

UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE CHIMIE ȘI ȘTIINȚE ALE VIETII ȘI
PĂMÂNTULUI

Derivati de fenantrolina cu potentiale aplicatii practice

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. Ionel Mangalagiu

Student-doctorand:
Maria-Cristina Iftime (Al-Matarneh)

2016

O dată cu finalizarea acestei etape din viața mea, îmi doresc să adresez câteva cuvinte de mulțumire celor care m-au îndrumat sau mi-au acordat suportul pe parcursul acestei lucrări de doctorat.

*În primul rând îmi doresc să mulțumesc coordonatorului meu științific, domnului **Prof. dr. Ionel Mangalagiu**, pentru permanenta sa îndrumare, sprijinire și încurajare de-a lungul perioadei de pregătire a doctoratului și de elaborare a tezei.*

*În egală măsură, doresc să îi mulțumesc doamnei **Conf. dr. Ramona Danac**, cea care m-a inițiat în sinteza organică și m-a sprijinit în mod constant pe toată perioada studiilor doctorale.*

*În continuare, doresc să îmi exprim gratitudinea față de **membrii comisiei de evaluare** a lucrării pentru sfaturile și sugestiile oferite.*

*Mulțumesc **Catalina Ciobanu** pentru ajutorul oferit în înregistrarea spectrelor RMN și în egala măsură mulțumiri POSCCE-O 2.2.1, SMIS-CSNR 13984-901, Proiect no. 257/28.09.2010, **CERNESIM**.*

*Mulțumiri domnului **conf. Dr. Mircea Apostu** și domnului **Sergiu Shova** pentru investigarea structurilor de raze X ale compusilor nou sintetizați, mulțumesc dlui **conf. dr. Liviu Leontie** pentru ajutorul acordat realizarea testărilor electrice și optice, mulțumesc **dr. Anton Airinei** și **Drd . Dragos Isac** pentru testările de fluorescență a noilor compuși.*

*Aș dori să mulțumesc **Lect. Dr Dorina Mantu**, **Lect. Dr. Vasilichia Antoci**, colegilor **Drd. Lacramioara Popovici**, **Drd Anda Olaru**, pentru sprijinul și înțelegerea acordată pe toată perioada studiilor*

*Mulțumesc în mod special **copilului și sotului meu** care m-a sprijinit necondiționat pe toată perioada studiilor doctorale. De asemenea, îmi doresc să mulțumesc în mod deosebit **mamei mele** pentru sprijinul permanent acordat și care, întotdeauna a subliniat importanța unei bune educații. Nu în ultimul rând, doresc să mulțumesc **surorii mele**, pentru ajutorul moral acordat pe perioada studiilor.*

*În mod special, doresc să mulțumesc pentru suportul financiar asigurat de grant **POSDRU/159/1.5/S/137750**, Proiect "Doctoral and Postdoctoral programs support for increased competitiveness in Exact Sciences research" cofinanced by the European Social Found within the Sectorial Operational Program Human Resources Development 2007 – 2013.*

Cuvinte cheie: fenantrolina, indolizine, heterocicluri, N-ilide, cicloaditii 3+2 dipolare, p-halogenobenzoil, saruri de cicloimoniu, N-alchilare, antimicobacterian, anticancer, intercalanti ai ADN, cianoformiat de etil, derivati γ -ciano substituiti, conductivitate electrica, filme subtiri, fluorescența.

Content

Lista abrevieri	7
Introducere	8
I.Consideratii teoretice	9
I.1. Sinteza fenantrolina	10
I.2. Reactivitatea 1,7-si 4,7-fenantrolinelor	20
I.3. Utilizari ale 1,7- si 4,7-fenantrolinelor	33
Cercetari personale	38
Obiective	
II.1. Sinteza heterociclorilor de baza	39
II.2. Sinteza de noi saruri monocuaternare de 1,7- si 4,7-fenantroliniu	40
II.3. Sinteza de cicloaducti derivati de 1,7- si 4,7- fenantrolina prin intermediul reactiilor de cicloaditie 3+2 dipolare la N-ilidele obtinute <i>in situ</i> din sarurile 3a-h si 5a-h	46
II.4. Studiul reactiilor dintre saruri de cicloimoniu si cianoformiat de etil	101
II.5. Evaluarea activitatii biologice a compusilor nou sintetizati	116
II.6. Proprietatile elctrice ale compusilor nou sintetizati	126
II.7. Proprietatile fluorescente ale unor compusi selectati	144
III.Parrea experimentală	156
Concluzii generale	203
Bibliografie	206
Anexa 1-Date activitate biologica	220
Anexa 2 –Lucrari publicate	239

Introducere

Cercetările întreprinse în domeniul compușilor heterociclici au cunoscut în ultima jumătate a secolului XX o dezvoltare accentuată datorată proprietăților lor deosebit de importante, care le conferă o mare aplicabilitate practică. Heterociclurile, ca molecule ale vieții, sunt omniprezente în sistemele biologice și sunt implicate în multe funcții biologice datorită capacității lor de a fi supuse diferitelor interacțiuni noncovalente cu ioni, precum și cu specii neutre.

Între aceștia se regăsesc și fenantrolinile, heterocicli cu doi atomi de azot, datorită proprietăților biologice, aplicațiilor în știința materialelor, delocalizării extinse a electronilor π precum și datorită proprietăților de complexare. Ciclurile fenantrolinice sunt de asemenea întâlnite în steroli, glicozide cardiace, acizi biliari, alcaloizi morfinici.

Comparativ cu 1,10-fenantrolina care a fost intens studiată datorită mai ales proprietăților de complexare și a prețului scăzut de achiziție, 1,7 și 4,7-fenantrolina sunt mai puțin studiate în principal datorită sintezei greoaie și costisitoare.

În această lucrare ne-am propus sinteza de noi derivați de 1,7 și 4,7-fenantrolină dar și studiul proprietăților biologice, optice, electrice și de fluorescență ale acestora. Continuând tradiția Catedrei de Chimie organică a Universității "Alexandru Ioan Cuza" din Iași în domeniul chimiei cicloimoniu ilidelor ne-am propus să folosim ca intermediari cheie în sinteza compușilor țintă, ilide derivate din sărurile monocuaternare de 1,7 și 4,7-fenantroliniu. Astfel, ilidele generate *in situ* vor fi utilizate ca dipoli 1,3 în reacții de cicloadiție 3+2 dipolare la diferiți dipolarofili, în scopul de a obține noi compuși heterociclici condensați.

Toate sintezele includ optimizarea reacțiilor chimice, precum și purificarea, și caracterizarea fizico-chimică a compușilor obținuți. În cazul în care s-a reușit obținerea de monocristalele adecvate pentru difracția de raze X (DRX), compușii au fost caracterizați, de asemenea, folosind această metodă.

Pe baza considerentelor de mai sus, obiectivele acestei teze sunt următoarele:

- O1. Sinteza heterociclurilor de bază, 1,7- respectiv 4,7-fenantrolina;
- O2. Sinteza unor noi săruri monocuaternare și dicuaternare derivate de la 1,7-fenantrolină;
- O3. Sinteza unor noi săruri monocuaternare și dicuaternare derivate din 4,7-fenantrolină;
- O4. Sinteza de derivați piroloni [1,2-i] [1,7] fenantrolinici;

- O5. Sinteza de derivați pirolol [2,1-c] [4,7] fenantrolinici;
 - O6. Sinteza de derivați imidazol [1,2-i] [1,7] fenantrolinici;
 - O7. Sinteza de derivați imidazol [2,1-c] [4,7] fenantrolinici;
 - O8. Evaluarea activității biologice a unor compuși selectați și realizarea de studii ale relației structură-activitate biologică (SAR);
 - O9. Investigarea proprietăților electrice ale filmelor subțiri ale unei părți a noilor compuși;
 - O10. Un studiu privind fluorescența unor compuși selectați;
 - O11. Studiul aplicabilității practice a compușilor nou sintetizați;
- In timpul studiului nostru, din cauza mersului neașteptat al unor reacții sau datorită faptului că au apărut noi idei, ne-am extins obiectivele astfel:
- O12. Studiul reacției altor cicloimoniilide cu cianoformiat de etil;
 - O13. Studiul unor reacții de cicloadiție 3+2 dipolare folosind ilidele derivate din saruri monocuaternare de 1,10-fenantrolin-1-ii.

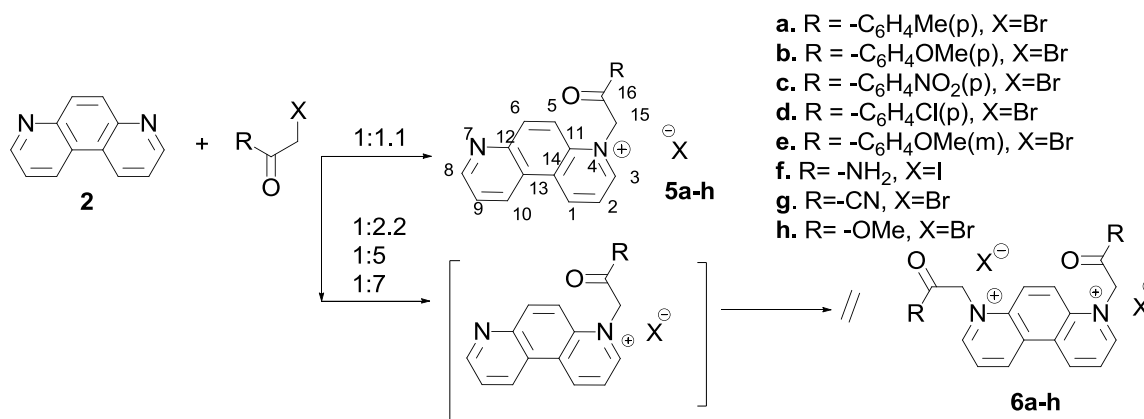
Teza este structurată în două părți, prima parte cuprinzând un studiu teoretic asupra metodelor de obținere și a proprietăților 1,7- și 4,7-fenantrolinelor, iar partea a doua rezultatele originale obținute, partea experimentală, concluziile și bibliografia.

