

**UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI  
FACULTATEA DE CHIMIE  
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE**

**REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT**

**OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA DE NOI  
COMBINAȚII COMPLEXE  
ALE UNOR BIOCAȚIONI CU LIGANZI  
PENTAAZAMACROCLICI**

Doctorand:

Cicioiu (Bucur) Cristina

Conducător de doctorat:

Prof. Dr. Marinescu Dana Maria

**2014**

## CUPRINS

|                                                                                                                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>INTRODUCERE</b>                                                                                                                                                                                             | 6   |
| <b>CAPITOLUL 1. Combinații complexe cu liganzi azamacrociclici saturați obținute prin reacții de condensare template</b>                                                                                       | 9   |
| 1.1. Aspecte generale referitoare la liganzii macrociclici                                                                                                                                                     | 9   |
| 1.2. Combinații complexe cu liganzi monoazamacrociclici obținute prin reacții de condensare cu formaldehida                                                                                                    | 16  |
| 1.3. Combinații complexe cu liganzi bisazamacrociclici saturați obținute prin reacții de condensare cu formaldehida                                                                                            | 30  |
| 1.4. Importanța combinațiilor complexe cu liganzi azamacrociclici                                                                                                                                              | 45  |
| <b>CAPITOLUL 2. Obținerea, caracterizarea și stabilirea activității antimicrobiene și citotoxice pentru combinații complexe dinucleare noi ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu liganzi bispentaazamacrociclici</b> | 60  |
| 2.1. Combinații complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu ligandul 1,2-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen                                                                                         | 62  |
| 2.1.1. Sinteza combinațiilor complexe cu 1,2-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen și a ligandului                                                                                                  | 62  |
| 2.1.2. Caracterizarea fizico-chimică a compușilor                                                                                                                                                              | 64  |
| 2.1.3. Testarea activității antimicrobiene a compușilor sintetizați                                                                                                                                            | 94  |
| 2.1.4. Testarea citotoxicității compușilor                                                                                                                                                                     | 103 |
| 2.2. Combinații complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu ligandul 1,3-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen                                                                                         | 110 |
| 2.2.1. Sinteza combinațiilor complexe cu 1,3-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen și a ligandului                                                                                                  | 110 |
| 2.2.2. Caracterizarea fizico-chimică a compușilor                                                                                                                                                              | 112 |
| 2.2.3. Testarea activității antimicrobiene a compușilor sintetizați                                                                                                                                            | 133 |
| 2.2.4. Testarea citotoxicității compușilor                                                                                                                                                                     | 140 |
| 2.3. Combinații complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu ligandul 1,4-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen                                                                                         | 145 |
| 2.3.1. Sinteza combinațiilor complexe cu 1,4-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen și a ligandului                                                                                                  | 146 |

|                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.3.2. Caracterizarea fizico-chimică a compușilor                   | 147 |
| 2.3.3. Testarea activității antimicrobiane a compușilor sintetizați | 170 |
| 2.3.4. Testarea citotoxicității compușilor                          | 177 |
| <b>CONCLUZII</b>                                                    | 186 |
| <b>CAPITOLUL 3</b>                                                  | 191 |
| 3.1. Metode de analiză și tehnici de lucru                          | 191 |
| 3.2. Sinteza și analiză combinațiilor complexe                      | 193 |
| 3.3. Teste biologice                                                | 200 |
| <b>BIBLIOGRAFIE</b>                                                 | 204 |
| <b>Articole publicate</b>                                           | 218 |
| <b>Participări la manifestări științifice</b>                       | 219 |

## **INTRODUCERE**

În ultimii ani interesul cercetătorilor s-a concentrat, printre altele, pe sinteza unor structuri poliazamacropoliciclice cu proprietăți chimice interesante și o bună activitate biologică cum ar fi antimicrobiană, citotoxică și antivirală. Liganzii bisazamacrociclici reprezintă structuri adecvate pentru proiectarea unor agenți terapeutici și de diagnosticare, deoarece sunt destul de rigizi, formează combinații complexe stabile cu ionii metalelor tranziționale și orientează stereospecific grupările funcționale care se adaptează astfel unor modificări structurale pentru o interacție optimă pentru manifestarea activității biologice.

Având în vedere activitatea antivirală, antitumorală și antimicrobiană demonstrată de combinațiile complexe cu liganzi bisazamacrociclici, ne-am propus sintetizarea și caracterizarea unor noi combinații complexe ale Ni(II), Cu(II), Zn(II) cu liganzi bispentaazamacrociclici.

## **OBIECTIVE**

- Sinteza prin reacții de condensare template a unor noi combinații complexe dinucleare ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu liganzi bispentaazamacrociclici cu punte fenilenică și izolarea liganzilor corespunzători;
- Caracterizarea combinațiilor complexe dinucleare și a ligandului prin: analiza chimică elementală, analiza termică, spectrometrie ESI-MS, spectroscopia IR,  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN, UV-VIS și RPE, susceptibilitate magnetică și voltametrie ciclică;
- Testarea activității antimicrobiene pe tulpini bacteriene Gram-pozitive, Gram-negative și fungice de referință și izolate din clinică (screening calitativ, determinarea concentrației minime inhibitorii și studiul influenței compușilor asupra aderenței biofilmului microbial la substrat inert);
- Testarea citotoxicității compușilor (determinarea celulelor viabile, apoptotice sau necrotice cu anexina V-FITC și respectiv iodură de propidiu și a fazelor ciclului celular prin citometrie în flux).

## **CONȚINUTUL TEZEI**

Teza de doctorat este structurată în trei capitole.

În primul capitol sunt sistematizate date din literatura de specialitate referitoare la procesul de condensare template în prezența formaldehidei /1/ care conduce la o serie de combinații complexe cu liganzi mono- /2/ și bisazamacrociclici /3/ saturați. Sunt prezentate de asemenea date referitoare la utilizarea unora dintre aceste combinații complexe în diferite domenii pe baza activității biologice (antivirale /4/, antitumorale /5/, antimicrobiene /6/), catalitice /7/ sau a altor proprietăți (captarea selectivă a dioxidului de carbon /8/, obținerea de produse radiofarmaceutice /9/ și obținerea de materiale poroase /10/).

Capitolul doi conține contribuțiile originale referitoare la sinteza și caracterizarea a 27 combinații complexe noi ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II). De asemenea s-au obținut cei trei liganzi noi 1,2-, 1,3- și 1,4-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen corespunzători structurii bispentaazamacrociclice prin tratarea combinațiilor complexe cu sulfură de sodiu.

Combinațiile complexe și liganzii au fost caracterizați pe baza datelor furnizate de analiza chimică elementală, spectrometria ESI-MS, spectroscopia electronică, IR, RPE,  $^1\text{H}$  RMN și  $^{13}\text{C}$  RMN, analiza termică, susceptibilitatea magnetică la temperatura camerei și voltametria ciclică.

Interesul pentru acești compuși cu liganzi bisazamacrociclici provine din faptul că pot prezenta activitate biologică comparabilă sau mai bună față de ligandul liber. Ca urmare, în teză sunt prezentate și rezultatele testării activității antimicrobiene prin determinarea concentrației minime inhibitorii și a influenței asupra aderenței biofilmelor microbiene la substratul inert, precum și activitatea citotoxică. S-a determinat coeficientul de distribuție octanol-apă pentru a explica activitatea antimicrobiană observată.

Capitolul trei conține date referitoare la metodele, tehnicile și aparatura utilizată pentru caracterizarea combinațiilor complexe și a liganzilor corespunzători.

## ***CONTRIBUȚII ORIGINALE***

### **Sinteza combinațiilor complexe și a liganzilor**

Combinațiile complexe cu liganzii bispentaazamacrociclici saturați au fost sintetizate prin metoda „one-pot”, care constă în amestecarea componentelor, trietilentetramina, o sare de Ni(II), Cu(II) și Zn (II), un derivat de fenilendiamină și formaldehidă.

