

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 546.56-386:615.277.3+616-006.6-091.8-092.9(043.2)

Pantea Valeriana

**EFECTELE METABOLICE ALE COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI AUTOHTONI CU
ACȚIUNE ANTITUMORALĂ**

315.01. Biochimie medicală

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2023

Teza a fost elaborată la Laboratorul de biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” a Consorțiului fondator al Școlii doctorale în domeniul Științe medicale

Conducător științific:

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Conducător prin cotutelă:

Gulea Aurelian,
academician, Om Emerit al R. Moldova
dr. hab. șt. chim., prof. univ.

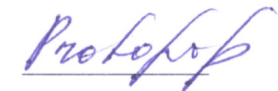


Membrii comisiei de îndrumare:

Gudumac Valentin,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Protopop Svetlana,
dr. șt. med., conf. univ.



Sardari Veronica,
dr. șt. med., cercet. șt. sup.



Susținerea va avea loc la 15.11.2023, ora 14⁰⁰, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 204), aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului (proces verbal nr. 21, din 05.10.2023).

Componenta Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Cobeț Valeriu,
dr. hab. șt. med., prof. univ.

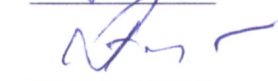


Membrii:

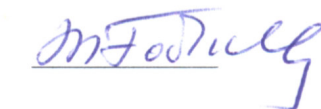
Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Gulea Aurelian,
dr. hab. șt. chim., prof. univ.



Todiraș Mihail,
dr. hab., șt. med., conf. cercet.

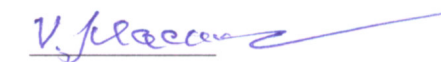


Referenți oficiali:

Gudumac Valentin,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Macari Vasile,
dr. hab. șt. biolog., conf. univ.



Caragia Svetlana,
dr. șt. biolog.



Autor

Pantea Valeriana



CUPRINS

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....	4
1. MECANISMELE DE ACȚIUNE A COMPUȘILOR COORDINATIVI LOCALI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE	7
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE A MARKERILOR BIOCHIMICI ÎN STUDIUL PRECLINIC EXPERIMENTAL AL COMPUȘILOR COORDINATIVI AUTOHTONI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE	7
3. EVALUAREA ACȚIUNII COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE <i>IN VITRO</i>	9
3.1. Evaluarea potențialului citotoxic al CCT <i>in vitro</i> în cultura de celulele de gliom C6 de șobolan	9
3.2. Evaluarea potențialului citotoxic al CCT <i>in vitro</i> în cultura de hepatocite	10
4. INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE ASUPRA INDICILOR HEMOLEUCOGRAMEI ȘOBOLANILOR SĂNĂTOȘI <i>IN VIVO</i>	12
4.1. Evaluarea impactului compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hemoleucogramei șobolanilor <i>in vivo</i>	12
4.2. Analiza comparativă a influenței compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hemoleucogramei șobolanilor <i>in vivo</i>	14
5. INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE ASUPRA INDICILOR STRESULUI OXIDATIV ȘI AI SISTEMULUI ANTIOXIDANT ÎN SERUL SANGVIN AL ȘOBOLANILOR SĂNĂTOȘI.....	14
5.1. Evaluarea activității compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra markerilor stresului oxidativ <i>in vivo</i>	14
5.2. Evaluarea acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor sistemului antioxidant în serul sangvin al șobolanilor sănătoși	16
5.3. Sinteza impactului acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant în serul sangvin al șobolanilor sănătoși	18
CONCLUZII GENERALE	20
RECOMANDĂRI PRACTICE.....	21
BIBLIOGRAFIE	22
LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE	24

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei cercetate. Actualmente, bolile oncologice reprezintă o problemă actuală a medicinei moderne. Cercetarea de noi medicamente cu activitate anti-neoplazică este una dintre sarcinile majore ale chimiei medicale moderne [1, 2]. Una dintre cele mai importante probleme în tratamentul bolilor neoplazice este toxicitatea ridicată a agenților chimioterapeutici. Până în prezent, sunt cunoscuți câteva sute de agenți antitumorali eficienți utilizați pentru a trata diferite patologii maligne și aproape toți acești compuși, utilizați în practica clinică, sunt neselectivi și toxici [2, 3, 4].

O atenție deosebită în ultimii ani se acordă bazelor Schiff - compuși chimici importanți care și-au găsit aplicații largi în diverse domenii precum chimia anorganică, analitică și medicală datorită capacității lor de a forma numeroase complexe stabile atunci când sunt coordonate cu ioni ai metalelor de tranziție [9].

Bazele Schiff se referă la legăturile imine formate în urma reacției de substituție nucleofilă ce are loc între o amină și un compus carbonil, care sunt compuși de tip aldehide și cetone, în care gruparea carbonil este înlocuită cu o grupare imină sau azometină. Grupul lor de compuși conține electroni, făcându-i candidați ideali pentru dezvoltarea de noi medicamente antitumorale implementate în chimia terapeutică [2, 9, 10]. Dintre substanțele organice utilizate ca liganzi, un rol important revine tiosemicarbazonelor (TSC), compuși cu proprietăți farmacologice și terapeutice valoroase dintre care pot fi menționate cele antimicrobiene, antimicotice, antitumorale, antitoxice, antioxidante și antidiabetice [2, 11-13]. Trebuie de remarcat faptul că activitatea biologică a tiosemicarbazonelor în stare liberă este mai puțin pronunțată decât cea a compușilor de coordonare ai liganzilor cu metalele [2, 17]. Acești compuși sunt obținuți de obicei prin reacția de condensare dintre aldehide sau cetone cu tiosemicarbazone.

Chelații macrociclici sintetici ai metalelor de tranziție joacă un rol deosebit în chimia coordinativă supramoleculară. Complexele de ioni metalici ale tiosemicarbazonelor s-au dovedit a fi agenți antitumorali mai puternici decât cisplatina. Ele inhibă proliferarea celulelor tumorale prin stoparea ciclului celular [2, 17]. Compușii coordinativi care conțin cupru și fier s-au dovedit a fi agenți terapeutici antitumorali mai activi decât semicarbazona liberă și tiosemicarbazona și capabili să perturbe metabolismul celular și căile de semnalizare. S-a observat că activitatea citotoxică depinde nu doar de ionul metalic, ci și de poziția grupării substituente pe ciclul aromatic [2, 18-23].

Deosebit de valoroase s-au dovedit a fi cercetările științifice privind sinteza dirijată a compușilor coordinativi ai metalelor *3d*, efectuate la Catedra Chimie Anorganică și Fizică de la Universitatea de Stat din Moldova. Pe parcursul ultimilor ani, sub conducerea profesorului universitar, academicianului Aurelian Gulea s-au obținut un șir de compuși noi ai metalelor *3d* cu liganzi chelanți și macrociclici, asamblați în urma condensării tiosemicarbazonei cu aldehide și cetone și care manifestă proprietăți antitumorale net superioare doxorubicinei – preparat utilizat actualmente pe larg în oncologie. Totuși, până în prezent, nu există cercetări profunde și detaliate privind influența acestor compuși asupra viabilității celulare, potențialul citotoxic și antiproliferativ *in vitro* în cancerul multifactorial, precum și efectele lor asupra celulelor normale, care ar putea servi ca bază pentru dezvoltarea de noi medicamente cu efecte anticanceroase potente și toxicitate minimă sau chiar lipsite de efecte adverse.

Scopul cercetării a fost studierea influenței compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone autohtoni asupra viabilității celulare și evaluarea mecanismelor lor biochimice de acțiune pentru selectarea compușilor cu efecte toxice minime.

Obiectivele cercetării:

1. Cercetarea efectelor compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra viabilității și proliferării celulare *in vitro* pe celule de cancer de șobolan C6.
2. Evaluarea acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra viabilității și a proliferării celulare *in vitro* pe hepatocite normale de șobolan.
3. Studierea influenței compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hematologici *in vivo* pe animale de laborator sănătoase.
4. Estimarea acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone autohtoni asupra indicilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant *in vivo* pe animale de laborator sănătoase.

Metodologia cercetării științifice.

S-a efectuat un studiu preclinic experimental *in vitro* pe anumite sisteme celulare (gliom C6 de șobolan, hepatocite normale de șobolan) și *in vivo* pe șobolani albi de laborator (*Rattus albicans*), respectând toate rigorile științifice și principiile etice de cercetare. S-a apreciat viabilitatea celulelor, capacitatea lor de proliferare și modificările sangvine și metabolice la administrarea CCT autohtone. Pentru realizarea scopului și obiectivelor tezei au fost dezvoltate un șir de micrometode de cercetare în baza metodelor existente.

Datele obținute au fost procesate statistic cu ajutorul funcțiilor și modulelor programului Statistical Package for the Social Science (v.23, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Pentru a testa diferența semnificativă dintre indicii studiați ai grupurilor comparate, a fost aplicat testul post-hoc pentru comparații multiple Games-Howel după One-Way Anova și după testul nonparametric Kruskal Wallis. Pentru stabilirea legăturilor s-a utilizat coeficientul nonparametric de corelație ρ Spearman.

Cercetarea s-a realizat la Laboratorul Biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu” în cadrul proiectelor: 1) doctoral cu tema „Efectele metabolice ale compușilor biologic activi autohtoni cu acțiune antitumorală” finanțat de Ministerul Educației și Cercetării al R. Moldova (HG nr.1071 din 22.09.2016 și ordinul MEC nr. 842 din 26.09.2016); 2) „Identificarea mecanismelor biochimice celulare și moleculare ale acțiunii compușilor bioactivi autohtoni noi și argumentarea folosirii lor în chimioprevenția și tratamentul unor procese tumorale” (cifrul 15.817.04.05F 2015 -2019); 3) „Produce noi, inovative cu performanțe remarcabile în medicină (biofarmaceutică). Elucidarea mecanismelor moleculare și celulare ale acțiunii acestor produse noi și argumentarea folosirii lor la eficientizarea tratamentului unor patologii” (cifrul 20.80009.5007.10, 2020-2023). Studiul a fost avizat pozitiv de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” (proces-verbal nr. 73, la nr. 65, din data de 26.04.2017).

Noutatea științifică a cercetării. S-a cercetat acțiunea individuală a diferitor tipuri de CCT asupra viabilității și capacității de proliferare *in vitro* a celulelor canceroase de gliom C6 de șobolan, care constituie o cultură celulară similară gliomului uman, ce permite raportarea relativă a rezultatelor la om. S-a studiat *in vitro* și potențialul citotoxic al CCT asupra hepatocitelor normale de șobolan, celule care sunt sediul metabolizării diferitor medicamente și subsecvent ținta acțiunii toxice a substanțelor farmaceutice. În ambele cazuri a fost identificată dependența acțiunii de tipul CCT – benzotiazolici, fenil și alil, și de doza administrată.

S-au elucidat *in vivo*, pe animale de laborator sănătoase, efectele CCT autohtone noi asupra celulelor sangvine (număr și proprietăți), sângele fiind implicat în transportul CCT și a metaboliților lor, precum și reflectă modificările metabolice induse de CCT în organe și țesuturi. Schimbările produse în hemoleucograma șobolanilor sănătoși au fost selective și în funcție de tipul CTT și sexul animalului de laborator.

Pentru a stabili unele mecanisme de acțiune a CCT s-au evaluat *in vivo* markerii stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant în sângele șobolanilor sănătoși, fiind constantă acțiunea modulatorie a CCT ce poate constitui posibile mecanisme ale acțiunii antitumorale a compușilor testați.

Au fost elaborate procedee optimizate de determinare a acțiunii compușilor bioactivi autohtoni.