II.2. Sinteza unor noi saruri monocuaternare derivate de 1,7- respectiv 4,7-fenantrolina

II.2.2. Sinteza unor noi saruri de monocuaternare de 4,7-fenantrolin-4-ii

Pentru a ne atinge obiectivele am sintetizat in prima etapa sarurile monocuaternare cu structura **5a-h**. Calea de reactie aleasa pentru aceasta sinteza este una simpla si eficienta, aceasta implicand o reactie N-alkilare a 4,7-fenantrolinei (**Schema II.4**).

Obiectivul nostru initial a fost sa obtinem atat sarurile monocuaternare (**5a-h**) dar si dicuaternare (**6a-h**) derivate de 4,7-fenantrolina. Indiferent de conditiile de reactie sau de raportul reactantilor doar sarurile monocuaternare **5a-h** au fost obtinute.



Schema II.4. Calea de reactie pentru obtinerea sarurilor monocuaternare de 4,7-fenantrolin-4-ii

II.3. Sinteza de indolizine policiclice cu schelet 1,7- si 4,7-fenantrolinic prin intermediul reactiilor de cicloaditie 3+2 dipolara a N-ilidelor derivate din sarurile 3a-h si 5a-h la alchine activate simetric si nesimetric substituite

II.3.1. Reactia de cicloaditie 3+2 dipolara la alchine simetric substituite

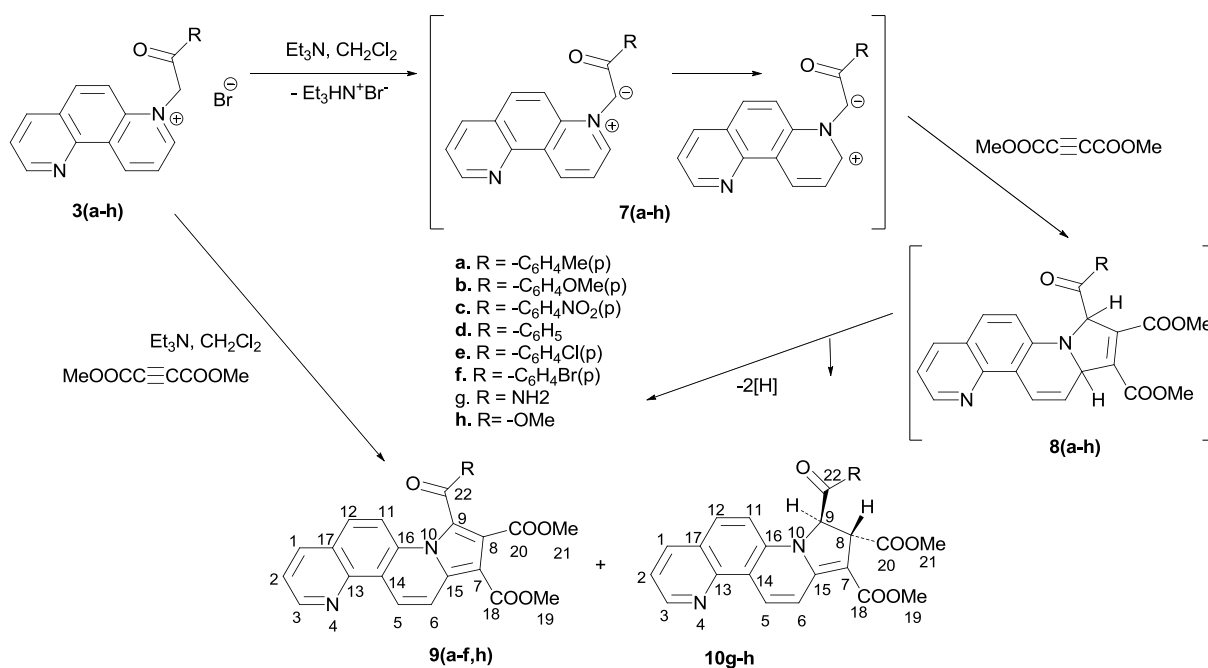
II.3.1.1. Reactia de cicloaditie 3+2 dipolara la alchine simetric substituite a N-ilidelor derivate din sarurile 1,7-fenantrolin-7-ii

1,7-Fenantrolin-7-ii ilidele generate *in situ* din sarurile corespunzatoare, reactioneaza in mediu bazic ca dipol 1,3 cu esterul dimetilic al acidului acetilendicarboxilic (DMAD) prin intermediul reactiilor de cicloaditie 3+2 dipolare.

Reactiile au fost efectuate utilizand diclorometan ca solvent si au condus in randamente moderate la compusii **9a-h** (**Schema II.5**).

Reactia ilidei **2h** cu DMAD a condus la un amestec de compusi, respectiv 8,9-dihidropirololo[1,2-i][1,7]fenantrolina **10h** si compusul aromatizat **9h**, in timp ce din reactia ilidei **2g** a rezultat doar derivatul **10g**. Ca si mecanism de reactie, presupunem formarea in

prima etapa a intermediarilor de tipul **8** cu structura 9,15-dihidropirol[1,2-i][1,7]fenantrolinica, care sufera un proces aromatizare oxidativa prin care rezulta indolizinele policiclice **9a-h**. Formarea compusului dihidrogenat **10h** din **2h** are loc probabil datorita excesului de trietilamina, care conduce la o rearanjare stereo- si regioselectiva, conducand in final la compusul mai stabil din punct de vedere termodinamic **10h**.



Schema II.5. Sinteza de derivati pirol[1,2-i][1,7]fenantrolina prin intermediul reactiilor de cicloaditie 3+2 dipolare ale idelor generate *in situ* si DMAD

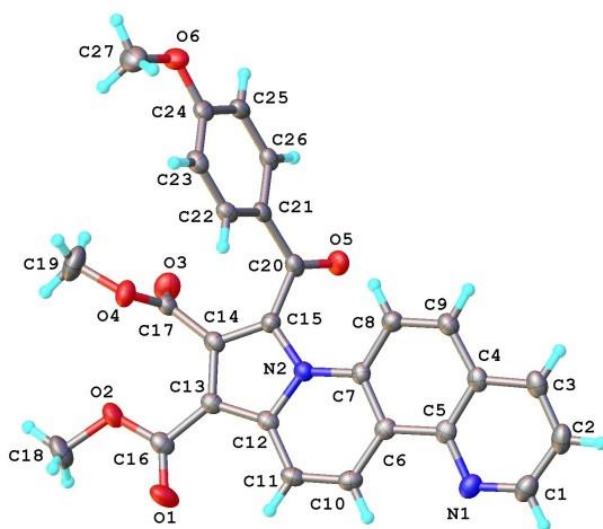
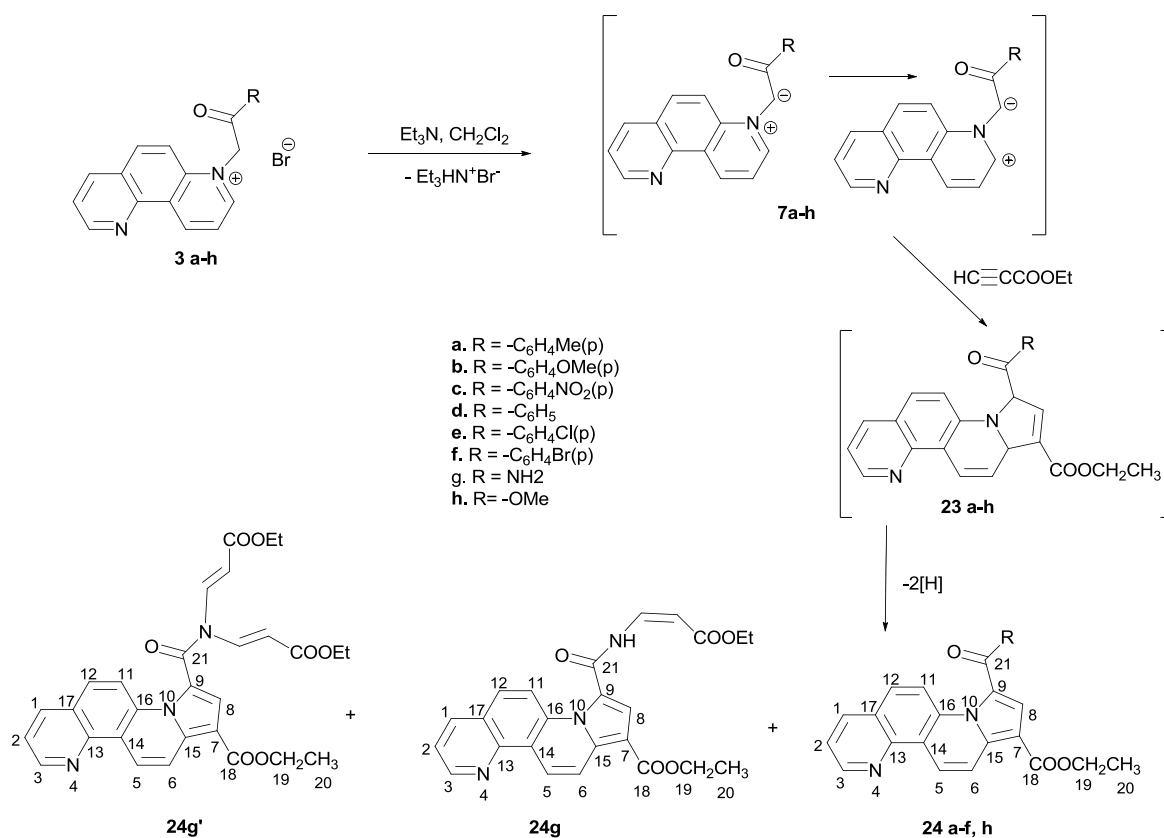


Figura II.10. Structura de raze X a compusului **9a**

II.3.2. Reactii de cicloaditie 3+2 dipolare la alchine reactive nesimetric substituie

II.3.2.1. Reactii de cicloaditie 3+2 dipolare ale N-ilidelor generate *in situ* derivate de 1,7-fenantrolina la alchine reactive nesimetric substituie

Urmatorul obiectiv a constat din studiul reactiilor de cicloaditie 3+2 dipolara a sarurilor derivate de 1,7-fenantrolina la propiolatul de etil (EP). Astfel reactiile ilidelor derivate de la sarurile monocuaternare **3a-h** si EP au fost realizate in diclorometan la temperatura camerei si au condus la formarea compusilor cu structura pirolo[1,2-i][1,7]fenantrolinica **24a-h** (schema II.10) cu randamente moderate. Deoarece un singur regioizomer a fost obtinut putem considera ca aceste reactii sunt inalt regioselective in acord cu efectele electronice si sterice ale reactantilor. In cazul sarii **3g**, EP a avut atat rol de dipolarofil cat si de N-amidare, astfel din amestecul de reactie reusindu-se separarea compusilor **24g** si **24g'** avand gruparea amidica mono- si disubstituita, respectiv.