Alegerea aminelor aromatice și a trietilentetraminei pentru procesul de condensare template a avut în vedere pe de o parte prezența grupărilor aminice care pot fi implicate în procesul de condensare cu formaldehidă și pe de altă parte posibilitatea de obținere a unor sisteme cu liganzi azamacrociclici, care prezintă o stabilitate cinetică și termodinamică mare. S-a pornit de la 1,2-, 1,3- și 1,4-fenilendiamină pentru a studia modul în care poziția reciprocă a grupărilor aminice influențează proprietățile speciilor obținute.

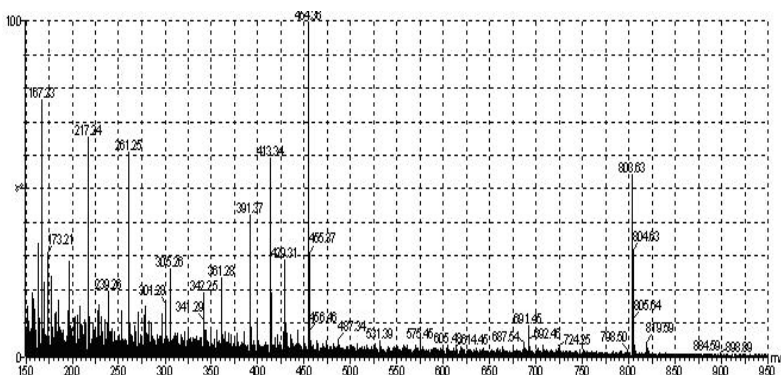
La alegerea ionilor de Ni(II) și Cu(II) ca template pentru procesele de condensare s-a ținut cont de faptul că aceștia favorizează formarea liganzilor azamacrociclici saturați datorită preferinței pentru tetracoordinare și în special pentru adoptarea unor geometrii distorsionate axial de tipul celor plan pătrate și octaedrice în combinații complexe cu liganzi de câmp puternic. În plus, stereochimiile adoptate de acești ioni sunt ușor de pus în evidență cu ajutorul spectroscopiei electronice, RPE și a determinărilor magnetice. Ionul de Zn(II) nu are preferință pentru o anumită stereochimie și este mai rar utilizat în astfel de procese.

Formaldehida s-a ales ca agent de condensare datorită faptului că are o reactivitate mare, reacțiile la care participă se desfășoară în condiții blânde și nu necesită utilizarea unor solvenți anhidri. Aceasta are capacitatea de a insera unități metilenice între grupări aminice în reacții asistate de ioni metalici, cu formarea unor compuși ciclici.

Combinațiile complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu liganzii 1,2-, 1,3- sau 1,4-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen au fost sintetizate conform schemei 1.



spectrul de masă. Astfel s-au găsit picuri care au fost atribuite unor specii fragmentare rezultate din adiționarea unor grupări rezultate din scindarea moleculelor de solvent, eliminarea unui număr diferit de anioni clorură, perclorat, acetat sau a ionilor metalici precum și din ruperea unor legături aminice, metilenice sau etilenice. De exemplu, în spectrul ESI-MS al compusului (**8**) (fig. 1) se remarcă prezența ionului molecular  $[\text{Cu}_2\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_{10}\text{O}_8+8\text{H}]^+$  cu cele patru grupări acetat dar și existența structurii bispentaazamacrociclice prin picul cu  $m/z$  454,36 (100 %).



**Fig. 1.** Spectrul de masă al combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**8**)

**Analiza termică** s-a efectuat pentru a combinațiile complexe de tip clorură /11/ și acetat /12/ și a indicat prezența apei de cristalizare /13/ care se elimină până la 175 °C pentru compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^1\text{Cl}_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**3**), eliminarea anionilor clorură sub formă de acid clorhidric până la 330 °C pentru compusul  $[\text{Cu}_2\text{L}^1\text{Cl}_4]$  (**2**), formarea unui intermediar de tip paracianură în cazul compusului  $[\text{Ni}_2\text{L}^1]\text{Cl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**1**) /14/ și formarea intermediară a carbonatului în cazul derivaților de tip acetat. Pentru toate combinațiile complexe s-a observat degradarea oxidativă a ligandului bisazamacrociclic în două sau trei etape însoțite de efecte exoterme. Pentru toate speciile produsul final al degradării termice a fost oxidul metalic cel mai stabil, așa cum a demonstrat difracția de raze X pe pulbere, în unele cazuri specia formată fiind oxidul nestoichiometric.

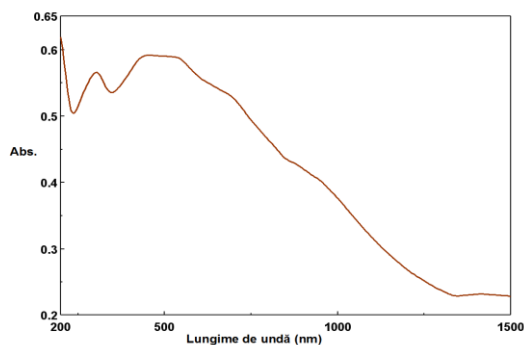
**Spectrele IR** ale combinațiilor complexe au fost comparate cu cele ale ligandului, 1,2-fenilendiaminei și cu cele ale combinațiilor complexe cu ligandul trietilentetramina. În spectrele ligandului și ale combinațiilor complexe, s-a observat absența celor două benzi caracteristice grupărilor amină primară /15/, ca un indiciu al faptului că acestea au fost implicate în procesul condensare, precum și apariția unei banzi de absorbție în jurul



valorii de  $3250\text{ cm}^{-1}$ , atribuită modului de vibrație de întindere pentru gruparea amină secundară /16/. În cazul combinațiilor complexe, această bandă este deplasată spre numere de undă mai mici comparativ cu ligandul, aspect care indică coordinarea ligandului prin intermediul acestei grupări /17/. De asemenea, s-au identificat benzile caracteristice grupărilor acetat și perclorat și pe baza acestor valori s-au stabilit funcțiile acestora ca liganzi sau ca specii prezente în sfera de ionizare /18, 19/.

Datele furnizate de spectrele  $^1\text{H RMN}$  au oferit informații utile pentru combinațiile complexe ale Ni(II) cu stereochimie plan-pătrată și ale Zn(II) care sunt diamagnetice. În cazul combinațiilor complexe, s-au identificat semnale corespunzătoare diverselor tipuri de protoni în funcție de vecinătate și au oferit date care au permis confirmarea coordinării ligandului prin intermediul grupărilor de tip amină secundară /20/, semnalul atribuit grupării NH fiind deplasat față de semnalul corespunzător ligandului liber spre câmp puternic /21/.

Prin corelarea datelor obținute din **spectrele electronice** cu valorile produsului **susceptibilitate temperatură**  $(\chi T)_{\text{HT}}$  la temperatura camerei s-a propus indirect stereochimia pentru speciile complexe ale Ni(II) și Cu(II). În cazul combinațiilor complexe ale Ni(II) cu comportare diamagnetică s-a propus o stereochimie plan pătrată, spectrul electronic prezentând o bandă largă și nesimetrică cu maxim în domeniul 430-490 nm (fig.2) /22/.

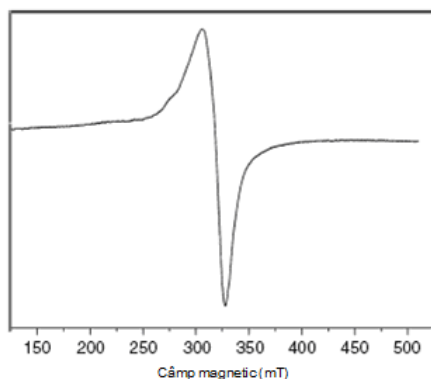


**Fig.2.** Spectrul electronic al combinației complexe  $[\text{Ni}_2\text{L}^1]\text{Cl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1)

Stereochimia de tip piramidă pătrată cu configurație de tip spin maxim s-a propus pentru specia Ni(II) cu valoarea  $(\chi T)_{\text{HT}}$  apropiată de valoarea 2 și benzi cu poziții și intensități diferite în vizibil și infraroșu apropiat.