Aprobarea rezultatelor științifice

Rezultatele cercetării au fost prezentate, discutate și aprobate la mai multe foruri științifice naționale și internaționale: a) *Zilele Universității și Conferințele științifice anuale*, Probleme fundamentale ale medicinei. Fiziologia normală și patologică, biochimie, farmacologie și farmacologie clinică. USMF “Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova, 18-20 octombrie 2017; 15-19 octombrie 2018; 15-18 octombrie 2019; b) *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Probleme fundamentale ale medicinei. Fiziologie, fiziopatologie, biochimie, farmacologie și medicină de laborator. Chișinău, Moldova, 21-23 octombrie 2020; c) *Conferințele Științifice anuale Cecetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate. Excelență și Performanță*. Probleme fundamentale ale medicinei. Fiziologie, fiziopatologie, biochimie, farmacologie și medicină de laborator. USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova, 20-22 octombrie 2021; 19-21 octombrie 2022; d) *International Chemical Engineering and Materials Symposium, SICHEM 2020*, University Politehnica of Bucharest, Romania, 17-18 september 2020; e) *8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*, USMF “Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova, 24-26 septembrie 2020; f) *Vth International Scientific and Practical Conference*, Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine. National University of Pharmacy. Educational and Research Institute of Applied Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, 11-12 march 2021; g) *Simpozion Științific Național cu participare Internațională: Biotehnologii Moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane*, Chișinău, Moldova, 20-21 mai 2021; h) *International Scientific Conference on „Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering”*, the Academy of Romanian Scientists, University Politehnica of Bucharest, Romania, 25-26 june 2021; i) *4th International European Conference on Interdisciplinary Scientific Researches*, Institute of Economic Development and Social Researches, Warsaw, Poland, august 8-9, 2021; j) *International Scientific Conference on „Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering - NanoBioMat”*, the Academy of Romanian Scientists, University Politehnica of Bucharest, 22-24 june 2022; k) *5th edition International Scientific Conference on Microbial Biotechnology*, Chisinau, Moldova, 12-13 october, 2022; l) *International Scientific Conference on „Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering – NanoBioMat”*, the Academy of Romanian Scientists, University Politehnica of Bucharest 24-26 november 2022; m) The 47th FEBS Congress „Together in bioscience for a better future”, Tours, France, 8-12 July 2023.

Publicații la tema tezei. Au fost publicate 28 de lucrări științifice la subiectul tezei, inclusiv 6 articole, dintre care 2 în reviste din baze de date internaționale (SCOPUS, Biomedicines 2023: Citescore 3,0; IF - 4,757), 1 articol în revistă internațională recenzate, 2 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B, inclusiv 1 articol în Moldovan Journal of Health Sciences (Revista de Științe ale Sănătății din Moldova) și 14 rezumate în lucrările conferințelor și congreselor științifice naționale și internaționale. Au fost obținute 3 brevet de invenții și 5 certificate de inovator.

Cuvinte cheie: compuși coordinativi locali ai cuprului cu tiosemicarbazone, viabilitate, proliferare, citotoxicitate, stres oxidativ, sistem antioxidant.

1. MECANISMELE DE ACȚIUNE A COMPUȘILOR COORDINATIVI LOCALI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE

Capitolul I prezintă o sinteză a literaturii de specialitate, având drept scop evidențierea acelor aspecte, care reflectă actualitatea cercetării efectuate. În *subcapitolul I* este descris impactul utilizării compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra stresului oxidativ și sistemului antioxidant, precum majorarea SRO poate fi utilizată ca o cale potențială pentru distrugerea celulelor canceroase, prin urmare, elaborarea unor noi molecule cu proprietăți antioxidante care pot inhiba proliferarea celulelor canceroase, reprezintă o problemă de mare actualitate. Potențialul terapeutic al diversității de molecule (atât liganzi, cât și complexe metalice) poate fi valorificat pe deplin prin proiectarea de agenți anticancerigeni noi și eficienți. În *subcapitolul 2* sunt relevate aplicațiile multifuncționale bazate pe moartea celulară indusă de cupru.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE A MARKERILOR BIOCHIMICI ÎN STUDIUL PRECLINIC EXPERIMENTAL AL COMPUȘILOR COORDINATIVI AUTOHTONI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE

În perioada 2018-2022 în cadrul Laboratorului Biochimie și Catedrei de biochimie și biochimie clinică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” a fost realizată o cercetare de tip preclinic experimental a compușilor biologic activi autohtoni *in vivo* pe animale de laborator și *in vitro* pe culturi celulare conform principiilor contemporane în standardizarea biologică a experiențelor.

Tabelul 1. Compuși coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone autohtoni studiați

Compuși coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone benzotiazolice	
CMA-18	Cloro- {1-(1,2-benzotiazol-3-il)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]diazanido} cupru
CMD-8	Cloro- {4-etil-2-[fenil (piridin-2-il)metilidenă] hidrazin-1-carbotioamido} cupru
MG-22	Cloro- {N ⁴ -(4-metoxifenil)-N,N-dimetilcarbamidotioato} cupru
Compuși coordinativi ai cuprului cu fenil-tiosemicarbazone	
CMC-34	Cloro- {N ⁴ -[fenil(piridin-2-il)metiliden]-N-piridin-2-ilcarbamo hidrazonotioato} cupru
CMJ-33	Cloro- {4- (3-metoxifenil)-2-[1-(piridin-2-il)etiliden] hidrazin-1-carbotioamido} cupru
CMT-67	Nitrato- {N-fenil-N ⁴ -(piridin-2-ilmetiliden)carbamo hidrazonotioato} cupru
Compuși coordinativi ai cuprului cu aliltiosemicarbazone	
CMG-41	Nitrato- {N ⁴ -[fenil(piridin-2-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilcarbamo hidrazonotioato} cupru
TIA-123	Cloro- {N ⁴ -[fenil(piridin-2-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilcarbamo hidrazonotioato} cupru
TIA-160	Acetato- { 2-({[(metilsulfanil)(prop-2-en-1-ilamino) metiliden]hidraziniliden} metil)enolato} cupru

Compușii luați în cercetare. În studiu au fost luați compușii coordinativi ai cuprului autohtoni noi (tabelul 1). Compușii biologic activi autohtoni - bazele Schiff noi cu liganzi chelanți și macrociclici, combinația lor cu metale *3d*, au fost sintetizați la Catedra Chimie Anorganică și Fizică de la Universitatea de Stat din Moldova sub conducerea prof. universitar, acad. Aurelian Gulea [24]. Pentru sinteza compușilor chimici testați au fost utilizați reagenți de puritate înaltă de la compania „Sigma-Aldrich”.

Desing-ul general a cercetării

Rezumatul design-ului studiului este reflectat în figura 1. Studiul efectelor biologice ale CCT s-a efectuat în 2 modele experimentale: a) *in vitro* pe cultură de hepatocite obținute din ficatul șobolanilor sănătoși și pe culturi celulare de gliom standartizate C6 de șobolan (ref-CCL-107); b) *in vivo* pe animale de laborator (*Ratta albicans*).

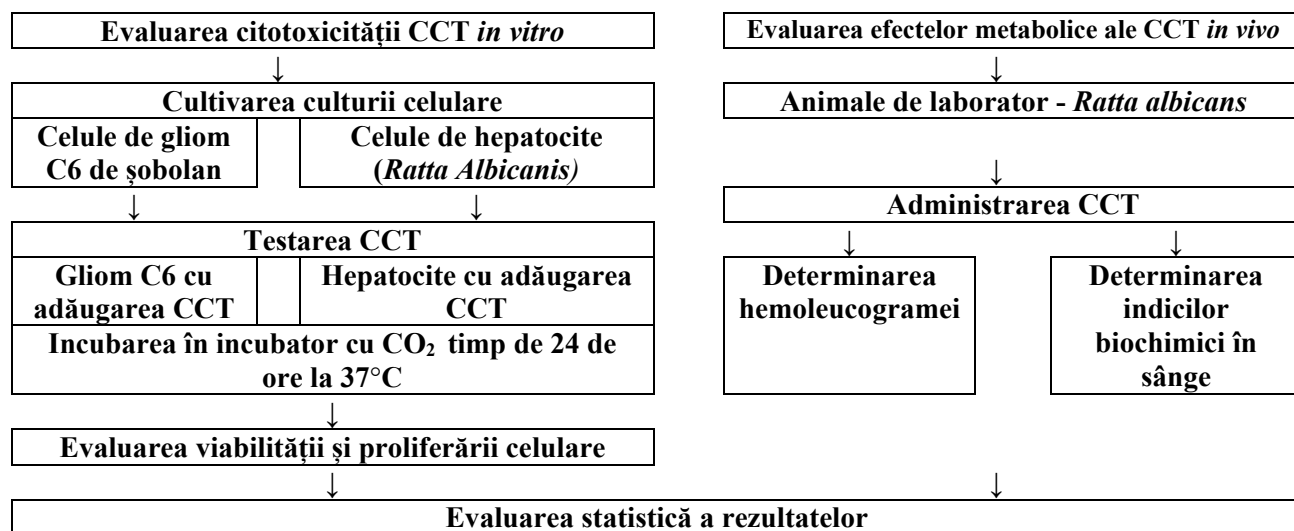


Figura 1. Design-ul studiului

Evaluarea viabilității și proliferării celulare în culturile celulare de hepatocite și gliom C6 a fost realizată prin testul MTT și cu resazurină.

Metode de investigare ale indicilor biochimici. Toate procedeele de determinare a activității enzimelor și a conținutului de substanțe au fost executate după tehnici adaptate pentru aplicarea la spectrofotometrul cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA) și spectrofotometrul Power Wave HT (BioTek Instruments, SUA). Au fost evaluați:

- Indicii stresului oxidativ:** metaboliții reactivi ai oxigenului, balanța pro-oxidantă-antioxidantă, produși proteici de oxidare avansată, dialdehida malonică, metaboliții oxidului nitric.
- Indicii sistemului antioxidant:** activitatea antioxidantă totală, capacitatea antioxidantă totală, masa substanțelor antioxidante, activitatea medie a antioxidantilor, superoxid-dismutaza și catalaza.
- Indicii metabolismului glutationic și tiol-disulfidic:** glutationperoxidaza, glutation-S-transferaza, glutation reductaza, glutationul total, homeostaza tiol-disulfidică (SH-grupe tiolice totale și SH-grupe tiolice libere și SH-grupări tiolice ale proteinelor).

Analiza statistică a rezultatelor s-a efectuat utilizând pachetul software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versiunea 23.0. Datele experimentelor realizate *in vitro* au fost

prezentate prin **media aritmetică ± deviația standard**; a celor *in vivo* prin **mediană și abaterea intercuartilă (IQR)**. S-au aplicat testul lui Levene și Kruskal-Wallis cu pragul de semnificație $p < 0,05$. S-a aplicat testarea *post-hoc* pentru comparația multiplă - Games-Hovell după One-Way Anova. Gradul de corelație dintre două variabile a fost estimat prin prisma coeficientul al rangurilor ρ Spearman.

3. EVALUAREA ACȚIUNII COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE *IN VITRO*

3.1. Evaluarea potențialului citotoxic al CCT *in vitro* în cultura de celulele de gliom C6 de șobolan

Testele cu MTT și resazurină sunt vizual aplicate pentru studiul compușilor chimici biologic activi cu potențial de medicamente cu scopul de a identifica capacitatea de a influența viabilitatea (MTT) și proliferarea (resazurină) celulelor *in vitro*.

Analiza rezultatelor testului MTT a evidențiat o diminuare semnificativă statistic ($p < 0,001$) a viabilității celulelor la administrarea compusului de referință – DOXO, atât în doză de 10,0 $\mu\text{M/L}$ (-14%), cât și de 1,0 $\mu\text{M/L}$ (-25%) comparativ cu martorul.

Administrare în doză de 10,0 $\mu\text{M/L}$ au manifestat acțiune similară cu DOXO CMD-8 (-17, $p < 0,001$), CMC-34 (-15%, $p < 0,001$), CMJ-33 (-13%, $p < 0,001$), CMT-67 și CMG-41 (-14%, $p < 0,001$). Efectul CMA-18 a fost mai pronunțat (-27%, $p < 0,001$), iar MG-22, TIA-123 și TIA-160 nu au exercitat nici o acțiune (figura 2). Micșorarea dozei administrate de 10 ori a potențiat efectele CCT asupra viabilității celulelor de gliom C6. Astfel, CMA-18 și CMT-67 au diminuat viabilitatea celulelor C6 cu cca 35% ($p < 0,001$ în ambele cazuri), CMD-8, CMC-34, CMJ-33 și CMG-41 cu cca 27% ($p < 0,001$ în toate cazurile), iar TIA-123 doar cu 14% ($p < 0,001$). MG-22 și TIA-160 nici la această doză n-a influențat viabilitatea celulelor de gliom C6.