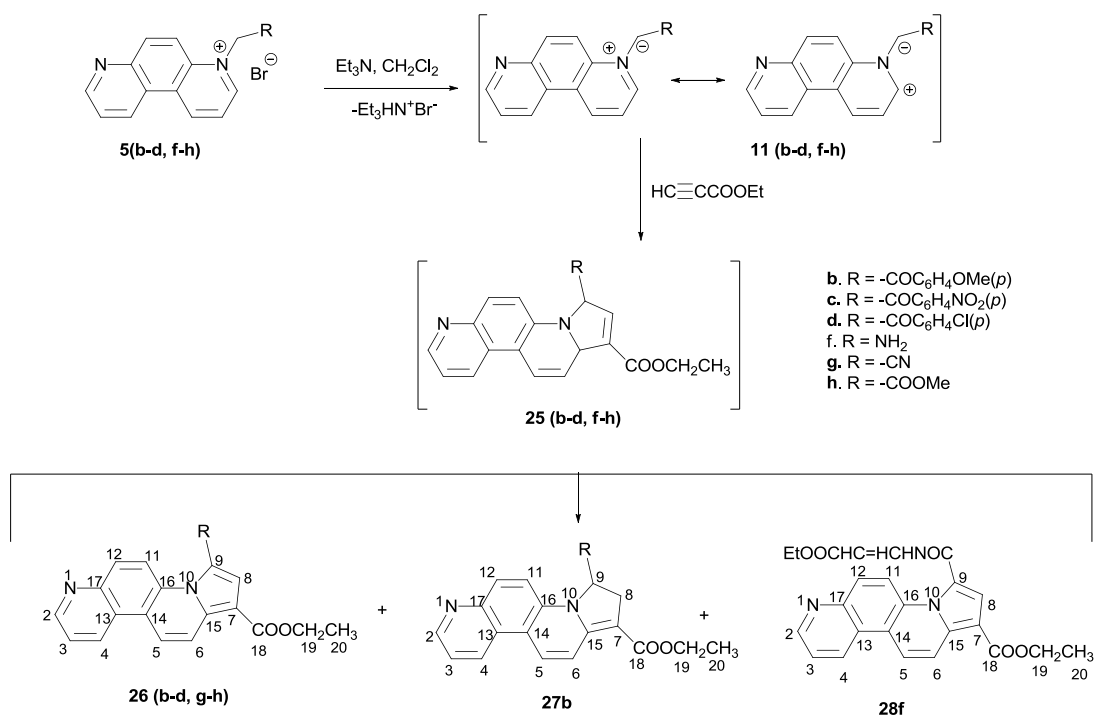


Schema II.10. Sinteza derivatilor pirolo[1,2-i][1,7]fenantrolinici prin reactia de cicloaditie 3+2 dipolara a ilidelor generate *in situ* la EP

II.3.2.2. Reacții de cicloadiție 3+2 dipola a sarurilor monocuaternare de 4,7-fenantrolin-4-ii cu alchine reactive nesimetrice substituie

4,7-Fenantrolin-4-ii ilidele generate *in situ* din sărurile corespunzătoare, reacționează în mediu bazic ca dipol 1,3 cu EP în aceleași condiții menționate mai sus.

Reacția ilidelor **11** cu EP ridică probleme de regiochimie. Datorită faptului că se obține un singur regioizomer, aceste reacții sunt considerate regioselective, în acord cu efectele electronice ale dipolarofililor utilizați. Reacția ilidei **11b** cu EP a condus la un amestec de compuși, respectiv 8,9-dihidropirololo[2,1-c][4,7]fenantrolină **27b** și compusul aromatizat **26b** (Schema II.11). În cazul sării **5f**, EP a avut atât rol de dipolarofil cât și rol în reacția de N-amidare, astfel că din amestecul de reacție s-a reușit și separarea compusilor **28f** având gruparea amidică monosubstituită cu o moleculă de EP.



Schema II.11. Sinteza compusilor **26**, **27** și **28**

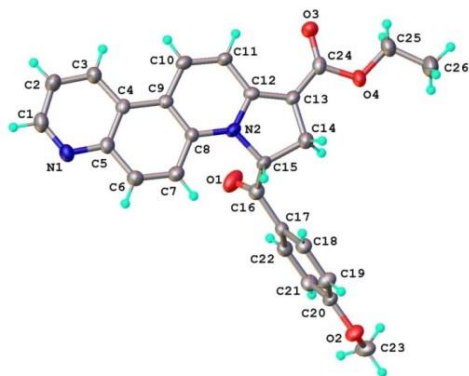
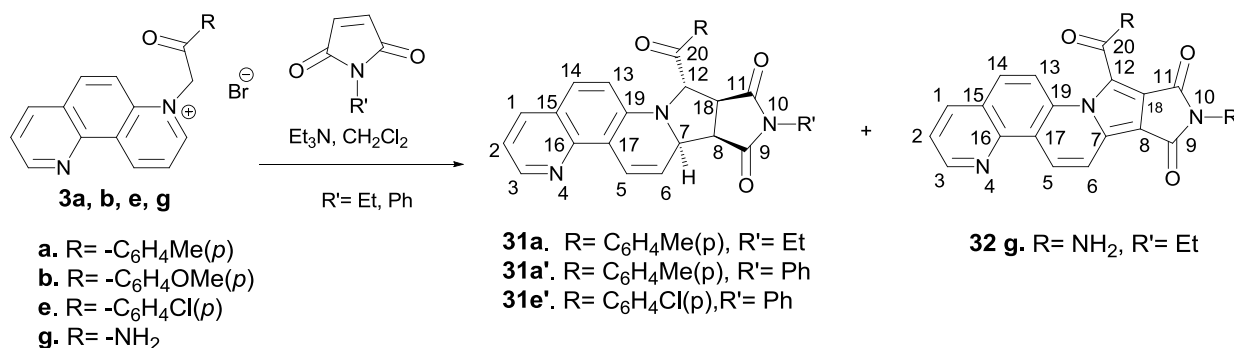


Figure II.36. Structura de raze X a compusului **27b**.

II.3.3. Reactii de cicloaditii la alchene simetric substituie

II.3.3.1. Reactia de cicloaditie 3+2 dipolara a sarurilor monocuaternare de 1,7-fenantrolina la alchene reactive simetric substituie

Prin deprotonarea sărurilor **3** folosind trietilamina ca baza, N-ilidele corespunzatoare au fost generate *in situ* și au reacționat cu N-etil- sau N-fenilmaleimida aflate în mediul de reacție, conducând la derivați tetrahidropirolo [1,2-i] [1,7] fenantrolinici cu structura **31**. În cazul sării **3g** am obținut ca produs de reacție 10-etil-9,11-dioxo-10,11-dihidro-9H-pirolo[3',4':3,4]pirolo[1,2-i][1,7]fenantrolin-12-carboxamida **32g** (Schema II.13), probabil prin intermediul unei dehidrogenari oxidative suferite în timpul purificării probei. Reacțiile de cicloadiție cu N-etil sau N-fenilmaleimida s-au dovedit a fi stereoselective, un singur izomer (**31**) fiind obținut.



Schema II.13. Calea de reacție pentru obținerea derivatilor **31** și **32**

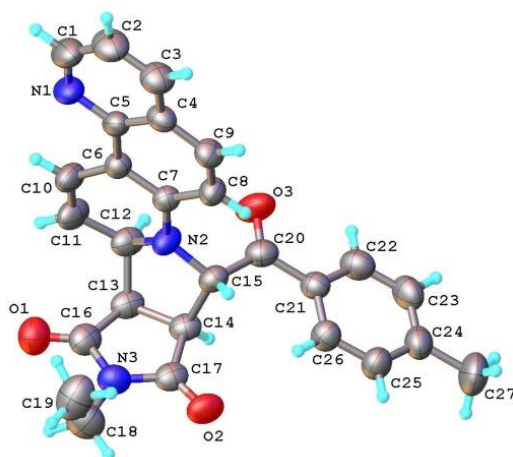
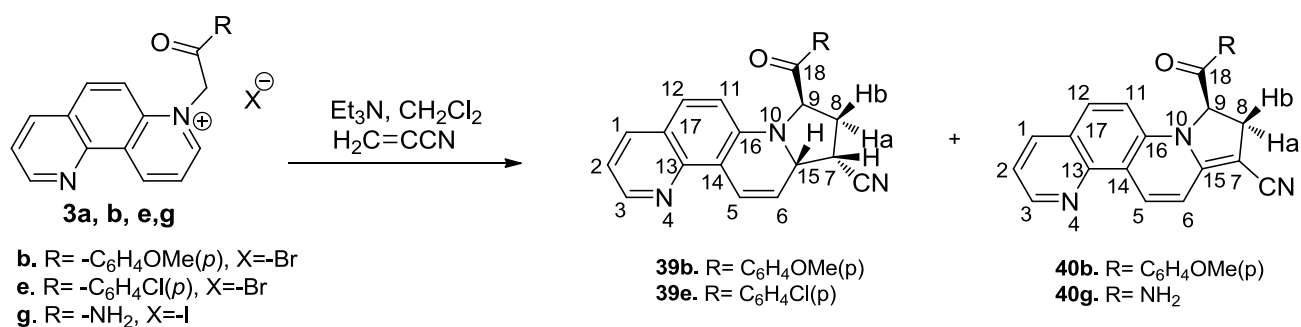


