

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL FARMACIE

*Studiu complex de dezvoltare moleculară și testare a unor baze Schiff cu
potențial biologic*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. NUȚĂ DIANA CAMELIA

Student-doctorand:

COANDĂ MARIA

Cuprins

Introducere.....	12
I. Stadiul actual al cunoașterii	15
1. Bazele Schiff – compuși de interes pentru chimia medicamentului.....	15
1.1. Fundamente teoretice.....	15
1.2. Derivați ai sulfonamidelor de tip bază Schiff – relevanța în terapie	18
1.2.1. Baze Schiff cu acțiune antimicrobiană	18
1.2.2. Baze Schiff cu acțiune antibiofilm.....	20
1.2.3. Baze Schiff cu acțiune anticanceroasă (inhibitori ai anhidrazei carbonice)	23
1.3. Baze Schiff de tip <i>N</i> -acil-hidrazonă cu structură chinazolin-4(3 <i>H</i>)-onică – relevanța în terapie.....	26
1.3.1. <i>N</i> -acil-hidrazone cu structură chinazolin-4(3 <i>H</i>)-onică cu acțiune antimicrobiană și antibiofilm	28
1.3.2. <i>N</i> -acil-hidrazone cu structură chinazolin-4(3 <i>H</i>)-onică cu acțiune anticanceroasă.....	30
2. Sinteza organică sub acțiunea microundelor	32
2.1. Elemente definitorii ale domeniului	32
2.2. Avantajele sintezei sub acțiunea microundelor	33
2.3. Protocoale de sinteză pentru obținerea bazelor Schiff	34
2.4. Principiile chimiei verzi	35
II. Contribuții originale.....	37
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	37
4. Metodologia generală a cercetării	39
4.1. Studiul literaturii și screening-ul general al bazelor de date	39
4.2. Sinteza sub acțiunea microundelor.....	39
4.3. Caracterizarea spectrală.....	39

4.4. Determinarea parametrilor fizico-chimici	40
4.5. Evaluarea <i>in silico</i> a profilului farmacologic.....	41
4.6. Evaluarea <i>in silico</i> a descriptorilor moleculari.....	42
4.7. Determinarea capacității antioxidante totale	42
4.8. Determinarea profilului microbiologic.....	43
4.8.1. Evaluarea calitativă a activității antimicrobiene.....	43
4.8.2. Evaluarea cantitativă a activității antimicrobiene	43
4.8.3. Evaluarea activității microbicide	44
4.8.4. Aderența microbiană.....	44
4.9. Determinarea activității citotoxice pe linii celulare canceroase și non-canceroase	44
4.9.1. Linii celulare	44
4.9.2. Screening-ul de citotoxicitate.....	45
4.9.3. Viabilitatea celulară	45
4.9.4. Analiza statistică	45
4.10. Studiul de andocare moleculară.....	46
4.11. Evaluarea toxicității acute pe specia <i>Artemia franciscana</i> Kellogg.....	46
5. Contribuții privind sinteza, caracterizarea spectrală, studiul <i>in silico</i> și evaluarea biologică a unor baze Schiff ale sulfanilamidei	48
5.1. Introducere	48
5.2. Materiale și metode	49
5.2.1. Sinteza sub acțiunea microundelor	49
5.2.2. Caracterizarea spectrală și fizico-chimică	49
5.2.2.1. Cromatografie în strat subțire	50
5.2.2.2. Cromatografie în strat subțire de înaltă performanță	50
5.2.3. Evaluarea <i>in silico</i> a profilului farmacologic	50
5.2.4. Evaluarea <i>in silico</i> a descriptorilor moleculari.....	51
5.2.5. Evaluarea capacității antioxidante totale	51

5.2.6. Evaluarea acțiunii antibacteriene și antibiofilm.....	51
5.2.7. Evaluarea acțiunii antifungice.....	51
5.2.7.1. Determinarea concentrației minime inhibitorii	51
5.2.7.2. Determinarea inhibiției aderării fungice.....	52
5.2.7.3. Analiza statistică.....	52
5.2.8. Evaluarea efectului citotoxic pe linii celulare canceroase.....	52
5.2.9. Studiu de andocare moleculară	52
5.2.10. Studiu preliminar de toxicitate <i>in vivo</i> pe specia de crustacee <i>Artemia franciscana</i> Kellogg	53
5.2.11. Evaluarea stabilității compușilor în apă folosind metoda cu ultrasunete	53
5.3. Rezultate.....	54
5.3.1. Sinteza, caracterizarea spectrală și fizico-chimică	54
5.3.2. Evaluarea <i>in silico</i> a profilului farmacologic	62
5.3.3. Evaluarea <i>in silico</i> a descriptorilor moleculari și generarea modelelor grafice	64
5.3.4. Evaluarea capacității antioxidante totale	66
5.3.5. Evaluarea acțiunii antimicrobiene și antibiofilm	66
5.3.6. Evaluarea efectului citotoxic pe linii celulare canceroase.....	69
5.3.7. Studiu de andocare moleculară	71
5.3.8. Studiu preliminar de toxicitate <i>in vivo</i> pe specia de crustacee <i>Artemia franciscana</i> Kellogg	74
5.3.9. Studiu privind stabilitatea bazelor Schiff în apă folosind metoda cu ultrasunete.....	75
5.4. Discuții.....	77
5.5. Concluzii.....	80
6. Contribuții privind studiul de dezvoltare moleculară și evaluare biologică al unor baze Schiff de tip <i>N</i> -acil-hidrazonă ale 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4 <i>H</i>)-il)acetohidrazidei.....	82

6.1. Introducere	82
6.2. Materiale și metode	83
6.2.1. Sinteza sub acțiunea microundelor	83
6.2.2. Caracterizarea spectrală și fizico-chimică	83
6.2.3. Evaluarea <i>in silico</i> a profilului farmacologic	84
6.2.4. Evaluarea <i>in silico</i> a descriptorilor moleculari.....	85
6.2.5. Evaluarea capacității antioxidante totale	85
6.2.6. Evaluarea acțiunii antimicrobiene și antibiofilm	85
6.2.6.1. Evaluarea acțiunii antibacteriene, antifungice și antibiofilm.....	85
6.2.6.2. Evaluarea acțiunii antituberculoase.....	85
6.2.7. Evaluarea acțiunii citotoxice.....	86
6.2.8. Studiu de andocare moleculară	86
6.2.9. Evaluarea toxicității acute <i>in vivo</i> pe specia de crustacee <i>Artemia franciscana</i> Kellogg	87
6.3. Rezultate.....	87
6.3.1. Sinteza și caracterizarea spectrală	87
6.3.2. Evalurea <i>in silico</i> a profilului farmacologic	99
6.3.3. Evaluarea <i>in silico</i> a descriptorilor moleculari.....	103
6.3.4. Evalurea capacității antioxidante totale	104
6.3.5. Evaluarea acțiunii antimicrobiene și antibiofilm	105
6.3.5.1. Evaluarea acțiunii antibacteriene, antifungice și antibiofilm.....	105
6.3.5.2. Evaluarea acțiunii antituberculoase.....	107
6.3.6. Evaluarea citotoxicității pe linii celulare	108
6.3.7. Studiu de andocare moleculară	112
6.3.7.1. Studiu de andocare moleculară pe ADN-giraza și DHFR din <i>S. aureus</i>	112
6.3.7.2. Studiu de andocare moleculară pe lanosterol 14 α -demetilaza	114
6.3.7.3. Studiu de andocare moleculară pe EGFR Kinaza.....	114

