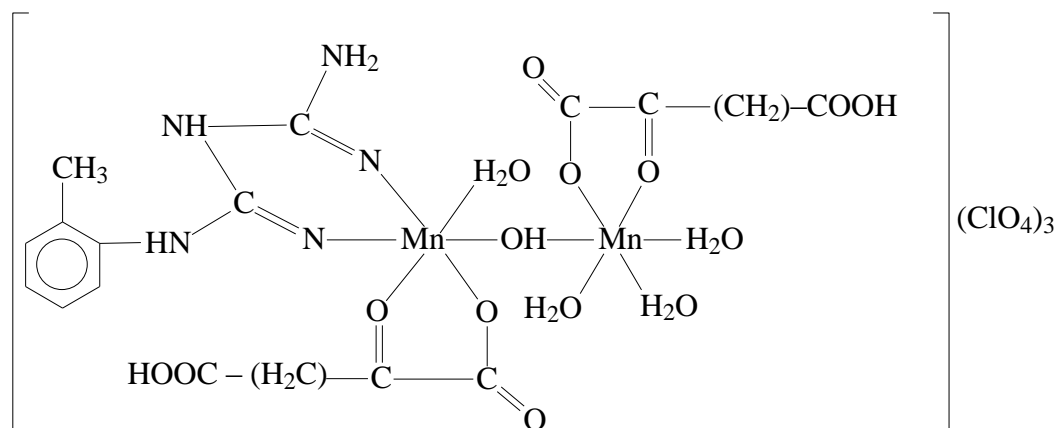
Un efect citotoxic moderat pe celule HeLa îl au complecșii C10 și C11.

Activitatea biologică a complexelor și diferențele care apar pentru cei patru complecși poate fi pusă pe seama mai multor factori:

- toți sunt de tip electrolit
- stereochimia acestora
- valența manganului
- complecși de tip mono- sau dinuclear
- natura anionilor din compoziția complexelor.

Structurile propuse pentru complecșii C9-C12 sunt redată în figura II.1.41.





C12

Fig.II.1.41. Formulele propuse pentru complecșii C9-C12

II.1.4. Sinteza unor combinații complexe ale Zn(II) cu liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida

Au fost sintetizate trei combinații complexe noi ale Zn(II) folosind clorură, azotat, respectiv acetat de zinc și ca liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida. S-a lucrat în raport molar sare metalică: acid α -cetoglutaric:1-(*o*-tolil) biguanidă de 1:1:1 pentru toți complecșii. Acest raport s-a menținut doar în complecșii C13 și C14.

În urma analizelor efectuate pentru acești complecși (analiză elementală, spectre FT-IR și UV-Vis, conductanță electrică molară și analiză termică) au fost propuse următoarele formule:

$[\text{Zn}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}$	galben deschis	(C13)
$[\text{Zn}(\text{TB})(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{NO}_3$	galben deschis	(C14)
$[\text{Zn}_2(\text{TB})_2(\text{A})(\text{CH}_3\text{COO})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$	galben deschis	(C15)

Conductanța electrică molară

Din valorile obținute pentru conductanța electrică molară pentru complecșii sintetizați se trag următoarele concluzii: complecșii C13 și C14 sunt electroliți de tip 1:1, în timp ce complexul C15 este neelectrolit [222].

II.1.4.2. Analiza termică

Prezența moleculelor de apă din compoziția combinațiilor complexe C13-C15 a fost pusă în evidență în urma analizei termogravimetrice.

Pentru toți complecșii analizați reziduul obținut este ZnO. Din acesta se poate determina procentul de zinc și anume: pentru C13 (13,54% experimental, 13,82% calculat), pentru C14 (13,38% experimental, 13,09% calculat, iar pentru C15 (16,85% experimental, 16,49% calculat).

II.1.4.4. Spectre FT-IR

În toți complecșii gruparea ceto din poziția α a ligandului H_2A este implicată în coordinare, lucru confirmat de deplasarea benzii corespunzătoare acesteia, $\nu(C=O)$, sub 1720 cm^{-1} . Acest ligand coordinează la ionul metalic bidentat, sub forma deprotonată HA^- , prin atomul de oxigen din gruparea cetonică din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil alăturate în complecșii C13 și C14. În complexul C15 acesta coordinează tot bidentat, în punte, ca dianion.

În spectrele celor trei complecși se observă o deplasare a benzii datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(C=N)$, de la 1610 cm^{-1} la valori mai mari. Acest lucru este în acord cu coordonarea ligandului TB la ionii metalici prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului iminic.

II.1.4.5. Testarea activității biologice

În urma testării complecșilor sintetizați pe celule HeLa s-a constatat că aceștia nu prezintă activitate antitumorală.

II.1.4.5.1. Activitatea antimicrobiană

Determinarea concentrației minime inhibitorii

Evaluarea activității antimicrobiene s-a făcut *in vitro* pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pentru complecșii sintetizați și liganzii folosiți în sinteze.

Pentru toți compușii testați s-a lucrat în domeniul de concentrații 1,00 – 0,0019 mg/mL.

Analizând rezultatele obținute în urma testelor efectuate s-a constatat că cea mai bună activitate antimicrobiană împotriva *S. aureus* o are complexul C15 având cea mai scăzută concentrație minimă inhibitorie, de 0,062 mg/mL. Ceilalți doi complecși și liganzii au o activitate ceva mai scăzută decât C15, dar bună, având CMI de 0,125 mg/L.

Pe tulpina *P. aeruginosa*, toți complecșii au activitate antimicrobiană mult mai bună ca a liganzilor, cea mai mică CMI având-o C13 și C14 (0,125 mg/mL).

În urma studiului influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert s-a constatat că nici unul din cei trei complecși nu are capacitate de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert pe tulpinile testate (*S. aureus* și *P. aeruginosa*).

II.1.4.5.2. Activitatea antifungică

Activitatea antifungică pentru liganzi și complecși a fost testată *in vitro* pe *Candida albicans* ATCC 10231, în intervalul de concentrații 1,00-0,0019 mg/mL. Complecșii C13 și C14 au o activitate mai bună împotriva acestei tulpini având CMI 0,5 mg/mL. Cei doi liganzi și C15 au aceeași activitate antifungică; ei au CMI de 1,00 mg/mL.

II.1.4.6. Concluzii parțiale

Au fost sintetizate și caracterizate trei combinații complexe ale Zn(II) având ca liganzi acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida.

Pe baza analizelor efectuate s-au propus formulele complecșilor C13-C15. Ambii liganzi funcționează ca liganzi bidentați în cei trei complecși. În complexul C15 acidul α -cetoglutamic este în punte, ca dianion, iar în C13 și C14 este bidentat sub formă anionică.

1-(*o*-tolil) biguanida coordinează la ionul metalic prin atomii de azot iminici.

Complecșii C13 și C14 au stereochemie octaedrică, iar complexul C15 plan pătrată; C13 și C14 conțin un singur ion de zinc, în timp ce C15 are doi ioni de zinc legați între ei prin acidul α -cetoglutamic în punte.

Activitatea antimicrobiană bună a complecșilor observată în urma testării pe *S. aureus* se datorează în mare parte liganzilor pe care îi conțin, iar în cazul C15 o activitate mai bună poate fi

explicată prin prezența a doi ioni de zinc. Pe de altă parte activitatea antimicrobiană poate fi asociată și cu stereochemia, tipul de electrolit, precum și efectul combinat al ligandului și ionului metalic.

Activitatea antifungică pe *C. albicans* mai bună pentru complexii C13 și C14 poate fi datorată stereochemiei octaedrice pe care aceștia o au.

Complexii C13-C15 nu prezintă activitate antitumorală pe celulele testate (HeLa) și nici nu inhibă aderența biofilmului microbial la substrat inert pe cele două tulpini (*S. aureus* și *P. aeruginosa*).

Formulele propuse pentru cei trei complecși ai Zn(II) sunt redată în figura II.1.53.

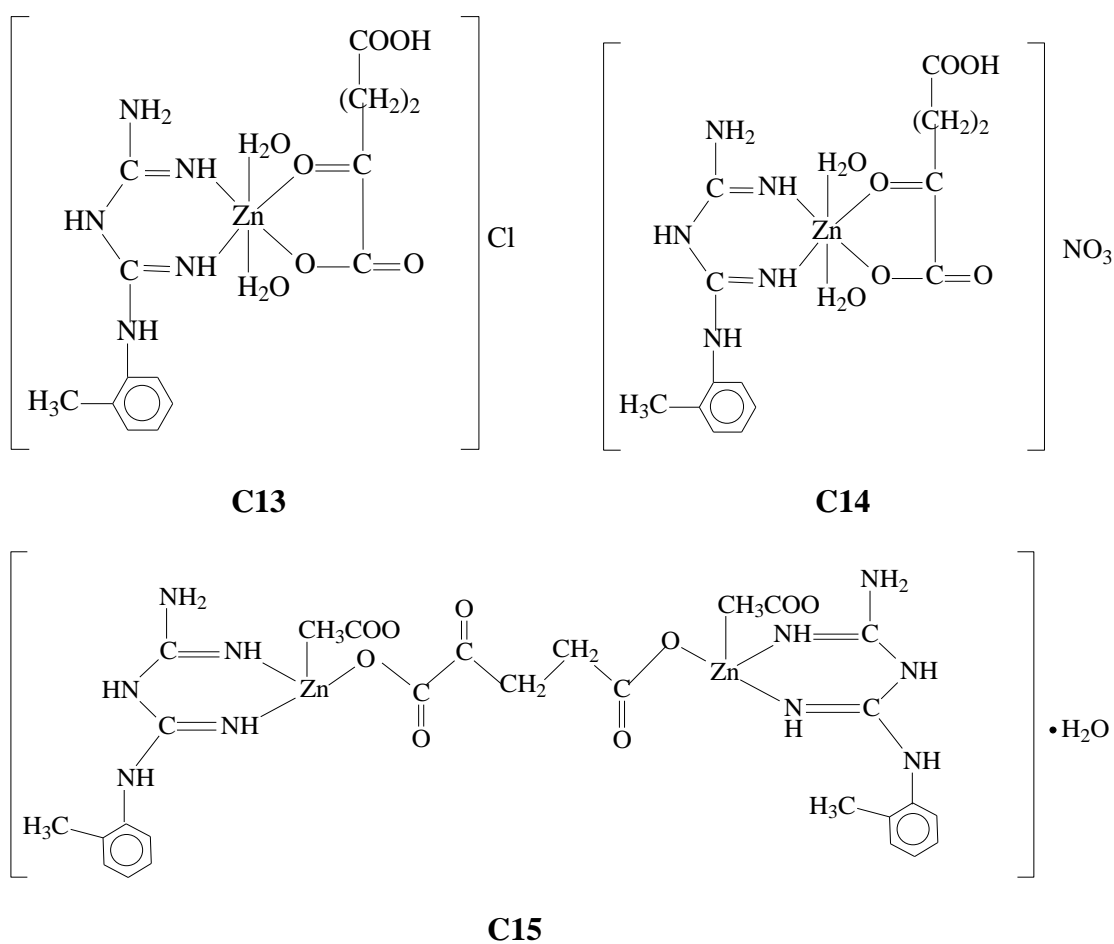


Fig. II.1.53. Formulele propuse pentru complecșii C13-C15

II.1.5. Sinteza unor combinații complexe ale Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida

Folosind ca liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida au fost sintetizați doi complecși cu Pd(II) și doi cu Pt(II) și Pt(IV). Sărurile metalice folosite în sinteze sunt PdCl₂, Pd(CH₃COO)₂, respectiv H₂PtCl₆ și PtCl₂. Deși s-a lucrat în raport molar sare metalică: acid α -cetoglutaric:1-(*o*-tolil) biguanidă de 2:1:1 pentru toți complecșii, acest raport se regăsește doar în combinațiile complexe C16 și C19, în ceilalți doi fiind 1:1:1.