Figure II.42. Structura de raze X a compusului **31a**

II.3.4. Sinteza de cicloadducti prin intermediul reactiilor de cicloaditie la alchene nesimetric substituie

II.3.4.1. Reactia de cicloaditie 3+2 dipolara a sarurilor monocuaternare de 1,7-fenantrolin-7-ii la alchene reactive nesimetric substituie

În ceea ce priveste reactiile de cicloaditie la acrilonitril, reactiile sunt asa cum ne asteptam, regioselective. Reactia cu acrilonitrilul are loc în mod diferit în functie de ilida de plecare; astfel, am reusit sa izolam un singur compus **39e** (cu structură tetrahidropirolica) în cazul ilidei **7e**, în timp ce pentru ilida **7b** se obtine un amestec de derivati (tetrahidropirolo[1,2-i][1,7]fenantrolina **39b** și dihidropirolo[1,2-i][1,7]fenantrolina **40b**) (Schema II.17).



Schema II.17. Reactia de obtinere a derivatilor **39** si **40**

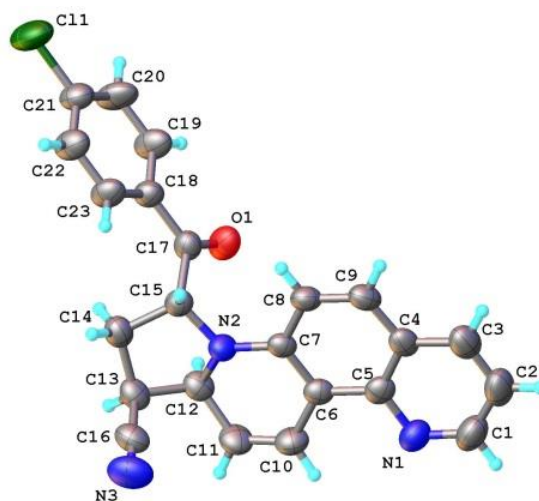
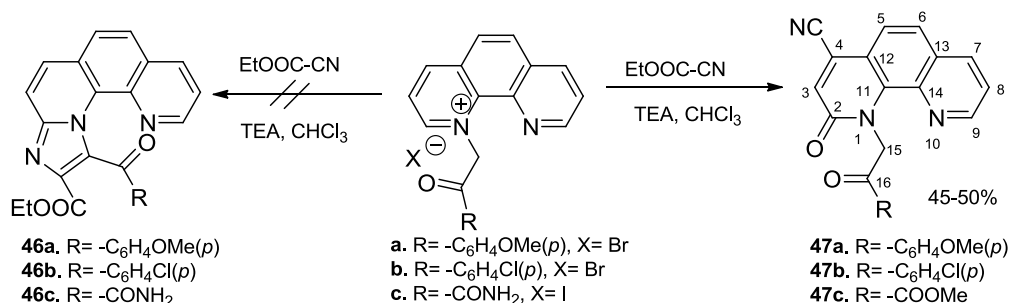


Figure II.53. Structura de raze X a compusului **39e**.

II.4. Studiul reactiilor ilidelor corespunzatoare unor saruri de cicloimoniu la cianoformiatul de etil

În prima încercare de a sintetiza un nou schelet imidazofenantrolinic, am folosit sarurile de 1,10-fenantrolin-1-ii în mediu bazic (trietilamina în clorură de metilen) pentru generarea

ilidelor corespunzătoare, cu scopul de a reacționa cu cianoformiatul de etil în reacția de cicloadiție 3+2 dipolară. În schimbul cicloaducțiilor așteptate **46**, am obținut fenantrolinile 4-ciano-substituite **47** (Schema II.20). Interesant, în cazul reacției sării **c**, produsul final **47c** conține o grupare ester metilică în locul grupării amidice inițiale, această înlocuire având loc probabil în timpul efectuării cromatografiei pe coloană, atunci când am folosit CHCl₃ / MeOH ca eluent.



Schema II.20. Sinteza derivatilor de 1,10-fenantrolina-4-ciano-substituiti **47**

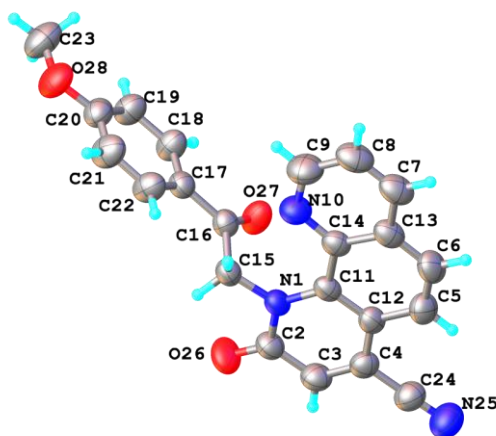
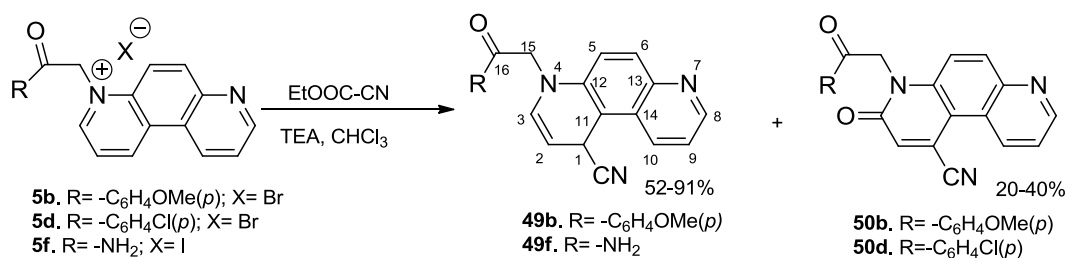


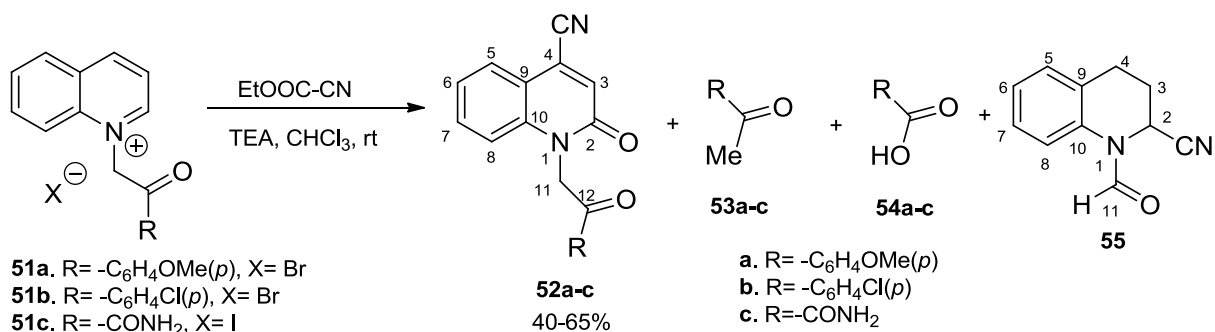
Figure II.68. Structura de raze X a compusului **47a**.

Din reacțiile sarurilor de 4,7-fenantrolin-4-ium în condiții similare (Schema II.22), am izolat atât 4,7-fenantrolinile γ -ciano-substituite **49** cât și 4,7-fenantrolinile 3-oxo-3,4-dihidro-substituite **50** (Schema II.22).



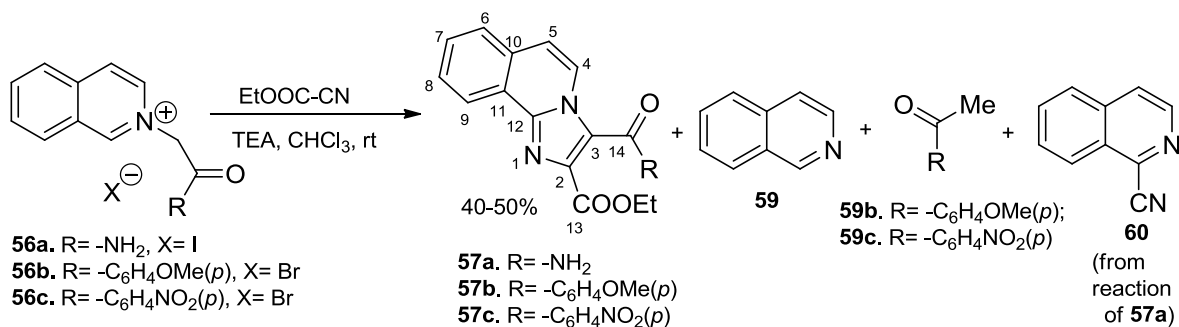
Schema II.22. Sinteza derivatilor 1-ciano-substituiti de 4,7-fenantrolina **49** și **50**

Obtinand aceste rezultate interesante, am decis să extindem studiul reacțiilor la alte săruri de cicloimoniu în condiții similare. Astfel, din reacția sarurilor de chinoliniu **51**, compuși ciano-substituiți **52a-c** ca și alți produși secundari (**53**, **54** și **55**) au fost izolați din mediul de reacție, formarea produsilor secundari sugerând instabilitatea ilidelor generate *in situ* din sărurile **51** în condițiile de reacție (**Schema II.23**).