6.3.7.4. Studiu de andocare moleculară pe enoil-ACP-reductaza din <i>M. tuberculosis</i>	116
6.3.8. Toxicitatea acută <i>in vivo</i> pe specia de crustacee <i>Artemia franciscana</i> Kellogg.....	116
6.4. Discuții.....	117
6.5. Concluzii.....	122
7. Concluzii și contribuții personale	124
7.1. Concluzii.....	124
7.2. Contribuții personale	126
Bibliografie.....	128
Anexă	156

I. Stadiul actual al cunoașterii

1. Bazele Schiff – compuși de interes pentru chimia medicamentului

Bazele Schiff se încadrează în categoria derivaților funcționali ai grupei carbonil, obținuți prin substituția grupei C=O sub acțiunea nucleofililor cu caracter bazic (amoniac și derivați) [1–3]. În chimia medicamentului, agenți de tip baze Schiff se regăsesc în rândul chimioterapicelor și antibioticelor [4].

O strategie economică de design și de dezvoltare de noi agenți terapeutici o reprezintă modificarea agenților deja existenți în vederea îmbunătățirii efectului terapeutic și/sau inducerii de noi acțiuni biologice [5] și hibridizarea moleculară, care presupune îmbinarea a doi sau mai mulți farmacofori într-o singură moleculă în vederea îmbunătățirii acțiunii farmacologice [6, 7] sau reducerii reacțiilor secundare [8, 9].

În acest context, cuplarea sulfonamidelor bacteriostatice cu diferite aldehide aromatice a condus la obținerea de baze Schiff cu un potențial biologic complex: efect antibacterian pe coci Gram-pozitivi [5, 10–13], antifungic [5, 10–14], antimicobacterian [5] și antibiofilm [14], introducerea de grupe halogen îmbunătățind semnificativ acțiunea derivaților [5, 10–13]. De asemenea, acestea au prezentat efect anticanceros pe diverse linii celulare atât ca liganzi [15], cât și în combinații complexe [16–18], precum și efect inhibitor al anumitor enzime cu importanță biologică, cea mai importantă fiind anhidraza carbonică (AC) (izoforme supraexprimate în cancer, AC IX, AC XII) [15, 19, 20].

Totodată, literatura științifică menționează molecule hibride obținute prin îmbinarea nucleului chinazolin-4(3*H*)-onic, farmacofor cu importanță în rândul compușilor naturali și de sinteză [21, 22], cu diverse nuclee aromatice substituite, folosind puntea *N*-acil-hidrazonică. Bazele Schiff rezultate au prezentat efect în sfera antibacteriană și antibiofilm [23], antituberculoasă [24], dar mai ales anticanceroasă [25–28]. În particular, plecând de la modelul activatorului de procaspază PAC-1, s-au obținut (*E*)-*N'*-benziliden-2-(4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazide cu proprietăți anticanceroase superioare, substituția nucleului benzenic cu grupe 2-hidroxi-4-metoxi, respectiv 2-hidroxi-3-alil dovedindu-se cea mai benefică pentru acțiune [25, 27, 28].

2. Sinteza organică sub acțiunea microundelor

Protocoalele de sinteză pentru obținerea acestei clase de compuși cuprind atât metode convenționale, cât și metode moderne, ecologice, cum este cazul sintezei sub acțiunea microundelor [29]. Aceasta din urmă se remarcă printr-o serie de avantaje: încălzire rapidă și eficientă (încălzire dielectrică), mărirea vitezei de reacție și creșterea randamentului, reducerea reacțiilor secundare, sugerând un profil cinetic mai curat, monitorizarea facilă a condițiilor de reacție și posibilitatea lucrării fără solvent (sinteză ecologică) [30–32]. Interesul pentru acest tip particular de sinteză vine în contextul politicilor internaționale, care militează pentru o chimie verde, cu un impact cât mai redus asupra mediului înconjurător [33].

II. Contribuții originale

3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Luând toate cele de mai sus în considerare, proiectul doctoral urmărește valorificarea sulfonamidelor bacteriostatice, medicamente cunoscute cu acțiune antibacteriană, respectiv a 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei, farmacofor cu potențial antimicrobian și anticanceros, sub formă de baze Schiff în vedere obținerii de compuși multifuncționali cu efect farmacologic îmbunătățit.

Obiectivul principal al lucrării l-a reprezentat design-ul molecular al compușilor printr-un studiu riguros al literaturii de specialitate și al bazelor de date, respectiv dezvoltarea și optimizarea unui procedeu original de sinteză cu ajutorul microundelor pentru obținerea de baze Schiff originale. Obiectivele specifice au cuprins: caracterizarea fizico-chimică și spectrală completă, analiza *in silico* a profilului medicamentos și a descriptorilor moleculari, testări *in vitro* pentru explorarea potențialului antimicrobian, antibiofilm, anticanceros și antioxidant, testarea *in vivo* a toxicității acute pe crustacee, respectiv realizarea de studii de andocare moleculară pe diverse enzime relevante pentru efectele biologice studiate.

4. Metodologia generală a cercetării

Sinteza cu ajutorul microundelor s-a realizat folosind reactorul Biotage® Initiator Classic 2.0. Caracterizarea fizico-chimică a cuprins determinarea punctelor de topire, a solubilității compușilor în solvenți organici, a factorilor de retenție și a purității prin

cromatografie în strat subțire de înaltă performanță (HPTLC). Structura compușilor a fost confirmată prin spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară, spectrometrie de masă de înaltă rezoluție, spectroscopie de absorbție în infraroșu și în ultraviolet-vizibil.