Formulele propuse pentru cei patru complecși sintetizați sunt:

[Pd(TB)(H ₂ A)][PdCl ₄]	portocaliu închis	(C16)
[Pd(TB)(HA)]CH ₃ COO•H ₂ O	portocaliu	(C17)
[Pt(TB)(HA)Cl ₂]Cl	portocaliu	(C18)
[Pt(TB)(H ₂ A)][PtCl ₄]•H ₂ O	maron	(C19)

II.1.5.2. Analiza termică

Prezența unei molecule de apă de cristalizare în compoziția complecșilor C17 și C19 a fost confirmată și de analiza termică a acestora.

Pentru complecșii C16 și C17 reziduul obținut la descompunerea termică a fost paladiu (peste 700°C oxidul de paladiu trece în paladiu metalic) [250].

În cazul complecșilor C18 și C19 la o temperatură peste 500°C reziduul format este platina, (la 450-480°C PtCl₂ se descompune în platină și clor) [251].

II.1.5.3. Spectre UV-Vis-NIR

Pe baza comparației spectrelor electronice ale complecșilor sintetizați cu cele ale liganzilor s-au putut atribui stereochemiile acestora.

(C16) [Pd(TB)(H ₂ A)][PdCl ₄]	Plan pătrată
(C17) [Pd(TB)(HA)]CH ₃ COO •H ₂ O	Plan pătrată
(C18) [Pt(TB)(HA)Cl ₂]Cl	Octaedrică
(C19) [Pt(TB)(H ₂ A)][PtCl ₄]•H ₂ O	Plan pătrată

II.1.5.4. Spectre FT-IR

În toți complexii analizați gruparea ceto din poziția α a ligandului H₂A este implicată în coordinare, deplasarea benzii corespunzătoare acesteia, $\nu(\text{C}=\text{O})$ la valori mai mici decât în acidul α -cetoglutamic fiind o dovadă în acest sens.

Coordinarea ligandului TB la ionii metalici se face prin intermediul perechii de electroni neparticipanți ai azotului iminic. Prin coordinare se distruge delocalizarea electronilor π , ceea ce explică deplasarea acestei benzi spre numere de undă mai mari [231].

II.1.5.5.1. Activitatea antimicrobiană

Pentru evaluarea activității antimicrobiene s-au făcut teste *in vitro* pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pentru complexii sintetizați și liganzii folosiți în sinteze. S-a lucrat în domeniul de concentrații 1,00 – 0,0019 mg/mL pentru toți compușii testați.

Activitatea antimicrobiană împotriva speciei Gram pozitive *Staphylococcus aureus* este mult mai bună pentru cei patru complecși decât pentru liganzi. Cea mai mică valoare a concentrației minime inhibitorii o au complecșii C16, C18 și C19, 0,0039 mg/mL.

Activitatea împotriva bacteriei Gram negative *Pseudomonas aeruginosa* este aceeași pentru ambii liganzi. Și în cazul acestei tulpini toți complecșii au o activitate antimicrobiană bună, C18 având CMI de 0,0312 mg/mL și C19 0,0625 mg/mL.

II.1.5.5.2. Activitatea antifungică

Complecșii C16, C18 și C19 au cea mai bună activitate împotriva acestei tulpini având CMI 0,125 mg/mL. Liganzii au o activitate antifungică mult mai slabă decât a complecșilor, având CMI de 1 mg/mL. Domeniul concentrațiilor de lucru pentru substanțele testate a fost 1,00-0,0019 mg/mL.

II.1.5.5.3. Activitatea antitumorală

Activitatea antitumorală a fost testată pentru toți compușii pe celule HeLa. Pentru testare s-au folosit soluții de concentrație 500 $\mu\text{g/mL}$, iar incubarea s-a făcut la 37°C timp de 24 ore.

În condițiile testate complexii C18 și C19 au un efect citotoxic bun asupra celulelor HeLa, reducând viabilitatea acestora cu 41%, respectiv 38%. Ceilalți doi complecși au un efect citotoxic moderat, iar cei doi liganzi au un efect slab asupra acestor celule.

II.1.5.6. Concluzii parțiale

S-au sintetizat patru combinații complexe ale Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) având ca liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida.

Formulele acestora au fost propuse pe baza interpretărilor analizelor efectuate și anume: analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, IR, analiză termică.

Ambii liganzi sunt bidentați în toți complexii obținuți. Ligandul TB coordonează la ionul metalic prin atomii de azot iminici iar ligandul H₂A prin atomii de oxigen din grupările cetonice din poziția alfa și din gruparea carboxil alăturată. În complexii C16 și C19 acidul α -cetoglutaric este nedeprotonat în timp ce în ceilalți doi complecși este sub formă de anion HA⁻.

Stereochimiile propuse pentru complexii sintetizați sunt: octaedrică pentru C18 și plan pătrată pentru C16, C17 și C19.

În complexul C18 platina este tetravalentă iar în C19 divalentă, exact ca în sărurile utilizate în sinteză. Complecșii C16 și C19 sunt de tip Vauquelin, având un anion complex [PdCl₄]²⁻, respectiv [PtCl₄]²⁻.

Activitatea biologică este influențată de mai mulți factori:

- natura metalului
- starea de oxidare a metalului
- numărul de ioni metalici din complex
- stereochimia complexului.

Faptul că toți complexii au activitate biologică mai bună decât liganzii poate fi pusă pe seama coordinării liganzilor la ionul metalic.

Complecșii de platină au cea mai bună activitate antitumorală, lucru așteptat de altfel.

Structurile propuse pentru complexii C16-C19 sunt redate în figura II.1.66.

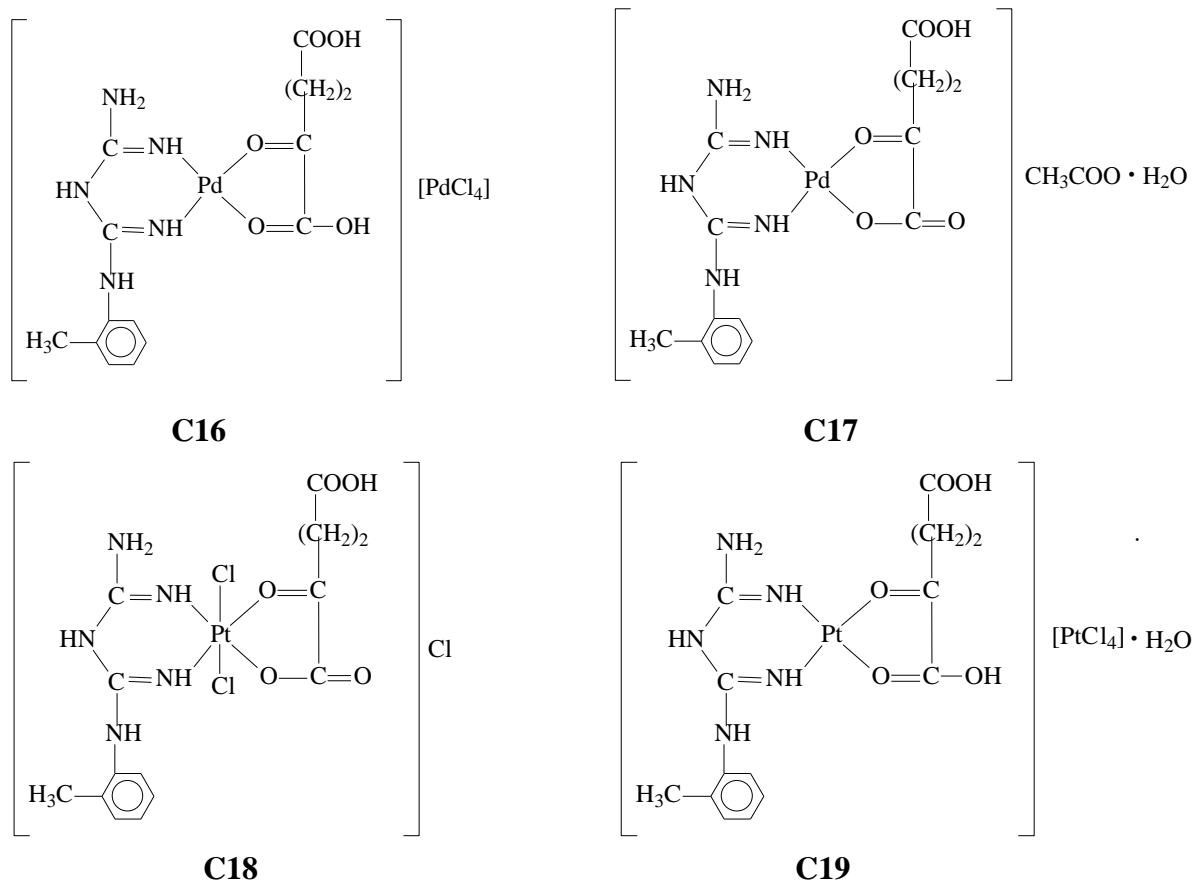


Fig. II.1.66. Formulele combinațiilor complexe C16-C19

II.1.6. Sinteza unor combinații complexe ale Co(II) cu liganzi acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida

Trei complecși noi ai cobaltului divalent s-au obținut din reacția unor săruri ale acestui metal, acidul α -cetoglutaric și 1-(*o*-tolil) biguanida (ca liganzi). Combinațiile complexe sintetizate au fost analizate din punct de vedere fizico-chimic iar formulele propuse pentru acești complecși sunt:

$[\text{Co}(\text{HA})_2(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})]$	gri deschis	(C20)
$[\text{Co}(\text{HA})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	roz intens	(C21)
$[\text{Co}_2(\text{HA})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CH}_3\text{COO})_3]$	violet	(C22)

Conductanța electrică molară

În urma determinării conductanței electrice molare, în soluție de N,N-dimetilformamidă, de concentrație 10^{-3}M la 25°C pentru toți complexii s-au obținut valori care îi încadrează în categoria neelectroliților: $37,5 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ pentru C20, $41,4 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ pentru C21 și $39,6 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ pentru C22 [222].

II.1.6.2. Analiza termică

Pentru complexii C20-C22 s-a efectuat analiza termică în atmosferă statică de aer, din care s-a stabilit prezența moleculelor de apă și etanol din compoziția acestora.

În cazul tuturor complexilor reziduu final este Co_3O_4 . Din acesta se poate determina procentul de cobalt din fiecare complex, 10,91% pentru C20, 11,17% din C21, respectiv 17,35% în C22.

II.1.6.3. Spectre UV-Vis-NIR

Analizând spectrele electronice ale complexilor și comparându-le cu ale liganzilor s-au propus stereochemiile pentru C20-C22:

(C20) $[\text{Co}(\text{HA})_2(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})]$	Bipiramidă trigonală
(C21) $[\text{Co}(\text{HA})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Octaedrică deformată tetragonal
(C22) $[\text{Co}_2(\text{HA})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CH}_3\text{COO})_3]$	Octaedrică

II.1.6.4. Spectre FT-IR

Gruparea ceto situată în poziția α a ligandului H_2A apare deplasată în spectrul complexilor față de ligandul liber deoarece este implicată în coordinare.

O bandă care este de mare importanță în modul de coordinare a 1-(*o*-tolil) biguanidei la ionul de cobalt este cea datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, de la 1610 cm^{-1} . În spectrele complexilor se observă o deplasare a acestei benzi, deplasare ce este în acord cu coordonarea 1-(*o*-tolil) biguanidei la ionul de cupru prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului iminic.

II.1.6.5.1. Activitatea antimicrobiană

Pentru complexii sintetizați și liganzi a fost testată *in vitro* activitatea antimicrobiană pe speciile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Domeniul de lucru pentru aceste testări a fost 1,00 – 0,0019 mg/mL.

În cazul specie *Staphylococcus aureus*, combinațiile complexe au prezentat o activitate antimicrobiană mai bună ca a liganzilor. Cea mai mică CMI pentru această tulpină o au complexii C21 și C22 de 0,0156 mg/mL.

Toți complexii au activitate antimicrobiană mai bună decât liganzii împotriva bacteriei *Pseudomonas aeruginosa*, complexul C22 având cea mai mică valoare a CMI 0,0313 mg/mL.

II.1.6.5.2 Activitatea antifungică

Toți compușii au fost testați pentru activitatea antifungică *in vitro*, pe *Candida albicans* ATCC 10231. S-a lucrat cu soluții de concentrații cuprinse între 1,00 și 0,0019 mg/mL.