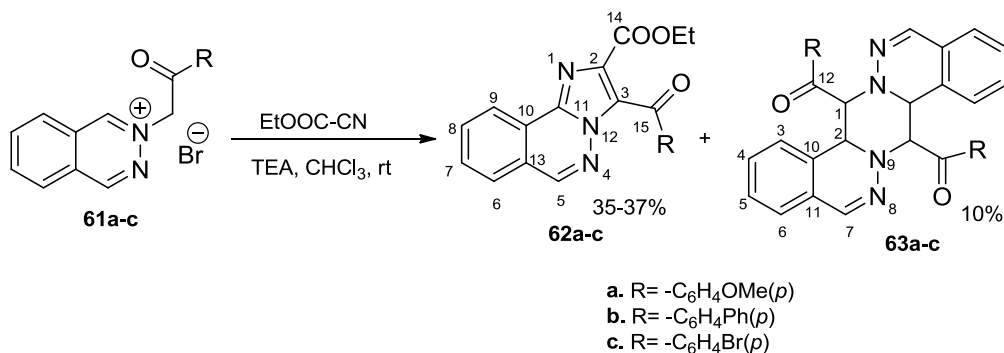
Schema II.23. Sinteza de 4-ciano chinoline substituite **52**

Interesant, în cazul sarurilor de izochinoliniu **56**, neavând poziția γ -liberă pentru reacțiile de cianare, s-au obținut compușii de cicloadiție **57a-c** cu schelet imidazoizochinolinic împreună cu alți compuși de descompunere (**58**, **59**, **60**) (**Schema II.24**).



Schema II.24. Sinteza imidazoizochinolinelor **57**

În final, am investigat sarurile de ftalaziniu **61a-c**, în reacții similare. Așa cum era de așteptat, am obținut imidazo[2,1-*a*]ftalazinele **62** ca produs de cicloadiție 3+2 dipolară. Din aceeași reacție s-au izolat compuși **63** cu structura diftalazinică 8,8a,16,16a-tetrahydropyrazino-[2,1-*a*;4,5-*a'*]-diftalazine (**Schema II.25**).



Schema II.25. Sinteza de derivati imidazoptalazinici **62** si a dimerilor **63**

II.5. Designul si evaluarea activitatii biologice

II.5.1. Design si evaluare a activitatii anticancer a unor compusi selectionati

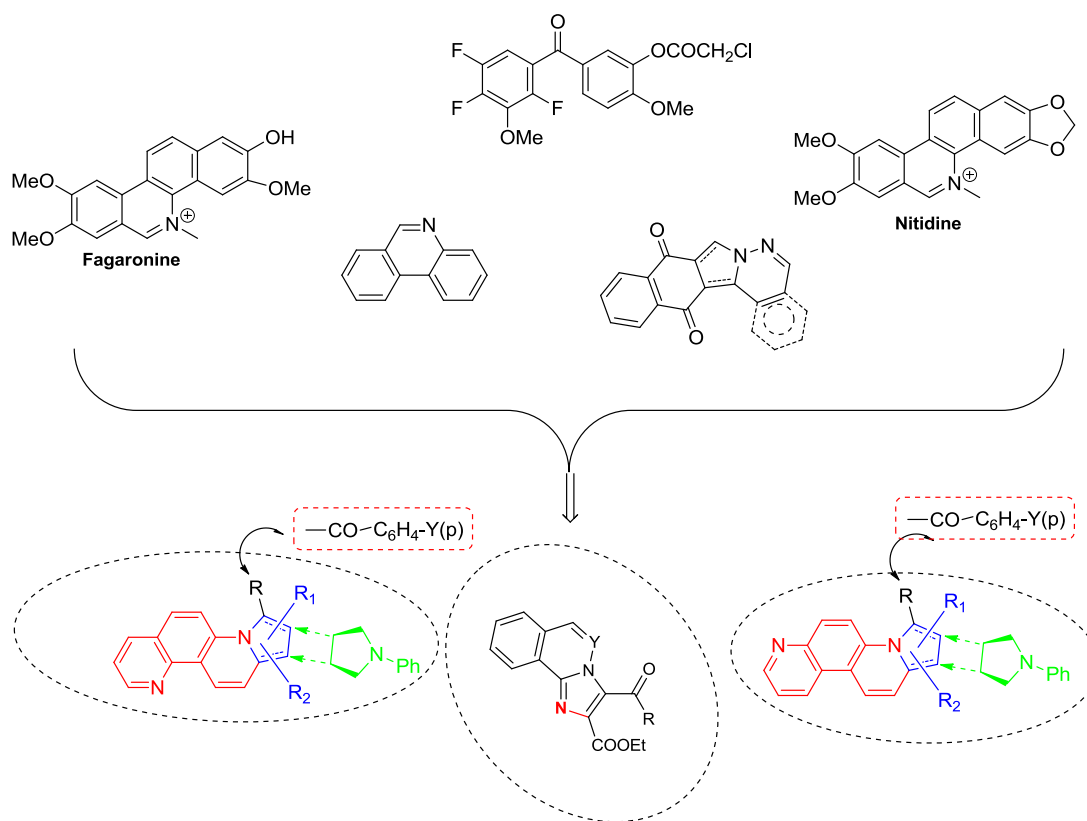
Planul de sinteza a fost realizat in acord cu tendintele actuale din domeniu si a vizat obtinerea de compusi cu potential activitate antitumorală (**Schema II.29**). Testarile biologice *in vitro* au fost realizate la National Cancer Institute (NCI, SUA), developmental Therapeutics Program (DTP). 14 Compusi sintetizati (**Schema II.30**) au fost selectati in vederea testarii.

Program NCI folosește 60 de linii diferite de celule tumorale umane, incluzand: leucemie, melanomul si cancerul de plămân, colon, creier, ovar, sân, prostată și rinichi.

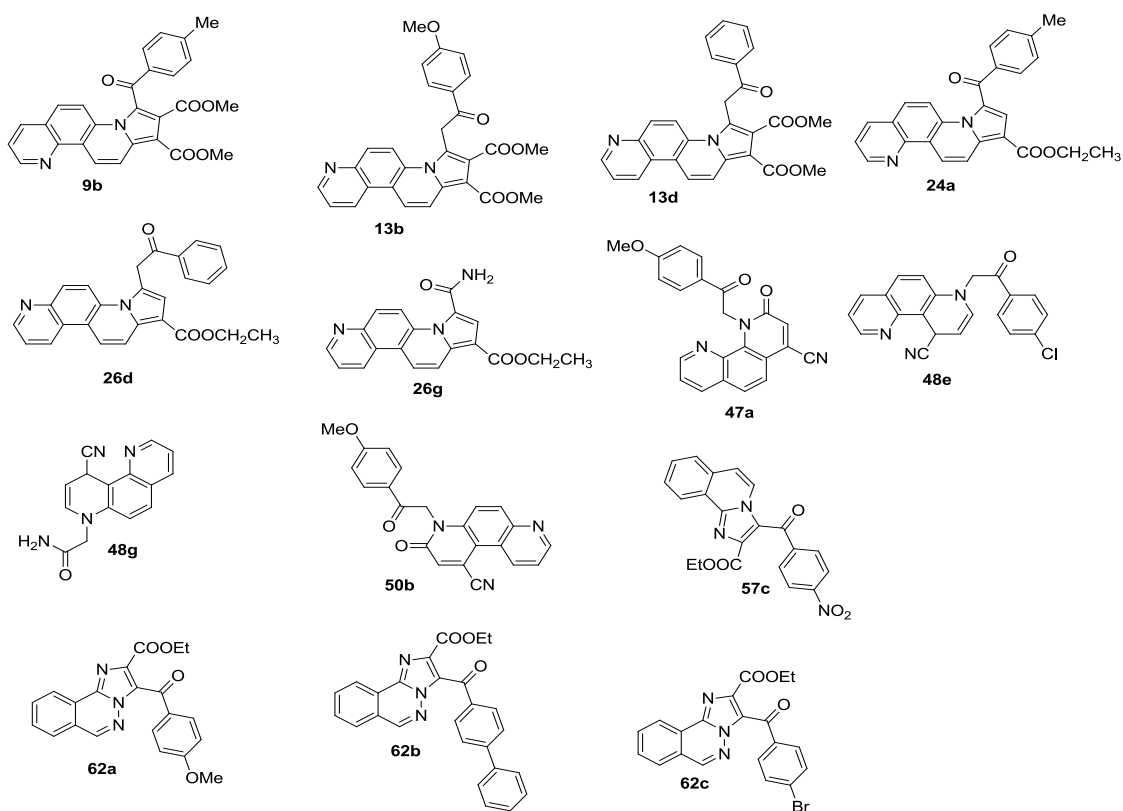
Rezultatele din tabelul **II.1** pot fi rezumate astfel:

- Indolizinele cu schelet 1,7-fenantrolic, **9b** si **13a** poseda o activitate antitumorală semnificativa (in jur de 50%) impotriva cancerului de san (MCF7 si T-47D).
- Derivatii pirolo [2,1-c][4,7]fenantrolinici **26d** si **26g** au o activitate antitumorală semnificativa (aproximativ 50%) impotriva cancerului renal (UO- 31) si cancer de san (MCF7).
- derivatii **47a** si **48e** poseda o activitate antitumorală importanta (~ 25% respectiv ~45%) impotriva cancerului ovarian (SK-OV-3).
- compusii **48e**, **57c** si **62b** poseda activitate inhibitorie (40%) asupra cancerului de prostata (PC-3), in acelasi timp remarcandu-se o activitate antitumorală in jur de 35% a compusilor **62b**, **50b**, **57c** si **48e** impotriva liniei leucemice CCRF-CEM, a compusilor **48e** si **57c** asupra cancerului renal A498, si a compusilor **48e** si **63b** impotriva cancerului de san (T-47D and MDA-MB-231/ATCC).