Acțiunea antioxidantă a fost determinată prin capacitatea compușilor de a reduce radicalul 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. Acțiunile antimicrobiană și antibiofilm au fost evaluate pe germeni patogeni reprezentativi: bacterii Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), bacterii Gram-pozitive (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), specii de *Candida* (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida auris*) și două tulpini de *Mycobacterium tuberculosis*. Potențialul citotoxic a fost evaluat pe linii celulare standardizate, canceroase (HT-29, LN229, A431) și non-canceroase (VERO). Profilul farmacologic a fost evaluat cu ajutorul mai multor programe de predicție online (SwissADME [34], pkCSM [35], admetSAR2.0 [36] și ADMETlab [37], SuperPred database [38], SwissTargetPrediction [39], Super-PRED [38] și PASS Online [40]), iar evaluarea descriptorilor moleculari și studiul de andocare au fost realizați folosind programe dedicate (Spartan'20 [41], CLC Drug Discovery Workbench 2.4 (2015) [42], Molegro Virtual Docker (2019) [43]). Pentru toxicitatea acută *in vivo* la 24 și 48 de ore s-a folosit specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg. Evaluarea stabilității compușilor în apă s-a realizat folosind metoda cu ultrasunete [44, 45].

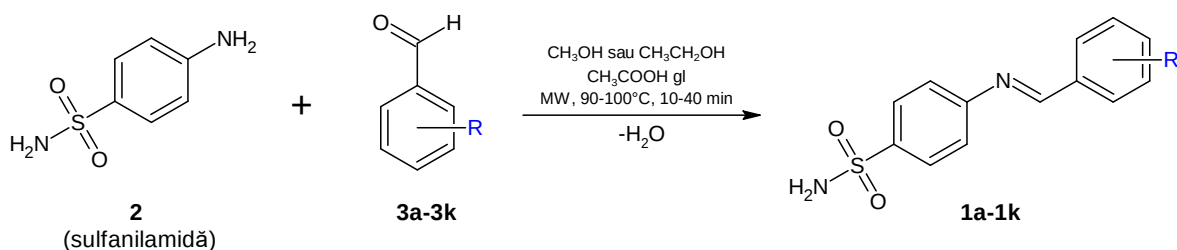
5. Contribuții privind sinteza, caracterizarea spectrală, studiul *in silico* și evaluarea biologică a unor baze Schiff ale sulfanilamidei

Prima parte a cercetării doctorale a cuprins dezvoltarea unei metode de sinteză cu ajutorul microundelor pentru obținerea de derivați de tip baze Schiff pornind de la sulfanilamidă și diverse benzaldehide substituie, halogenate și nehalogenate [46], respectiv salicilaldehide. S-a avut în vedere sinteza de compuși originali, dar și aplicarea procedurii de încălzire cu microunde nou dezvoltat pentru obținerea unor derivați cunoscuți, pentru care s-a pus în evidență un efect biologic.

Toți compușii au fost confirmați spectral și caracterizați fizico-chimic. S-a efectuat un studiu *in silico* pentru determinarea caracteristicilor moleculare, a profilului farmacologic. Potențialul biologic a fost evaluat prin: (i) determinarea capacității antioxidante, (ii) evaluarea acțiunii antimicrobiene și antibiofilm pe bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, respectiv pe specii patogene de *Candida*, (iii) screeningul citotoxicității pe linii celulare

canceroase. Pentru cei mai activi derivați s-a evaluat stabilitatea suspensiilor în apă folosind metoda cu ultrasunete. Studiul de andocare moleculară a avut ca scop corelarea efectelor biologice observate cu posibile mecanisme de acțiune. Cercetarea a cuprins și un studiu preliminar de toxicitate acută *in vivo* pe specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg.

În total au fost obținuți unsprezece derivați (**1a-1k**), dintre care șase originali (**1a, 1c-1g**) (Schema 1). Procedeul de sinteză a plecat de la condițiile de reacție clasice: mediu de reacție, metanol sau etanol absolut, și catalizator, acidul acetic glacial, operând la temperaturi de 90-100 °C, timp de 10-40 minute, sub încălzire cu microunde și în sistem închis.



Schema 1. Sinteza derivaților de tip baze Schiff pornind de la sulfanilamidă **1a-1k**. Radicalul R reprezintă: 4-OPh (**a**), 2-Br (**b**), 2,6-diCl (**c**), 3,5-diCl (**d**), 2,3,5-triCl (**e**), 2-Cl-4-NO₂ (**f**), 3,5-diBr (**g**), 2-OH (**h**), 2-OH-4-OCH₃ (**i**), 2-OH-5-Br (**j**), H (**k**).

Pentru compuşii menționați în literatură (**1h-1k**), randamentele obținute prin protocolul original dezvoltat au fost comparabile cu cele raportate [20, 47], dar rămâne avantajul timpului redus de reacție, de la peste 3-4 ore în variantele clasice la 10-40 de minute în varianta prezentă. Metoda de sinteză prezentată în proiectul doctoral pentru compusul **1b** vine cu avantajul înlocuirii mediului de reacție toxic (THF) [48] cu un solvent cu profil de siguranță ridicat (etanolul).

Analiza *in silico* a profilului farmacologic a indicat caracterul *druglike* al bazelor Schiff **1a-1k**, absorbție gastrointestinală ridicată, dar posibil efecte hepatotoxice și nefrotoxice. Ca ținte biologice se remarcă enzimele specifice pentru moleculele de tip sulfonamidă: anhidraza carbonică, ciclooxigenaza-2, respectiv proteina de legare a amiloidului. Calcularea descriptorilor moleculari a permis observarea efectului substituției pe nucleul benzenic asupra electronegativității și a reactivității bazelor Schiff, substituția cu grupe atrăgătoare de electroni (atomii de halogen și grupe nitro) crescând electronegativitatea, în timp ce grupele donoare de electroni (hidroxi, metoxi, fenoxi) au efecte opuse. De asemenea, a permis identificarea elementelor structurale predispuse la atacurile chimice, grupa azometinică fiind substrat pentru atacurile nucleofililor.

Capacitatea antioxidantă totală maximă a fost înregistrată pentru fenoxi-derivatul **1a** și minimă pentru tricloro-derivatul **1e**. Rezultatele evaluărilor biologice au indicat selectivitate pentru bacteriile Gram-pozitive, (*E*)-4-[[2-bromofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1b**) și (*E*)-4-[[3,5-diclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1d**) prezentând acțiune antistafilococică pe formă planctonică și sesilă (MIC 0,014-0,019 mg/mL), superioară față de cea a sulfanilamidei, în timp ce [(*E*)-4-[[2,3,5-triclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1e**) a fost activă pe *E. faecalis* (MIC 0,156 mg/mL). În cazul acțiunii antifungice, se remarcă acțiunea derivaților mono- și dihalogenați **1b-1d** asupra *C. parapsilosis* (MIC 0,7813-0,3906 mg/mL). În ceea ce privește acțiunea anticanceroasă, compușii **1c** și **1d** au redus semnificativ viabilitatea celulară în concentrații de 5 μg/mL după o expunere de 24 de ore (**1d** – HT-29, **1c** – LN229), depășind efectul sulfanilamidei.