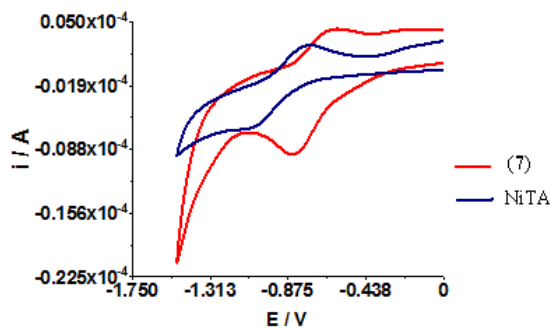
În cazul combinațiilor complexe ale Cu(II) pentru care starea fundamentală este nedegenerată orbital datorită distorsiunilor induse de efectul Jahn-Teller, produsul  $(\chi T)_{HT}$  se situează în domeniul  $0,75-0,77 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$  și nu oferă informații referitoare la stereochemie.

**Spectroscopia RPE** a indicat stereochemia octaedrică sau plan pătrată propusă pentru combinațiile complexe ale Cu(II), precum și prezența unei distorsiuni rombice sau axiale, o interacție între centrii paramagnetici pentru stereochemia plan pătrată nedistorsionată și un grad mare de legătură covalentă  $\sigma$  în plan între ionul de Cu(II) și atomii de azot ai ligandului bisazamacrociclic /23/. De exemplu, în cazul combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**8**) (fig. 3) valorile parametrilor de scindare și a constantei de cuplare au indicat date referitoare la prezența electronului necuplat în orbitalul  $d_{x^2-y^2}$ , un grad semnificativ de covalență precum și o interacție slabă între ioni metalici într-o stereochemie plan pătrată.



**Fig. 3.** Spectrul RPE al combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**8**)

**Comportamentul electrochimic** a fost studiat în scopul obținerii de informații referitoare la modificarea compusilor în interacțiunea cu transportorii de electroni sau enzimele oxido-reducatoare din componența microorganismelor patogene sau celulelor tumorale care pot modifica starea de oxidare a ionilor metalici. Astfel, studiile de **voltametrie ciclică** au indicat o undă de oxidare asociată cuplului Ni(II)/Ni(III) pentru speciile nichelului (fig. 4), reducerea Cu(II) la Cu(0), o singură undă de reducere în domeniul catodic atribuit reducerii ionului de Zn(II) la Zn(0) și o comportare diferită de cea a combinațiilor complexe cu trietilentetramina ca ligand.



**Fig.4.** Voltamogramele ciclice ale compușilor  $[\text{Ni}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (7) și Nitrien $(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Măsurătorile de **conductivitate electrică molară** în soluție au indicat în cazul speciilor de Zn(II) comportarea ca specii de tip neelectrolit pentru speciile  $[\text{Zn}_2\text{L}^1\text{Cl}_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (3) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^1(\text{CH}_3\text{COO})_4]$  (9) și ca electrolit de tip 1:4 pentru compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^1](\text{ClO}_4)_4$  (6) care confirmă prezența percloratului în sfera de ionizare în soluție.

**Activitatea antimicrobiană** s-a determinat pentru combinațiile complexe, ligand și combinațiile complexe cu trietilentetramina prin teste pe tulpini de referință patogene și izolate din clinică, bacteriene Gram-pozitive, Gram-negative și fungice care au constatat în determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI) și a influenței compușilor asupra aderenței biofilmului la substrat inert. Combinațiile complexe au fost mai active comparativ cu ligandul și combinațiile de tip trien pe toate tulpinile studiate.

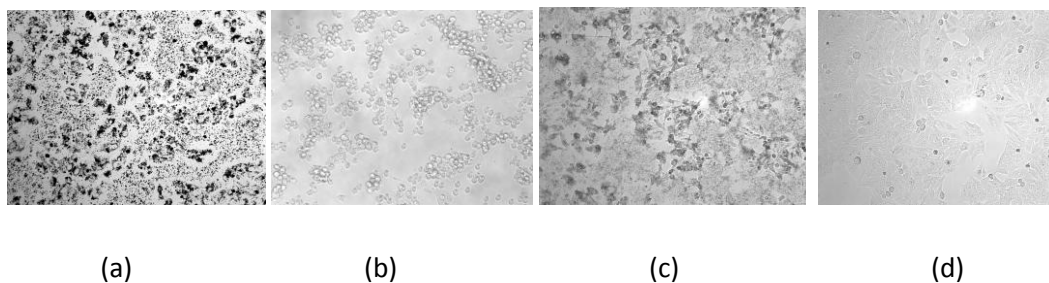
Combinația complexă  $[\text{Zn}_2\text{L}^1(\text{CH}_3\text{COO})_4]$  (9) a fost activă pe tulpinile Gram negative (*E. coli* și *K. pneumoniae*) cu valori CMI de 7,81 și 31,25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Activitatea antifungică față de tulpina *C. krusei* s-a observat în cazul compușilor  $[\text{Ni}_2\text{L}^1]\text{Cl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1) și  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (8) cu valori CMI de 15,62  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Combinația complexă  $[\text{Zn}_2\text{L}^1(\text{CH}_3\text{COO})_4]$  (9) a prezentat cel mai bun efect de inhibare asupra aderenței biofilmului la substrat inert în cazul tulpinilor atât Gram pozitive cât și Gram negative, aspect explicat prin natura de tip hidrofob care îi conferă lipofilicitate și permite un transport mai ușor prin membrana microorganismului patogen unde poate interacționa cu enzimele citosolice sau cu ADN-ul.

Valorile **coeficientului de distribuție octanol-apă** pentru compușii  $[\text{Ni}_2\text{L}^1(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (4) și  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (5) au indicat un caracter hidrofil care sugerează incapacitatea acestora de a penetra straturile lipidice microbiene prin difuzie

pasivă și explică activitatea antimicrobiană redusă atât pe tulpini aflate în stare planctonică cât și înglobate în biofilm.

**Activitatea citotoxică** a combinațiilor complexe cu liganzi bispentaazamacrociclici a fost testată comparativ cu combinațiile complexe cu trien pe celule HCT 8, celule de tip adenocarcinom uman al colonului. Etapa preliminară a constat în vizualizarea celulelor în prezența și absența acestor compuși cu ajutorul microscopului optic pentru a stabili modificările morfologice ale celulelor. Majoritatea compusilor nu au indus efecte toxice asupra celulele HCT 8, cu excepția compuşilor  $[\text{Ni}_2\text{L}^1(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (**4**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**5**) și  $[\text{Ni}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**7**) care au prezentat citotoxicitate observată atât prin modificarea morfologiei celulelor în cultură cât și prin reducerea viabilității în testul cu albastru tripan (fig. 5).