Și pentru această tulpină se constată că activitatea antifungică este mai bună pentru complexii decât pentru cei doi liganzi. Complexul C22 are cea mai bună activitate cu o valoare a CMI de 0,25 mg/mL.

II.1.6.5.3. Activitatea antitumorală

Testele efectuate pe celule HeLa pentru complexii și liganzi s-au efectuat pe soluții de concentrație 500 μg/mL, pentru un timp de incubare de 24 ore la o temperatură de 37°C. Complexii C21 și C22 au un efect citotoxic bun asupra celulelor HeLa, reducând viabilitatea acestora cu 25%, respectiv 21%. Complexul C20 și cei doi liganzi au un efect slab asupra acestor celule.

II.1.6.6. Concluzii parțiale

S-au obținut trei complexii noi ai cobaltului divalent cu liganzi 1-(*o*-tolil) biguanidă și acid α-cetoglutaric. În urma analizelor efectuate pe acești complexii s-au putut stabili formulele corespunzătoare, (figura II.1.77). Ligandul 1-(*o*-tolil) biguanida coordinează bidentat prin atomii de azot iminici iar acidul α-cetoglutaric coordinează monodentat în complexul C20 prin oxigenul

hidroxilului grupării carboxil. În complexii C21 și C22 acest ligand coordinează însă bidentat, prin atomii de oxigen din grupările cetonice din poziția alfa și din gruparea carboxil alăturată.

Stereochimiile propuse pentru cei patru complecși sunt:

- bipiramidă trigonală pentru C20
- octaedrică distorsionată tetragonal pentru C21
- octaedrică pentru C22

Primii doi complecși au un singur ion de cobalt în structura lor iar al treilea are doi ioni de cobalt legați prin punți de acetat.

Activitatea biologică a complexelor este influențată de:

- stereochimia complexului
- înconjurarea ionului metalic
- numărul de ioni metalici

Cea mai bună activitate a complexului C22 pentru toate cele trei tulpini poate fi explicată prin existența a doi centri metalici în molecula lui, față de ceilalți doi complecși care au doar unul.

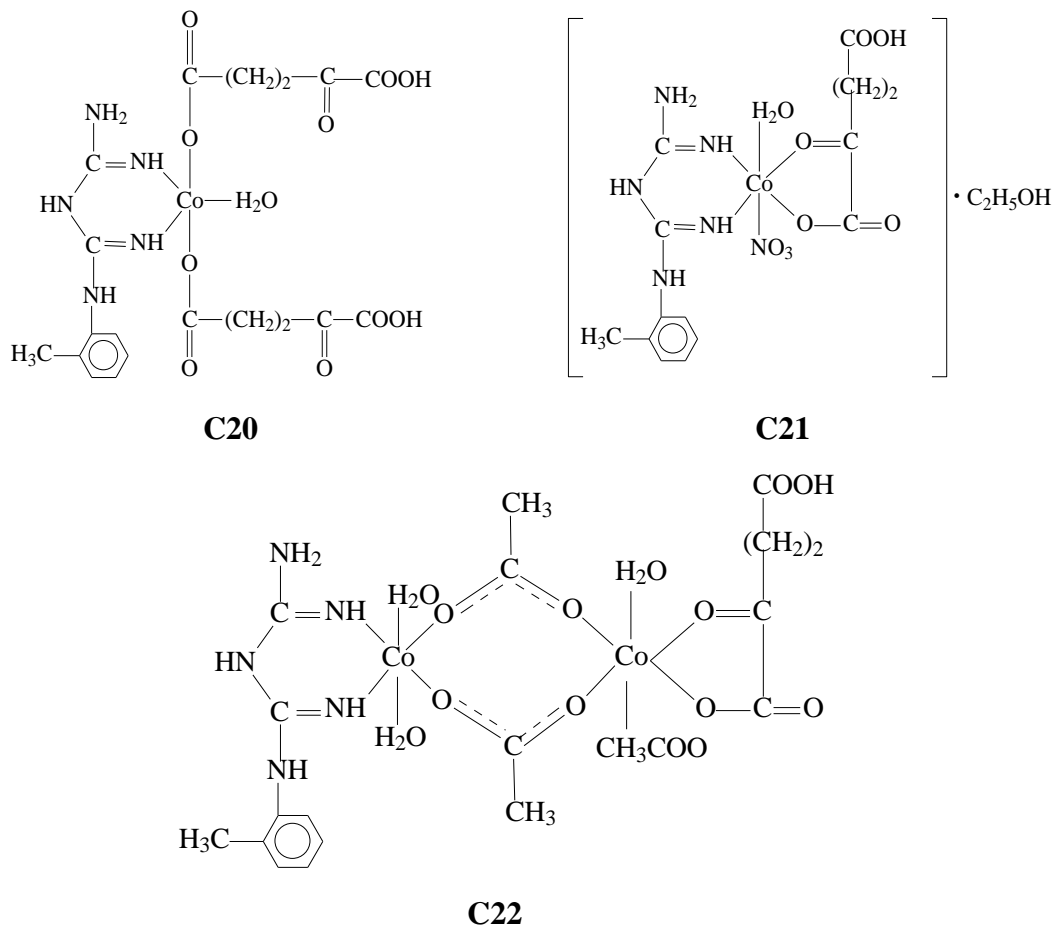


Fig. II.1.77. Formulele combinațiilor complexe C20-C22

II.2.1. Sinteza unor combinații complexe ale Ni(II) cu liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida

Pornind de la săruri de nichel și folosind ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida, au fost sintetizați patru complecși. S-a lucrat în raport molar sare metalică: acid usnic: 1-(*o*-tolil) biguanidă de 1:1:1.

Pe baza datelor furnizate de analiza elementală, conductanța electrică molară, analiza termică, spectrele UV-Vis- NIR, FT-IR și susceptibilitatea magnetică formulele propuse pentru complecșii C23-C26 sunt:

$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	verde	(C23)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Br}$	verde închis	(C24)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{NO}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	portocaliu închis	(C25)
$[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{CH}_3\text{COO}$	portocaliu închis	(C26)

Raportul molar al substanțelor utilizate în sinteze se regăsește și în complecșii obținuți.

Conductanța electrică molară

Rezultatele conductanței electrice molare pentru cei patru complecși îi încadrează pe aceștia în tipul de electrolit 1:1 [222]. Măsurătorile s-au făcut în soluție de N,N-dimetilformamidă, de concentrație 10^{-3}M la 25°C . Pentru complexul C23 s-a obținut o conductanță molară de $69,2 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$, pentru C24 $73,3 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$, pentru C25 $79,1 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$, iar pentru C26 $81,4 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$.

II.2.1.2. Analiza termică

Analizând termograma complexului C23, în prima treaptă de descompunere, se constată că la o temperatură sub 180°C are loc o pierdere de masă corespunzătoare celor 5 molecule de apă din compoziția acestuia și anume, 3 de cristalizare și 2 de coordinare.

În cazul complexului C24 prima pierdere de masă are loc sub 190°C , și corespunde la două molecule de apă de coordinare.

Din analiza termogramei pentru complexul C25 se observă că într-o primă etapă (<170°C) se pierd cele două molecule de apă. Reziduul obținut este NiO pentru toți complecșii, din care se poate determina procentul de nichel.

II.2.1.3. Spectre UV-Vis-NIR și măsurători magnetice

Susceptibilitatea magnetică

În urma determinărilor de susceptibilitate magnetică s-au obținut următoarele valori ale momentului magnetic pentru complecșii C23-C24: 3,37 μB pentru C23, 3,12 μB pentru C24 și zero pentru C25 și C26. Valorile momentului magnetic pentru complecșii C23 și C24 presupune că aceștia sunt paramagnetici, în timp ce C25 și C26 diamagnetici.

Spectre UV-Vis-NIR

Datele furnizate de spectrele electronice corelate cu momentele magnetice la temperatura camerei furnizează informații valoroase referitoare la stereochemia combinațiilor complexe sintetizate. Stereochemiile propuse pentru complecșii C23-C26 sunt:

(C23) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Octaedrică distorsionată rombic
(C24) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Br}$	Octaedrică distorsionată rombic
(C25) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{NO}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Plan pătrată
(C26) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{CH}_3\text{COO}$	Plan pătrată

II.2.1.4. Spectre FT-IR

În spectrele celor patru complecși se observă prezența unei benzi foarte intense la cca. 1640 cm^{-1} . Aceasta poate fi atribuită vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, ceea ce presupune coordinarea ligandului TB la ionii metalici prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului [231].

Prezența unei benzi intense la cca. 1650 cm^{-1} în spectrele celor 4 complecși explică implicarea oxigenului cetonic de la gruparea metilcetonică din acidul usnic. Deplasarea benzilor

caracteristice vibrației de deformare $\delta(\text{OH})$ fenolic (în plan și în afara lui), la numere de undă mai mari, poate fi atribuită coordinării acestui ligand prin gruparea OH fenolică [262].

Având în vedere că gruparea OH cu caracterul cel mai acid este cea legată de carbonul 3 al acidului usnic, înseamnă că acesta participă la coordonare cu oxigenul din gruparea metilcetonică legată de carbonul 2 și acest oxigen fenolic.

II.2.1.5.1. Activitatea antimicrobiană

Determinarea concentrației minime inhibitorii pentru combinațiile complexe

Activitatea antimicrobiană a liganzilor și complecșilor sintetizați a fost testată pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. La concentrațiile din domeniul de lucru (1,00 - 0,0019 mg/mL), solventul folosit la diluții, DMSO, nu influențează activitatea antimicrobiană a compușilor testați.

Complecșii C23-C26 au o activitate antimicrobiană foarte bună împotriva tulpinii *S. aureus*, având o concentrație minimă inhibitorie de 0,0039 mg/mL. Ligandul TB are cea mai slabă activitate pentru această tulpină, CMI fiind 0,125 mg/mL, iar celălalt ligand are o activitate bună, cu CMI de 0,0078 mg/mL.

Complecșii C23 și C24 au o activitate bună contra bacteriei Gram negative *P. aeruginosa*, în timp ce liganzii și ceilalți doi complecși au o activitate slabă (CMI 0,5 mg/mL pentru C23 și C24, 1 mg/mL pentru C25, C26, TB și H₃AU).

Studiul influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert

În ceea ce privește capacitatea de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert complecșii și liganzii inhibă acest proces în funcție de doză până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului.

Împotriva speciei *Staphylococcus aureus* complecșii C23 și C24 au CMEB de 0,0019 mg/mL, H₃AU, C25 și C26 0,0039 mg/mL. Cea mai mare CMEB o are ligandul TB, 0,0312 mg/mL. În cazul tulpinii *Pseudomonas aeruginosa* tot complecșii C23 și C24 au cea mai mică

CMEB (0,0019 mg/mL), iar cea mai mare o are H₃AU (0,0078 mg/mL). Celălalt ligand și ceilalți doi complecși au aceeași CMEB de 0,0039 mg/mL.

II.2.1.5.2. Activitatea antifungică

Activitatea antifungică s-a determinat pentru liganzi și complecși pe *Candida albicans* ATCC 10231, CMI fiind prezentată în figura II.2.13. Domeniul de concentrații de lucru a fost 1,00-0,0019 mg/mL. Liganzii și complecșii C25-C26 au cea mai slabă activitate, iar cea mai bună o au C23 și C24 având CMI 0,5 mg/mL.

II.2.1.5.3. Activitatea antitumorală

Pentru complecșii C23-C26 și pentru liganzii utilizați în obținerea acestora a fost testată activitatea antitumorală pe celule HeLa. Pentru testare s-au folosit soluții de concentrație 500 μg/mL, iar incubarea s-a făcut la 37°C timp de 24 ore.

În condițiile testate complecșii C25 și C26 au un efect citotoxic moderat asupra celulelor HeLa, reducând viabilitatea acestora cu 21%, respectiv 23%. Liganzii și complecșii C23 și C24 au un efect slab asupra acestui tip de celule.