Toxicitatea *in vivo* pe *Artemia franciscana* Kellogg a variat în funcție de substituenții prezenți în structura moleculelor, substituția cu grupă fenoxi în *para*, respectiv cu doi atomi de brom în *meta* față de grupa azometinică a condus la cei mai toxici compuși, **1a** și **1g** (LC₅₀ < 62,5 μM), fiind urmați de 3,5-dicloroderivatul **1d**, respectiv 2,3,5-tricloroderivatul **1e**, cu LC₅₀ 145 μM, respectiv 566 μM. Substituția cu clor în pozițiile 2 și 6 (**1c**) sau cu clor și nitro în pozițiile 2 și 4 pe nucleul benzenic (**1f**) a condus la compuși cu toxicitate mai redusă (LC₅₀ > 1000 μM).

Studiul de andocare pe dihidropteroat sintaza a arătat o preferință de legare a bazelor Schiff **1a-1e** pentru enzima din *S. aureus* comparativ cu cea din *E. coli*. Pe lângă grupa sulfonamidică, principalul element structural implicat în legături cu aminoacizii, natura și poziția substituenților de pe al doilea nucleu benzenic influențează interacțiunea cu enzima. Grupa azometinică poate fi la rândul ei responsabilă de legături de hidrogen cu aminoacizii din situsul activ (Fig. 1).

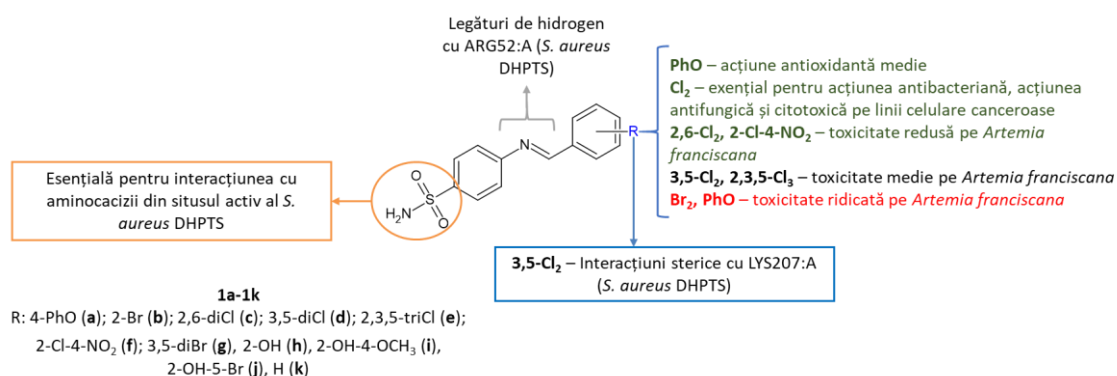


Figura 1. Relațiile structură chimică – acțiune biologică pentru bazele Schiff **1a-1k** ale sulfanilamidei.

Celor mai active baze Schiff (**1b**, **1d**, **1e**) li s-a determinat stabilitatea suspensiilor apoase folosind metoda cu ultrasunete. Acestea au prezentat o stabilitate ridicată, similară cu a sulfanilamidei folosită ca referință; compușii substituiți cu atomi de clor (**1d**, **1e**) au fost mai stabili decât bromo-derivatul (**1b**), ceea ce susține încorporarea acestora în nanomateriale.

În baza acestor informații, seria de baze Schiff ale sulfanilamidei constituie un punct de plecare pentru dezvoltări și optimizări ulterioare, respectiv pentru direcționarea cercetării către o ramură neexplorată în acest studiu, anume obținerea de complecși metalici și testarea lor biologică, precum și pentru obținerea de materiale funcționalizate pentru terapia antimicrobiană.

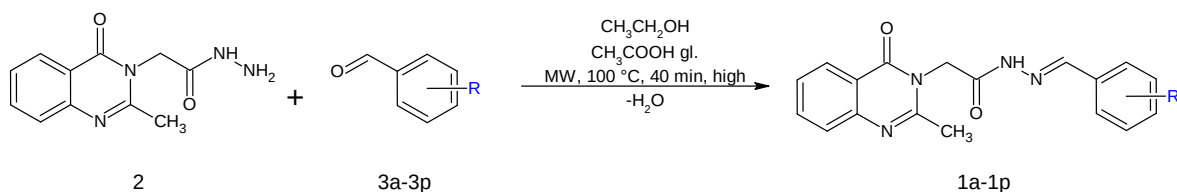
6. Contribuții privind studiul de dezvoltarea moleculară și evaluare biologică a unor baze Schiff de tip *N*-acil-hidrazonă ale 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei

Al doilea studiu din cadrul cercetării doctorale și-a propus designul de baze Schiff de tip *N*-acil-hidrazonă ale 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei. Raționamentul de dezvoltare moleculară s-a bazat pe studiul literaturii de specialitate și a avut în vedere următoarele aspecte: (i) păstrarea farmacoforului (*E*)-*N'*-benziliden-2-(4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida; (ii) păstrarea unei grupe lipofile de volum mic (metil) în poziția 2 a nucleului chinazolinonic; (iii) varierea substituenților de pe nucleul benzenic pentru a modula profilul biologic [49].

Pentru obținerea noilor compuși s-a aplicat procedeul sintezei cu ajutorul microundelor dezvoltat în cazul seriei anterioare de baze Schiff, care a fost adaptat. Caracterizarea spectrală și fizico-chimică a fost completată cu o metodă de separare prin cromatografie în strat subțire de înaltă performanță pentru verificarea purității compușilor. A urmat evaluarea *in silico* a descriptorilor moleculari și a profilului farmacologic. Ulterior s-au explorat acțiunile antibacteriene pe bacterii Gram-pozitive, Gram-negative și pe *Mycobacterium tuberculosis*, antifungice pe specii patogene de *Candida* și citotoxice pe linii celulare tumorale și non-tumorale. Capacitatea antioxidantă a fost inclusă datorită prezenței grupeii hidroxilfenilimino, care poate să imprime proprietăți redox [50]. Pentru explorarea unui eventual mecanism de acțiune s-a recurs la un studiu de andocare moleculară pe ținte

biologice importante pentru acțiunile studiate. În final, cercetarea s-a încheiat cu evaluarea toxicității acute *in vivo* pe specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg.

Sinteza a decurs sub acțiunea microundelor, folosind etanolul absolut drept solvent și acidul acetic glacial drept catalizator, încălzirea făcându-se la 100 °C, timp de 40 min, cu o preagitare de 5 min, nivelul de absorbție fiind setat la „high”. Astfel s-au obținut o serie de 16 derivați originali (**1a-1p**) (Schema 2).