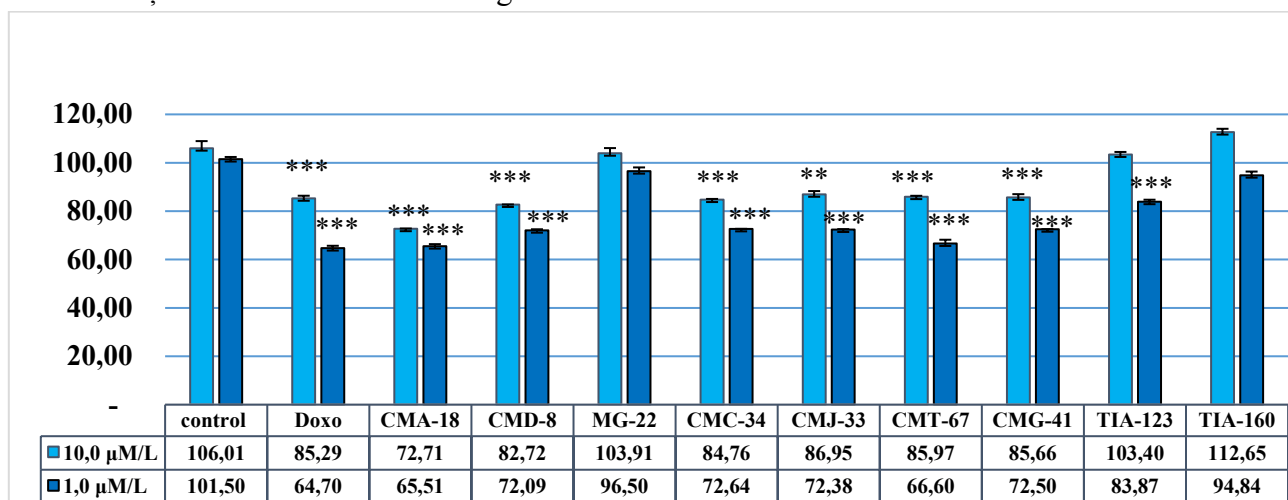


Figura 2. Influența CCT în dozele de 10,0 $\mu\text{M/L}$ și 1,0 $\mu\text{M/L}$ asupra viabilității celulare de gliom C6 de șobolan testate *in vitro* prin testul MTT

Notă: Veridicitatea statistică față de lotul-martor: ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Rezultatele testului cu resazurină au relevat că, proliferarea în timpul perioadei de incubare a culturii martor a gliomului C6 de șobolan a fost de 10,31%. Modificări semnificativ statistice ale proliferării celulelor de gliom au fost atestate când celulele au fost tratate în ambele doze cu

preparatele CMA-18 cu (+9,5% - 10,9%, $p < 0,001$), CMD-8 (+9,8% -11,5%, $p < 0,001$) și TIA-123 (+4,3% - 15%, $p < 0,001$). În același timp la administrarea MG-22 în doza 10,0 $\mu\text{M/L}$ se atestă o proliferare cu 13,8%, $p < 0,001$, iar în doza de 1,0 $\mu\text{M/L}$ cu 6,1%, $p < 0,01$. Compușii CMC-34, CMT-67, CMG-41 și CMT-67 în doza de 10,0 $\mu\text{M/L}$ au amplificat proliferarea celulelor veridic statistic cu 11,5% - 15,9%, ($p < 0,001$), pe când în doza de 1,0 $\mu\text{M/L}$ ne semnificativ cu 2,2% - 13,6%, ($p > 0,05$). Similar compusul coordinativ CMJ-33 a indus o proliferare ne semnificativ statistic în doza de 10,0 $\mu\text{M/L}$ cu 8,4%, ($p > 0,05$), iar în doza de 1,0 $\mu\text{M/L}$ cu 6,5%, ($p < 0,001$) (figura 3).

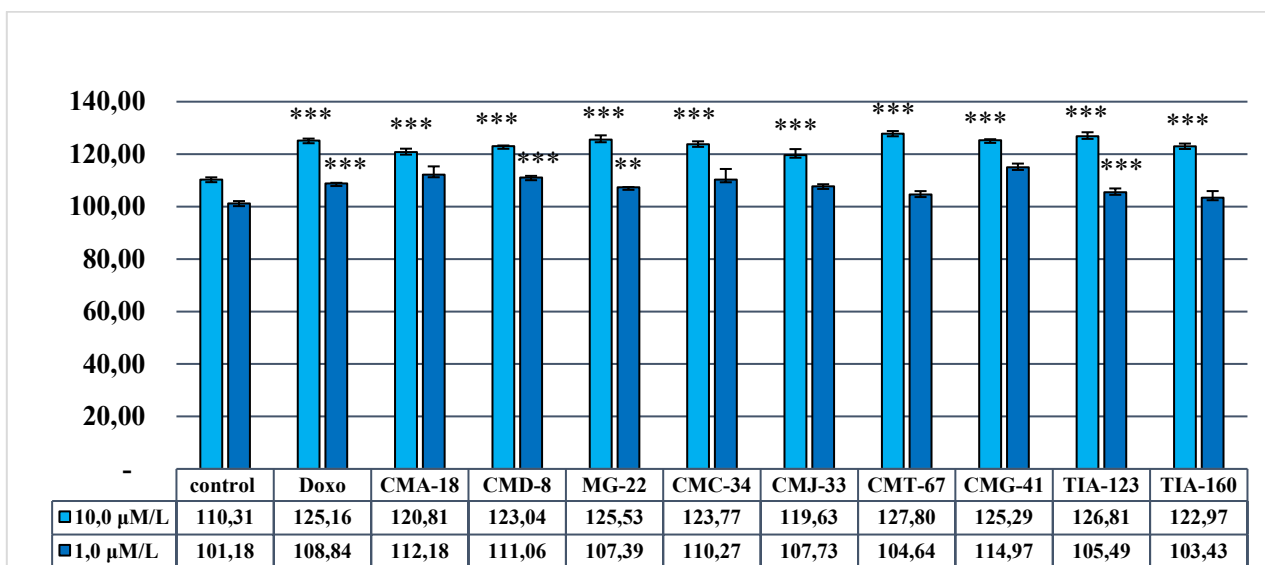


Figura 3. Proliferarea celulelor de gliom C6 de șobolan (CCL-107) sub influența CCT în dozele de 10,0 $\mu\text{M/L}$ și 1,0 $\mu\text{M/L}$ evaluate prin testul cu rezazurină

Notă: Veridicitatea diferenței statistice comparative cu lotul-martor: ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

3.2. Evaluarea potențialului citotoxic al CCT în vitro în cultura de hepatocite

Luând în considerare rolul ficatului în detoxifierea compușilor endo- și exogeni, inclusiv a medicamentelor, organul este o țintă primară a acțiunii toxice a substanțelor medicamentoase, în special a celor utilizate în chimioterapie. Pornind de la aceste premise am realizat studiul efectelor CCT asupra viabilității și proliferării celulelor normale hepatice obținute de la șobolani sănătoși (*ratta albicans*).

Rezultatele testului MTT au estimat că celulele hepatice tratate cu CCT au avut viabilitate relativ ridicată, indicând o citotoxicitate scăzută a compușilor testați (figura 4).

Suplimentarea de doxorubicină într-o concentrație de 10,0 $\mu\text{M/L}$ la cultura de hepatocite a indus o scădere ne semnificativă a viabilității hepatocitelor (10%, $p > 0,05$). Analiza rezultatelor testului MTT a indicat că viabilitatea celulelor tratate cu CCT la o concentrație de 10,0 $\mu\text{M/L}$ a scăzut semnificativ doar sub influența CMC-34 (5,8%, $p < 0,001$), CMT-67 (12,5%, $p < 0,01$) și TIA-160 (11,0, $p < 0,01$), în timp ce alți CCT au redus ne semnificativ viabilitatea hepatocitelor cu 5% - 11%, ($p > 0,05$). În rezultatul cercetărilor se poate concluziona că CCT la o concentrație de 10,0 $\mu\text{M/L}$ nu au manifestat un efect toxic asupra celulelor hepatice, care și-au păstrat în mare măsură viabilitatea, posibil datorită funcțiilor metabolice păstrate.

La administrarea CCT în doza de 1,0 $\mu\text{M/L}$ s-a constatat că, toți compușii au scăzut sugestiv statistic viabilitatea: CMG-41 (14,5%, $p < 0,001$), CMC-34 (17,4%, $p < 0,001$), CMT-67 (17,6%, $p < 0,05$), MG-22 (18,8%, $p < 0,001$), CMJ-33 (21,06%, $p < 0,001$), TIA-123 (21,4%, $p < 0,001$). Compușii CMA-18, DOXO, CMD-8 și TIA-160 au determinat scăderea veridic statistic cu 14 % - 22%, $p < 0,001$, demonstrând cel mai bun efect asupra celulelor hepatice, care și-au păstrat funcțiile și viabilitatea într-o măsură mai mare.

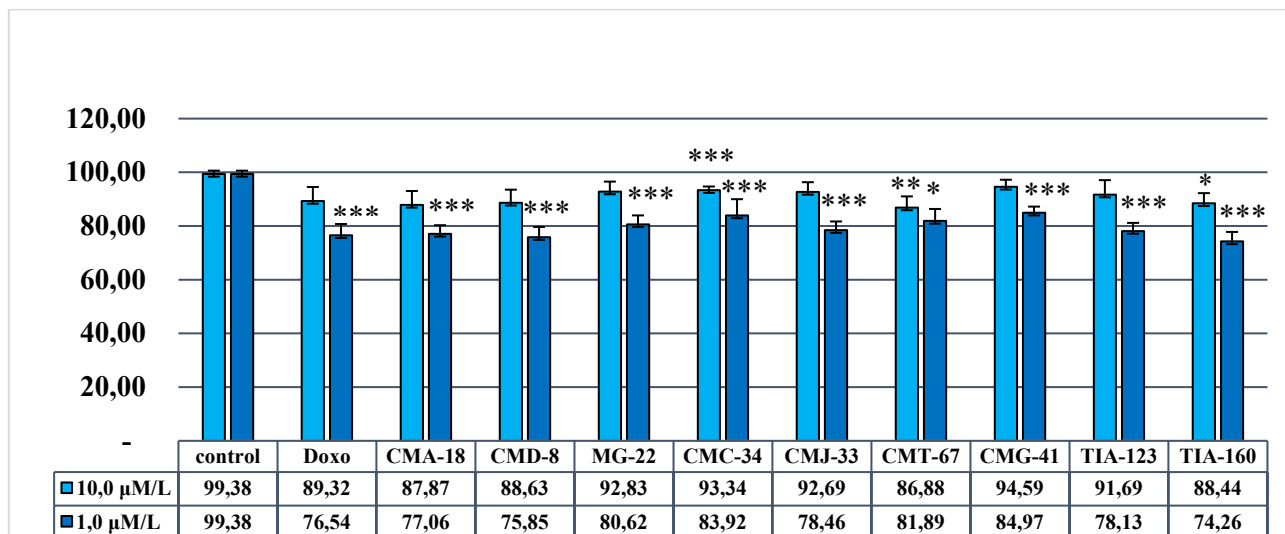


Figura 4. Rezultatele evaluării viabilității și citotoxicității *in vitro* sub acțiunea CCT (10,0 $\mu\text{M/L}$ și 1,0 $\mu\text{M/L}$) în hepatocite de șobolan

Notă: Veridicitatea statistică față de lotul-martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Rezultatele testului cu resazurină au relevat că proliferarea în perioada de incubare a culturii martor a hepatocitelor a constituit de 12,99%. Efectul CCT 10,0 $\mu\text{M/L}$ asupra proliferării culturii de hepatocite, evaluat cu ajutorul testului cu resazurină, a stabilit modificări semnificative statistic la tratamentul cu CMA-18 (+38%, $p < 0,001$), CMC-34 (-16%, $p < 0,05$) și CMJ-33 (-15%, $p < 0,05$), creșterea nesemnificativă statistic a fost produsă de CMG-41 (+1%, $p > 0,05$), MG-22 (+20%, $p > 0,05$) și DOXO (+24%, $p > 0,05$), în timp ce s-a înregistrat o diminuare statistic nesemnificativă la administrarea CMD-8 (1,17%, $p > 0,05$), CMT-67 (7%, $p > 0,05$), TIA-160 (9,62%, $p > 0,05$) și TIA-123 (15,09%, $p > 0,05$) (figura 5).