II.2.1.6. Concluzii parțiale

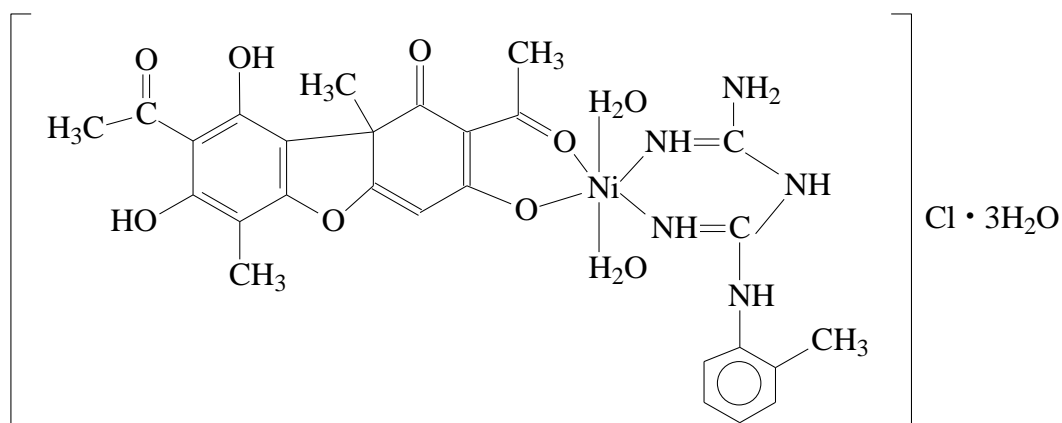
Au fost sintetizate și caracterizate patru combinații complexe noi ale nichelului având ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida. Formulele celor patru complecși au fost propuse pe baza interpretărilor analizelor efectuate (analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, IR, analiză termică, conductanță electrică molară, susceptibilitate magnetică). Ambii liganzi sunt bidentați în toți complecșii obținuți. Ligandul TB coordinează la ionul metalic prin atomii de azot iminici iar ligandul H₃AU prin atomul de oxigen din gruparea metilcetonică legată de carbonul 2 și atomul de oxigen din hidroxilul fenolic legat de carbonul 3 al acidului usnic. În timp ce biguanida coordinează în formă neutră, acidul usnic participă la coordonare deprotonat, H₂AU⁻.

Stereochimiile propuse pentru complecșii sintetizați sunt: octaedrică distorsionată rombic pentru C23 și C24 și plan pătrată pentru C25-C26, lucru confirmat de spectrele electronice și valorile susceptibilității magnetice.

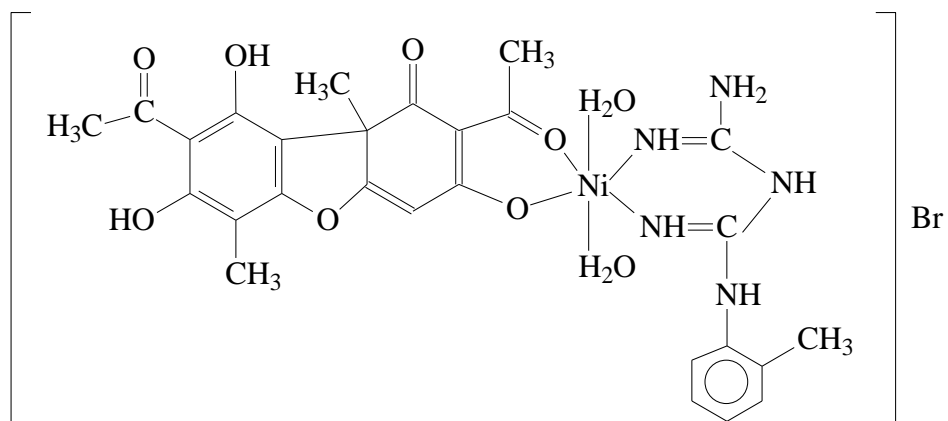
Toți complecșii au o bună activitate antibacteriană pe tulpina *S. aureus*, fapt datorat acidului usnic din compoziția lor. Cea mai bună activitate antimicrobiană și antifungică împotriva *P. aeruginosa* și *C. albicans* o au complecșii C23 și C24, lucru ce se datorează stereochemiei acestora (octaedrică distorsionată rombică). Cea mai bună capacitate de a inhiba aderența biofilmului microbial la substrat inert a celor două tulpini testate o au tot complecșii C23 și C24. În schimb, se observă un efect citotoxic moderat pe celule HeLa al combinațiilor complexe C25 și C26 care au stereochemie plan pătrată.

Activitatea biologică a complecșilor este comparabilă sau mai bună decât a liganzilor și diferențele care apar pentru cei patru complecși poate fi pusă pe seama stereochemiei acestora.

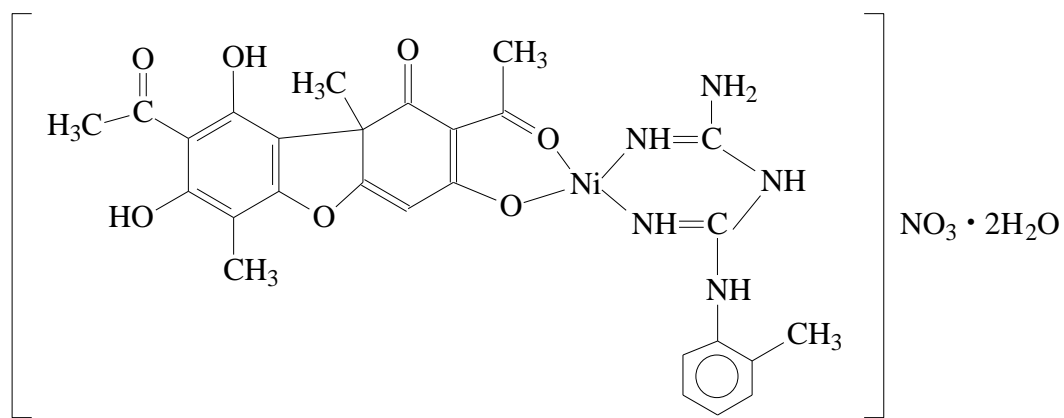
Structurile propuse pentru complecșii C23-C26 sunt redată în figura II.2.15.



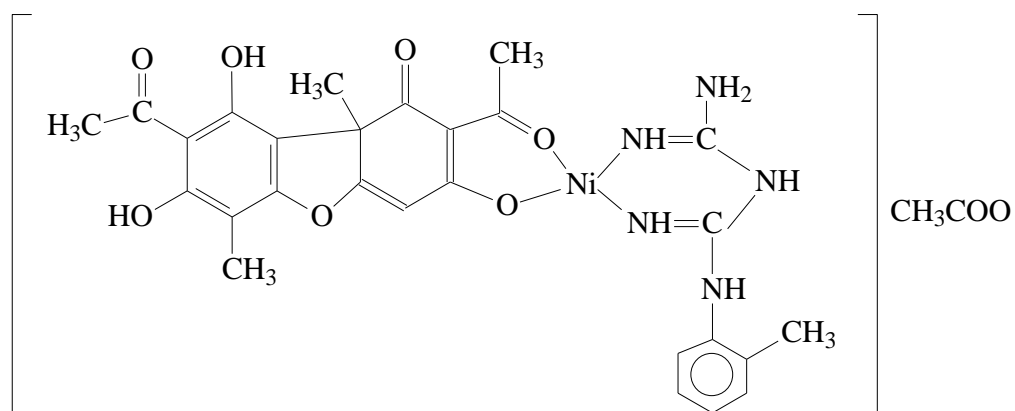
C23



C24



C25



C26

Fig. II.2.15. Structurile propuse pentru combinațiile complexe C23-C26

II.2.2. Sinteza unor combinații complexe ale Cu(II) cu liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida

Au fost sintetizate patru combinații complexe folosind clorură, azotat, acetat și clorat de cupru și ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida.

În urma analizelor efectuate (analiză elementală, spectre UV-Vis-NIR, IR, RPE, spectrometrie de absorbție atomică) pentru acești complecși formulele moleculare propuse sunt:

$[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{Cl}$	albastru	(C27)
$[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)$	gri albastru	(C28)
$[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})\text{CH}_3\text{COO}] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	verde	(C29)
$[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{ClO}_4)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	verde	(C30)

În cele patru sinteze substanțele utilizate au fost în raportul molar sare metalică: acid usnic: 1-(*o*-tolil) biguanidă de 1:1:1, raport regăsit și în formulele propuse pentru aceștia.

Conductanța electrică molară

Pentru complexii sintetizați s-a determinat conductanța electrică molară la 25°C în soluție de N,N-dimetilformamidă cu concentrația 0,001 mol/L. Pentru combinațiile complexe C29 și C30 s-au obținut valori corespunzătoare compușilor de tip neelectrolit, 37,1 S•cm²mol⁻¹, respectiv 41,1 S•cm²mol⁻¹. Pentru complexul C27 s-a obținut o conductanță molară de 79,7 S•cm²mol⁻¹, iar pentru C28, 72,4 S•cm²mol⁻¹ ceea ce indică un electrolit de tip 1:1 [222].

II.2.2.2. Analiza termică

Complexul C30 nu a fost supus analizei termice din cauza anionului perclorat din molecula sa (pericol de explozie în timpul descompunerii termice).

Prezența apei/alcoolului din compoziția complexilor C28 și C29 a fost confirmată în prima etapă a descompunerii termice a acestora.

Pentru complexii analizați se obține același reziduu, CuO, din care se poate determina procentul de cupru și anume: pentru C27 (9,81% experimental, 10,03% calculat), pentru C28 (9,24% experimental, 9,13% calculat), iar pentru C29 (8,59% experimental, 8,48% calculat).

II.2.2.3. Spectre UV-Vis-NIR și spectre RPE

Prin corelația benzilor observate în spectrele electronice UV-Vis-NIR și spectrele de rezonanță paramagnetică electronica ale celor patru complecși, s-au putut propune stereochimiile acestora și s-a apreciat caracterul legăturilor metal-ligand [238-246].

Pentru complexul C27, din analiza spectrului RPE s-au calculat parametrii $K_{\parallel}=0,341$ și $K_{\perp}=0,637$, ceea ce înseamnă că legăturile π în plan sunt puternice. Pentru coeficienții α^2 , β^2_1 , β^2 s-au obținut următoarele valori: $\alpha^2 = 0,64$ ceea ce înseamnă că legăturile σ în plan sunt puternice având caracter predominant covalent ; $\beta^2_1 = 0,53$ presupune legături π puternice în planul xoy iar $\beta^2 = 0,99$ indică legături π slabe în afara planului.

Valorile obținute pentru parametrii spectrali în cazul complexului C28 sunt $K_{\parallel}=0,53$ și $K_{\perp}=0,70$ ceea ce presupune legături π puternice în plan. $\alpha^2 = 0,86$ ceea ce presupune că legăturile

sigma în plan au caracter predominant ionic; $\beta^2_1 = 0,62$ presupune legături π puternice în planul xoy iar $\beta^2 = 0,81$ indică legături π slabe în afara planului.

Pentru complexul C29 $K_{\parallel} \cong K_{\perp}$, ceea ce înseamnă că legătura metal – ligand este o legătură σ pură. Coeficientul α^2 este 0,85 ceea ce presupune că legăturile sigma în plan au caracter predominant ionic. Coeficienții β^2_1 și β^2 au valori apropiate, 0,67 respectiv 0,66, de aceea atât legăturile π în planul xoy cât și cele în afara lui sunt relativ puternice.

Valoarea lui K_{\perp} pentru complexul C30 (0,85) indică legături aproape ionice cupru-ligand.