Schema 2. Metoda generală de obținere a *N*-acil-hidrazonelor **1a-1p**. Radicalul *R* reprezintă: 4-F (**a**); 4-Br (**b**); 2-Br (**c**); 2,4-diCl (**d**); 2,6-diCl (**e**); 3,5-diCl (**f**); 2,3,5-triCl (**g**); 2-Cl-4-NO₂ (**h**); 2-OH-5-Br (**i**); 2-OH-3,5-diBr (**j**); 2-OH-3-OCH₃ (**k**); 2-OH-4-OCH₃ (**l**); 2-OH-5-OCH₃ (**m**); 3,4-diOCH₃ (**n**); 3-OCH₃-4-OH-5-NO₂ (**o**); 4-OPh (**p**).

Analiza de rezonanță magnetică nucleară a relevat prezența izomerilor datorită grupei *N*-acil-hidrazonice. Spectrele ¹H-RMN înregistrate în DMSO-d₆ ale compușilor analizați indică prezența unui singur semnal la δ_H 8 ppm corespunzător grupei azometinice, caracteristică izomerului *E*. Totodată, dublarea semnalelor pentru grupa azometinică (δ_H 8,0-8,6 ppm, δ_C 141,9-147,5 ppm), metilen (δ_H 4,8-5,3 ppm, δ_C 45,2-46,2 ppm), metil (δ_H 2,50-2,55 ppm, δ_C 22,8-23,5 ppm) și NH grupei amidice (δ_H 11,6-12,0 ppm) au pus în evidență prezența celor doi izomeri conformaționali, *sin-E* și *anti-E*. Analiza HPTLC a confirmat puritatea compușilor obținuți prin prezența unui singur pic cromatografic, iar sistemul de dezvoltare folosit (cloroform:metanol 9:1 v/v) a permis separarea derivaților de salicilaldehidă de cei polihalogenați cu câteva excepții (**1a**, **1h**, **1f**, **1k**).

Analiza *in silico* a profilului farmacodinamic a confirmat acțiunile în sfera oncologiei și a bolilor infecțioase, evidențiind totodată posibile întrebuințări în tratamentul bolilor metabolice și neurodegenerative.

În privința evaluărilor biologice, *N'*-(*E*)-(3,5-bromo-2-hidroxifenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)aceto-hidrazida (**1j**) a prezentat efect calitativ și cantitativ asupra speciei de *S. aureus* (DIZ 12,33 ± 0,58 mm; CMI 0,3125 mg/mL; IC₅₀ 0,0857 mg/mL), subliniind importanța substituției cu halogen pe nucleul de salicilaldehidă. De asemenea, derivații **1b**, **1c**, **1k**, **1l** și **1m** au manifestat acțiune antituberculoasă ridicată la o concentrație de 1-2 mg/mL atât pe tulpina sensibilă, cât și pe cea rezistentă la rifampicină și izoniazidă de *Mycobacterium tuberculosis*.

În urma analizei de citotoxicitate, trei dintre derivații halogenați s-au remarcat prin potență și selectivitate pe liniile celulare tumorale. *N'*-[(*E*)-(4-bromofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1b**) a manifestat potență pe ambele linii celulare (IC₅₀ 3,125-12 μM), în timp ce *N'*-[(*E*)-(4-fluorofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1a**) și *N'*-[(*E*)-(2,4-diclorofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1d**) au prezentat acțiune în mod special pe A431 (IC₅₀ 6,25-12 μM). De asemenea, capacitatea antioxidantă a derivaților cu grupe nitro (**1h**, **1o**), hidroxi (**1i**, **1j**, **1k**, **1o**) și fenoxi (**1p**) a fost dublă față de cea a 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei. Totodată, toxicitatea acută *in vitro* pe specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg a derivaților a fost inferioară față de cea a materiei prime (Fig. 2), confirmând beneficiul derivatizării sub formă de baze Schiff.

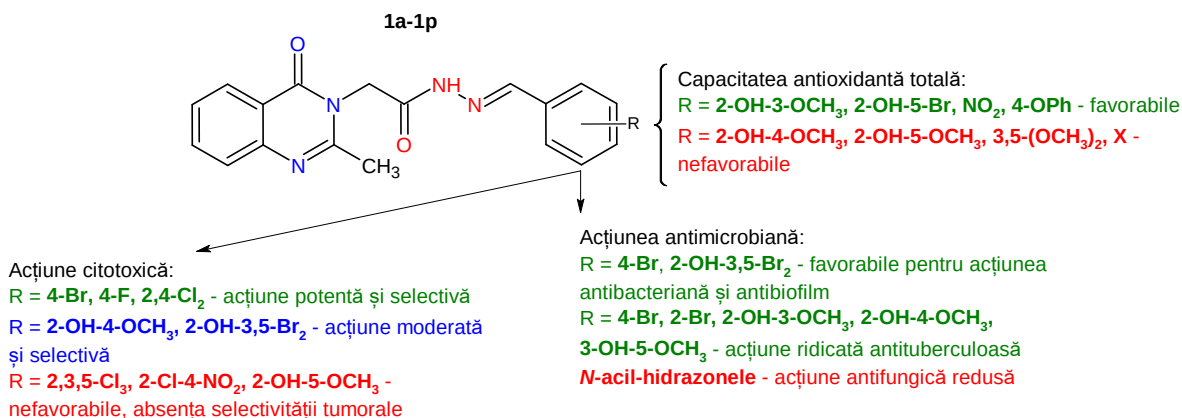


Figura 2. Corelația între structura chimică și diversele proprietăți biologice observate în cazul seriei de *N*-acil-hidrazone **1a-1p**. Radicalul *R* reprezintă: 4-F (**a**); 4-Br (**b**); 2-Br (**c**); 2,4-diCl (**d**); 2,6-diCl (**e**); 3,5-diCl (**f**); 2,3,5-triCl (**g**); 2-Cl-4-NO₂ (**h**); 2-OH-5-Br (**i**); 2-OH-3,5-diBr (**j**); 2-OH-3-OCH₃ (**k**); 2-OH-4-OCH₃ (**l**); 2-OH-5-OCH₃ (**m**); 3,4-diOCH₃ (**n**); 3-OCH₃-4-OH-5-NO₂ (**o**); 4-OPh (**p**).

În corelație cu rezultatele *in vivo*, studiul de andocare moleculară susține efectele observate. Astfel, modul de legare al derivatului **1j** în situsul activ al girazei B din *S. aureus* respectă orientările deduse pentru alți inhibitori de tip chinazolone. În ceea ce privește EGFR kinaza, substituția de pe radicalul fenil influențează orientarea în buzunarul de legare. În cazul derivaților 2,3- și 2,4-disubstituiți (**1k** și **1l**), nucleul chinazolinonic ocupă buzunarul pentru adenină, în timp ce radicalul fenil este situat în buzunarul K. Privitor la enoil-reductaza din *M. tuberculosis*, cu excepția derivaților **1m-1p**, toate *N*-acil-hidrazonele se orientează în buzunarul de legare într-o manieră similară ligandului co-cristalizat.