Testul cu resazurină a influenței CCT în doza de 1,0 $\mu\text{M/L}$ asupra proliferării culturii de hepatocite a atestat o creștere nesemnificativ statistic indusă de DOXO (+2%, $p > 0,05$) și o scădere nesemnificativă statistică a MG-22 (4%, $p > 0,05$). O creștere veridic statistică ale proliferării culturii de hepatocite au fost atestate atunci când hepatocitele au fost tratate cu CMA-18 (+20%, $p < 0,05$), în timp ce s-a înregistrat o scădere statistic semnificativă cu CMD-8 (25%, $p < 0,001$), CMJ-33 (27%, $p < 0,001$), TIA-160 (26,62%, $p < 0,001$), CMT-67 (27,48%, $p < 0,001$), CMC-34 (27,87%, $p < 0,001$), CMG-41 (28,31%, $p < 0,05$) și TIA-123 (38,37%, $p < 0,001$).

În rezultatul cercetărilor se poate concluziona că compușii testați în doză de 1,0 $\mu\text{M/L}$ exercită efecte nefavorabile asupra viabilității și proliferării celulare. Majorarea concentrației conduce la anihilarea efectelor respective. Astfel, în doza de 10,0 $\mu\text{M/L}$ compușii CMD-8, MG-22, CMG-41 și

TIA-123 nu afectează viabilitatea și proliferarea celulelor hepatice normale, iar CMA-18 stimulează proliferarea lor fără a influența viabilitatea.

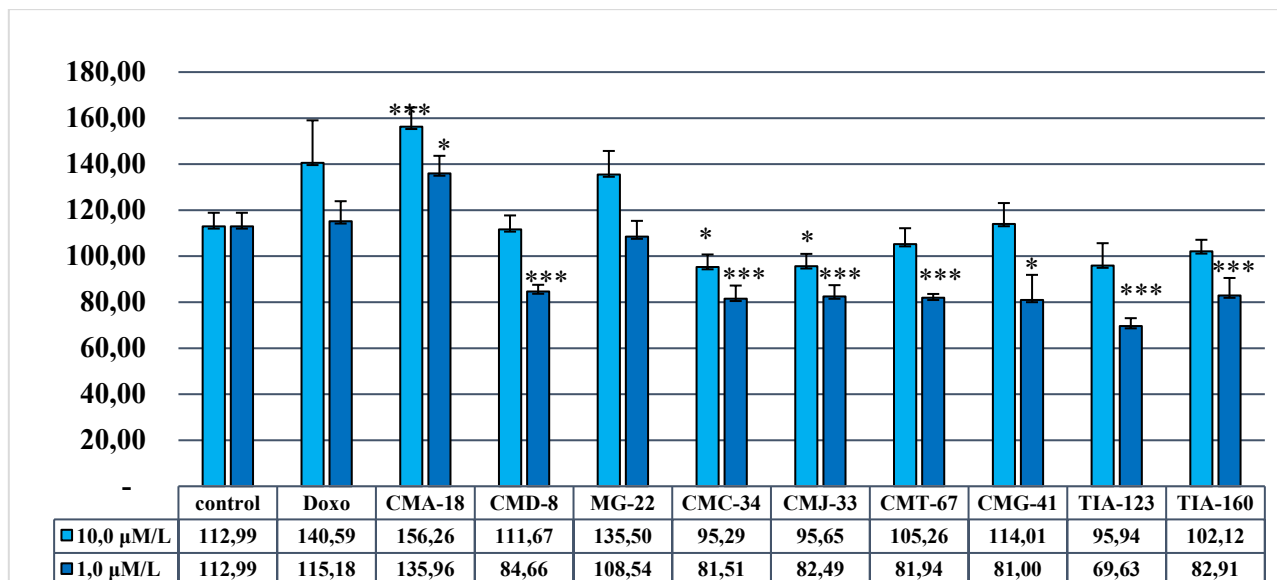


Figura 5. Proliferarea hepatocitelor sub influența CCT la dozele de 10,0 μM/L și 1,0 μM/L evaluată prin testul cu rezazurină

Notă: semnificația statistică în comparație cu martorul: * – p< 0,05; *** – p< 0,001.

4. INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE ASUPRA INDICILOR HEMOLEUCOGRAMEI ȘOBOLANILOR SĂNĂTOȘI *IN VIVO*

4.1. Evaluarea impactului compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hemoleucogramei șobolanilor *in vivo*

S-a constatat că *CCT benzotiazolice* administrați animalelor de laborator nu au modificat statistic semnificativ numărul de eritrocite, precum și raportul eritro-plasmatic (HCT). Totodată, s-a atestat modificarea conținutului total de hemoglobină, care a fost statistic semnificativă la administrarea MG-22 atât la femele (+3%, p< 0,01), cât și la masculi (-8%, p< 0,05), și la administrarea CMA-18 la masculi (-9%, p< 0,01). În celelalte cazuri s-au atestat la animalele ambelor sexe doar tendințe neveridice de diminuare a conținutului total de hemoglobină de diferită amploare (-11-5%). La fel nu a fost modificată concentrația medie eritocitară a hemoglobinei (MCH), dar s-a atestat creșterea conținutului de hemoglobină per unitate de volum eritocitar la administrarea tuturor CCT la femele (CMA-18 - +7%, p< 0,05; CMD-8 - +9%, p< 0,01 și MG-22 - + 8%, p< 0,05) și diminuarea la administrarea a MG-22 la masculi (-4%, p< 0,01).

Cu excepția CMD-8 la femele (-7%, p< 0,05) CCT testați nu au influențat volumul mediului eritrocitelor, MCV variind în limitele de (-1)-(-7)% atât la femele cât și la masculi. Minore au fost și influențele CCT benzotiazolice asupra indicilor ce relevă variațiile dimensiunilor eritrocitelor – RDW și RDW-CV. La femele, a fost concludent diminuat RDW-CV de către MG-22 (-17%, p< 0,001), iar la masculi RDW a fost majorat de către CMD-8 (+4%, p< 0,05) și micșorat de MG-22 (-3%, p< 0,05).

Analiza impactului CCT benzotiazolice asupra indicilor leucocitari a relevat că numărul total de leucocite (WBC) nu a fost modificat de aceste substanțe cu excepția MG-22, care a micșorat numărul WBC la femele cu 22%, iar la masculi cu 16% ($p < 0,05$, în ambele cazuri).

Analiza rezultatelor modificărilor liniei eritrocitare a relevat că **CCT fenil** nu au modificat numărul de eritrocite și raportul plasmă/elemente figurate (HCT) atât la femele, cât și la masculi. Totuși derivații fenil ai TSC au avut impact statistic semnificativ, de amploare mică asupra celorlalți indici eritrocitari ai hemoleucogramei, modificările fiind mai importante la femele comparativ cu masculii. Astfel, la administrarea a tuturor CCT fenil la femele s-a atestat diminuarea statistic veridică a volumului mediu al eritrocitului – cu 6% ($p < 0,01$) de către CMC-34 cu 10% ($p < 0,05$) de CMJ-33 și cu 5% ($p < 0,05$) de CMT-67, precum și a variației dimensiunilor eritrocitului cu 6% ($p < 0,01$) de către CMJ-33 și cu 10% ($p < 0,01$) de către CMT-67. Modificările dimensiunilor eritrocitelor au determinat schimbări ale cantității de hemoglobină per unitate de volum al celulei, care a diminuat ca urmare administrării tuturor CCT fenil la femele (CMC-34 - +10%, $p < 0,01$; CMJ-33 - +7% și CMT-67 - +6%, $p < 0,05$ în ambele cazuri).

La masculi s-au înregistrat modificări concludente ale 3 indicatori eritrocitari – HGB, MCHC și RDW. CMC-34 modifică doar MCHC (-4%, $p < 0,05$), CMJ-33 (-2, $p < 0,05$) și CMT-67 (-3, $p < 0,01$). La masculi a fost diminuată HGB de CMJ-33 și CMT-67 cu, respectiv, -14% și -5% ($p < 0,05$ în ambele cazuri), MCHC cu -4% de către CMC-34, -2% de către CMJ-34 și cu -3% de către CMT-67 ($p < 0,05$ în toate cazurile), RDW a fost modulată cu 1-3% ($p < 0,05$) de CMJ-33 și CMT-67.

Compușii coordinațivi ai cuprului cu **aliltiosemicarbazone** au manifestat impact important asupra indicilor hemoleucogramei la șobolanii sănătoși de ambele sexe, fiind influențați atât markerii eritrocitari, cât și cei leucocitari și plachetari.

La femele, urmare a administrării CMG-41 s-a atestat diminuarea dimensiunilor eritrocitelor (MCV cu -8%, $p < 0,05$ și RDW-CV cu -1%, $p < 0,01$) asociată cu creșterea cantității medii de hemoglobină per eritrocit cu 7% ($p < 0,01$). S-a modificat statistic veridic numărul de leucocite, dar s-a modificat și cantitatea diferitor forme. Astfel, a crescut numărul de segmentate (+47%, $p < 0,01$), de eozinofile (+68%, $p < 0,01$), de monocite (+48%, $p < 0,05$) și s-a micșorat cel al limfocitelor (-11%, $p < 0,05$). Numărul de trombocite a fost semnificativ crescut (+43%, $p < 0,01$), dar volumul mediu al celulelor plachetare s-a micșorat (-6%, $p < 0,05$).

Administrarea TIA-123 femelelor a produs schimbări practic a tuturor indicilor eritrocitari. A crescut atât numărul de eritrocite (+6%, $p < 0,01$), cât și hematocritul (+13%, $p < 0,01$), cantitatea totală de hemoglobină (+3%, $p < 0,01$) și distribuția hemoglobinei per unitate de volum celular (+7%, $p < 0,05$). De asemenea, s-au mărit indicii leucocitari. S-a atestat o creștere veridică statistic a numărului total de leucocite cu 8% ($p < 0,05$) și a numărului de eozinofile cu 53% ($p < 0,01$). Impactul asupra indicilor trombocitari a fost similar cu cel al CMG-41: s-a majorat numărul total de plachete cu 14% ($p < 0,001$) și a scăzut volumul lor mediu cu 3% ($p < 0,05$).

TIA-160 a manifestat acțiune apropiată celei determinate de TIA-123 la femele. S-au modificat indicatorii tuturor liniilor celulare sangvine – eritrocitare, leucocitare și trombocitare, dar cu diferită amploare și semnificație. S-au majorat veridic numărul de eritrocite (+3%, $p < 0,01$), hematocritul (+16%, $p < 0,001$) și cantitatea totală de hemoglobină (+2%, $p < 0,001$), iar RDW-CV s-a micșorat cu 12% ($p < 0,001$). La fel, s-au majorat numărul total de leucocite (+2%, $p < 0,05$) și segmentate (+41%, $p < 0,05$), iar cel al eozinofilelor s-a micșorat cu 4% ($p < 0,01$). Efectele asupra indicilor trombocitari

a fost similar cu cel al celorlalți compuși alitiosemicarbazone: s-a majorat numărul total de plachete cu 21% ($p < 0,001$) și a scăzut volumul lor mediu cu 3% ($p < 0,01$).

Compușii coordinativi ai cuprului cu alitiosemicarbazone TIA-123 și TIA-160 nu au modificat statistic concludent numărul de trombocite, dar au indus tendințe de majorare, cu excepția TIA-160 care a produs creșterea plachetelor cu 27% ($p < 0,05$). În același timp, volumul mediu plachetar a fost diminuat statistic veridic de TIA-123 cu 4% ($p < 0,05$).

4.2. Analiza comparativă a influenței compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hemoleucogramei șobolanilor *in vivo*

Analizând comparativ la femele și masculi modificările identificate ale markerilor seriei eritrocitare putem conchide că femelele sănătoase sunt mai sensibile la acțiunea CCT testați față de masculi. Urmare a analizei comparative a impactului CCT în funcție de natura chimică, putem concluziona că alitiosemicarbazonele produc cele mai multe modificări statistic semnificative ale markerilor eritrocitari, în special TIA-123. Alitiosemicarbazonele sunt secundate de tiosemicarbazonele benzotiazolice, cu efecte deosebit de numeroase ale MG-22. Cele mai puține modificări au fost produse de feniltiosemicarbazone, fără deosebiri între compușii individuali.

Analiza comparativă a acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu feniltiosemicarbazone la femelele și masculii sănătoși, intacti a relevat dependența de sexul animalelor, atestându-se efecte numeroase la femele și un număr redus la masculi. Totodată, nu s-au identificat diferențe importante în numărul de efecte produse de compușii unui anumit tip de CCT.

Putem concluziona că toți CCT cercetați exercită un număr similar de acțiuni asupra indicilor trombocitari, fără diferențe dictate de tipul CCT – benzotiazolice, fenil sau alil.

Per general, studiul a relevat un impact mai mare a CCT asupra indicilor hemoleucogramei la femele, precum și un număr puțin mai mic de efecte ale compușilor feniltiosemicarbazonice.

5. INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI CU TIOSEMICARBAZONE ASUPRA INDICILOR STRESULUI OXIDATIV ȘI AI SISTEMULUI ANTIOXIDANT ÎN SERUL SANGVIN AL ȘOBOLANILOR SĂNĂTOȘI

5.1. Evaluarea activității compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra markerilor stresului oxidativ *in vivo*

Dezvoltarea unor procese degenerative este corelată cu existența unui surplus nociv de radicali liberi, promotori ai unor procese oxidative dezastruoase pentru organism. Pentru a evalua proprietățile CCT incluși în studiu și a determina caracterul lor – prooxidant, antioxidant sau modulator s-a evaluat capacitatea de a induce SO și acumularea produșilor lui. Analiza rezultatelor obținute s-a efectuat luând în considerare grupul CCT (benzotiazolice, fenil și alil), precum și sexul animalelor de laborator.

Derivații benzotiazolice ai CCT nu au exercitat acțiune prooxidantă, cu excepția inducerii amplificării MRO de către CMA-18 (+83%, $p < 0,01$) și CMD-8 (+21%, $p < 0,01$) la femele. Concomitent CMD-8 a diminuat BPA la femele până la 23%, ($p < 0,001$) din valorile specifice animalelor martor. CMA-18 a indus și o tendință neconcludentă de creștere a DAM (+30%, $p > 0,05$) și PPOA (+12%, $p > 0,05$) la femele, iar în cazul CMD-8 această tendință a fost de 21% pentru ambii indici ($p > 0,05$) la femele (tabelul 2).

Tabelul 2. Nivelul indicilor stresului oxidativ și al balanței prooxidante-antioxidante (PAB) în serul de șobolani la acțiunea compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone

Grupurile de studiu masculi		MRO tret-butyl hydroperoxide, μM/L	BPA, unitati arbitrare	PPOA, μM/L	DAM, μM/L
Martor	M	450,30 ; IQR 124,43 100%	103,69 ; IQR 13,10 100%	29,25 ; IQR 9,29 100%	6,96 ; IQR 1,89 100%
	F	276,50 ; IQR 29,63 100%	98,83 ; IQR 2,35 100%	33,67 ; IQR 8,67 100%	7,85 ; IQR 1,49 100%
CCT benzotiazolici					
CMA – 18	M	604,35 ; IQR 231,08 134%	105,39 ; IQR 28,94 102%	38,90 ; IQR 23,34 133%	7,71 ; IQR 3,08 111%
	F	505,60; IQR 150,1 * 183%	95,14 ; IQR 9,97 96%	37,59 ; IQR 3,98 112%	10,23 ; IQR 2,29 130%
CMD – 8	M	438,45 ; IQR 65,18 97%	102,08 ; IQR 29,39 98%	36,82 ; IQR 8,23 126%	8,48 ; IQR 3,42 122%
	F	335,75 ; IQR 51,35 * 121%	76,33 ; IQR 6,40 *** 77%	40,60 ; IQR 6,15 121%	9,54 ; IQR 2,34 121%
MG – 22	M	438,45 ; IQR 88,88 79%	147,81; QR33,89 142%	37,77 ; IQR 34,66 129%	6,36 ; IQR 1,89 91%
	F	363,40 ; IQR 100,73 131%	115,02 ; IQR 36,63 116%	39,54 ; IQR 4,07 117%	8,84 ; IQR 3,48 113%
CCT cu fenil					
CMC – 34	M	533,25 ; IQR 189,60 118%	98,43 ; IQR 12,95 95%	37,39 ; IQR 11,8 128%	7,79 ; IQR 2,49 112%
	F	347,60; IQR 37,5 ** 126%	81,57 ; IQR 27,16 82%	36,10 ; IQR 5,21 107%	9,24; IQR 1,99 118%
CMJ – 33	M	485,85 ; IQR 106,65 108%	120,63 ; IQR 86,01 116%	37,39 ; IQR 6,54 128%	7,10 ; IQR 3,43 102%
	F	343,65 ; IQR 33,58 124%	196,44; IQR 25,7 *** 199%	38,03 ; IQR 2,81 113%	9,04 ; IQR 2,34 115%
CMT – 67	M	438,45 ; IQR 77,03 97%	111,25 ; IQR 16,98 107%	33,10 ; IQR 4,52 113%	9,68 ; IQR 3,93 139%
	F	316,00 ; IQR 73,08 113%	114,09 ; IQR 19,05 115%	37,70 ; IQR 5,2 112%	10,73 ; IQR 1,3 ** 136%
CCT cu alil					
CMG – 41	M	485,85 ; IQR 124,43 108%	132,52 ; IQR 53,10 128%	33,50 ; IQR 7,37 114%	6,92 ; IQR 1,79 99%
	F	323,90 ; IQR 37,53 117%	118,03; IQR 12,6 ** 119%	39,03 ; IQR 6,51 116%	9,44 ; IQR 1,25 120%
TIA – 123	M	426,60 ; IQR 100,73 95%	135,73 ; IQR 26,7 * 131%	27,40 ; IQR 3,90 94%	6,12 ; IQR 1,00 88%
	F	221,20 ; IQR 15,80 80%	111,68 ; IQR 19,88 113%	40,01 ; IQR 3,00 119%	8,05 ; IQR 1,64 102%
TIA – 160	M	474,00 ; IQR 82,95 105%	138,13 ; IQR 14,9 * 133%	32,98 ; IQR 10,8 113%	7,85 ; IQR 2,02 113%
	F	248,85 ; IQR 57,28 90%	130,22 ; IQR 41,15 132%	35,30 ; IQR 5,93 105%	9,54 ; IQR 1,94 121%

Notă: Veridicitatea statistică față de lotul-control: * – p< 0,05; ** – p< 0,01; *** – p< 0,001.

Derivații fenil ai CCT au avut, la fel, impact nesemnificativ asupra stresului oxidativ. Modificările identificate, ca și în cazul derivaților benzotiazolici, au fost specifice doar pentru femele. Compusul CMJ-33 a amplificat semnificativ MRO (+24%, p> 0,05) inducând concomitent o tendință

veridică de creștere a BPA (+99%, $p < 0,001$), DAM (+15%) și PPOA (+13%). CMT-67 a determinat tendințe de majorare a MRO (+13%), BPA (+15%) și PPOA (+12%), afectând concludent lipidele care s-au atestat prin creșterea veridică a DAM (+36%, $p < 0,01$). Dezechilibre în procesele pro-și anti-oxidante la femele a indus CMC-34, caracterizate prin tendința de creștere a MRO (+26%) și diminuare neveridic statistic a BPA (-18%, $p > 0,05$).

Derivații alil ai CCT au indus modificări statistic veridice doar ale BPA. S-a stabilit creșterea semnificativ statistică a indicelui la femele urmare a administrării CMG-41 (+19%, $p < 0,01$) și la masculi la tratamentul cu TIA-123 (+31%, $p < 0,05$) și TIA-160 (+33%, $p < 0,05$) comparativ cu valorile martor. Creșterea atestată la femele a fost asociată cu tendințe de majorare a MRO (+17%), DAM (+20%) și PPOA (+16%), pe când la masculi modificările au fost neunivoce. TIA-123 a indus tendințe de micșorare a tuturor markerilor – MRO (-5%), DAM (-12%) și PPOA (-6%) și iar TIA-160 – de amplificare – MRO (+5%), DAM și PPOA cu 13%.

5.2. Evaluarea acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor sistemului antioxidant în serul sangvin al șobolanilor sănătoși

Analiza influenței exercitate de compușii coordinativi ai cuprului derivați ai tiosemicarbazonei asupra indicilor generali ai sistemului antioxidant în serul sangvin al șobolanilor sănătoși a relevat lipsa unor influențe majore (tabelul 3). S-au identificat doar două modificări statistic semnificative la masculi – diminuarea antioxidantilor totali evaluați prin metoda cu ABTS cu 30% ($p < 0,001$) la administrarea CMA-18 și cu 22% ($p < 0,05$) a CMC-34.

Totuși este necesar de a menționa că toți compușii studiați au indus la femele tendințe de micșorare a AAT evaluată cu ABTS cu 9-11%, cu excepția TIA-160. Au fost atestate și tendințe statistic neveridice de majorare a TAC la animalele de ambele sexe la administrarea CMA-18 (17-19%) și CMC-34 (15-18%), precum și a AMA cu, respectiv, 15-17% și 14-15% (tabelul 3).

Nu au fost atestate modificări semnificative statistic sau tendințe de modificări ce merită a fi luate în vedere ale masei substanțelor antioxidante la administrarea tuturor CCT, a capacității antioxidante totale și activității medii a antioxidantilor la administrarea CMD-8, MG-22, CMJ-33, CMT-67, CMG-41, TIA-123 și TIA-160. Ultimul compus nu a afectat nici nivelul antioxidantilor totali evaluați prin metoda cu ABTS.

Analiza rezultatelor obținute la evaluarea activității *SOD* și a *CAT* a relevat modificări de diferită amploare și direcție la administrarea CCT, doar un număr redus din ele fiind statistic semnificative (tabelul 4).

S-a atestat la administrarea masculilor a CMD-8 diminuarea veridică a activității *SOD* (-36%, $p < 0,01$) și creșterea concomitentă a activității *CAT* (+22%, $p < 0,05$) și la administrarea a CMC-34, respectiv, a *SOD* cu 48% ($p < 0,01$) și *CAT* cu 38% ($p < 0,05$), pe când CMA-18 și TIA-123 nu au modificat activitatea *SOD*, dar au amplificat activitatea *CAT* la masculi cu respectiv 18% ($p < 0,05$) și 34% ($p < 0,05$).

Tendințe similare, dar nu identice s-au identificat ca urmare a administrării altor CCT. Astfel, tendința de micșorare a activității *SOD* a fost indusă la masculi de CMJ-33 cu 16% ($p > 0,05$), de CMT-67 cu 15% ($p > 0,05$) și de CMG-41 cu 30% ($p > 0,05$), pe când la femele acești compuși au determinat creșterea neveridică a activității *CAT* – cu 11% ($p > 0,05$) CMJ-33 și TIA-160 și cu 16% ($p > 0,05$) TIA-123.

Tabelul 3. Influența compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor generali ai sistemului antioxidant în serul sanguin al șobolanilor sănătoși

Grupurile de studiu		AAT cu ABTS, $\mu\text{M/L}$	TAC, u/c	MA, u/c	AMA, u/c
Martor	M	445,82 ; IQR 49,88 100%	9,18 ; IQR 0,96 100%	1,66 ; IQR 0,03 100%	5,54 ; IQR 0,47 100%
	F	483,72 ; IQR 57,43 100%	11,75 ; IQR 1,06 100%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,07 ; IQR 0,53 100%
CCT benzotiazolici					
CMA-18	M	311,49 ; IQR 41,84*** 70%	10,91 ; IQR 1,45 119%	1,73 ; IQR 0,09 104%	6,35 ; IQR 0,76 115%
	F	438,81 ; IQR 32,26 91%	13,70 ; IQR 1,82 117%	1,93 ; IQR 0,02 99,5%	7,09 ; IQR 0,93 117%
CMD-8	M	455,11 ; IQR 28,91 102%	9,55 ; IQR 1,13 104%	1,67 ; IQR 0,03 101%	5,77 ; IQR 0,59 104%
	F	430,70 ; IQR 7,92 89%	12,41 ; IQR 1,13 106%	1,94 ; IQR 0,02 100%	6,35 ; IQR 0,51 105%
MG-22	M	435,13; IQR 133,46 98%	9,47 ; IQR 1,62 103%	1,68 ; IQR 0,04 101%	5,72 ; IQR 0,82 103%
	F	437,70 ; IQR 23,78 90%	11,67 ; IQR 0,81 99%	1,95 ; IQR 0,01 100,5%	5,99 ; IQR 0,40 99%
CCT cu fenil					
CMC-34	M	348,84; IQR 80,10* 78%	10,80 ; IQR 2,07 118%	1,70 ; IQR 0,04 102%	6,39 ; IQR 1,00 115%
	F	426,66 ; IQR 25,56 88%	13,49 ; IQR 1,80 115%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,94 ; IQR 0,96 114%
CMJ-33	M	417,50 ; IQR 48,25 94%	9,76 ; IQR 0,88 106%	1,68 ; IQR 0,04 101%	5,83 ; IQR 0,51 105%
	F	436,22 ; IQR 45,73 90%	11,95 ; IQR 0,64 102%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,17 ; IQR 0,27 102%
CMT-67	M	429,26 ; IQR 27,62 96%	9,48 ; IQR 1,18 103%	1,67 ; IQR 0,05 101%	5,67 ; IQR 0,62 102%
	F	438,44 ; IQR 27,42 91%	12,44 ; IQR 1,93 106%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,43 ; IQR 0,96 106%
CCT cu alil					
CMG-41	M	434,38 ; IQR 6,41 97%	9,82 ; IQR 1,04 107%	1,68 ; IQR 0,02 101%	5,89 ; IQR 0,52 106%
	F	432,17 ; IQR 9,74 89%	12,14 ; IQR 0,82 103%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,26 ; IQR 0,41 103%
TIA-123	M	463,80 ; IQR 27,27 104%	8,99 ; IQR 0,32 98%	1,64 ; IQR 0,01 99%	5,47 ; IQR 0,21 99%
	F	433,28 ; IQR 16,58 90%	11,28 ; IQR 1,06 96%	1,94 ; IQR 0,01 100%	5,83 ; IQR 0,52 96%
TIA-160	M	451,08 ; IQR 17,77 101%	8,91 ; IQR 0,96 97%	1,65 ; IQR 0,03 99%	5,40 ; IQR 0,52 97%
	F	487,44 ; IQR 40,28 101%	11,66 ; IQR 0,57 99%	1,94 ; IQR 0,01 100%	6,04 ; IQR 0,29 99%