Stereochimiile propuse pentru complecșii sintetizați sunt :

(C27) [Cu(TB)(H ₂ AU)]Cl	Plan pătrată
(C28) [Cu(TB)(H ₂ AU)(H ₂ O) ₂] (NO ₃)	Octaedrică distorsionată tetragonal
(C29) [Cu(TB)(H ₂ AU)CH ₃ COO]•2C ₂ H ₅ OH	Piramidă pătrată
(C30) [Cu(TB)(H ₂ AU)(ClO ₄)]•2H ₂ O	Octaedrică distorsionată tetragonal

II.2.2.4. Spectre FT-IR

În spectrele complecșilor C27-C30 se observă o deplasare a benzii intense de la 1610 cm⁻¹ datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, deplasare care se explică prin coordinarea 1-(*o*-tolil) biguanidei la ionul de cupru prin perechea de electroni neparticipanți ai azotului iminic [231]. Și deplasarea benzilor datorate vibrațiilor cuplate $\delta(\text{NH})+\nu(\text{C}-\text{N})$ susține coordinarea TB prin atomii de azot iminici.

Benzile intense prezente în spectrele celor patru complecși analizați la valori cuprinse în intervalul 1637-1662 cm⁻¹ sunt la numere de undă mai mici ca cea din acidul usnic și pot fi atribuite coordinării acestui ligand la ionul metalic prin oxigenul carbonilic de la gruparea metilcetonică.

Implicarea oxigenului fenolic în coordinare este explicată prin existența unor benzi în spectrele complecșilor la 1205-1239 cm⁻¹ și 709-734 cm⁻¹.

II.2.2.5.1. Activitatea antimicrobiană - Determinarea concentrației minime inhibitorii

Activitatea antimicrobiană a fost testată *in vitro* pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pentru complecșii C27-C30 și liganzii folosiți în sinteze. Domeniul de concentrații de lucru a fost de la 1,00 mg/mL la 0,0019 mg/mL.

Cea mai scăzută concentrație minimă inhibitorie, deci cea mai bună activitate antimicrobiană împotriva *S. aureus* o au complexii C28 și C30 (0,0039 mg/mL). Complexul C29 are aceeași activitate cu unul din liganzi, 1-(*o*-tolil) biguanida, având CMI de 0,125 mg/mL.

Pe tulpina *P. aeruginosa*, complexii C27 și C29 au cea mai bună activitate antimicrobiană, cu CMI = 0,125 mg/mL, iar complexul C28 o activitate ceva mai mică. Complexul C30 are aceeași activitate împotriva acestei tulpini ca și liganzii (CMI de 1 mg/mL).

II.2.2.5.2. Activitatea antifungică - Determinarea concentrației minime inhibitorii

Activitatea antifungică a fost testată *in vitro* pe *Candida albicans* ATCC 10231 atât pentru complexii C27-C30 cât și pentru liganzii utilizați în sinteze. S-a lucrat în intervalul de concentrații 1,00-0,0019 mg/mL. Toți complexii au o activitate antifungică mai bună decât a liganzilor, cea mai mică CMI având-o complexul C29, de 0,125 mg/mL.

II.2.2.5.3. Activitatea antitumorală

În urma testării complexilor și liganzilor utilizați în sinteze pe celule HeLa s-a constatat că cel mai bun efect citotoxic îl are complexul C27, care reduce viabilitatea acestor celule cu 32%. Complexii C28 și C30 reduc viabilitatea celulelor tumorale cu 28% respectiv 26%.

Pentru teste s-au folosit soluții de concentrație 500 μg/mL, iar incubarea s-a făcut timp de douăzeci și patru de ore la 37°C.

II.2.2.6. Concluzii parțiale

În urma sintezelor dintre săruri de cupru, acid usnic și 1-(*o*-tolil) biguanidă s-au obținut patru combinații complexe noi ale Cu(II). Acestea au fost analizate prin diverse metode în vederea stabilirii formulelor corespunzătoare.

În toți complexii liganzii coordonează bidentat la ionul metalic. 1-(*o*-tolil) biguanida coordonează prin atomii de azot iminici în timp ce acidul usnic printr-un atom de oxigen din gruparea metilcetonică legată la carbonul 2 și un oxigen de tip fenolic legat de carbonul 3 al acestui ligand.

Stereochimiile propuse pentru cei patru complecși sunt:

- plan pătrată C27
- octaedrică distorsionată tetragonal C28
- piramidă pătrată C29
- octaedrică distorsionată tetragonal C30

Activitatea antimicrobiană bună împotriva *S. aureus* pentru complecșii C27, C28 și C30 poate fi atribuită în mare parte acidului usnic care este ligand. Activitatea mai slabă a complexului C29 s-ar putea datora preponderant stereochimiei acestuia și mai puțin acidului usnic din compoziția sa.

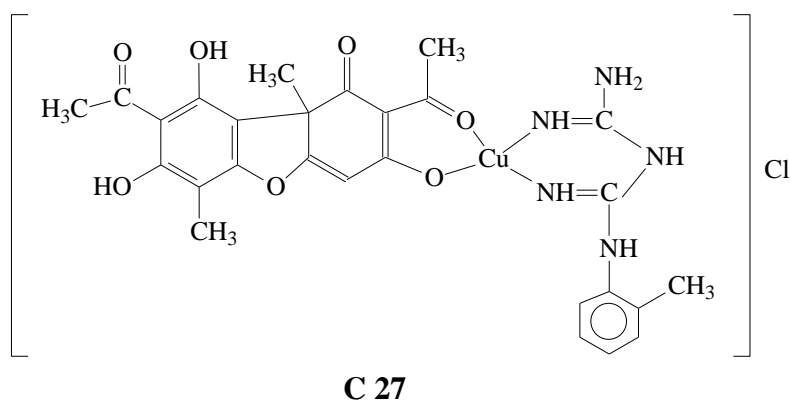
Și în cazul celorlalte tulpini testate activitatea biologică este influențată de :

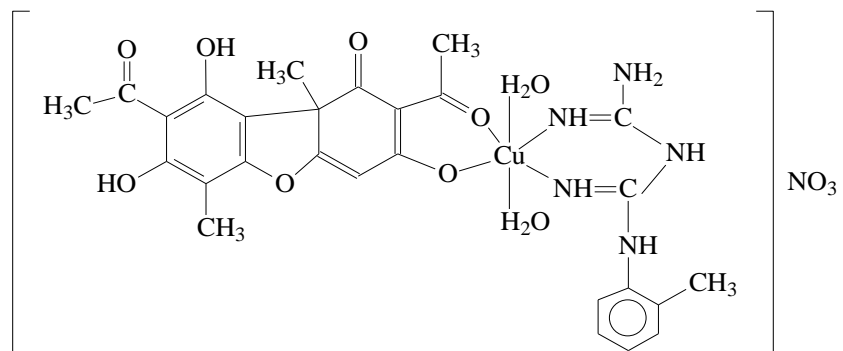
- stereochimia complexului
- înconjurarea ionului metalic
- tipul de electrolit.

Astfel complecșii C27 și C29 au cea mai bună activitate antimicrobiană pe tulpina *P. aeruginosa*. Cea mai mică CMI pe *C. albicans*, deci cea mai bună activitate antifungică o are complexul C29.

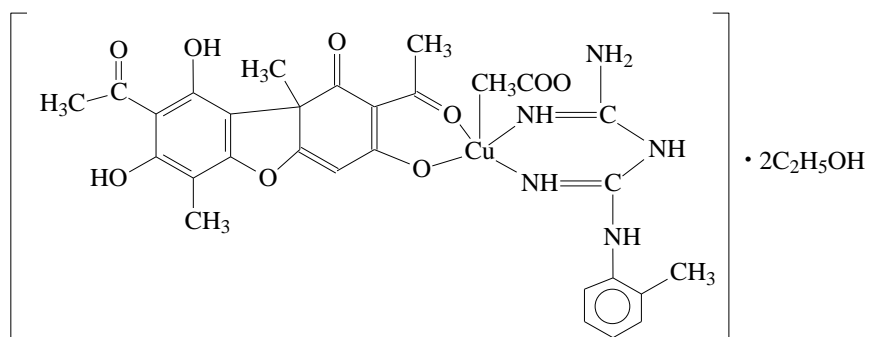
Referitor la activitatea antitumorală pe celule HeLa cel mai bun efect citotoxic îl are complexul cu stereochimie plan pătrată.

Pe baza analizelor efectuate pentru cei patru complecși s-au propus următoarele structuri (figura II.2.27):

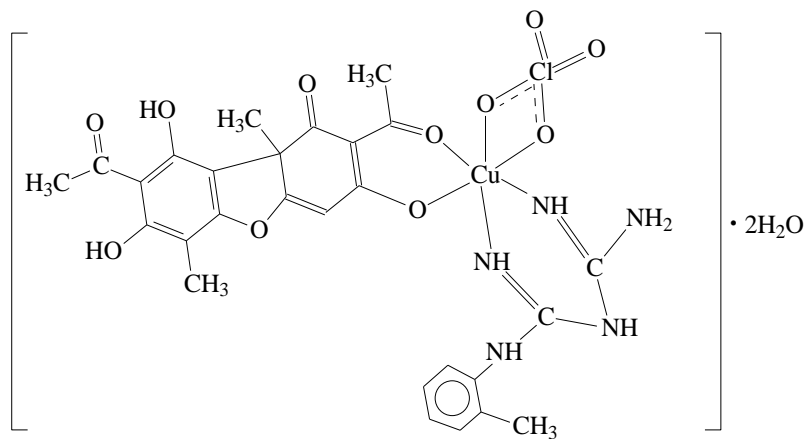




C28



C29



C30

Fig. II.2.27. Formulele propuse pentru combinațiile complexe C27-C30

II.2.3. Sinteza și caracterizarea unor combinații complexe ale Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) cu liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida

Patru complecși de Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) s-au sintetizat din săruri ale acestor metale și doi liganzi: acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida. În sinteze s-au folosit PdCl₂, Pd(CH₃COO)₂, H₂PtCl₆ și PtCl₂. Raportul molar sare metalică:acid usnic:1-(*o*-tolil) biguanidă folosit în sinteze a fost de 2:1:1. Acest raport s-a menținut pentru complexul C31, în timp ce pentru ceilalți trei complecși raportul de combinare a fost de 1:1:1.

Pentru stabilirea structurilor acestor complecși s-au folosit datele furnizate de analiza elementală, analiza termică, spectrometrie de absorbție atomică, spectrele UV-Vis-NIR și FT-IR.

Formulele propuse pentru combinațiile complexe sintetizate sunt:

[Pd(TB)(H ₃ AU)][PdCl ₄]	portocaliu închis	(C31)
[Pd(TB)(H ₂ AU)]CH ₃ COO	portocaliu	(C32)
[Pt(TB)(H ₂ AU)Cl ₂]Cl	maron închis	(C33)
[Pt(TB)(H ₂ AU)]Cl	portocaliu	(C34)

II.2.3.2. Analiza termică

Din analiza curbelor TG ale complecșilor de paladiu (II) se observă că până la 220°C nu se înregistrează nici o pierdere de masă. Acest lucru înseamnă că nici unul din cei doi complecși nu are apă sau alcool în moleculă. Peste această temperatură are loc degradarea oxidativă a complecșilor. Reziduul final rezultat în urma descompunerii termice a celor doi complecși este paladiu [250]. S-a observat o concordanță între procentul de paladiu determinat din analiza termică și cel rezultat din analiza elementală: 24,22% experimental, 23,91% calculat pentru C31, respectiv 15,42% exp., 15,20% calc. pentru C32.

Nici complecșii C33 și C34 nu conțin apă sau alcool, lucru confirmat de analiza termică în care, până la 200°C nu se observă nici o pierdere de masă. Reziduul final este platina [251], 23,23% pentru C33, respectiv 26,15% pentru C34 (valori apropiate cu cele calculate pe baza formulei moleculare, 23,34% - C33 și 25,46% - C34).

II.2.3.3. Spectre UV-Vis-NIR

Stereochimiile propuse pentru complexii C31-C34 în urma interpretării spectrelor UV-Vis-NIR sunt:

(C31) [Pd(TB)(H ₃ AU)][PdCl ₄]	Plan pătrată
(C32) [Pd(TB)(H ₂ AU)]CH ₃ COO	Plan pătrată
(C33) [Pt(TB)(H ₂ AU)Cl ₂]Cl	Octaedrică
(C34) [Pt(TB)(H ₂ AU)]Cl	Plan pătrată

II.2.3.4. Spectre FT-IR

Acidul usnic funcționează în cazul acestor combinații complexe ca ligand bidentat, sub formă deprotonată H₂AU⁻. Acest lucru este susținut de prezența benzilor situate la:

- 1635-1662 cm⁻¹, atribuită implicării oxigenului din metilcetona legată de carbonul 2 al acidului usnic
- 1197-1220 cm⁻¹, respectiv 708-729 cm⁻¹, benzi ce sunt atribuite implicării oxigenului de tip fenolic legat de carbonul 3 al ligandului.