Potențialul farmacologic al noilor derivați trebuie completat cu studii aprofundate ale mecanismului de acțiune și ale acțiunii antituberculoase. Totodată, compușii se pretează

optimizărilor ulterioare, urmărind derivatizarea nucleului chinazolinonic și generarea de baze Schiff cu o plajă mai largă de compuși carbonilici.

7. Concluzii și contribuții personale

Obiectivul principal al tezei de doctorat l-a reprezentat dezvoltarea unui procedeu original de sinteză sub acțiunea microundelor pentru obținerea de baze Schiff pornind de la sulfanilamidă, respectiv 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidă. Acest punct a fost atins prin adaptarea protocoalelor de sinteză convențională și optimizarea metodei. Astfel s-au obținut 27 de derivați, 22 originali, al căror design molecular a fost conceput în baza cercetării literaturii de specialitate.

Avantajul principal al sintezei sub acțiunea microundelor l-a reprezentat reducerea considerabilă a timpului de reacție, de la cel puțin 3-4 ore, cum se specifică în cazul metodelor convenționale, la 10-40 de minute. Totodată, se lucrează în sistem închis, fapt ce reduce expunerea la vaporii de solvent, iar atingerea de temperaturi ridicate (90-100 °C) permite un profil cinetic mai curat, produșii fiind obținuți cu puritate avansată, în special în seria de *N*-acil-hidrazone. Ca dezavantaje se poate menționa limitarea cantității de produs obținut, deoarece se lucrează în fiole de reacție de 2-5 mL. Se poate recurge la folosirea de fiole cu capacitatea maximă de 10-20 mL pentru procesele optimizate.

Obiectivele specifice au vizat caracterizarea fizico-chimică și spectrală a compușilor obținuți, realizată printr-un cumul de tehnici specifice, respectiv explorarea profilului biologic și a toxicității acute *in vivo*. În acest ultim caz s-au constatat diferențe între acțiunile derivaților și cele ale materiilor prime de la care s-au obținut seriile de baze Schiff.

În cazul derivaților de sulfanilamidă, (*E*)-4-{[(2-bromofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1b**) și (*E*)-4-{[(3,5-diclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1d**) au prezentat acțiune antistafilococică și antibiofilm superioară față de sulfanilamidă (MIC 0,014 mg/mL și 0,019 mg/mL, comparativ cu 0,39 mg/mL), în timp ce (*E*)-4-{[(2,3,5-triclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1e**) a fost activă pe *E. faecalis* (MIC 0,156 mg/mL față de 1,25 mg/mL pentru sulfanilamidă). De asemenea, (*E*)-4-{[(3,5-diclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1d**) și (*E*)-4-{[(2,6-diclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida (**1c**) au redus viabilitatea celulelor tumorale de adenocarcinom colorectal HT-29, respectiv de glioblastom LN229 în mod semnificativ (5 μg/mL la 24 de ore și 1,6 μg/mL la 48 de ore) la concentrații de peste opt ori mai mici decât

cele necesare sulfanilamidei. Se remarcă astfel importanța substituției cu halogen pentru efectele biologice, doi atomi de clor fiind ideali. Pe de altă parte, aceasta poate crește toxicitatea acută pe specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg, fiind de evitat substituția cu doi atomi de brom, cu trei atomi de clor sau cu o grupă fenoxi.

În privința bazelor Schiff de tip *N*-acil-hidrazone **1a-1p**, efectul citotoxic selectiv pe liniile celulare canceroase (HT-29, A431) a fost principala caracteristică a seriei. *N'*-[(*E*)-(4-bromofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1b**) a manifestat potență pe ambele linii celulare (IC₅₀ 3,125-12 μM), în timp ce *N'*-[(*E*)-(4-fluorofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1a**) și *N'*-[(*E*)-(2,4-diclorofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1d**) au prezentat acțiune în mod special pe A431 (IC₅₀ 6,25-12 μM), depășind 5-FU (IC₅₀ > 50 μM). Efectul citotoxic a variat în mod semnificativ în funcție de substituenții prezenți pe nucleul benzenic, grupele precum 2,3,5-triclor, 2-clor-4-nitro, respectiv 2-hidroxi-5-metoxi inducând o citotoxicitate neselectivă.

Analiza microbiologică a relevat selectivitatea *N*-acil-hidrazonelor **1a-1p** pentru bacteriile Gram-pozitive, manifestată atât prin inhibarea creșterii bacteriene (*S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*), cât și prin exercitarea unui posibil efect microbicid, 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida fiind inactivă în acest context. *N'*-[(*E*)-(3,5-bromo-2-hidroxifenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida (**1j**) a prezentat efect calitativ și cantitativ asupra speciei *S. aureus* (DIZ 12,33 ± 0,58 mm; MIC 0,3125 mg/mL; IC₅₀ 0,0857 mg/mL), subliniind importanța substituției cu halogen pe nucleul de salicilaldehidă, derivații fără grupe hidroxil (**1a-1h**) sau metoxi/fenoxi-substituiți (**1k-1p**) având efect redus sau nesemnificativ. Totuși, efectul antifungic al 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei l-a depășit pe cel al derivaților săi, indicând faptul că transformarea în baze Schiff de tip *N*-acil-hidrazonă este nefavorabilă acțiunii pe *C. albicans*. Acțiunea antituberculoasă este remarcabilă în cazul a cinci derivați (**1b**, **1c**, **1k**, **1l** și **1m**) care au prezentat efect atât pe tulpina sensibilă, cât și pe cea rezistentă de *M. tuberculosis*.

Capacitatea antioxidantă a *N*-acil-hidrazonelor cu grupe nitro (**1h**, **1o**), hidroxi (**1i**, **1j**, **1k**, **1o**) și fenoxi (**1p**) a fost dublă față de cea a 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei, iar toxicitatea *in vitro* acută pe specia de crustacee *Artemia franciscana* Kellogg a derivaților a fost inferioară față de cea a materiei prime.