Notă: Veridicitatea statistică față de lotul-martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Tendențe de amplificare a activității ambelor enzime au fost produse de către MG-22 atât la masculi, cât și la femele și de TIA-160 la masculi. MG-22 a indus tendințe de majorare a SOD cu 25% la masculi și cu 16% la femele, iar a activității CAT – cu 12% la masculi și 17% la femele ($p > 0,05$,

în toate cazurile). TIA-160 a crescut activitatea SOD la masculi cu 14%, ($p > 0,05$) și a CAT cu 29%, ($p < 0,01$).

Tabelul 4. Acțiunea compușilor coordinativi ai cuprului derivați ai tiosemicarbazone asupra indicilor ce reflectă capacitatea de neutralizare a radicalilor în serul sagvin de șobolani

Grupurile de studiu		SOD, u/c	Catalaza, $\mu\text{M/L}$
Martor	M	55,36 ; IQR 8,93 ; 100%	18,10 ; IQR 1,9 ; 100%
	F	67,28 ; IQR 9,37 ; 100%	17,50 ; IQR 3,41 ; 100%
CCT cu benzotiazolici			
CMA-18	M	49,82 ; IQR 9,22 ; 90%	21,40 ; IQR 1,65 ; 118% *
	F	64,16 ; IQR 8,48 ; 95%	19,60 ; IQR 5,25 ; 112%
CMD-8	M	35,68 ; IQR 9,15 ; 64% **	22,07 ; IQR 1,92 ; 122% *
	F	67,95 ; IQR 4,24 ; 101%	19,30 ; IQR 5,67 ; 110%
MG-22	M	69,15 ; IQR 25,77 ; 125%	20,27 ; IQR 2,33 ; 112%
	M	64,38 ; IQR 4,47 ; 116%	20,57 ; IQR 3,83 ; 117%
CCT cu fenil			
CMC-34	M	28,71 ; IQR 14,22 ; 52% **	25,00 ; IQR 3,46 ; 138% *
	F	65,05 ; IQR 3,35 ; 97%	19,00 ; IQR 2,36 ; 109%
CMJ-33	M	46,51 ; IQR 21,76 ; 84%	19,37 ; IQR 1,99 ; 107%
	F	67,51 ; IQR 8,26 ; 100,3%	19,52 ; IQR 4,13 ; 111%
CMT-67	M	46,86 ; IQR 11,40 ; 85%	19,15 ; IQR 1,05 ; 106%
	F	65,94 ; IQR 4,35 ; 98%	20,87 ; IQR 5,70 ; 119%
CCT cu alil			
CMG-41	M	38,79 ; IQR 12,85 ; 70%	22,07 ; IQR 3,90 ; 122%
	F	63,71 ; IQR 4,13 ; 95%	18,40 ; IQR 5,67 ; 105%
TIA-123	M	57,63 ; IQR 17,12 ; 104%	24,25 ; IQR 5,56 ; 134% *
	F	64,38 ; IQR 6,69 ; 96%	20,27 ; IQR 3,71 ; 116%
TIA-160	M	63,17 ; IQR 11,98 ; 114%	23,42 ; IQR 2,63 ; 129% **
	F	63,49 ; IQR 10,93 ; 94%	19,45 ; IQR 1,95 ; 111%

Notă: Veridicitatea statistică față de lotul-martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Putem conchide că CCT induc diminuarea veridică sau tendințe de diminuare a activității SOD cu excepția MG-22 și TIA-160 la masculi. Activitatea CAT este majorată mai mult sau mai puțin pronunțat de toți CCT studiați comparativ cu nivelul stabilit la animalele martor. Modificările atestate pot demonstra o modulare a activității enzimatice adaptate la creșterea nivelului de MRO (descrisă în subcapitolul 5.1) cu scopul de a stopa declanșarea stresului oxidativ la etapele inițiale. În cadrul acțiunii CTT asupra activității SOD și CAT nu au fost remarcate diferențe semnificative între ei dictate de structura chimică, fiind atestate doar unele efecte individuale condiționate de sexul animalelor.

5.3. Sinteza impactului acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor stresului oxidativ și sistemului antioxidant ai serului sangvin al șobolanilor sănătoși

Evaluarea markerilor individuali ai SAO ne permite de a identifica acțiunea compușilor studiați asupra diferitor verigi ale protecției antioxidante.

Tabelul 5. Modificările în serul sangvin de șobolan ale nivelului glutatationului total și ai grupărilor tiolice la administrarea compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone

Grupurile de studiu		Glutation total, $\mu\text{M/L}$	Grupe tiolice totale, $\mu\text{M/L}$	Grupe tiolice libere, $\mu\text{M/L}$	Grupe tiolice a protein., $\mu\text{M/g.prot}$
Martor	M	291,46 ; IQR 83,01 100%	77,38 ; IQR 6,21 100%	74,38 ; IQR 3,94 100%	4,47 ; IQR 1,48 100%
	F	366,71 ; IQR 104,07 100%	80,40 ; IQR 19,18 100%	59,7 ; IQR 14,9 100%	5,88 ; IQR 1,63 100%
CCT benzotiazolici					
CMA-18	M	614,51; IQR 78,31*** 211%	98,44 ; IQR 9,21*** 127%	70,24 ; IQR 8,46 94%	4,66 ; IQR 0,83 104%
	F	557,31 ; IQR 106,99* 152%	70,62 ; IQR 13,36 88%	64,60 ; IQR 5,07 108%	6,18 ; IQR 5,56 105%
CMD-8	M	699,03; IQR 161,68*** 240%	100,70; IQR 3,39*** 130%	74,00 ; IQR 9,41 99%	4,28 ; IQR 0,72 96%
	F	712,99 ; IQR 117,11 ** 194%	75,13 ; IQR 7,90 93%	64,22 ; IQR 3,39 107%	6,78 ; IQR 1,66 115%
MG-22	M	571,69; IQR 121,30*** 196%	102,20; IQR 7,71*** 132%	75,13 ; IQR 3,39 101%	4,14 ; IQR 2,21 93%
	F	614,51 ; IQR 98,91 *** 168%	77,01 ; IQR 6,39 96%	67,23 ; IQR 5,07 113%	6,61 ; IQR 0,78 112%
CCT cu fenil					
CMC-34	M	470,23 ; IQR 139,05 * 161%	97,31 ; IQR 6,77*** 126%	73,25 ; IQR 4,32 98%	4,10 ; IQR 1,05 92%
	F	670,86 ; IQR 187,80* 183%	75,51 ; IQR 11,84 94%	66,86 ; IQR 11,85 112%	7,51 ; IQR 1,34 70%
CMJ-33	M	655,62 ; IQR 275,78 * 225%	108,97; IQR 2,41*** 141%	77,39 ; IQR 11,5 104%	3,92 ; IQR 1,12 88%
	F	600,29 ; IQR 134,79 ** 164%	73,63 ; IQR 6,76 92%	63,47 ; IQR 4,52 106%	5,68 ; IQR 1,99 97%
CMT-67	M	542,84 ; IQR 265,06 186%	100,32; IQR 3,76*** 130%	72,50 ; IQR 22,0 97%	3,99 ; IQR 1,17 89%
	F	684,99 ; IQR 187,80** 187%	78,14 ; IQR 5,45 97%	67,98 ; IQR 2,07 114%	7,10 ; IQR 1,19 121%
CCT cu alil					
CMG-41	M	557,31 ; IQR 121,76** 191%	108,22 ; IQR 5,3*** 140%	68,74 ; IQR 3,01 86%	3,76 ; IQR 0,67 84%
	F	557,31 ; IQR 129,08 * 152%	75,13 ; IQR 4,14 93%	65,36 ; IQR 4,51 109%	6,61 ; IQR 2,60 112%
TIA-123	M	585,82; IQR 135,81 *** 201%	102,20; IQR 8,65*** 132%	80,02 ; IQR 5,26 108%	3,71 ; IQR 0,63 83%
	F	670,86 ; IQR 119,21 *** 183%	78,14 ; IQR 16,55 97%	71,37 ; IQR 8,27 119%	7,75 ; IQR 0,79 132%
TIA-160	M	542,84 ; IQR 135,59 ** 186%	101,45; IQR 10,15*** 131%	71,74 ; IQR 2,07 96%	4,27 ; IQR 0,64 95%
	F	726,86 ; IQR 171,71 *** 198%	102,20; IQR 8,65*** 132%	80,02 ; IQR 5,26 108%	3,71 ; IQR 0,63 63%

Notă: Veridicitatea statistică a diferențelor față de lotul-martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Au fost atestate tendințe considerabile de majorare a conținutului glutatationului total la femele la administrarea TIA-123 (+83%, $p < 0,001$), CMC-34 (+83%, $p < 0,05$) și CMT-67 (+87%), concomitent s-a atestat o creștere veridică la administrarea CMD-8 (+94%, $p < 0,01$), TIA-160 (+98%, $p < 0,001$), moderat la administrarea CMA-18 și CMG-41 (câte 52%, $p < 0,05$). La masculi au prevalat tendințele de creștere a conținutului de glutatation total, ele fiind înregistrate la grupul benzotiazolice cu (96% -

140%, $p < 0,01$), pe când la grupul fenil s-a evidențiat o majorare veridică la administrarea CMC-34 și CMJ-33 cu (61% -125%, $p < 0,05$). La administrarea TIA-123 (+101%, $p < 0,001$), CMG-41 (+91%, $p < 0,01$), TIA-160 (+86%, $p < 0,001$), față de lotul-martor (tabelul 5).

La administrarea tuturor CCT s-a identificat majorarea semnificativă statistic a conținutului total de grupări tiolice la masculi (tabelul 5). Creșterile au fost importante ca amploare, astfel derivații benzotiazolici au determinat majorări de 27-32% ($p < 0,001$), derivații fenil – de 26-41% ($p < 0,001$) și cei alil de 31-40% ($p < 0,001$). La femele toți compușii au indus tendințe neveridice de diminuare a nivelului total de grupări tiolice (-8-12%, $p > 0,05$), cu excepția TIA-160 care a majorat valorile grupărilor tiolice totale cu 32% ($p < 0,001$).

Creșterile descrise nu sunt determinate de creșterile corespunzătoare ale grupărilor tiolice libere totale și/sau a grupărilor tiolice ale proteinelor, modificările acestor indici fiind statistic neveridice (tabelul 5). Analiza rezultatelor evaluării markerilor respectivi relevă, totuși, unele schimbări ce trebuie considerate cu valoare informativă. Astfel, grupările tiolice libere totale denotă o tendință de majorare la administrarea tuturor CCT benzotiazolici femelelor cu cca 8-19% ($p > 0,05$), concomitent majorându-se și conținutul de grupări tiolice libere proteice cu cca 8-13% ($p > 0,05$). Derivații fenil ai CCT induc tendința de diminuare a valorilor grupărilor tiolice libere proteice atât la masculi, cât și la femele (-8-30%, $p > 0,05$), cu excepția CMT-67 care a majorat conținutul acestor grupări cu 21% ($p > 0,05$) și, concomitent, a indus tendința de creștere a conținutului de grupări tiolice libere cu 14% ($p > 0,05$). Derivații alil ai CCT au manifestat acțiune similară cu cea a derivaților fenil la masculi, inducând tendința de micșorare a grupărilor tiolice libere proteice (-5-17%, $p > 0,05$), pe când la femele a fost indusă majorarea lor cu cca +12-32% ($p > 0,05$), cu excepția TIA-160 care a determinat diminuarea lor cu 12%.