Pharmacophoric moieties with anticancer potential



Scheme II.29. Designul in clasa (aza) indolizinelor derivate de fenantrolina



Scheme II.30. Structurile compusilor testati privind actiunea antitumorală de către NCI

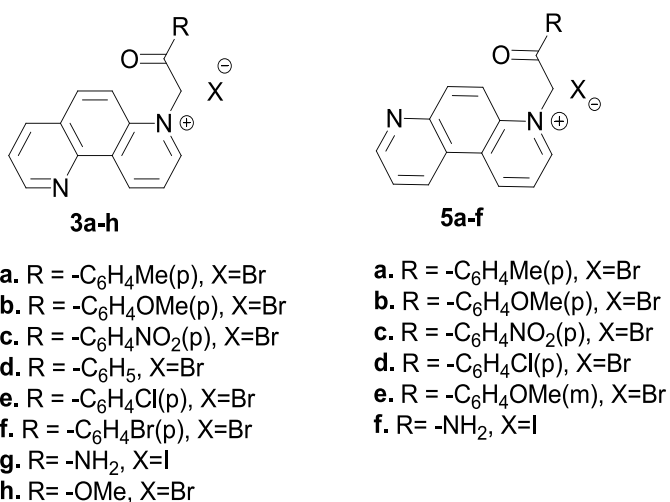
Tabelul II.1. Datele privind procentul inhibării creșterii (PGI, IM) a 60 linii canceroase a compusilor **9b, 13b, 13d, 24a, 26d, 26g, 47a, 48e, 48g, 50b, 57c, 62a, 62b** and **62c**.

Panel/Cell line	9b	13b	13d	24a	26d	26g	47a	48g	48e	50b	57c	62a	62b	62c
<i>Leukemia</i>														
CCRF-CEM	28.77	6.41	0	6.14	0	0	16.21	22.0	27.74	26.55	11.82	8.79	16.32	2.25
RPMI-8226	15.94	2.92	0	2.92	0	2.69	2.51	9.99	35.2	2.76	25.87	4.37	35.05	15.64
<i>Non-Small Cell Lung Cancer</i>														
NCI-H522	31.96	11.18	8.91	11.18	6.77	12.67	19.67	14.38	6.21	29.9	34.57	18.15	30.92	15.29
NCI-H226	3.37	0	4.09	0	18.81	3.76	17.13	12.51	35.03	12.32	7.7	4.83	14.57	6.31
<i>Ovarian Cancer</i>														
SK-OV-3	12.17	4.17	10.29	4.17	9.73	9.49	26.16	2.94	45.41	17.16	9.92	18.42	11.84	8.24
<i>Renal Cancer</i>														
A498	7.2	0	1.38	0	0	0	17.58	14.05	45.98	12.45	31.53	20.06	0.11	0
UO-31	25.74	31.93	15.79	31.93	41.98	24.0	12.98	2.13	35.81	1184	16.11	20.57	40.32	15.68
<i>Prostate Cancer</i>														
PC-3	13.38	13.22	11.26	13.22	6.44	5.82	15.53	15.79	39.16	20.03	31.13	9.08	38.18	15.45
<i>Colon Cancer</i>														
COLO 205	1.21	0	0	0	0	6.39	1.27	19.69	13.01	0	8.09	2.46	0	0
HCT-116	4.43	783	2.52	7.83	11.69	12.99	0	5.21	20.34	0	23.29	8.01	12.95	13
<i>CNS Cancer</i>														
U251	1.12	2.81	0	2.81	15.49	1.33	7.5	8.32	17.07	6.27	5.67	10.07	16.04	8.33
<i>Melanoma</i>														
M14	9.87	4.72	11.62	4.72	4.82	0.93	4.32	2.34	21.89	0.83	6.63	0	0	4.78
UACC-257	4.82	4.82	6.9	4.82	3.14	0	12.18	10.99	17.56	12.26	21.32	4.6	14.27	8.17
<i>Breast cancer</i>														
MCF7	13.85	46.97	7.41	46.97	6.9	43.36	5.38	14.19	22.02	6.33	3.25	19.24	17.92	19.25
MDA-MB-231/ATCC	15.93	0	0.94	0	5.27	4.06	9.29	4.46	28.37	8.98	16.54	18.29	29.57	1.46
T-47D	45.62	11.25	18.91	11.25	13.99	29.24	10.34	9.1	18.87	2.06	19.81	14.08	40.69	0.34

II.5.2. Designul si evaluarea activitatii antimicobacteriene a unor noi compusi

Evaluarea activitatii antimicobacteriene împotriva *Mycobacterium tuberculosis* a fost realizata prin programul TAACF (Center of Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility) program de screening anti-TB realizat de catre US National Institute of Health, the NIAID division (la Southern Research Institute).

Rezultatele obținute sunt prezentate în **tabelul II.2** și ilustrează faptul că două din cele opt săruri monocuaternare **3a-h** testate (**Schema II.32**), au prezentat activitate împotriva *M. tuberculosis* H37Rv în condiții aerobe, în timp ce una dintre cele cinci testate săruri monocuaternare **5a-d** si **5f** (**Schema II.32**), prezinta activitate mai accentuata împotriva *M. tuberculosis* H37Rv.



Schema II.32. Structura compusilor **3** si **5** testati pentru activitatea antimicobacteriana

Astfel, sărurile **3e**, **3f** și **5d** (*p*-halogeno benzoil substituite) poseda activitatea antimicobacteriana cea mai pronunțată. Sarea **5a** (*p*-metilbenzoil substituita) a arătat, de asemenea o activitate antimicobacteriana moderată. Prin comparație a celor doua serii de compusi testati, observăm practic doar o influență minoră a heterociclului asupra activității antimicobacteriene.

Tabelul II.2. Activitatea antimicobacteriana sarurilor 3 si 5 impotriva *M. tuberculosis* H37Rv.

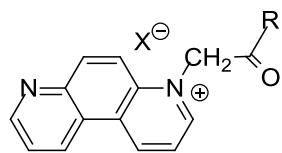
Compound	IC ₅₀ (μM)	IC ₉₀ (μM)	MIC (μM)
3a	100	>200	>200
3b	>200	>200	>200
3c	180	>200	>200
3d	120	>200	>200
3e	88	>200	>200
3f	88	>200	>200
3g	>200	>200	>200
3h	>200	>200	>200
5a	110	>200	>200
5b	>200	>200	>200
5c	>200	>200	>200
5d	83	>200	>200
5f	>200	>200	>200
Rifampicin	0.0036	0.0061	0.0055

II.6. Studiu asupra proprietatilor electrice ale unora dintre compusii sintetizati

Acest studiu a fost realizat in colaborare cu grupul dlui prof. univ. dr. Liviu Leontie de la Departamentul de Fizică al Universității Alexandru Ioan Cuza din Iași.

Investigația structurală prin difracție de raze X a filmelor depuse a aratat ca, compuși organici investigati (**Schema II.35**) au o structură policristalina predominantă (**Fig. II.84**).

Conductivitatea electrică a compușilor sintetizați a fost investigată folosind probe subțire de film depuse prin tehnica spin-coating, la temperatura camerei, pe substraturi de sticlă.



SMC 1-5

1. R= -C₆H₄OCH₃(*p*), X= -Br
2. R= -C₆H₄NO₂(*p*), X= -Br
3. R= -C₆H₄Cl(*p*), X= -Br
4. R= -C₆H₄CH₃(*p*), X= -Br
5. R= -NH₂, X= -I

Scheme II.35. General structure of the investigated compounds

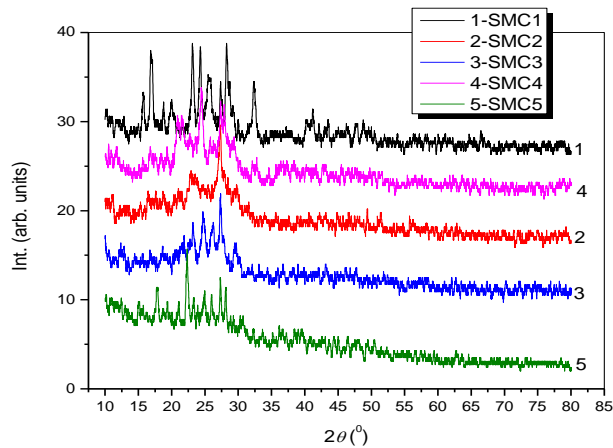


Figura II.84. Spectrele de raze X ale compusilor investigati.

S-a stabilit experimental că, după 2 serii de cicluri de încălzire / răcire succesive, structura filmului devine stabilă și dependențele conductivitate electrică / temperatură devin reversibile. Acest comportament indică stabilizarea în stare solidă a probei depuse în film subțire, în intervalul de temperatură investigat. În intervalul de temperatură mai ridicată, un mecanism de conducție intrinsecă este prezentă în filmele organice studiate (Fig. II.87).

Compușii organici sintetizați recent, în filme subțiri se comporta ca semiconductori tipici policristalini de tip n. Transferul de electroni în compușii investigați este puternic influențat de structurile lor specifice moleculare, care permit formarea unor sisteme de conjugare extinse, precum și capacitatea lor de impachetare.

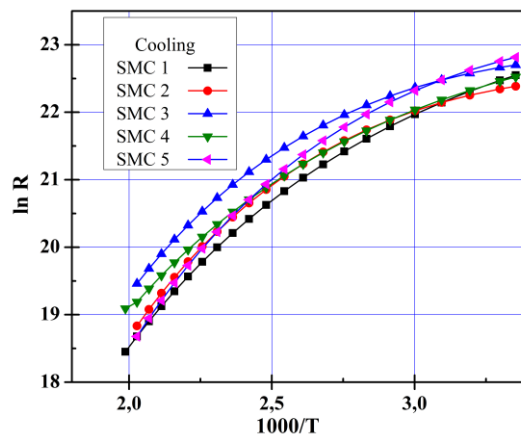
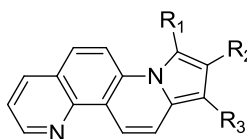
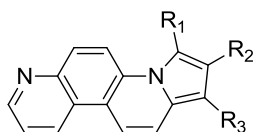


Figura II.87. Dependenta de temperatura conductivitatii electrice pentru probele supuse tratamentului de incalzire (pentru seria SMC)

II.7. Proprietatile de fluorescanta ale compusilor unora dintre compusii sintetizati

Acest studiu a fost realizat in colaborare cu grupul Dlui Dr. Anton Airinei de la Institutul de Chimie Macromoleculara "Petru Poni" Iasi.