Banda datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, de la 1610 cm⁻¹ din spectrul ligandului TB se regăsește în spectrele combinațiilor complexe, ușor deplasată. Prezența acestei benzi deplasată față de cea din ligandul TB explică implicarea azotului iminic în coordinare prin perechea de electroni neparticipanți pe care o are [231]. Această coordinare este susținută și de existența unor benzi datorate vibrațiilor cuplate $\delta(\text{NH})+\nu(\text{C}-\text{N})$.

II.2.3.5.1. Activitatea antimicrobiană

S-au testat *in vitro* complexii C31-C34, H₃AU și TB pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pentru a stabili activitatea antibacteriană. Domeniul de lucru ales a fost 1,00 – 0,0019 mg/mL, iar solventul folosit a fost DMSO.

În urma testărilor efectuate s-a observat că activitatea antimicrobiană împotriva speciei Gram pozitive *Staphylococcus aureus* este foarte bună pentru complexii și acidul usnic în timp ce pentru 1-(*o*-tolil) biguanidă este mult mai slabă. Complexii cu platină au cea mai mică concentrație minimă inhibitorie, de 0,0019 mg/mL, de patru ori mai mică decât a acidului usnic.

În cazul bacteriei Gram negative *Pseudomonas aeruginosa* ambii liganzi au o activitate antimicrobiană scăzută. Toți complexii au o activitate bună pe această tulpină, complexul platinei tetravalente având cea mai mică CMI, de 0,0625 mg/mL. Solventul folosit la diluții nu influențează activitatea antimicrobiană a compușilor testați la concentrațiile de lucru.

II.2.3.5.2. Activitatea antifungică

În urma testării activității antifungice pe *Candida albicans* ATCC 10231 s-a constatat că liganzii au o activitate slabă, complexii C31 și C32 una moderată în timp ce complexii cu platină au cea mai bună activitate. Aceștia din urmă au o CMI de 0,125 mg/mL.

II.2.3.5.3. Activitatea antitumorală

Activitatea antitumorală a fost testată pe celule HeLa pentru complecși și liganzi. Procentele de viabilitate a acestor celule în prezența compușilor testați s-au calculat față de proba de control netratată. Soluțiile folosite pentru aceste teste au avut concentrația de 500 $\mu\text{g/mL}$, iar incubarea s-a făcut la 37°C timp de 24 ore.

Complecșii de platină au redus viabilitatea celulelor HeLa cu 35% C33, respectiv 32% C34, având astfel un efect citotoxic bun. Liganzii și complecșii cu paladiu au un efect mai slab asupra acestui tip de celule tumorale.

II.2.3.6. Concluzii parțiale

Patru complecși noi ai Pd(II), Pt(II) și Pt(IV) au fost obținuți folosind ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida.

În toți complecșii ambii liganzi sunt bidentați, 1-(*o*-tolil) biguanida koordinând la ionul metalic prin atomii de azot iminici, iar ligandul H_3AU sub formă de anion H_2AU^- prin atomii de oxigen din gruparea metilcetona legată de carbonul 2 și oxigenul de tip fenolic legat de carbonul 3 din acidul usnic.

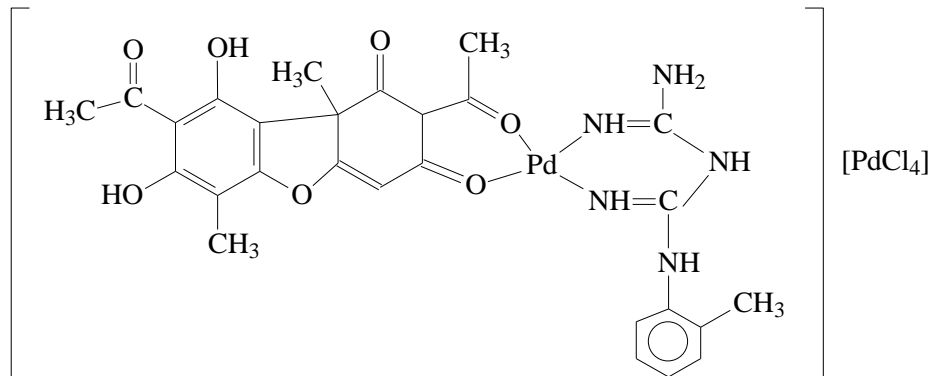
În urma analizelor efectuate s-au constatat următoarele:

- complecșii de Pd(II) au simetrie plan pătrată,
- complexul C33 conține platină tetravalentă și este octaedric,

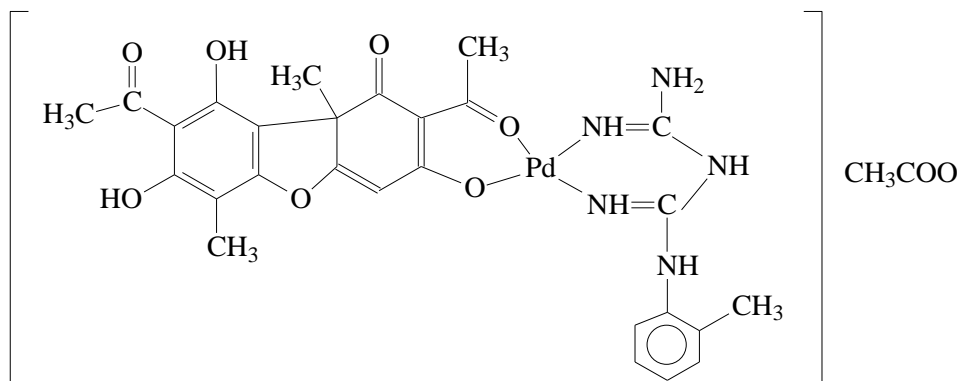
- complexul C34 este plan pătrat cu platina divalentă.

Complexul C31 este de tip Vauquelin, având un anion complex $[PdCl_4]^{2-}$.

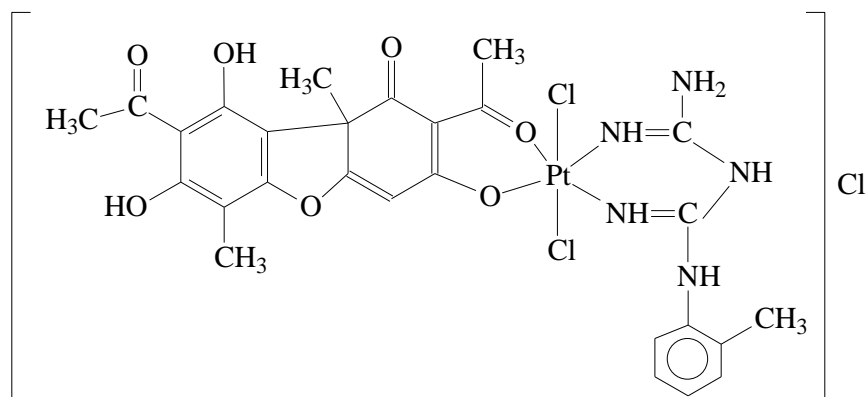
Structurile propuse pentru complexii C31-C34 sunt redată în figura II.2.40.



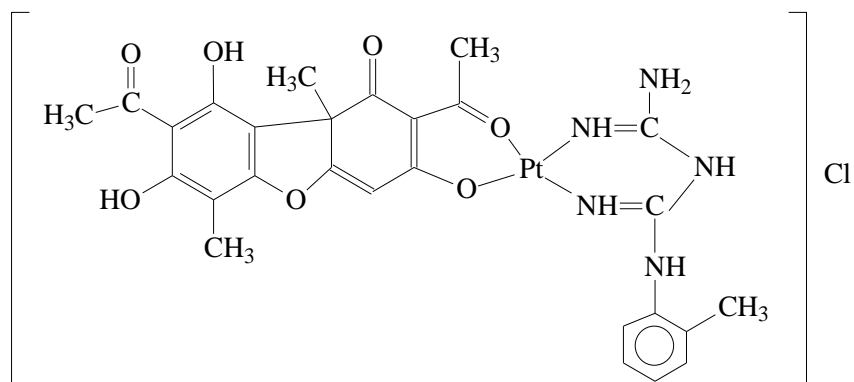
C31



C32



C 33



C34

Fig. II.2.40. Formulele propuse pentru complecșii C31-C34

Activitatea antibacteriană bună a complecșilor împotriva *S. aureus* se datorează în primul rând acidului usnic din compoziția lor.

Complecșii cu platină au o activitate mai bună pe toate tulpinile testate față de cei ai paladiului.

Activitatea antitumorală a combinației complexe C31 mai bună decât a C32 poate fi pusă pe seama numărului de ioni de paladiu din moleculă și anume, doi pentru primul față de unu în al doilea complex.

Se constată că în urma coordinării liganzilor la ionul metalic activitatea biologică se îmbunătățește (complecșii au activitate mai bună ca liganzii).

II.2.4. Sinteza unor combinații complexe ale Co(II) cu liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida

Folosind ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida și săruri de cobalt divalent s-au sintetizat trei complecși cărora li s-au propus următoarele formule moleculare:

$[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})_2(\text{TB})]\text{Cl}$	gri albastru închis	(C35)
$[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	roz cărămiziu	(C36)
$[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})_2](\text{CH}_3\text{COO}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	maron roșcat	(C37)

Conductanța electrică molară

Pentru complexii C35 și C36 s-au obținut pentru conductanța electrică molară valori ce corespund neelectroliților, $37,2 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$, respectiv $40,7 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. Complexul C37 este un electrolit de tip 1:1, lucru confirmat de valoarea de $\lambda_M = 72,3 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$ [222]. Determinările conductanței s-au făcut în soluție de N,N-dimetilformamidă, de concentrație 10^{-3}M la 25°C .

II.2.4.2. Analiza termică

La descompunerea termică a complexul C35 până la 220°C nu are loc nici o pierdere de masă, ceea ce înseamnă că nu conține apă sau alcool etilic în compoziția sa.

Din analiza termogravimetrică a complexului C36 se observă o primă pierdere de masă până la 110°C , ceea ce corespunde la cele patru molecule de apă din compoziția complexului – trei de cristalizare și una de coordinare.

La descompunerea termică a complexului C37 cele două molecule de apă de cristalizare se elimină într-o primă etapă, sub 180°C .

Reziduul final este Co_3O_4 pentru toți complexii. Procentul de cobalt din fiecare complex calculat pe baza acestui reziduu este 9,59% pentru C35, 8,35% din C36, respectiv 6,92% în C37.

II.2.4.3. Spectre UV-Vis-NIR

Stereochimiile complexilor C35-C37 au fost propuse în urma analizei spectrelor electronice ale acestora comparativ cu ale liganzilor pe care îi conțin.

(C35) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})_2(\text{TB})]\text{Cl}$	Bipiramidă trigonală
(C36) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Octaedrică
(C37) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})_2](\text{CH}_3\text{COO})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Octaedrică

II.2.4.4. Spectre FT-IR

Prezența unei benzi intense situată în apropiere de 1670 cm^{-1} în spectrele tuturor complexilor indică implicarea în coordinare a oxigenului de la metilcetona din acidul usnic. Un alt atom de oxigen din acest ligand ce participă la coordinare este cel de tip fenolic. Acest lucru e

confirmat de existența unor benzi în spectrele combinațiilor complexe situate la cca. 1200 cm^{-1} și cca. 710 cm^{-1} .

Banda datorată vibrației de valență a grupării iminice, $\nu(\text{C}=\text{N})$, de la 1610 cm^{-1} din spectrul 1-(*o*-tolil) biguanidei este prezentă în spectrele celor trei complecși, deplasată ușor spre numere de undă mai mari, ceea ce presupune implicarea atomilor de azot iminici în coordinare [231].