Putem conchide că CCT studiată induc modificări în acord ale markerilor individuali ai sistemului antioxidant care denotă o influență adaptivă orientată spre potențarea activității enzimelor antioxidante majore, fenomen asociat cu modularea cantității tiolilor necesari pentru funcționarea lor optimă și menținerea echilibrului tiol-disulfidic asociat și cu funcționalitatea altor biomolecule esențiale.

Derivații benzotiazolici ai CCT testați în cercetare au avut un impact mai puțin pronunțat asupra indicilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant compartiv cu cei fenil. Analiza sistemică a rezultatelor noastre au remarcant că cele mai numeroase și pronunțate efecte asupra markerilor stresului oxidativ/nitrozativ și ai sistemului antioxidant l-au exercitat derivații alil ai CCT.

Putem concluziona că CCT cercetați în studiul dat exercită efecte moderate sau minore asupra stresului oxidativ/nitrozativ și sistemului antioxidant, cu predilecție activând enzimele antioxidante (GPO și GR) și majorând conținutul total de grupe tiolice, ce poate fi considerat un răspuns adaptiv favorabil al organismului la acțiunea CCT.

CONCLUZII GENERALE

1. Majoritatea CCT testați exercită citotoxicitate selectivă în funcție de doza utilizată (10,0 $\mu\text{M/L}$ vs 1,0 $\mu\text{M/L}$) și tipul de celulă – gliom de șobolan C6 vs hepatocite normale de șobolan.
 - a) Toți CCT au indus scăderea viabilității celulelor de glioblastom C6 atât în concentrație de 10,0 $\mu\text{M/L}$ (15-27%), cât și de 1,0 $\mu\text{M/L}$ (3-35%) după o incubare de 24 de ore. Proliferarea celulelor de glioblastom C6 a fost stimulată de CCT similar cu DOXO la doza de 10 $\mu\text{M/L}$, iar la doza de

1 $\mu\text{M/L}$ cinci dintre substanțele testate (CMA-18, CMC-34, CMT-67, CMG-41 și TIA-160) nu au indus proliferarea celulară în cultura de gliom. Cumulativ CMA-18, CMC-34, CMT-67 și CMG-41 au scăzut semnificativ viabilitatea, în timp ce nu au stimulat proliferarea celulelor gliomului C6.

- b) În doză de 10,0 $\mu\text{M/L}$ CCT nu au avut un efect semnificativ asupra viabilității și proliferării celulelor hepatice, iar în concentrație redusă (1,0 $\mu\text{M/L}$) toți CCT au diminuat statistic semnificativ viabilitatea hepatocitelor la nivel similar cu cel produs de DOXO, precum și au micșorat concludent proliferarea lor (25-38%), cu excepția CMA-18 care a indus procesul.
2. S-au relevat efecte de amploare redusă ale compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra indicilor hemoleucogramei șobolanilor sănătoși, care au fost dependente major de sexul animalului de laborator și în măsură mică de tipul compusului tiosemicarbazonic – benzotiazolic, fenil sau alil. Femelele sănătoase sunt mai sensibile la acțiunea CCT testați comparativ cu masculii, la ele atestându-se semnificativ mai multe modificări veridice ale hemoleucogramei. Nu s-au identificat diferențe importante în numărul de efecte produse de compușii unui anumit tip de CCT, cu excepția impactului asupra markerilor eritrocitari, care nu au fost semnificativ modificați de feniltiosemicarbazone.
3. Rezultatele cercetării influenței compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone asupra parametrilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant evaluați *in vivo* pe animale de laborator sănătoase au relevat în general efecte pozitive, adesea sinergice, care oferă posibilitatea de modulare a statutului redox al organismului. CCT cercetați au exercitat efecte moderate sau minore asupra stresului oxidativ/nitrozativ și sistemului antioxidant, cu predilecție activând enzimele antioxidante (GPO și GR) și majorând conținutul total de grupe tiolice, ce poate fi considerat un răspuns adaptiv favorabil al organismului la acțiunea CCT.
4. Studiul mecanismelor biochimice de acțiune a compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone pentru selectarea celor cu efecte toxice minime nu au identificat deosebiri semnificative ale efectelor lor, toți CCT exercitând influența de amploare mică sau moderată asupra markerilor cercetați.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Pentru cercetarea efectelor chimici sintetici și naturali în calitate de potențiale medicamente se recomandă aplicarea metodelor optimizate, deoarece modificările propuse au permis simplificarea procedurii analitice, micșorarea cheltuielilor de reactivi costisitori și timpul de efectuare a analizelor prin procesarea concomitentă a unui număr mare de probe biologice, precum și mărirea reproductibilității și preciziei micrometodei de determinare.
2. Se recomandă extinderea cercetărilor acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului cu tiosemicarbazone benzotiazolice, fenil și alil pentru evaluarea:
 - a) *in vitro* a impactului asupra stresului oxidativ și al sistemului antioxidant în culturile celulare de gliom C6 și hepatocite normale de șobolan cu scopul de a stabili rolul proceselor în modificările viabilității și proliferării stabilite în studiul curent;
 - b) *in vivo* a acțiunii asupra stresului oxidativ și al sistemului antioxidant în creierul și ficatul, precum și în alte organe și țesuturi ale animalelor de laborator sănătoase;

- c) *in vivo* a acțiunii asupra stresului oxidativ și al sistemului antioxidant în glioamele induse pe animalele de laborator sănătoase.

BIBLIOGRAFIE

1. Falzone L., Salomone S., Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Front Pharmacol.* 2018 Nov 13;9:1300. doi: [10.3389/fphar.2018.01300](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01300). PMID: 30483135; PMCID: PMC6243123 [accesat 11.04.2018].
2. Pantea V., Lesnic E. The anti-neoplastic activity of the coordinative compounds, thiosemicarbazide derivates. *Arta Medica*, vol. 86 No. 1 (2023), doi: [10.5281/zenodo.7830773](https://doi.org/10.5281/zenodo.7830773), p.19 – 24.
3. Hale K. E. Toxicities of Chemotherapy. In: Hall J. B., Schmidt G. A., Kress J. P. eds. Principles of Critical Care, 4e. McGraw Hill; 2014. Accessed August 11, 2022. Available from: <https://accessmedicine.mhmedical.com/Content.aspx?bookid=1340§ionid=80037088>. [accesat 11.04.2018].
4. Ramasubbu S. K., Pasricha R. K., Nath U. K., Das B. Frequency, nature, severity and preventability of adverse drug reactions arising from cancer chemotherapy in a teaching hospital. *J Family Med Prim Care.* 2020 Jul 30; 9 (7): 3349-3355. doi: [10.4103/jfmipc.jfmipc_352_20](https://doi.org/10.4103/jfmipc.jfmipc_352_20). PMID: 33102295; PMCID: PMC7567243. [accesat 15.05.2018].
5. Xu J., Xu B., Shou D., Qin F., Xu Y., Hu Y. Characterization and evaluation of a folic acid receptor-targeted cyclodextrin complex as an anticancer drug delivery system. *Eur J Pharm Sci.* 2016 Feb 15; 83: 132-42. doi: [10.1016/j.ejps.2015.11.008](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.11.008). Epub 2015 Nov 12. PMID: 26577995. [accesat 15.05.2018].
6. Biswas S., Kumari P., Lakhani P. M., Ghosh B. Recent advances in polymeric micelles for anti-cancer drug delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2016; 83: 184-202. doi:[10.1016/j.ejps.2015.12.031](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.12.031).
7. Dingjan T., Spendlove I., Durrant L. G., Scott A. M., Yuriev E., Ramsland P. A. Structural biology of antibody recognition of carbohydrate epitopes and potential uses for targeted cancer immunotherapies. *Mol Immunol.* 2015; 67 (2 Pt A): 75-88. doi:[10.1016/j.molimm.2015.02.028](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.02.028). [accesat 19.06.2018].
8. Al-Hakimi A. N., Alminderej F., Aroua L. et al. Design, synthesis, characterization of zirconium (IV), cadmium (II) and iron (III) complexes derived from Schiff base 2-aminomethylbenzimidazole, 2-hydroxynaphthaldehyde and evaluation of their biological activity. *Arab J Chem.* 2020; 13 (10): 7378-7389. doi:[10.1016/j.arabjc.2020.08.014](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.08.014). [accesat 19.06.2018].
9. Pahontu E., Fala V., Gulea A., Poirier D., Tapcov V., Rosu T. Synthesis and characterization of some new Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes with salicylidene thiosemicarbazones: antibacterial, antifungal and in vitro antileukemia activity. *Molecules.* 2013 Jul 24; 18 (8): 8812-36. doi: [10.3390/molecules18088812](https://doi.org/10.3390/molecules18088812). PMID: 23887722; PMCID: PMC6269917. [accesat 21.09.2019].
10. Riaz I. B., Hussain S. A. Perioperative Treatment in Muscle-invasive Bladder Cancer: Analysis of Secondary Endpoints in a Randomized Trial Comparing Gemcitabine and Cisplatin Versus Dose-dense Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, and Cisplatin. *Eur Urol.* 2021 Feb; 79 (2): 222-224. doi: [10.1016/j.eururo.2020.09.018](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.09.018). Epub 2020 Oct 2. PMID: 33012577. [accesat 21.09.2019].
11. Aroua L. M., Al-Hakimi A. N., Abdulghani M. A. M., Ithag S. K. Cytotoxic urea Schiff base complexes for multidrug discovery as anticancer activity and low in vivo oral assessing toxicity. *Arab J Chem.* 2022; 15 (8): 103986. doi:[10.1016/j.arabjc.2022.103986](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103986). [accesat 21.09.2019].
12. El-saied FA, Shakdofa MME, Al-Hakimi AN, Shakdofa AME. Transition metal complexes derived from N

- structural characterization, and biocidal evaluation. *Appl Organomet Chem.* 2020; 34 (11). doi:10.1002/aoc.5898. [accesat 21.10.2019].
13. Aroua L. M., Alhag S. K., Al-Shuraym L. A., Messaoudi S., Mahyoub J. A. et al. Synthesis and characterization of different complexes derived from Schiff base and evaluation as a potential anticancer, antimicrobial, and insecticide agent. *Saudi J Biol Sci.* 2023 Mar; 30 (3): 103598. doi: 10.1016/j.sjbs.2023.103598. Epub 2023 Feb 14. PMID: 36874197; PMCID: PMC9982043. [accesat 21.10.2019].
 14. Ahmed M. F., Almalki A. H. Design, synthesis, antiproliferative activity, and cell cycle analysis of new thiosemicarbazone derivatives targeting ribonucleotide reductase. *Arab J Chem.* 2021; 14 (3): 102989. doi:10.1016/j.arabjc.2021.102989. [accesat 12.11.2019].
 15. Bianchini C. Methisazone (Marboran) in the prevention of smallpox and in the treatment of the complications of smallpox vaccination. Review. *Arch Ital Sci Med Trop Parassitol.* 1969; 50 (1): 29-38. Italian. PMID: 5770701. [accesat 12.11.2019].
 16. Finch R. A., Liu M., Grill S. P., Rose W. C., Loomis R., Vasquez K. M. et al. Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde- thiosemicarbazone): A potent inhibitor of ribonucleotide reductase activity with broad spectrum antitumor activity. *Biochem Pharmacol.* 2000 Apr 15; 59 (8): 983-91. doi: 10.1016/s0006-2952(99)00419-0. PMID: 10692563. [accesat 12.11.2019].
 17. Khan T., Ahmad R., Joshi S., Khan A. R. Anticancer potential of metal thiosemicarbazone complexes: A review . *Pelagia Research Library. Der Chemica Sinica*, 2015, 6 (12): 1-11. ISSN: 0976-8505.
 18. Lobana T. S., Kumari P., Hundal G., Butcher R. J. Metal derivatives of N1-substituted thiosemicarbazones with divalent metal ions (Ni, Cu): Synthesis and structures. *Polyhedron.* 2010; 29 (3): 1130-1136. doi:10.1016/j.poly.2009.12.013. [accesat 12.11.2019].
 19. Gulea A., Poirier D., Roy J., et al. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: chemical synthesis and structure - activity relationships. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2008; 23 (6): 806-818. doi:10.1080/14756360701743002. [accesat 22.12.2019].
 20. Karatepe M., Karatas F. Antioxidant, pro-oxidant effect of the thiosemicarbazone derivative Schiff base (4-(1-phenylmethylcyclobutane-3-yl)-2-(2-hydroxybenzylidenehydrazino)thiazole) and its metal complexes on rats. *Cell Biochem Funct.* 2006 Nov-Dec; 24 (6): 547-54. doi: 10.1002/cbf.1266. PMID: 16143962. [accesat 22.12.2019].
 21. Bal-Demirci T., Şahin M., Kondakçı E., Özyürek M., Ülküseven B., Apak R. Synthesis and antioxidant activities of transition metal complexes based 3-hydroxysalicylaldehyde-S-methylthiosemicarbazone. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015; 138: 866-872. doi:10.1016/j.saa.2014.10.088. [accesat 22.12.2019].
 22. McClendon A. K., Osheroff N. DNA topoisomerase II, genotoxicity, and cancer. *Mutat Res.* 2007 Oct 1; 623 (1-2): 83-97. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.06.009. Epub 2007 Jul 3. PMID: 17681352; PMCID: PMC2679583. [accesat 22.12.2019].
 23. Wei L., Easmon J., Nagi R. K., Muegge B. D., Meyer L. A., Lewis J. S. ⁶⁴Cu-azabicyclo[3.2.2]nonane thiosemicarbazone complexes: radiopharmaceuticals for PET of topoisomerase II expression in tumors. *J Nucl Med.* 2006 Dec; 47 (12): 2034-41. PMID: 17138747. [accesat 26.12.2019].
 24. Graur V., Savcin S., Tsapkov V., Gulea A. Synthesis and antitumor activity of copper, nickel and cobalt coordination compounds with 1-(2-hydroxyphenyl)ethanone N(4)-allyl-3-thiosemicarbazone. In: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii)*, 2015, nr. 1 (81), pp. 210-215. ISSN 1814-3237.