Avand in vedere proprietatile fluorescente ale indolizinelor am realizat un studio de fluorescent pentru a corela proprietatile optice cu structura unor compusi nou sintetizati. S-au studiat efectele substituentilor si a conjugarii a unor compusi cu structura pirolu fenantrolinica derivati atat de 1,7- cat si de 4,7-fenantrolina (**Schema II.32**), compusi cu un sistem de conjugare extins.



1. $R_1 = \text{CN}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
2. $R_1 = \text{COOMe}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
3. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{OMe}(p)$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
4. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{Cl}(p)$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
5. $R_1 = \text{CN}$; $R_2 = \text{COOMe}$; $R_3 = \text{COOMe}$;
6. $R_1 = \text{COOMe}$; $R_2 = \text{COOMe}$; $R_3 = \text{COOMe}$;
7. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{OMe}(p)$; $R_2 = \text{COOMe}$; $R_3 = \text{COOMe}$;
8. $R_1 = \text{COOMe}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
9. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{OMe}(p)$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
10. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{Cl}(p)$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
11. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{Br}(p)$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{COOEt}$;
12. $R_1 = \text{COC}_6\text{H}_4\text{Br}(p)$; $R_2 = \text{COOMe}$; $R_3 = \text{COOMe}$;

Schema II.32. Structura compusilor investigati

Spectrele de absorbtie electronica a derivaților de fenantrolina prezintă trei benzi principale de absorbtie situate în următoarele domenii: 350-410 nm (banda α), 295-325 nm (banda p) și 250-280 nm (banda β) (**Fig. II.94, 96**). Toate spectrele de absorbtie electronica păstrează structura fină specifică spectrului fenantrenic. Substituenții din inelul pirolic exercită o influență importantă asupra poziției benzilor de absorbtie și de emisie ale derivaților fenantrolinici. Se poate observa că introducerea grupurilor CN, COOMe și COOEt în pozițiile 8 și 10 ale nucleului pirolic conduce la o deplasare spre albastru a benzilor de absorbtie și emisie ale derivaților fenantrolinici **1, 2 și 8**.

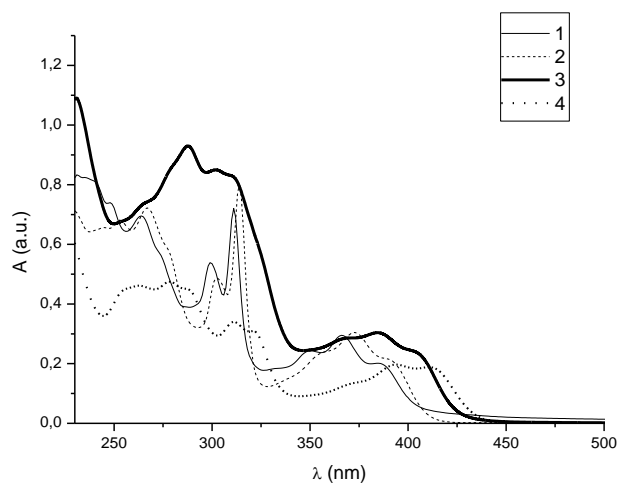


Figura II.94. Spectrele de absorbție electronică înregistrate în diclorometan, ale compusilor disubstituiți derivați de 4,7-fenantrolina: 1- compusul **1**; 2- compusul **2**; 3- compusul **3**; 4-compusul **4**.

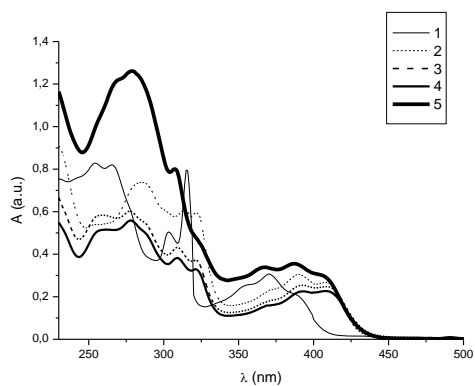


Figura II.96. Spectrele de absorbție electronică înregistrate în diclorometan, ale compusilor disubstituiți derivați de 1,7-fenantrolina: 1- compusul **13**; 2- compusul **8**; 3- compusul **9**; 4-compusul **10**, 5-compusul **11**, 6-compusul **12**.

Concluzii generale

În acord cu obiectivele propuse, concluziile generale rezultate în urma studiului efectuat în cadrul acestei teze, sunt următoarele:

1. S-au sintetizat și caracterizat noi clase de halogenuri monocuaternare de 1,7-fenantrolin-7-*iu* și 4,7-fenantrolin-4-*iu*. Compușii s-au preparat prin utilizarea unei metode simple și eficiente de sinteză.
2. Au fost sintetizate noi pirolo-fenantroline condensate, dihidropirolo și tetrahidropirolo-fenantroline. Strategia adoptată pentru sinteză implică o cicloadiție Huisgen tipică 3+2 dipolară a fenantroliniu ilidelor (generate *in situ* din sărurile corespunzătoare) la alchine sau alchene activate simetric și nesimetric substituie.
3. Reacțiile cicloadiție la alchene substituie simetric (N-etil- sau N-fenilmaleimida) sunt înalt stereoselective (un singur izomer fiind obținut), în timp ce reacțiile cicloadiție la dipolarofili substituie nesimetric (acrilonitril respectiv propiolat de etil) sunt înalt regioselective (un singur regioizomer fiind format).
4. Formarea indolizinelor policiclice aromatizate sau dihidro-derivate (în unele cazuri) a fost explicată printr-o dehidrogenare oxidativă a derivaților tetrahidro- intermediari, proces care conduce la compușii mai stabili termodinamic.
5. Un comportament deosebit în reacțiile de cicloadiție s-a constatat în cazul sărurilor de fenantroliniu în care $R = NH_2$. Gruparea amidică s-a dovedit a fi destul de reactivă și, în multe cazuri, acesta suferă enamidare ulterioară cu alchinele utilizate ca dipolarofili în reacțiile de cicloadiție 3+2 dipolare.
6. Reacțiile sărurilor de cicloimoniu cu cianoformiatul de etil în condiții bazice pot adopta două cai de reacție diferite, în funcție de disponibilitatea poziției γ a heterociclului. Astfel, în cazul sărurilor de 1,10-fenantrolin-1-*iu*, sărurilor de 1,7-fenantrolin-7-*iu*, sărurilor de 4,7-fenantrolin-4-*iu* și sărurilor de chinoliniu, cianoformiatul de etil acționează ca sursă de ion cianură, ceea ce conduce în mod selectiv la compușii substituie γ -ciano corespunzători. În cazul izochinoliniu și ftalaziniu ilidelor având poziția γ indisponibile pentru reacția de substituie, cianoformiatul de etil acționează ca dipolarofil în reacție de cicloadiție 3+2 dipolară, ceea ce duce la derivații imidazo[2,1-a]izochinolină respectiv imidazo[2,1-a]ftalazină. Din amestecurile de reacție ale ftalaziniu ilidelor cu cianoformiatul de etil am izolat de asemenea ca produși secundari diftalazine cu structură dimerică 8,8a,16,16a-tetrahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diphthalazine

7. Structura noilor compuși a fost dovedită prin analize spectrale. Difrakția cu raze X (pe monocristal) a dovedit în mod clar structura unora dintre compuși și a adus informații cu privire la interacțiunile intermoleculare în stare cristalină.

8. Paisprezece compuși noi au fost evaluați de către NCI pentru activitate împotriva cancerului. Screening-ul realizat a relevat faptul că indolizinele cu schelet fenantrolinic **9b** și **24a** prezintă o activitate selectivă și semnificativă de inhibare a creșterii tumorale (în jur de 50%) împotriva cancerului de sân (MCF7 și T-47D). O activitate moderată de inhibare a creșterii tumorale (în jur de 25%) s-a observat împotriva leucemiei (CCRF-CEM, MOLT-4, RPMI-8226, SR), cancer renal (ACHN, UO-31) și cancerul de sân (MDA-MB-468). Analiza cu raze X a indolizinelor cu schelet fenantrolinic a arătat că acestea au o structură coplanară care, coroborată cu activitatea lor împotriva cancerului, ne permite să sugerăm că o interacțiune cu ADN-ul (printr-un mecanism de intercalare), ar putea fi explicația mecanismului de acțiune a acestora. Derivații pirololo[2,1-c][4,7]fenantrolinici **26d** și **26g** prezintă o activitate semnificativă de inhibare a creșterii tumorale (aproximativ 50%) împotriva cancerului renal (UO-31) respectiv a cancerului mamar (MCF7). Se observă, de asemenea, o activitate mai slabă de inhibare a creșterii tumorale (aproximativ 25%) arătată de compusul **26d** împotriva cancerului CNS (SF-SNB-19), a compusului **13b** împotriva melanomului (M14) și a compusului **26d** împotriva cancerului de sân (T-47D). Derivații **47a** și **48e** prezintă o activitate semnificativă de creștere tumorală de inhibare (în jur de 25% respectiv 45%) împotriva cancerului ovarian (SK-OV-3). Compușii **48e**, **57c** și **62b** prezintă o activitate semnificativă de inhibare a creșterii tumorale (în jur de 40%) împotriva cancerului de prostată (PC-3) și non-pulmonar cu celule mici de Cancer (NCI-H522) (în jur de 35%). Se observă, de asemenea, o activitate mai slabă de inhibare a creșterii tumorale (în jur de 35%) pentru compușii **62b**, **50b**, **57c** și **48e** împotriva leucemiei CCRF-CEM, pentru compușii **48e** și **57c** împotriva cancerului renal A498 și pentru compușii **48e** și **62b** împotriva cancerului de sân (T-47D și MDA-MB-231 / ATCC)

9. Patruzeci și trei noi compuși au fost evaluați pentru activitatea *in vitro* împotriva bacteriei *M. tuberculosis H37Rv* (crescute în condiții aerobe), ca parte a programului de screening TAACF TB din cadrul Institutului National de Sănătate, divizia de NIAID. Din păcate, doar o mică parte din compușii testați au avut activitate împotriva *M. tuberculosis H37Rv* în condiții aerobe.