II.2.4.5.1. Activitatea antimicrobiană - determinarea concentrației minime inhibitorii

Activitatea antimicrobiană pentru complecșii noi și liganzi a fost testată *in vitro* pe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. S-a lucrat într-un interval de concentrații de la 1,00 la 0,0019 mg/mL, obținut prin diluții succesive în DMSO. Solventul nu a influențat activitatea biologică în domeniul de lucru ales.

În cazul *Staphylococcus aureus*, combinațiile complexe C35 și C36 au prezentat o activitate antimicrobiană similară cu a acidului usnic, toți având CMI de 0,0078 mg/mL. Activitatea celuilalt ligand este mult mai slabă ca a acidului usnic, cu o CMI de 0,125 mg/mL.

Împotriva *Pseudomonas aeruginosa* toți complecșii au activitate antimicrobiană mai bună decât liganzii, complexul C36 având cea mai mică valoare a CMI de 0,0156 mg/mL.

II.2.4.5.2. Activitatea antifungică - determinarea concentrației minime inhibitorii

Pentru toți compușii a fost testată activitatea antifungică *in vitro*, pe *Candida albicans* ATCC 10231. S-a lucrat cu soluții ale compușilor de concentrații cuprinse între 1,00 și 0,0019 mg/mL. În urma testării se constată că activitatea antifungică pe această specie este mai bună pentru complecși decât pentru cei doi liganzi. Complecșii C35 și C36 au cea mai bună activitate cu o valoare a CMI de 0,125 mg/mL.

II.2.4.5.3. Activitatea antitumorală

Activitatea antitumorală a complecșilor C35-C37 și a liganzilor a fost testată pe celule HeLa. S-a lucrat cu soluții de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ și incubarea s-a făcut la 37°C timp de 24 ore.

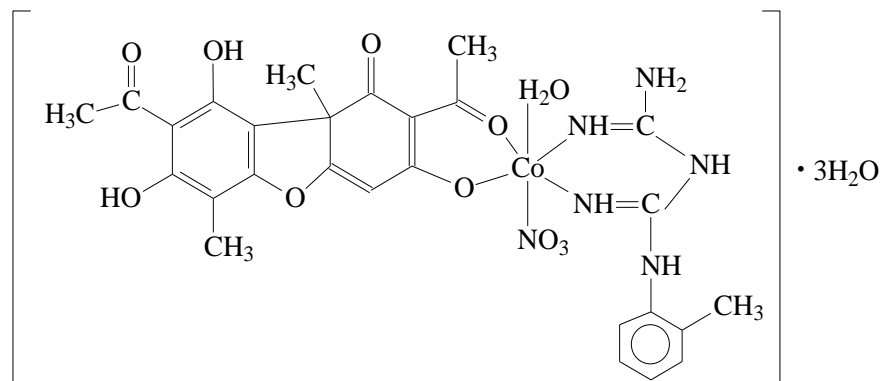
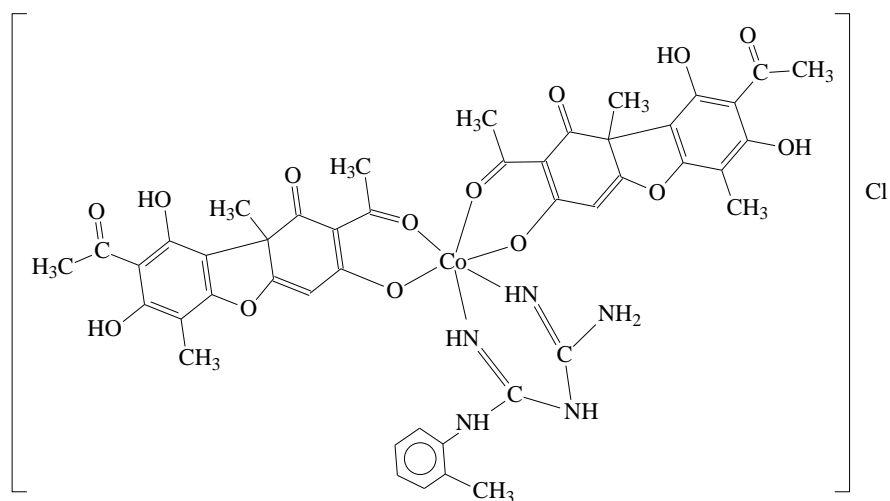
Efectul citotoxic cel mai bun dintre toți compușii testați îl au complecșii C37 și C35, care reduc viabilitatea celulelor HeLa cu 32%, respectiv 30%.

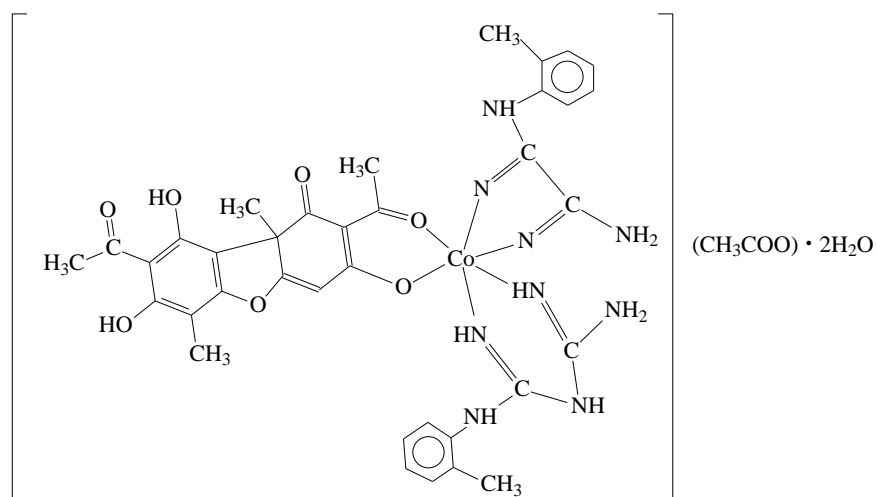
Dintre liganzi TB are o activitate antitumorală mai bună decât H₃AU.

II.2.4.6. Concluzii parțiale

Trei noi complecși ai cobaltului divalent au fost obținuți în urma sintezelor dintre săruri ale acestui metal (clorură, azotat și acetat) și acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanidă ca liganzi.

Pe baza analizelor efectuate (analiză elementală, analiză termică, spectre UV-Vis-NIR și FT-IR) s-au propus formulele pentru cei trei complecși (fig.II.2.51).





C37

Fig. II.2.51. Formulele propuse pentru complexii C34-C37

În urma analizelor efectuate pe acești complecși s-a observat că ambii liganzi coordinează bidentat, astfel:

- 1-(*o*-tolil) biguanida coordinează bidentat prin atomii de azot iminici, în formă neutră TB;
- acidul usnic funcționează ca ligand bidentat sub forma deprotonată H₂AU⁻ prin doi atomi de oxigen, unul din metilcetona legată de carbonul 2 și unul de tip fenolic legat de carbonul 3 al acestuia.

Deși raportul molar sare metalică: TB: H₃AU a fost de 1:1:1, acesta s-a menținut doar în primii doi complecși. În complexul C37 însă, două molecule de 1-(*o*-tolil) biguanidă coordinează la ionul de cobalt ceea ce înseamnă că raportul molar a fost de 1:2:1.

Pentru complecșii C36 și C37 a fost propusă simetria octaedrică iar pentru C35 bipiramidă trigonală.

Activitatea antibacteriană bună a complecșilor pe tulpina *S.aureus* se datorează în mare parte acidului usnic care e ligand în aceștia și mai puțin stereochemiei complexului.

Activitatea ceva mai scăzută a complexului C37 poate fi pusă pe seama faptului că acesta are două molecule de TB ca ligand și doar una de H₃AU.

În cazul *P. aeruginosa* și *C. albicans* activitatea biologică mai bună pentru complecși decât pentru liganzi se datorează coordinării acestora din urmă la ionul metalic. Complexul C37 are trei liganzi în jurul ionului de cobalt, de unde și o activitate mai slabă în comparație cu C35 și C36.

Activitatea antitumorală mai bună a complecșilor C37 și C35 se datorează prezenței a două molecule de TB în cazul primului și simetriei în cazul celui de al doilea complex.

III. CONCLUZII GENERALE

Rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate în scopul elaborării prezentei teze de doctorat sunt prezentate în secțiunea "Contribuții originale" și s-au concretizat în sinteza, caracterizarea și formularea a 37 de combinații complexe noi.

Un număr de 22 combinații complexe au ca liganzi acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida, iar 15 conțin ca liganzi acidul usnic și 1-(*o*-tolil) biguanida.

În vederea stabilirii structurilor compușilor sintetizați aceștia au fost caracterizați prin analiză chimică elementală, conductanță electrică molară, spectroscopie IR și UV-Vis-NIR.

Interpretarea rezultatelor analizei termogravimetrice a oferit informații care au contribuit la formulările propuse pentru combinațiile complexe și anume prezența moleculelor de apă/alcool etilic și efectele termice ce însoțesc procesele cu pierdere de masă.

Combinațiile complexe în a căror sinteză s-au utilizat perclorați (C8 și C12) nu au fost supuse descompunerii termice din motive de securitate. În majoritatea cazurilor reziduul obținut în urma descompunerii termice a fost oxidul metalic. Pentru complexii de mangan oxidul obținut a fost Mn_2O_3 , pentru cei de cobalt oxidul a fost Co_3O_4 , iar pentru complexii cu platină la peste $500^\circ C$ reziduul format a fost platina care s-a obținut prin descompunerea $PtCl_2$ la $450-480^\circ C$.

Pentru complexii care conțin cupru (C5-C8 și C27-C30), s-au analizat și spectrele RPE iar pentru cei cu nichel (C1-C4 și C23-C26) s-au efectuat și măsurători magnetice.

În toți complexii 1-(*o*-tolil) biguanida funcționează ca ligand bidentat și coordonează la ionul metalic prin atomii de azot iminici.

Acidul α -cetoglutamic funcționează ca:

- ligand monodentat sub formă deprotonată, HA^- , în complexul C20 coordinând la ionul metalic prin oxigenul hidroxilului grupării carboxil;
- ca ligand bidentat coordinând la ionul metalic prin atomul de oxigen din gruparea cetonă din poziția alfa și oxigenul din hidroxilul grupării carboxil alăturate;
 - sub formă deprotonată, HA^- , - în complexii C1-C8, C12-C14, C17, C18, C21 și C22;
 - sub formă nedeprotonată, H_2A , în complexii C9-C11, C16 și C19;
- ca ligand în punte dublu deprotonat, A^{2-} , în complexii C10, C11 și C15.

Acidul usnic coordinează la ionul metalic bidentat prin atomul de oxigen din gruparea metilcetonică legată de carbonul 2 și atomul de oxigen din hidroxilul fenolic legat de carbonul 3; el participă la coordonare deprotonat, H_2AU^- cu excepția complexului C31 în care este sub formă neutră.

Combi-națiile complexe sintetizate sunt:

- mononucleare C1-C9, C13-C14, C17-C18, C20-C21, C23-C30, C32-C37;
- dinucleare C10, C11, C12, C15, C22.

Complecșii C16, C19 și C31 sunt de tip Vauquelin, C16 și C31 având anionul complex $[PdCl_4]^{2-}$ în timp ce C19 conține $[PtCl_4]^{2-}$.

Combi-națiile complexe sintetizate au fost testate din punct de vedere al activității biologice:

- cuantificarea activității antimicrobiene pe tulpinile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – pentru toți complecșii;
- studiul influenței combinațiilor complexe sintetizate asupra dezvoltării de biofilme microbiene pe substrat inert a celor două tulpini microbiene – complecșii C1-C12, C23-C26;
- cuantificarea activității antifungice pe *Candida albicans* ATCC 10231 – complecșii C5-C8, C13-C37;
- evaluarea activității antitumorale a tuturor complecșilor pe celule HeLa.