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE

la care au fost prezentate rezultatele cercetărilor la teza de doctor în științe medicale cu tema „Efectele metabolice ale compușilor biologic activi autohtoni cu acțiune antitumorală”

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**

- ✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale***

1. **Pantea V.,** Cobzac V., Tagadiuc O., Palarie V., Gudumac V. *In Vitro* Evaluation of the Cytotoxic Potential of Thiosemicarbazide Coordinating Compounds in Hepatocyte Cell Culture. In: *Biomedicines*. 2023, nr. 2(11), pp. 1-9. **IF - 4,757.** <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020366>.
2. **Pantea V.,** Andronache L., Globa P., Pavlovschi E., Gulea A., Tagadiuc O., Gudumac V. Copper coordination compounds with thiosemicarbazones: *in vitro* assessment of their potential in inhibiting glioma viability and proliferation. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2023 nr.3(58) pp. 234-244. **IF - 0,13.** <https://umbalk.org/copper-coordination-compounds-with-thiosemicarbazones-in-vitro-assessment-of-their-potential-in-inhibiting-glioma-viability-and-proliferation/>.

- ✓ **articole în reviste din străinătate recenzate**

3. Швец И., **Пантеа В.,** Гинда С., Михальчук О., Цапков В., Аурелиан Г., Гудумак В. Влияние некоторых новых координационных соединений меди на показатели гемограммы у крыс. In: *International Research Journal*, Екатеринбург, 2019, часть 1 № 4(82), с. 98-102. ISSN 2303-9868 Print, ISSN 2227-6017 Online. РИНЦ **IF: 0.03.** <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.82.4.019>.

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B**

4. **Pantea V.,** Popa V., Fulga A., Șveț I., Tagadiuc O. Modificările activității glutatation peroxidazei în serul sangvin la administrarea unor compuși coordinativi autohtoni. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2020, nr. 2(66), pp. 125-129. ISSN 1857-0011. Disponibil: https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/114776.
5. **Pantea V.,** Popa V., Tagadiuc O., Andronache L., Gudumac V. Changes of oxidative stress indices and antioxidant system in the liver tissue on the administration of some coordination compound of copper, derivatives of thiosemicarbazide. În: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2022, nr. 3(29), pp. 7-12. ISSN 2345-1467. <https://doi.org/10.52645/MJHS.2022.3.02>
6. **Pantea V.,** Lesnic E. The anti-neoplastic activity of the coordinative compounds, thiosemicarbazide derivatives. In: *Arta Medica*. 2023, nr. 1(86), pp. 19-24. ISSN 1810-1852. Disponibil: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7830773>.

- **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**

7. **Pantea V.,** Fulga A., Șveț I. Influence of coordinating compounds of copper, derivatives of thiosemicarbazide, on nitric oxide homeostasis in hepatic tissue. In: *MedEspera the 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chisinau, 2020, p. 268-269. ISBN 978-9975-151-11-5. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/120581.
8. **Pantea V.,** Sardari V., Andronache L., Gamaniuc M., Gudumac V. Influence of new bioactive compounds on the intensity of the protein metabolism in animals in the blood serum under physiological conditions. În: *Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane*. Chișinău, 2021, p. 76. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.042>.
9. **Pantea V.,** Lesnic E., Andronache L. The impact of the coordinative compounds, thiosemicarbaside derivatives on the oxidative stress indices in *ex vivo* experiments. In: *Microbial Biotechnology*. Ediția 5, Chișinău, 2022, p. 97. ISBN 978-9975-3555-6-8. <https://doi.org/10.52757/imb22.65>.
10. **Pantea V.,** Andronache L., Tagadiuc O., Gudumac V. Cytotoxic action of thiosemicarbazone-derived coordination compounds on glioma cell culture (P-08.2-74). *FEBS Open Bio*, 2023; 13 (S2): 227.

- <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13646>.
11. Andronache L., **Pantea V.**, Ceban E., Gulea A., Graur V., Țapcov V., Matcovschii V., and Gudumac V. Method for Increasing the Production or Activity of Catalase in the Body. In: *6th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineerin and New Technologies for Diagnosis, Treatment, and Rehabilitation*. ICNBME-2023, Chisinau, Republic of Moldova. p. 92. ISSN 1433-9277, ISBN 978-3-031-42781-7. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-42782-4>.
 - **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**
 12. Jian M., Nacu V., Cobzac V., Paladi C., **Pantea V.** Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Brevet de invenție MD 1171Y nr. 7/2017, 2017.07.30. https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_07_2017.pdf.
 13. **Pantea V.**, Tagadiuc E., Gudumac V. Metodă de apreciere a activității antiinflamatoare a substanțelor biologic active. Brevet de invenție MD 1233 Y BOPI nr.2/2018, 2018.02.30. https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_02_2018.pdf.
 14. **Pantea V.**, Corețchi I., Ghinda S., Gudumac V., Tagadiuc E. Metodă de apreciere a activității antiinflamatoare a substanțelor biologic active. Brevet de invenție MD 1301Y nr. 1/2019, 2019.01.30. https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_02_2018.pdf.
 - ✓ **Inovații**
 15. Tagadiuc O., Andronache L., **Pantea V.**, Gudumac V., Șveț I., Sardari V. Metodă pentru determinarea capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidanților în probele biologice. Certificat de inovator nr. 5641 din 26.03.2018.
 16. Șveț I., Gudumac V., **Pantea V.**, Andronache L., Sardari V. Procedeu de determinare a balanței pro-oxidante-antioxidante. Certificat de inovator nr. 5647 din 24.04.2018.
 17. **Pantea V.**, Șveț I., Tagadiuc O., Gudumac V., Andronache L. Procedeu de determinare a balanței pro-oxidante-antioxidante. Certificat de inovator Nr. 5669 din 24 octombrie 2018.
 18. Andronache L., Gudumac V., **Pantea V.**, Sardari V., Șveț I. Procedeu de determinare a metaboliților reactivi ai oxigenului. Certificat de inovator Nr. 5671 din 24 octombrie 2018.
 19. **Pantea V.**, Andronache L., Șveț I., Popușoi C. Procedeu pentru măsurarea citotoxicității celulare. Certificat de inovator nr. 5960 din 21.10.2022.
 - **Participări cu comunicări la forumuri științifice:**
 - ✓ **Internaționale**
 20. **Pantea V.**, Sardari V., Fulga A., Tagadiuc O. The effect of local biologically active compounds on liver biochemical markers in blood serum in rats *in vivo*. Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine. *The V International Scientific and Practical Conference*, Kharkiv, Ukraine, 11-12 March 2021, p. 110-111. УДК 615: 616-08. <https://nmi.nuph.edu.ua/wpcontent/uploads/2021/03/%D0%97%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA.pdf>.
 21. **Pantea V.**, Gamaniciu M., Popușoi C., Fulga A., Popa V. Impact of New Thiosemicarbazone Derivatives for Erythrocytes Antioxidant System Indices: An *Ex Vivo* Study. *Virtual International Scientific Conference on “Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering –NanoBioMat 2021”*, University Politehnica of Bucharest, 25-26 June 2021, p. 87. https://www.micronanotech.ro/wp-content/uploads/2021/08/Program_NanoBioMat2021.pdf.
 22. **Pantea V.**, Andronache L., Tagadiuc O. The malondialdehyde level in the liver tissue is influenced by new compound of copper, derivatives of thiosemicarbazide. *The 4th International European conference on interdisciplinary scientific research*. 8-9 August 2021/ Warsaw, Poland, 2021, p. 321. ISBN: 978-1-955094-13-9. <https://vb.vgtu.lt/object/elaba:102320009/102320009.pdf>.

23. **Pantea V.**, Lesnic E., Fulga A. The influence of coordinative compounds, thiosemicarbaside derivatives on the thiol-disulfide groups in human red blood cells. *Virtual International Scientific Conference on Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering” NanoBioMat 2022 – Summer Edition*, University Politehnica of Bucharest Romania, 22-24 June 2022, p. 87. <https://nanobiomat.eu/download/book-of-abstracts-nanobiomat-2022-summer-edition/>.
24. **Pantea V.**, Lesnic E., Sardari V., Fulga A., Popa V. *In vitro* testing of influence of some copper coordination compounds, thiosemicarbaside derivatives on the level of malondialdehyde. *Virtual International Scientific Conference on Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering NanoBioMat 2022 – Autumn Edition*, University Politehnica of Bucharest Romania, 22-23.11.2022, p. 89. <https://nanobiomat.eu/download/book-of-abstracts-nanobiomat-2021-winter-edition/edition>.
- ✓ **naționale**
25. **Pantea V.**, Șveț I., Popa V. Efectele unor compuși biologici activi autohtoni cu proprietăți antitumorale asupra intensității stresului oxidativ (cercetări *in vitro*). În: *Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători*. Chișinău, 2018, p. 89. ISBN 978-9975-82-103-2. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/129472.
26. **Pantea V.**, Popa V., Fulga A., Șveț I., Tagadiuc O. Modificările enzimei glutatión peroxidazei în serul sanguin la administrarea unor compuși coordinațivi autohtoni. *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p. 50. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/125655.
27. **Pantea V.**, Gamanuc M., Popa V. Modifications of the erythrocytic antioxidant system in the administration of new coordinative compounds. În: *Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță*. Chișinău, 2021, p. 27. ISBN 978-9975-82-223-7. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/144047.
28. **Pantea V.**, Lesnic E., Popa V. *In vitro* action of some coordinative compounds, thiosemicarbazide derivatives on the thiol-disulfidic system. În: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. Chișinău, 2022, nr. 3(29), p. 44. ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/167922.
- **Participări cu postere la foruri științifice:**
- ✓ **Internaționale**
29. **Pantea V.**, Andronache L., Tagadiuc O., Gudumac V. Cytotoxic action of thiosemicarbazone-derived coordination compounds on glioma cell culture. P-08.2-74. FEBS Congress – ‘Together in bioscience for a better future’, Tours, France, 8-12 July 2023. *FEBS Open Bio*, 2023; 13 (S2): 227. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13646>.

PANTEA VALERIANA

**EPECTELE METABOLICE ALE COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI AUTOHTONI CU
ACȚIUNE ANTITUMORALĂ**

315.01. BIOCHIMIE MEDICALĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: ... (*data*)

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Coli de tipar: ...

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tiraj ... ex...

Comanda nr.

Centrul Editorial-Poligrafic Medicina
Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165