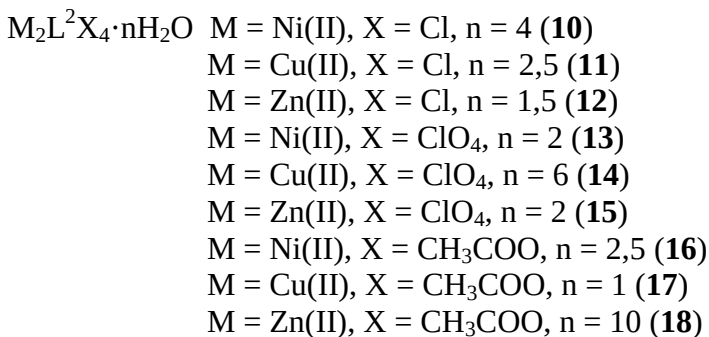
**Fig. 5.** Aspect morfologic al celulelor HCT8 tratate cu  $[\text{Ni}_2\text{L}^1(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (**4**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^1](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**5**) și  $[\text{Ni}_2\text{L}^1](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**7**) comparativ cu celule HCT 8 netratate (d)

Tehnica citometriei în flux a permis stabilirea viabilității celulare, adică identificarea procentului de celule viabile dintr-o populație prin intermediul modificărilor morfologice, fizico-chimice sau biologice în diferite faze ale ciclului celular. Aceeași compuși (**4**), (**5**) și (**7**) au prezentat cel mai mare procent de celule blocate în faza de mitoză, cât și apariția unor celule apoptotice.

### **Combinații complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu ligandul 1,3-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen**

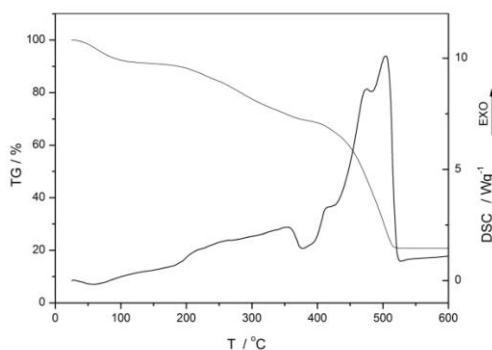
A doua categorie de combinații complexe a fost sintetizată prin aceeași metodă de condensare 1,2-fenilendiamina fiind înlocuită cu 1,3-fenilendiamina. Analiza chimică

elementală corelată cu datele furnizate de metodele fizico-chimice utilizate au condus la următoarele formulări pentru aceste specii:



**Spectrele de masă** au confirmat formarea structurii bispentaazamacrociclice prin faptul că la majoritatea speciilor s-a regăsit ionul  $[C_{22}H_{44}N_{10}+6H]^+$  cu  $m/z$  454. Intensitatea mai mare a picurilor comparativ cu cele observate pentru prima serie de combinații indică faptul că aceste specii sunt mai stabile /24/ fapt care se poate explica prin aranjarea spațială a unităților macrociclice în pozițiile 1,3 ale nucleului benzenic.

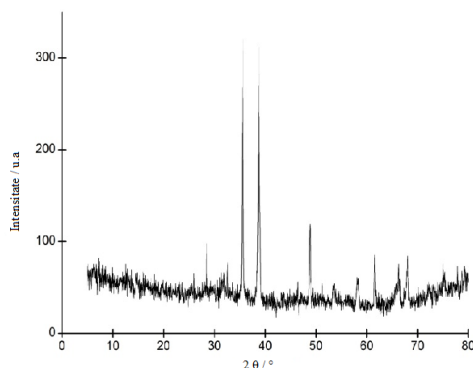
**Descompunerea termică** a derivaților de tip clorură a fost investigată prin înregistrarea simultană a **curbelor TG/DSC** (fig.6) /25/ și identificarea gazelor degajate în fiecare etapă cu ajutorul spectrometriei de masă. S-a observat apariția unor fragmente în fază gazoasă ( $H_2$ ,  $C$ ,  $C_6H_8$ ,  $CN_2H_3$  și  $HCO_2$ ) iar oxidarea unora dintre acestea au generat  $HO$ ,  $H_2O$  și  $CO_2$ .



**Fig. 6.** Curbele TG și DSC pentru  $[Ni_2L^2]Cl_4 \cdot 4H_2O$  (**10**)

Anionii clorură au fost eliminați ca specii de tip  $Cl$ ,  $HCl$ ,  $H_2Cl$  și  $HOCl$  ( $m/z$  35, 36, 37 și 52). Specia  $C_6H_8$  rezultă din fragmentarea ligandului organic și reducerea cu  $H_2$

a ciclului aromatic, proces catalizat de ionul metalic din combinația complexă, așa cum s-a observat și la alte combinații complexe /26/. Pentru toate speciile, produsul final al degradării termice a fost oxidul metalic cu excepția compusului  $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**) pentru care difractograma de raze X a reziduului a indicat formarea unui amestec de CuO și CuCl, identificată prin intermediul picului suplimentar care apare la  $2\theta$  de  $28,5^\circ$  (fig. 7). Diferența observată între pierderea de masă poate fi explicată prin faptul că se formează ca intermediar  $\text{CuCl}_2$  care se descompune în CuCl, și o mare parte din acest produs se volatilizează /27/.



**Fig. 7.** Difractograma prin raze X a pulberii obținută ca reziduu din combinația complexă  $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**)

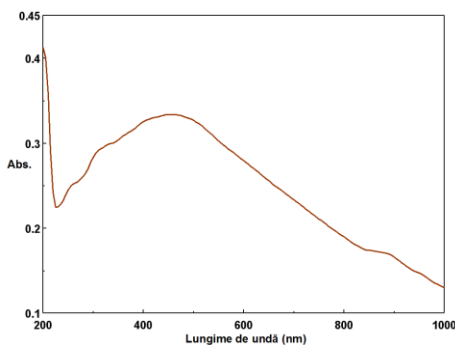
**Spectrele IR** ale combinațiilor complexe au indicat coordinarea prin intermediul grupării amină secundară prin deplasarea benzii caracteristice acesteia spre numere de undă mai mici față de cea din spectrul ligandului. De asemenea, s-au identificat benzile caracteristice grupărilor carboxilat iar diferența dintre acestea a indicat pentru compușii  $[\text{Cu}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot \text{H}_2\text{O}$  (**17**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (**18**) prezența acestuia ca ligand monodentat iar pentru combinația complexă  $[\text{Ni}_2\text{L}^2](\text{CH}_3\text{COO})_4\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**16**) prezența acestuia în sfera de ionizare /18/. În cazul compușilor de tip perclorat, benzile caracteristice modurilor de vibrație  $\nu_3$  și  $\nu_4$  au indicat prezența anionului perclorat în sfera de ionizare /19/.

**Spectrele  $^1\text{H}$  RMN** au prezentat semnalele corespunzătoare tuturor protonilor din structura bisazamacrociclică cum ar fi cei din grupările etilenice /28/, metilenice /27/ și fenilenice /29/. Coordinarea grupării NH în cazul compușilor de zinc a dus la deplasarea semnalului atribuit acestei grupări spre câmp puternic comparativ cu cel identificat în spectrul ligandului.

**Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN** al compusului  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (**18**) a prezentat benzi caracteristice tuturor atomilor de carbon din structura ligandului bispentaazabismacroscopic și a grupării acetat.

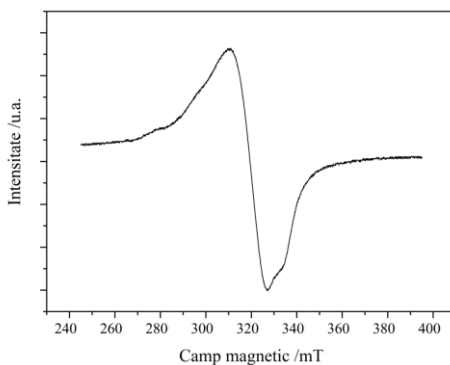
Pe baza datelor obținute din **spectrele electronice** s-au propus următoarele stereochemii: plan pătrată ( $[\text{Ni}_2\text{L}^2]\text{Cl}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**10**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^2](\text{ClO}_4)_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**14**),  $[\text{Ni}_2\text{L}^2](\text{CH}_3\text{COO})_4\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**16**)), octaedrică distorsionată ( $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**) (fig.8),  $[\text{Cu}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot \text{H}_2\text{O}$  (**17**)) și piramidă pătrată cu configurație de tip spin maxim ( $[\text{Ni}_2\text{L}^2(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (**13**)).