Activitatea biologică a combinațiilor complexe testate este influențată de mai mulți factori:

- natura metalului
- starea de oxidare a metalului
- numărul de ioni metalici din complex
- natura liganzilor
- stereochimia complexului

În cazul cuantificării **activității antimicrobiene** pe tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 complecșii care au ca ligand acidul usnic au concentrații minime inhibitorii mult mai mici decât complecșii ce conțin ca ligand acidul α -cetoglutamic. Această diferență se explică prin activitatea antimicrobiană bună pe care o are acidul usnic pe această tulpină.

Din seria de complecși care au ca liganzi acidul α -cetoglutamic și 1-(*o*-tolil) biguanida, cea mai mică CMI, de 0,0039 mg/mL, o au (C16) $[Pd(TB)(H_2A)][PdCl_4]$, (C18) $[Pt(TB)(HA)Cl_2]Cl$, (C19) $[Pt(TB)(H_2A)][PtCl_4] \cdot H_2O$.

Complecșii (C33) $[Pt(TB)(H_2AU)Cl_2]Cl$, (C34) $[Pt(TB)(H_2AU)]Cl$, care au ca liganzi

1-(*o*-tolil) biguanida și acidul usnic au o concentrație minimă inhibitorie de patru ori mai mică decât a acidului usnic, și anume 0,0019 mg/mL. Activitate antimicrobiană bună asupra acestei tulpini au și complexii (C23) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, (C26) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{CH}_3\text{COO}$, (C28) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)$ și (C30) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{ClO}_4)]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, având CMI = 0,0039 mg/mL.

O activitate antimicrobiană bună împotriva tulpinii *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 o au complexii (C36) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ cu CMI = 0,0156 mg/mL, (C18) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{HA})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, (C22) $[\text{Co}_2(\text{HA})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CH}_3\text{COO})_3]$ care au CMI = 0,0312 mg/mL, (C19) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{A})][\text{PtCl}_4]\cdot \text{H}_2\text{O}$ și (C33) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ a căror CMI este 0,0625 mg/mL.

În urma evaluării influenței combinațiilor complexe asupra capacității de aderență la substrat inert a tulpinilor *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 s-a constatat că acești compuși inhibă acest proces în funcție de doză până la o concentrație minimă de eradicare a biofilmului (CMEB). Cea mai mică valoare a CMEB pentru ambele tulpini este 0,0019 mg/mL în cazul complexilor (C23) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ și (C24) $[\text{Ni}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Br}$.

La testarea **activității antifungice** a liganzilor și a unor complecși pe *Candida albicans* ATCC 10231 s-a constatat că cele mai mici concentrații minime inhibitorii (0,125mg/mL) le au complexii: (C7) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{HA})\text{CH}_3\text{COO}]\cdot \text{H}_2\text{O}$, (C8) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{HA})\text{ClO}_4]\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, (C16) $[\text{Pd}(\text{TB})(\text{H}_2\text{A})][\text{PdCl}_4]$, (C18) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{HA})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, (C19) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{A})][\text{PtCl}_4]\cdot \text{H}_2\text{O}$, (C29) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})\text{CH}_3\text{COO}]\cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, (C33) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, (C34) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{Cl}$, (35) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})_2(\text{TB})\text{Cl}]\text{Cl}$ și (C36) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Activitatea antitumorală a tuturor complexilor precum și a liganzilor utilizați în sinteze a fost testată pe celule HeLa. Pentru testare s-au folosit soluții de concentrație 500 μg/mL, iar incubarea s-a făcut timp de douăzeci și patru de ore la 37°C. În afară de complexii cu zinc care nu au prezentat efect citotoxic asupra acestor celule tumorale restul complexilor au avut efect slab, moderat sau bun, în condițiile de lucru mai sus menționate.

Astfel, complexii (C18) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{HA})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ și (C19) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{A})][\text{PtCl}_4]\cdot \text{H}_2\text{O}$ au redus viabilitatea celulelor HeLa cu 41%, respectiv 38%.

O reducere a viabilității celulelor tumorale de peste 30% s-a observat și în cazul complexilor (C16) $[\text{Pd}(\text{TB})(\text{H}_2\text{A})][\text{PdCl}_4]$, (C27) $[\text{Cu}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{Cl}$, (C33) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, (C34) $[\text{Pt}(\text{TB})(\text{H}_2\text{AU})]\text{Cl}$, (35) $[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})_2(\text{TB})\text{Cl}]\text{Cl}$ și (C37)

$[\text{Co}(\text{H}_2\text{AU})(\text{TB})_2](\text{CH}_3\text{COO})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Așa cum era de așteptat complexii care conțin platină au o activitate antitumorală bună.

Perspectivă de dezvoltare ulterioară

Având în vedere că unii din complexii sintetizați au proprietăți biologice bune, pe viitor se au în vedere următoarele activități de cercetare:

- Testarea complexilor sintetizați pe alte tulpini bacteriene, fungice, tumorale;
- Determinarea proprietăților antiinflamatorii și hipoglicemice;
- Determinarea capacității antioxidante;

De asemenea, se vor sintetiza noi combinații complexe lucrând în alt raport molar (sare:L1:L2) decât în lucrarea de față și determinarea proprietăților biologice ale acestora.

Bibliografie selectivă

- [4] Nită, S., Andrieș, A.A., Patron, L., Albușescu, R., Rădulescu, F., Tănase, C., Vintilă, M., Analytical and Toxicological Characterization of New Co(II) Coordination Compounds with Antiinflammatory Oxicams Drugs, *Revista de Chimie* **2011**, 62 (5), 549-553.
- [5] Leung, C.H., Lin, S., Zhong, H.J., Ma, D.L., Metal complexes as potential modulators of inflammatory and autoimmune responses, *Chemical Science* **2015**, 6 (2), 871-884.
- [6] Knittl, E.T., Abou-Hussein, A.A., Linert, W., Syntheses, characterization, and biological activity of novel mono- and binuclear transition metal complexes with a hydrazone Schiff base derived from a coumarin derivative and oxalyldihydrazine, *Monatshefte Fur Chemie* **2018**, 149 (2), 431-443.
- [7] Pahonțu, E.M., Transition Metal Complexes with Antipyrine-Derived Schiff Bases: Synthesis and Antibacterial Activity, *Descriptive Inorganic Chemistry Researches of Metal Compounds IntechOpen*, **2017**, 65-93.
- [8] Liu, W.P., Su, J., Jiang, J., Li, X.Y., Ye, Q.S., Zhou, H.Y., Chen, J.L., Li, Y., Two mixed-NH₃/amine platinum (II) anticancer complexes featuring a dichloroacetate moiety in the leaving group, *Scientific Reports* **2013**, 3:2464, 1-6.
- [9] Reddy, D.H.K., Lee, S.M., Seshaiyah, K., Babu, K.R., Synthesis, characterization of thiosemicarbazone metal complexes and their antioxidant activity in different in vitro model systems, *Journal of the Serbian Chemical Society* **2013**, 78 (2), 229-240.
- [10] Amira S. Abd-El-All, Ammar A. Labib, Hanan A. Mousa, Fatma A. Bassyouni, Khaled H. Hegab, Maher A. El-Hashash, Saad R. Atta-Allah, Wafaa H. AbdEl- Hady, Souad A. M. Osman., Synthesis of Ag(I), Cu(II), La(III) Complexes of Some Newmannich Bases Incorporating 1, 2, 4- Triazine Moiety and Studying Their Antihypertensive and Diuretic Activities, *Journal of Applied Sciences Research* **2013**, 9 (1), 469-481.
- [11] Ahmed, R.M., Yousif, E.I., Hasan, H.A., Al-Jeboori, M.J., Metal Complexes of Macrocyclic Schiff-Base Ligand: Preparation, Characterisation, and Biological Activity, *The Scientific World Journal* **2013**, 1-7.
- [12] Gull, P., Hashmi, A.A., Biological Activity Studies on Metal Complexes of Macrocyclic Schiff Base Ligand: Synthesis and Spectroscopic Characterization, *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2015**, 26 (7), 1331-1337.
- [13] Bendre, R. S., Tadavi, S.K., Patil, M.M., Synthesis, crystal structures and biological activities of transition metal complexes of a salen-type ligand, *Transition Metal Chemistry* **2018**, 43 (1), 83-89.
- [221] Mihalache, M., Oprea, O., Guran C., Holban, A., Synthesis, characterization and biological activity of some complex combinations of nickel with α -ketoglutaric acid and 1- (o-tolyl) biguanide, *Comptes Rendus Chimie*, **2018**, vol. 21(1), 32-40.
- [222] Angelici, R.J., *Synthesis and Technique in Inorganic Chemistry*, 2ed. Saunders: Philadelphia, **1977**.
- [231] Singh, S., Malhotra, R., Dhindsa, K.S., *Proceedings of the National Academy of Sciences, India* **1998**, 68A, 217.
- [236] Mihalache, M., Guran, C., Meghea, A., Bercu, V., Holban, A., Complexes of Cu (II) with α -ketoglutaric acid and 1- (o-tolyl) biguanide - synthesis, characterization and biological activity, *Revista de Chimie – acceptat, în curs de apariție – octombrie* **2019**.
- [237] Mihalache, M., Oprea, O., Vasile, B.S., Guran, C., Ardelean, I., Synthesis, characterization and biological activity of composite combinations of Cu(II), Fe(III) and Mn(III) with α - ketoglutaric acid and 1-(o-tolyl) biguanide, *Buletin Științific Universitatea Politehnica București*, **2018**, Vol. 80, 113-126.
- [238] Lever, A. B. P., *Inorganic Electronic Spectroscopy (second edition)*. Elsevier Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, **1984**, 554.
- [239] Yokoi, H., Isobe, T., ESR and Optical Absorption Studies of the Copper(II) Complexes of Ethylenediamine and Its Alkyl Derivatives, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1969**, 42 (8), 2187–2193.
- [240] Yokoi, H., Sai, M., Isobe, T., ESR Studies of Bis-(N,N-diethylethylenediamine)copper(II) Perchlorate, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1969**, 42 (8), 2232–2238.

- [241] Kivelson, D., Neiman, R., ESR Studies on the Bonding in Copper Complexes, *The Journal of Chemical Physics* **1961**, *35*, 149-155.
- [242] Hathaway, B.J., Billing, D.E., The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion, *Coordination Chemistry Reviews* **1970**, *5* (2), 143-207.
- [243] Ray, R.K., ESR Study of Some Copper(I) Coordination-Compounds with Substituted Biguanidines, *Polyhedron* **1989**, *8* (1), 7-11.
- [244] Ray, R.K.; Kauffman, G.B., An EPR Study of Copper(II)-Substituted Biguanide Complexes .3., *Inorganica Chimica Acta* **1990**, *174* (2), 237-244.
- [245] Sreeja, P.B., Kurup, M.R.P., Kishore, A., Jasmin, C., Spectral characterization, x-ray structure and biological investigations of copper(II) ternary complexes of 2-hydroxyacetophenone 4-hydroxybenzoic acid hydrazone and heterocyclic bases, *Polyhedron* **2004**, *23* (4), 575-581.
- [246] Latheef, L., Kurup, M.R.P., Spectral and structural studies of copper(II) complexes of thiosemicarbazones derived from salicylaldehyde and containing ring incorporated at N(4)-position, *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2008**, *70* (1), 86-93.
- [248] Mihalache, M., Oprea, O., Guran, C., Ardelean, I., Synthesis, characterization and biological activity of the manganese complexes with α - ketoglutaric acid and 1-(o-tolyl) biguanide, *Revista de Chimie*, **2017**, *68*, (10), 2209-2214.
- [250] Lemos, S.C., Franchi, S.J.S., Netto, A.V.G., Mauro, A.E., Treu-Filho, O., Frem, R.C.G., Almeida, E.T., Torres, C., , *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **2011**, *106*, 391.
- [251] Hernandez, J.O.; Choren, E.A., Thermal-Stability of Some Platinum Complexes. *Thermochimica Acta* **1983**, *71* (3), 265-272.
- [262] Edwards, H.G.M., Newton, E.M., Wynn-Williams, D.D., Molecular structural studies of lichen substances II: atranorin, gyrophoric acid, fumarprotocetraric acid, rhizocarpic acid, calycin, pulvinic dilactone and usnic acid, *Journal of Molecular Structure* **2003**, *651*, 27-37.