Totodată, deoarece cinci derivați (**1a-1e**) din seria de baze Schiff ale sulfanilamidei, respectiv cinci compuși (**1c-1g**, **1p**) din seria de *N*-acil-hidrazone provin din reacția cu

aceeași aldehydă, se poate face o comparație între proprietățile acestor derivați pentru a stabili influența farmacoforului asupra efectelor biologice. Acțiunea antioxidantă este mai uniformă în cazul derivaților de sulfanilamidă (TAC 35-43%) comparativ cu cei ai 2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazidei (TAC 16,6-19,7%, respectiv 42,3%). De asemenea, se observă acțiunea mai bună a bazelor Schiff ale sulfanilamidei pe *S. aureus* (MIC 0,014-0,059 mg/mL), fiind de zece chiar o sută de ori mai potente decât analogii lor de tip *N*-acilhidrazonă (MIC 0,625-5 mg/mL). Acțiunea citotoxică pe linia celulară HT29 este greu de apreciat, întrucât valorile sunt exprimate diferit, însă (*E*)-4-[(3,5-diclorofenil)metiliden]amino}benzen-1-sulfonamida are o primă doză cu efect semnificativ la 15 μM (5 μg/mL), iar *N*-[(*E*)-(3,5-diclorofenil)metiliden]-2-(2-metil-4-oxochinazolin-3(4*H*)-il)acetohidrazida prezintă un IC₅₀ de 25 μM (9,7-9,95 μg/mL). În schimb, derivații de chinazolin-4(3*H*)-onă prezintă o toxicitate acută *in vivo* pe *Artemia franciscana* Kellogg mai redusă decât analogii lor de sulfanilamidă.

Printre problemele rămase nerezolvate se numără estimarea corectă a LC₅₀ în analiza de toxicitate acută *in vivo*, deoarece intervalul de concentrație de 62,5-1000 μM folosit și fenomenele mecanice nu au permis calcularea acesteia, respectiv elucidarea mecanismului de acțiune citotoxic pentru cele două serii (studii de inhibiție enzimatică pe enzime reprezentative – anhidraza carbonică pentru seria sulfonamidelor, respectiv caspaza 3 și EGFR kinaza pentru chinazolone).

Ca direcții de dezvoltare a prezentei cercetări se au în vedere aprofundarea mecanismelor de acțiune, analize microbiologice aprofundate pentru seria de *N*-acilhidrazone cu structură chinazolin-4(3*H*)-onică în sfera tuberculozei, determinarea experimentală a solubilității și a lipofiliei compușilor celor mai activi în vederea încadrării în Clasele Biofarmaceutice, dezvoltarea unei tehnici de sinteză sub acțiunea microundelor pentru obținerea de complecși metalici și evaluarea profilului biologic al acestora prin raportare la liganzii originali, optimizarea structurală a derivaților celor mai potenți luând în considerare substituția pe nucleul chianzolonice, testări *in vivo* pe modele animale, încorporarea în nanomateriale.

Bibliografie selectivă

- [1] Clayden J, Greeves N, Warren S. Nucleophilic substitution at C=O with loss of carbonyl oxygen. In: *Organic Chemistry*. Oxford University Press, 2012, pp. 230–232.
- [2] Avram M. *Chimie organică, vol. 2*. București: Editura Academiei Republicii Socialiste România, 1983.
- [3] **Coandă M**, Limban C, Nuță DC. Small Schiff Base Molecules—A Possible Strategy to Combat Biofilm-Related Infections. *Antibiotics* 2024; 13: 75.
- [4] **Coanda M**, Limban C, Draghici C, Ciobanu A-M, Grigore GA, Popa M, Stan M, Larion C, Avram S, Mares C, et al. Current Perspectives on Biological Screening of Newly Synthetised Sulfanilamide Schiff Bases as Promising Antibacterial and Antibiofilm Agents. *Pharmaceuticals* 2024; 17: 405.
- [5] Krátký M, Konečná K, Šimková A, Jand'ourek O, Maixnerová J, Stolaříková J, Vejsová M, Voxová B, Trejtnar F, Vinšová J. Improving the antimicrobial activity of old antibacterial drug mafenide: Schiff bases and their bioactivity targeting resistant pathogens. *Future Med Chem* 2023; 15: 255–274.
- [6] Claudio Viegas-Junior, Eliezer J. Barreiro, Carlos Alberto Manssour Fraga. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Curr Med Chem* 2007; 14: 1829–1852.
- [7] Fraga CAM. Drug hybridization strategies: Before or after lead identification? *Expert Opin Drug Discov* 2009; 4: 605–609.
- [8] Sanduja M, Gupta J, Virmani T. Recent advancements in Uracil and 5-Fluorouracil hybrids as potential anticancer agents: A review. *J Appl Pharm Sci* 2020; 10: 129–146.
- [9] Soltan OM, Shoman ME, Abdel-Aziz SA, Narumi A, Konno H, Abdel-Aziz M. Molecular hybrids: A five-year survey on structures of multiple targeted hybrids of protein kinase inhibitors for cancer therapy. *Eur J Med Chem* 2021; 225: 113768.
- [10] Krátký M, Konečná K, Janoušek J, Jand'ourek O, Maixnerová J, Kalivodová S, Trejtnar F, Vinšová J. Sulfonamide-salicylaldehyde imines active against methicillin- and trimethoprim/sulfonamide-resistant Staphylococci. *Future Med Chem* 2021; 13: 1945–1962.
- [11] Krátký M, Dzurková M, Janoušek J, Konečná K, Trejtnar F, Stolaříková J, Vinšová

- J. Sulfadiazine salicylaldehyde-based schiff bases: Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxicity. *Molecules* 2017; 22: 1573.
- [12] Krátký M, Vinšová J, Volková M, Buchta V, Trejtnar F, Stolaříková J. Antimicrobial activity of sulfonamides containing 5-chloro-2- hydroxybenzaldehyde and 5-chloro-2-hydroxybenzoic acid scaffold. *Eur J Med Chem* 2012; 50: 433–440.
- [13] Mondal S, Mandal SM, Mondal TK, Sinha C. Structural characterization of new Schiff bases of sulfamethoxazole and sulfathiazole, their antibacterial activity and docking computation with DHPS protein structure. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 2015; 150: 268–279.
- [14] Patil RH, Kalam Khan FA, Jadhav K, Damale M, Akber Ansari S, Alkahtani HM, Ali Khan A, Shinde SD, Patil R, Sangshetti JN. Fungal biofilm inhibition by piperazine-sulphonamide linked Schiff bases: Design, synthesis, and biological evaluation. *Arch Pharm (Weinheim)* 2018; 351: 1700354.
- [15] Koyuncu I, Tülüce Y, Slahaddin Qadir H, Durgun M, Supuran CT. Evaluation of the anticancer potential of a sulphonamide carbonic anhydrase IX inhibitor on cervical cancer cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2019; 34: 703–711.
- [16] Şahal H, Öz S, Keskin T, Tekin S, Canpolat E, Kaya M. New sulfa drug derivatives and their zinc(II) complexes: synthesis, spectroscopic properties and in vitro cytotoxic activities. *J Biomol Struct Dyn* 2024; 42: 134–147.
- [17] Arshad JZ, Tabassum S, Kiani MS, Arshad S, Hashmi MA, Majeed I, Ali H, Shah SSA. Anticancer Properties of Ru and Os Half-Sandwich Complexes of N,S Bidentate Schiff Base Ligands Derived from Phenylthiocarbamide. *Chem - An Asian J* 2023; 18: e202300804.
- [18] Maji M, Acharya S, Bhattacharya I, Gupta A, Mukherjee A. Effect of an Imidazole-Containing Schiff Base of an Aromatic Sulfonamide on the Cytotoxic Efficacy of N,N-Coordinated Half-Sandwich Ruthenium(II) p-Cymene Complexes. *Inorg Chem* 2021; 60: 4744–4754.
- [19] Sarikaya B, Ceruso M, Carta F, Supuran CT. Inhibition of carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII with novel Schiff bases: Identification of selective inhibitors for the tumor-associated isoforms over the cytosolic ones. *Bioorg Med Chem* 2014; 22: 5883–5890.
- [20] Durgun M, Turkmen H, Ceruso M, Supuran CT. Synthesis of 4-sulfamoylphenyl-benzylamine derivatives with inhibitory activity against human carbonic anhydrase