Valoarea produsului  $(\chi T)_{\text{HT}}$  pentru compusul  $[\text{Ni}_2\text{L}^2(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (**13**) este comparabilă cu cea calculată pentru specii dinucleare ale acestui ion metalic /30/.



**Fig.8.** Spectrul electronic al combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4] \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**)

**Spectroscopia RPE** a confirmat stereochemia octaedrică sau plan pătrată propusă pentru combinațiile complexe ale Cu(II) (fig. 9), a indicat prezența unei distorsiuni axiale și a interacției între centrii paramagnetici pentru specia plan pătrată, un grad mare de legătură covalentă  $\sigma$  în plan între ionul de Cu(II) și atomii de azot ai ligandului azamacrociclic și apariția cuplajului hiperfin la unele dintre aceste combinații.



**Fig.9.** Spectrul RPE în banda X pentru combinația  $[\text{Cu}_2\text{L}^2](\text{ClO}_4)_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**14**)

**Conductivitățile electrice molare** au indicat pentru compușii  $[\text{Zn}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  (**12**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (**18**) caracterul de neelectrolit, în timp ce pentru compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_4$  (**15**) această valoare indică o comportare de electrolit de tip 1:4.

**Activitatea antimicrobiană** a fost testată pe aceleași microorganisme bacteriene și fungice de referință și izolate din clinică ca și în cazul anterior precum și pe două tulpini foarte rezistente la antibiotice și anume *Staphylococcus aureus* MRSA 1684 care produce infecții greu de tratat ca urmare a faptului că a dobândit rezistență la meticilină și *Escherichia coli* ESBL 1576 care produce enzime beta lactamice care conferă rezistență la cele mai multe antibiotice (peniciline, cefalosporine, cefamicine și carbapeneme).

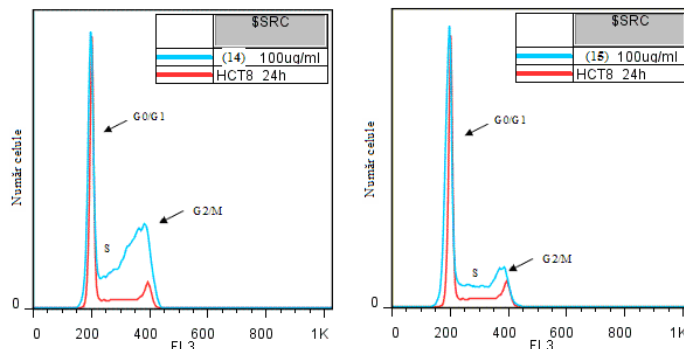
Din acest punct de vedere, activitatea antibacteriană a combinațiilor complexe ale Ni(II) a fost mai bună comparativ cu cea prezentată de compușii de Cu(II) și Zn(II), manifestându-se pe un număr mai mare de tulpini microbiene și la o valoare CMI mai mică. Compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (**18**) a fost singurul care a prezentat atât activitate antibacteriană cât și antifungică. Compușii  $[\text{Ni}_2\text{L}^2]\text{Cl}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**10**) și  $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**) au prezentat valori CMI de 62,5 și respectiv 31,25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  în cazul tulpinii *E. coli* ESBL. Compușii  $[\text{Cu}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (**11**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^2\text{Cl}_4]\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  (**12**) au inhibat aderența biofilmului la substrat inert în cazul tulpinii *E. coli* ESBL până la concentrații de 7,81 și 62,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , activitate care s-a corelat cu natura de tip neelectrolit a acestora care le permite astfel o trecere mai ușoară prin membrana lipidică a microorganismelor patogene.

Activitatea antimicrobiană redusă a unor combinații complexe s-a corelat cu **caracterul hidrofil** al acestora. Pe de altă parte, activitatea antimicrobiană poate fi asociată și cu alți factori în afară de capacitatea de difuzie prin membranele celulare, cum ar fi solubilitatea, stereochimia, stabilitatea termodinamică și cinetică, precum și efectul combinat al ligandului și ionului metalic de a inactiva o anumită componentă a microorganismului patogen.

Activitatea citotoxică a fost testată prin evaluarea viabilității celulelor HCT 8 utilizând albastru tripan iar tratamentul celulelor cu aceste combinații pentru 24 de ore nu a indus efecte toxice asupra celulelor HCT 8 cu excepția compușilor



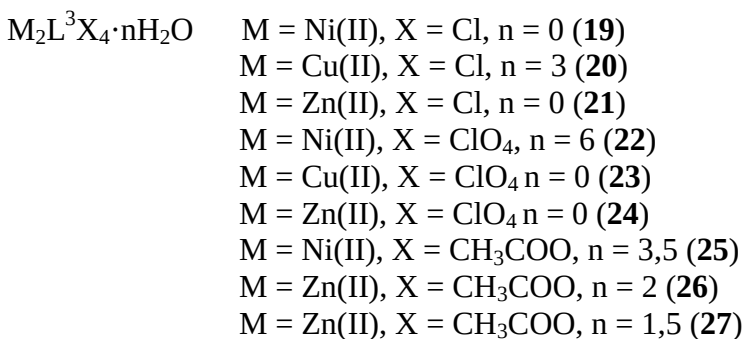
$[\text{Cu}_2\text{L}^2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**14**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_4$  (**15**) pentru care se observă un procent mai mare de celule aflate în faza de mitoză (fig. 10).



**Fig. 10.** Histograma efectelor compușilor  $[\text{Cu}_2\text{L}^2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**14**)  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_4$  (**15**) și a martorului asupra fazelor ciclului celular în cazul celulelor tumorale HCT 8

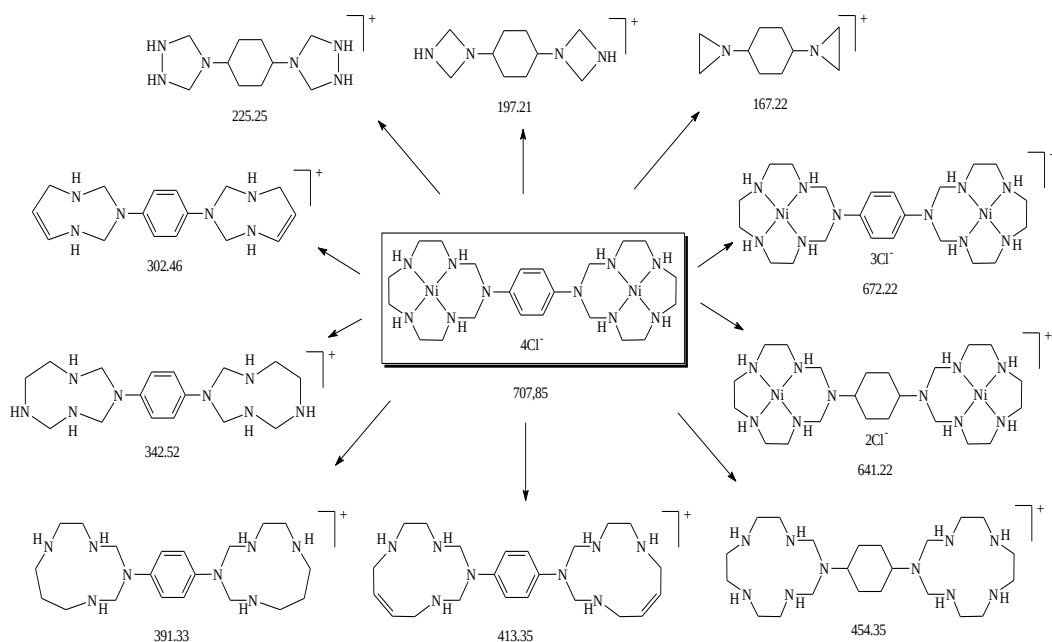
### Combinatii complexe ale Ni(II), Cu(II) și Zn(II) cu ligandul 1,4-bis(N,N-1,3,6,9,12-pentaazaciclotridecan)-benzen