10. Cinci săruri ale monocuaternare și șase cicloducti pirollofenantrolinici au fost testați pentru proprietățile lor electrice. Compușii testați depuși în straturi subțiri, se comportă ca

semiconductori tipici de tip n într-un anumit interval de temperatura specific fiecărui compus. Transferul de electroni în compușii investigați este puternic influențat de structurile moleculare, care permit formarea unor sisteme de conjugare extinse, dar și de capacitatea lor de impachetare.

11. Doisprezece derivați fenantrolina au fost testați pentru proprietățile lor fluorescente. Spectrele de absorbție electronică a derivaților fenantrolina prezintă trei benzi principale de absorbție situate în următoarele domenii: 350-410 nm (bandă α), 295-325 nm (bandă p) și 250-280 nm (bandă β), substituenții din ciclul pirolitic exercitând o influență importantă asupra poziției benzilor de absorbție și de emisie ale derivaților fenantrolină. Spectrele de fluorescență a derivaților de 1,7-fenantrolina prezintă o bandă de emisie în regiunea 440-450 nm, în timp ce intervalul de emisie al derivaților de 4,7-fenantrolina s-a dovedit a fi 420-480 nm. Cea mai puternică emisie a fost observată pentru compușii cu grupa CN în poziția 8 în seria 4,7-fenantrolină, în timp ce în seria 1,7-fenantrolină compusul 8 are cea mai mare fluorescență.

12. 100 Noi compuși aparținând diferitelor clase de compuși heterociclici au fost sintetizați și caracterizați spectral.

13. O parte din rezultatele prezentate în această teză au fost diseminate în cinci articole ISI și 13 simpozioane sau conferințe internaționale și naționale.

Bibliografie (selectie)

1. Katritzky A.R., Boulton A.J., *Advances in heterocyclic chemistry*, Academic Press, 22, (1978), p. 2-70.
2. Majumdar K.C., Ponra S., Ghosh T., Sadhukhan R., Ghosh U., *Eur. J. Med. Chem.*, **71**, 306 (2014).
3. Shan N., Batchelor E., Jones W. *Tetrahedron Lett.*, **43**, 8721 (2002).
4. Danac R., Daniloaia T., Antoci V., Vasilache V., Mangalagiu I.I., *Lett. Drug Des. Discov.*, 12, 14 (2015).
5. Blewitt H.L. in *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 30* (Eds.: A. Weissberger, E.C. Taylor), Interscience Publishers, New York, (1977), 117.
6. Dumitrascu F., Vasilescu M., Draghici C., Caproiu M.T., Barbu L., Dumitrescu D.G., *ARKIVOC*, 10, 346 (2011).
7. Rotaru A., Druta I., Avram E., Danac R., *ARKIVOC*, 13, 287 (2009).
8. Danac R., Rotaru A., Drochioiu G., Druta I., *J. Heterocycl. Chem.*, 40, 283 (2003).
9. Sandeep C., Padmashali B., Kulkarni R.S., *Tetrahedron Lett.*, 54, 6411 (2013).
10. Druta I., Danac R., Barbieru R., Tapu D., Andrei M., *An. St. Univ. Al. I. Cuza Iasi*, **9**, 149 (2001).
11. Butnariu R.M., Caprosu M.D., Bejan V., Ungureanu M., Poiata A., Tuchilus C., Florescu M., Mangalagiu I.I., *J. Heterocyclic Chem.*, **44**, 1149 (2007).
12. Garcia M, Jemal A, Ward EM, Global cancer facts and figures. Atlanta, GA: American Cancer Society; (2007).
13. Danac R., Mangalagiu I.I., *Eur. J. Med. Chem.*, 74, 664 (2014).
14. World Health Organization Tuberculosis Programme Available from: Global tuberculosis report/WHO/HTM/TB/2012.6.
15. Sun S.-Sh., Sariciftci N.S. (Eds.), *Organic Photovoltaics: Mechanisms, Materials, and Devices*, CRC Press, Taylor&Francis Group, Boca Raton-London-New York-Singapore, (2005).
16. Leontie L., Danac R., Girtan M., Carlescu A., Rambu A.P., Rusu G.I., *Mater. Chem. Phys.*, 135, 123 (2012).
17. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H.J., *Appl. Cryst.*, 42, 339 (2009).

Activitatea stiintifica si diseminarea rezultatelor

Articole

- Cristina M. Al Matarneh, Ramona Danac, Liviu Leontie, Florin Tudorache, Iulian Petrița, Felicia Iacomi, Aurelian Carlescu, Gigel Nedelcu, Ionel Mangalagiu, Synthesis and electron transport properties of some new 4,7-phenanthroline derivatives in thin films, *Environmental Engineering and Management Journal*, 14(2), (2015), 420-431. I.F.=1.258.
- Ramona Danac, Cristina M. Al Matarneh, Sergiu Shova, Teofil Daniloaia, Mihaela Balan, Ionel I. Mangalagiu, New indolizines with phenanthroline skeleton: Synthesis, structure, antimycobacterial and anticancer evaluation, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23 (2015) 2318–2327. I.F.=2.951
- Cristina M. Al Matarneh, Sergiu Shova, Ionel I. Mangalagiu, Ramona Danac, Synthesis, structure and antimycobacterial properties of new pyrrolo-4,7-phenanthroline derivatives, *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(3), (2016), 470-480. I.F.=2.383
- Cristina Maria Al Matarneh, Catalina-Ionica Ciobanu, Ionel I. Mangalagiu, Ramona Danac, Design, synthesis and antimycobacterial activity of some new azaheterocycles: 4,7-phenanthroline with p-halogeno-benzoyl skeleton. Part VI, *J. Serb.Chem. Soc.*, 81(2) (2016), 133-140. I.F.=0.871
- Cristina M. Al Matarneh, Mircea O. Apostu, Ionel I. Mangalagiu, Ramona Danac, Reactions of ethyl cyanofornate with cycloimmonium salts: a direct pathway to fused or substituted azaheterocycles, *Tetrahedron*, 72 (2016) 4230-4238. I.F.= 2.641

Comunicari

1. C. Al Matarneh, R. Danac, L. Leontie, C. Doroftei, I. Mangalagiu, Synthesis and electron transport properties of new pyrrolo [1,2-i][1,7]-phenanthroline derivatives in thin films, 8ème Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée (COFrRoCA), Montpellier, France, September 2014.
2. Maria Cristina Al-Matarneh, Ionel Mangalagiu, Ramona Danac, Synthesis and structure of new fused polycyclic indolizines, A XXXIII-a Conferinta Nationala de Chimie, Calimanesti, Valcea, October 2014.

3. M.C. Al-Matarneh*, R. Danac, I. Mangalagiu, Synthesis and antimycobacterial properties of new derivatives of 1,7-phenanthroline, 3rd French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry, Iasi, Octombrie 2014.

Postere

1. M.C. Al-Matarneh, T. Daniloaia, R. Danac, Sinteza unor noi derivați cu structura pirolo[1,2-*i*][1,7] fenantrolinica, Sesiunea de comunicari stiintifice „Zilele Universitatii” Iasi, Octombrie 2013.
2. C. Al Matarneh, R. Danac, L. Leontie, F. Tudorache I. Petrila, I. Mangalagiu, Synthesis and electron transport properties of some new 4,7-phenanthroline derivatives in thin films, Conferinta internationala “Chimia 2014”, Constanta, Mai 2014.
3. M.C. Al-Matarneh, R. Danac, I. Mangalagiu, Synthesis and properties of new pyrrolo[1,2-*i*][1,7]phenanthroline derivatives, Sesiunea de comunicări științifice a studenților, masteranzilor și doctoranzilor, Iasi, Iunie 2014.
4. L. Leontie, C. Doroftei, C. Al Matarneh, R. Danac, Electron transport properties of new pyrrolo [1,2-*i*][1,7]-phenanthroline derivatives in thin films, MSCMP 2014 - 7th International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics, Chisinau, Septembrie 2014.
5. M. C. Al-Matarneh, A. Chirciu, M. Apostu, R. Danac, Synthesis and structure of new 1,10-phenanthroline derivatives, Sesiunea de comunicari stiintifice „Zilele Universitatii” Iasi, Octombrie-Noiembrie 2014.
6. C. Al Matarneh, R. Danac, L. Leontie, F. Tudorache, I. Petrila, I. Mangalagiu, Synthesis and electron transport properties of some new 4,7-phenanthroline derivatives in thin films, 2nd International Conference on Chemical Engineering-ICCE 2014, Iasi, Noiembrie 2014.
7. M. C. Al-Matarneh, R. Danac, M. O. Apostu, I. Mangalagiu, Synthesis and structure of new pyrrolo[1,2-*a*][1,10]phenanthroline derivatives and α -monosubstituted 1,10-phenanthrolines, 19th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE), Sibiu, Romania, Septembrie 2015.
8. M. C. Al-Matarneh*, R. Danac, M. O. Apostu, I. I. Mangalagiu, Synthesis, structure and anticancer evaluation of new γ -cyano-substituted phenanthrolines, Sesiunea de comunicari stiintifice „Zilele Universitatii” Iasi, Octombrie 2015.