O altă categorie de combinații complexe a fost obținută prin aceeași reacție de condensare "one pot" ca și speciile din capitolele anterioare, utilizându-se ca amină aromatică 1,4-fenilendiamina. Prin corelarea rezultatelor obținute din datele analitice și spectrale s-au fost propus următoarele formulări:



**Spectrele de masă** ale acestor compuși s-au evidențiat față de cele anterioare printr-o intensitate mai mare a picurilor ceea ce a indicat o stabilitate crescută a speciilor rezultate din bombardarea cu electroni accelerați /31/, ca și în cazul ligandului unde prezența ionului molecular cu  $m/z$  454 s-a identificat în proporție de 100%. Pe baza spectrului ESI MS pentru compusul  $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$  (**19**) s-a propus o schemă de fragmentare pornind de la structura bisazamacrociclică inițială prin eliminarea unui număr diferit de

anioni clorură, a ionilor metalici, ruperea legăturilor dintre grupările aminice, metilenice sau etilenice cu formarea unor cicluri macrociclice mai mici (schema 2).



**Schema 2.** Fragmentarea compusului  $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**19**) pe baza valorilor  $m/z$  din spectrul ESI-MS

**Analiza termică** a derivaților de tip clorură și acetat a indicat etapele: eliminarea moleculelor de apă, degradarea oxidativă a liganzilor organici (ligandul bisazamacrocyclic și acetat) și eliminarea clorului produsul final fiind oxidul metalic.

**Spectrele IR** au evidențiat modul de coordinare (prin gruparea amină secundară) și informații despre natura liganzilor.

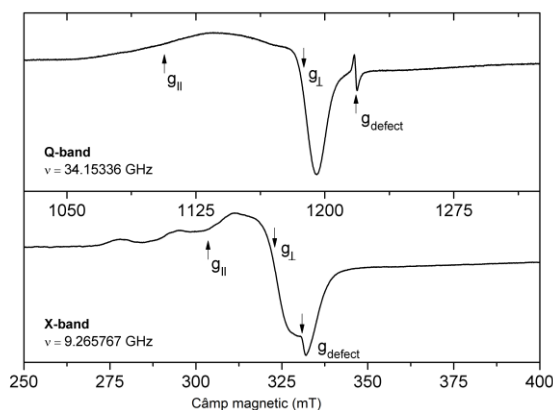
**Spectrele  $^1\text{H}$  RMN** ale tuturor compușilor de zinc au prezentat semnalul de tip singlet al protonului grupării amine secundare deplasat spre câmp puternic.

Coordinarea grupării acetat în compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^3(\text{CH}_3\text{COO})_4] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  (**27**) a fost susținută de **spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN** prin deplasarea semnalelor celor doi atomi de carbon din această grupare spre câmp puternic față de cele semnalate în compusul  $[\text{Ni}_2\text{L}^3](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$  (**25**).

Pe baza **spectrelor electronice** și a produsului  $(\chi T)_{\text{HT}}$  la temperatura camerei s-au propus pentru combinațiile complexe ale Ni(II) și Cu(II) stereochemiile de tip: piramidă

pătrată cu configurația de tip spin maxim ( $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**19**)), plan pătrată ( $[\text{Ni}_2\text{L}^3](\text{ClO}_4)_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**22**),  $[\text{Ni}_2\text{L}^3](\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$  (**25**)) și octaedrică distorsionată ( $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^3(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_4$  (**23**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^3(\text{CH}_3\text{COO})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**26**)).

**Spectroscopia RPE** a indicat un grad mare de legătură covalentă  $\sigma$  în plan între ionul de Cu(II) și atomii de azot ai ligandului azamacrociclic și apariția cuplajului hiperfin. În cazul combinației  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) spectrul RPE a fost înregistrat la temperatura camerei în bandă X și Q (fig.11) /32/.



**Fig. 11.** Spectrul RPE în banda X și Q pentru combinația  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**)

În ambele spectre apare o bandă suplimentară mai bine evidențiată în banda Q, care s-a atribuit unui defect structural paramagnetic.

**Voltamogramele ciclice** ale compușilor  $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**19**) și  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) nu au prezentat unde anodice, comportament care a indicat faptul că ligandul bisazamacrociclic a stabilizat ionul metalic ca M(II). Voltamograma ciclică a compusului  $[\text{Zn}_2\text{L}^1\text{Cl}_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**21**) a indicat o reducere cvasireversibilă corespunzătoare unui proces de reducere bielectronic.

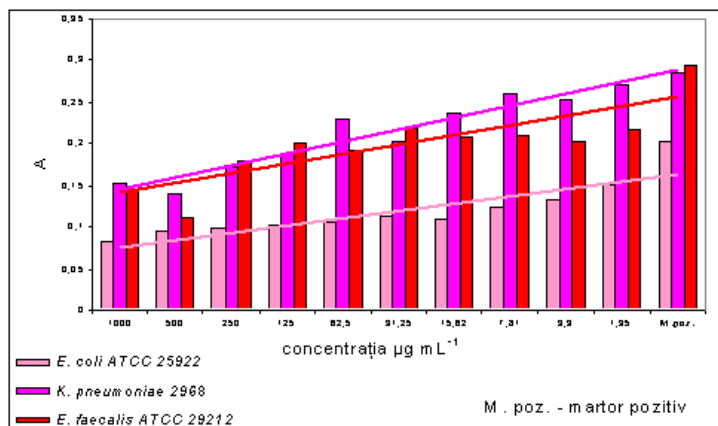
**Conductivitățile electrice molare** au indicat comportarea de tip neelectrolit (**20**), (**27**) sau electrolit (**19**), (**21**), (**24**) pentru combinațiile complexe.

Activitatea bacteriană față de tulpinile foarte rezistente la antibiotice a crescut comparativ cu speciile din seria anterioară. Astfel, compusul  $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**19**) a prezentat o activitate antimicrobiană față de tulpina *S. aureus* MRSA (rezistentă la meticilină) cu o valoare a CMI de  $15,62 \mu\text{g mL}^{-1}$  iar pentru compusul  $[\text{Zn}_2\text{L}^3]\text{Cl}_4$  (**21**) s-a

remarcat o activitate antimicrobiană asupra tulpinii *E.coli* ESBL (producătoare de enzime lactamice) până la concentrația de  $7,81 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

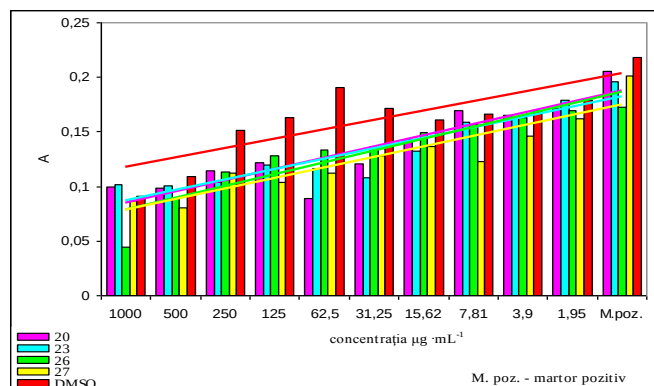
Activitatea antimicrobiană cea mai bună pentru  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) (CMI între 3,9 și  $15,62 \text{ mg mL}^{-1}$  față de tulpinile *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* 13147 și *S. aureus* 13294) s-a corelat cu cea mai mare valoare negativă a **coeficientului de distribuție octanol - apă** și s-a explicat prin faptul că aceasta fie pătrunde în citoplasma microorganismului prin intermediul porinelor și interacționează cu ținta intracelulară, fie specia cationică poate interacționa electrostatic, cu grupările funcționale negative din componența membranei, blocând astfel accesul nutrienților și procesul de respirație al microorganismelor patogene.

Activitatea antimicrobiană a combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) s-a evidențiat și prin **inhibarea aderenței biofilmului la substrat inert** pentru mai multe tulpini microbiene: *E coli* ATCC 25922 și *K. pneumoniae* 2968 în întreaga gamă de concentrații ( $1000\text{--}1,95 \text{ mg mL}^{-1}$ ) iar pentru tulpina *E. faecalis* ATCC 29212 pentru concentrații mai mari de  $31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$  (fig.12).



**Fig.12.** Efectul combinației complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) asupra aderenței biofilmului la substrat inert în cazul tulpinilor *E coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* 2968 și *E. faecalis* ATCC 29212

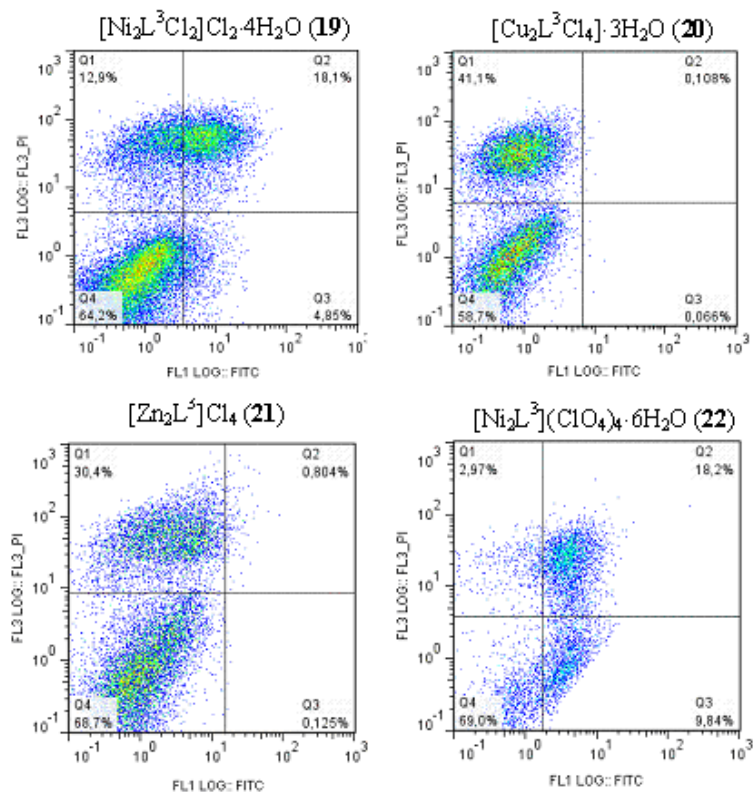
Toate combinațiile cuprului și  $[\text{Zn}_2\text{L}^3(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  (**27**) au inhibat aderența biofilmului la substrat a tulpinii fungice *C. krusei* pe întreg domeniul de concentrații ( $1000\text{--}1,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (fig.13).



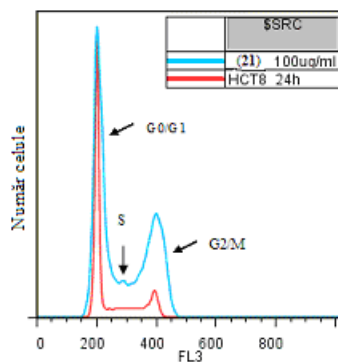
**Fig.13.** Efectul combinațiilor complexe  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^3(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_4$  (**23**),  $[\text{Cu}_2\text{L}^3(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**26**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^3(\text{CH}_3\text{COO})_4]\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$  (**27**) asupra formării de biofilm în cazul tulpinii *C.krusei* 963

**Testele de citotoxicitate** ale acestor compuși asupra celulelor HCT 8 prin metoda citometriei în flux /33/ au furnizat date referitoare la detecția celulelor aflate în apoptoză/necroză cu ajutorul reprezentărilor dot-plot și a etapelor ciclului celular. Astfel prin analiza statistică biparametrică a cadranelor pentru combinațiile complexe  $[\text{Ni}_2\text{L}^3\text{Cl}_2]\text{Cl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**19**) și  $[\text{Ni}_2\text{L}^3](\text{ClO}_4)_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**22**) (fig. 14) s-au observat mai multe celule apoptotice identificate prin colorare cu anexina V-FITC (4,85 și respectiv 9,84 % pentru apoptoza timpurie iar pentru apoptoza târzie 18,10 % și 18,20 %) iar pentru compușii  $[\text{Cu}_2\text{L}^3\text{Cl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**20**) și  $[\text{Zn}_2\text{L}^3]\text{Cl}_4$  (**21**) (fig. 14) apare o cantitate mai mare de celule colorate cu iodură de propidiu 41,10 și respectiv 30,40 % ceea ce indică faptul că aceștia induc o permeabilizare a membranei plasmatice adică determină distrugerea integrității membranei acestor celule.

Combinația complexă  $[\text{Zn}_2\text{L}^3]\text{Cl}_4$  (**21**) a generat cel mai mare procent de celule aflate în faza G2/M (fig. 15), aspect important deoarece acest compus poate bloca mitoza prin deteriorarea ADN-ului. Conform acestor rezultate se poate preciza pentru acest compus faptul că este un bun agent citotoxic, fiind necesare investigații suplimentare.



**Fig.14.** Reprezentarea DOT-PLOT a celulelor HCT 8 de control și tratate cu (19)- (22) după vizualizarea cu anexin V-FITC/iodură de propidiu pentru determinarea celulelor apoptotice și necrotice. Testul de diferențiere între celulele intacte ( $\text{FITC}^-/\text{PI}^-$ ), celulele apoptotice ( $\text{FITC}^+/\text{PI}^-$ ) și celulele necrotice ( $\text{FITC}^-/\text{PI}^+$ )



**Fig. 15.** Efectul compusului  $[\text{Zn}_2\text{L}^3]\text{Cl}_4$  (21) asupra fazelor ciclului celular în cazul celulelor tumorale HCT 8

Activitatea citostatică a acestui compus se poate corela cu natura de tip cation complex care favorizează atracția acestuia spre catenele ADN-ului încărcate cu sarcină negativă. După apropierea de ADN, ca și în cazul celorlalte citostatice de natură

anorganică, se formează probabil legături de tip covalent între Zn(II) cu nucleobazele, legături de hidrogen și /sau interacții  $\pi$ - $\pi$  stacking cu componentele acidului nucleic. Toate aceste interacții deformează catenele ADN-ului și produc leziuni ale acestuia pe distanță mare, leziuni care sunt mai greu de reparat de către sistemele naturale care recunosc, decupează și repară zonele distruse ale acestei biomolecule.

### **Concluzii**

În final, revenind asupra celor trei derivați de fenilendiamină care se diferențiază prin poziția reciprocă a grupărilor aminice, se poate constata pe baza tuturor datelor experimentale, că ligandul derivat de la diamina care presupune impedimente sterice minime și o distanță mai mare între cei doi ioni metalici 1,4-fenilendiamina prezintă avantajul de a genera o capacitate superioară din punct de vedere al activității antimicrobiene și citotoxicității.

Pe de altă parte, nu surprinde faptul că ionul de Zn(II) este prezent în compușii cu performanța cea mai bună, având în vedere faptul că specia acestui ion metalic cu paraxililbisciclamul reprezintă combinația activă din medicamentul antiviral *Mozobil*.

Activitatea antimicrobiană foarte bună a unora dintre combinațiile obținute atât în cazul celulelor planctonice cât și înglobate în biofilm este de natură să recomande continuarea cercetărilor în sensul dezvoltării de noi materiale sau strategii pentru combaterea biofilmelor patogene implicate frecvent în etiologia infecțiilor cronice, precum și în tratamentul infecțiilor produse de tulpini care au dobândit rezistență la antibiotice.

### **Bibliografie**

1. A. De Blas, G. De Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, *Pure Appl. Chem.*, **65** (1993) 455-459.
2. S.K. Jung, S.G. Kang, P. Suh, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **10** (1989) 363-366.
3. H. Kim, S.G. Kang, S.K. Jeong, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **4** (2012) 1329-32.
4. E. De Clercq, N. Yamamoto, R. Pauwels, J. Balzarini, M. Witvrouw, K. De Vreese, Z. Debyser, B. Rosenwirth, B. Rosenwirth, P. Peichl, R. Datema, D. Thornton, R. Skerlj, F.

- Gaul, S.Padmanabhan, G. Henson, G. Bridger, M. Abrams, *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **38** (1994) 668-674.
5. J.B. Rubin, J.B. Rubin, A.L. Kung, R.S. Klein, J.A. Chan, Y.P. Sun, K. Schmidt, M.W. Kieran, A.D. Luster, R.A. Segal, *PNAS*, **23** (2003) 13513-13518.
6. Z.A. Siddiqi , S. Kumar , M. Khalid , M. Shahid , *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **72** (2009) 970-974.
7. K. Mochizuki, T. Sugita, F. Yamada, N. Mochizuki, K. Hayano, Y. Ohgami, *Inorg. Chim. Acta*, **362** (2009) 1204-1208.
8. H.S Choi, M.P. Suh, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48** (2009) 6865-6869.
9. C.A. Boswell, P. McQuade, G.R. Weisman, E.H. Wong, C.J. Anderson, *Nuclear. Med. Biol.*, **32** (2005) 29-38.
10. M.P. Suh, Y.E. Cheon, E.Y. Lee, *Coord. Chem. Rev.*, **252** (2008) 1007-1026.
11. R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, L. Calu, C. Bucur, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **105** (2011), 571-575.
12. C. Bucur, M. Badea, L. Calu, D. Marinescu, M.N. Grecu, N. Stănica, M.C. Chifiriuc, R.Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **110** (2012) 235-241.
13. D.A. Köse, G. Gökçe, S. Gökçeand, I. Uzun, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **5** (2009) 247-251.
14. R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **99** (2010) 893-898.
15. S.G. Kang, K. Ryu, S.K. Jung, C.S. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **17** (1996) 331-334.
16. A. Rastogi, R. Nayan, *J. Coord. Chem.*, **62** (2009) 3366-3376.
17. M. Salavati-Niasari, A. Amiri, *J. Mol. Cat. A Chem.*, **235** (2005) 114-121.
18. G.B. Deacon, J.R. Philips, *Coord. Chem. Rev.*, **33** (1980) 227-250.
19. B.J. Hathaway, Oxyanions din: G. Wilkinson, R.D. Gillard, J.A. McCleverty, *Comprehensive Coordination Chemistry*, Pergamon Press, Oxford, 1987.
- 20 R. Smith, D. Huskens, D. Daelemans, R.E. Mewis, C.D. Garcia, A.N. Cain, T. N.C. Freeman, C. Pannecouque, E. De Clercq, D. Schols, T. J. Hubin, S.J. Archibald, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 11369-11377.
- 21 A.T. Balaban, M. Banciu și I.I. Pogany, *Aplicații ale metodelor fizice în chimia organică*, Ed. Tehnica, București, 1983.



22. A.B.P. Lever, *Inorganic electronic spectroscopy*, Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1986.
23. B.J. Hathaway, D.E. Billing, *Coord. Chem. Rev.*, **5** (1970) 143-207.
24. W. Henderson, J.S. McIndoe, *Mass spectrometry of inorganic, coordination and organometallic compounds*, John Wiley & Sons, Chichester, 2005.
25. C. Bucur, R.C. Korošec, M. Badea, L. Calu, M.C. Chifiriuc, N. Grecu, N.Stănică, D. Marinescu, R. Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **113** (2013) 1287-1295.
26. S.A. Patil, U.V. Kamble, P.S. Badami, *Nucleos. Nucleot. Nucl.*, **29** (2010) 658-675.
27. G. De Micco, A.E. Bohé, D.M. Pasquevich, *J. Alloy. Compd.*, **437** (2007) 351-359.
28. R.A. Shiekh, S. Shreaz, L.A. Khan, A.A. Hashmi, *J. Chem. Pharm. Res.*, **2** (2010) 172-185.
29. M. Salavati-Niasari, F. Davar, *Inorg. Chem. Comm.*, **9** (2006) 175-179.
30. J.R. Gispert, *Coordination chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2008.
31. S. Chandra, L.K. Gupta, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **60** (2004) 1751-1761.
32. C. Bucur, M. Badea, M.C. Chifiriuc, C. Bleotu, E.E. Iorgulescu, I.A. Badea, M.N. Grecu, V. Lazăr, O.I. Patriciu, D. Marinescu, R. Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **115** (2014) 2179-2189.
33. D. Bratosin, *Explorarea structurii și funcțiilor celulare prin citometrie în flux*, ed. Universitatii de Vest: Vasile Goldis, University Press, Arad, 2007.

### Articole publicate

1. Investigation of thermal stability, spectral, magnetic and antimicrobial behavior for new complexes of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) with a bismacrocylic ligand, C. Bucur, R. Cerc Korošec, M. Badea, L. Calu, M.C. Chifiriuc, N. Grecu, N. Stănică, D. Marinescu, R. Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **113** (2013) 1287-1295 .
2. Studies on thermal, spectral, magnetic and biologic properties of new Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with a bismacrocylic ligand bearing an aromatic linker, C. Bucur, M. Badea, M. C. Chifiriuc, C. Bleotu, E.E. Iorgulescu, I. A. Badea, M.N. Grecu, V.

Lazăr, O.I. Patriciu, D. Marinescu, R. Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, DOI 10.1007/s10973-013-3460-1. **115** (2014) 2179-2189.

3. Thermal behaviour of some new complexes with decaazabismacrocylic ligand as potential antimicrobial species, C. Bucur, M. Badea, L. Calu, D. Marinescu, M.N. Grecu, N. Stănica, M.C. Chifiriuc, R.Olar, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **110** (2012) 235-241.

4. Thermal behaviour of some new complexes with bismacrocylic ligands as potential biological active species, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, L. Calu, C. Bucur, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **105** (2011) 571-575.

#### **Participări la manifestări științifice:**

1. Synthesis, spectral, biological and thermal characterization of some new complexes with bismacrocylic ligands, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, C. Cicioiu, ESTAC 2010, 22-27 august, Rotterdam, Olanda, Book of abstracts pg. 177, poster.

2. Thermal behavior of some new complexes of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) with a bismacrocylic ligand as biological active species, C. Bucur, L. Calu, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, CEEC-TAC1 2011, 7-10 septembrie, Craiova, Romania Book of abstracts pg. 404, poster.

3. Thermal behavior of some new complexes with decaaza bismacrocylic ligand as potential antimicrobial species, C. Bucur, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, CEEC-TAC1 2011, 7-10 septembrie, Craiova, Romania Book of abstracts pg. 405, poster.

4. Thermal study on new Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with a decaazabismacrocylic ligand as biological active species, C. Bucur, L. Calu, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, P. Rotaru, C. Chifiriuc, L. Marutescu, C. Bleotu, V.Lazar, ICTAC15 2012, 20-24 august, Osaka, Japan, poster.

5. New antimicrobials with a low citotoxicity based on complexes of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) with a decaazabismacrocylic ligand, C. Bucur, R. Olar, M. Badea, D. Marinescu, L. Marutescu, C. Balotescu, C. Bleotu, New Trends in Materials Science Workshop, 28-31 martie 2012, Bucuresti, poster.