isoforms I, II, IX and XII. *Bioorganic Med Chem* 2016; 24: 982–988.

- [21] Alsibae AM, Al-Yousef HM, Al-Salem HS. Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery. *Mol* 2023, Vol 28, Page 978 2023; 28: 978.
- [22] Sahoo BM, Battik BK. New quinazolines: Synthesis, medicinal and pharmacological activities. In: *Organic and Medicinal Chemistry*. Nova Science Publishers, Inc., pp. 97–155.
- [23] Kassem AF, Ragab SS, Omar MA, Altwaijry NA, Abdelraof M, Temirak A, Saleh A, Srour AM. New quinazolone–sulfonate conjugates with an acetohydrazide linker as potential antimicrobial agents: design, synthesis and molecular docking simulations. *RSC Adv* 2025; 15: 1033–1048.
- [24] Emam AM, Dahal A, Singh SS, Tosso RD, Ibrahim SM, El-Sadek M, Jois SD, Enriz RD, Kothayer H. Quinazoline-tethered hydrazone: A versatile scaffold toward dual anti-TB and EGFR inhibition activities in NSCLC. *Arch Pharm (Weinheim)* 2021; 354: 2100281.
- [25] Huan LC, Phuong CV, Truc LC, Thanh VN, Pham-The H, Huong LTT, Thuan NT, Park EJ, Ji AY, Kang JS, et al. (E)-N'-Arylidene-2-(4-oxoquinazolin-4(3H)-yl) acetohydrazides: Synthesis and evaluation of antitumor cytotoxicity and caspase activation activity. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2019; 34: 465–478.
- [26] Huan LC, Anh DT, Truong BX, Duc PH, Hai PT, Duc-Anh L, Huong LTT, Park EJ, Lee HJ, Kang JS, et al. New Acetohydrazides Incorporating 2-Oxoindoline and 4-Oxoquinazoline: Synthesis and Evaluation of Cytotoxicity and Caspase Activation Activity. *Chem Biodivers* 2020; 17: e1900670.
- [27] Huan LC, Tran P-TT, Phuong CV, Duc PH, Anh DT, Hai PT, Huong LTT, Thuan NT, Lee HJ, Park EJ, et al. Novel 3,4-dihydro-4-oxoquinazoline-based acetohydrazides: Design, synthesis and evaluation of antitumor cytotoxicity and caspase activation activity. *Bioorg Chem* 2019; 92: 103202.
- [28] Dung DTM, Park EJ, Anh DT, Hai P-T, Huy LD, Jun HW, Kwon J-H, Young Ji A, Kang JS, Tung TT, et al. Design, synthesis, and evaluation of novel (E)-N'-(3-allyl-2-hydroxy)benzylidene-2-(4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)acetohydrazides as antitumor agents. *Arch Pharm (Weinheim)* 2022; 355: 2100216.
- [29] Jain A, De S, Barman P. Microwave-assisted synthesis and notable applications of Schiff-base and metal complexes: a comparative study. *Res Chem Intermed* 2022; 48: 2199–2251.
- [30] Kappe CO. 3.36 - Microwave-Assisted Chemistry. In: Taylor JB, Triggler DJ (eds)

- Comprehensive Medicinal Chemistry II, volume 3: Drug Discovery Technologies.* Oxford: Elsevier, pp. 837–860.
- [31] Polshettiwar V, Varma RS. Microwave-Assisted Organic Synthesis and Transformation using Benign Reaction Media. *Acc Chem Res* 2008; 41: 629–639.
- [32] Kappe CO. Controlled microwave heating in modern organic synthesis. *Angew Chemie - Int Ed* 2004; 43: 6250–6284.
- [33] Martinengo B, Diamanti E, Uliassi E, Bolognesi ML. Harnessing the 12 Green Chemistry Principles for Sustainable Antiparasitic Drugs: Toward the One Health Approach. *ACS Infectious Diseases* 2024; 10: 1856–1870.
- [34] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* 2017; 7: 1–13.
- [35] Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem* 2015; 58: 4066–4072.
- [36] Yang H, Lou C, Sun L, Li J, Cai Y, Wang Z, Li W, Liu G, Tang Y. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics* 2019; 35: 1067–1069.
- [37] Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, Yin M, Zeng X, Wu C, Lu A, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res* 2021; 49: W5–W14.
- [38] Nickel J, Gohlke BO, Erehman J, Banerjee P, Rong WW, Goede A, Dunkel M, Preissner R. SuperPred: Update on drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: W26–W31.
- [39] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res* 2019; 47: W357–W364.
- [40] Filimonov DA, Lagunin AA, Gloriovova TA, Rudik A V, Druzhilovskii DS, Pogodin P V, Poroikov V V. Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chem Heterocycl Compd* 2014; 50: 444–457.
- [41] SPARTAN'20, www.wavefun.com (2022).
- [42] CLC Drug Discovery Workbench 2.4, 2015. *QIAGEN Aarhus A/S Silkeborgvej 2 Prismet DK-8000 Aarhus C Denmark.*

- [43] Molegro Virtual Docker, 2019. *Molexus IVS, Rørth Ellevej 3, Rørt 8300 Odder Denmark*, <http://molexus.io/> (accessed 30 January 2024).
- [44] Predoi D, Iconaru SL, Predoi MV. Bioceramic layers with antifungal properties. *Coatings* 2018; 8: 276.
- [45] Predoi D, Iconaru SL, Predoi MV, Motelica-Heino M, Guegan R, Buton N. Evaluation of antibacterial activity of zinc-doped hydroxyapatite colloids and dispersion stability using ultrasounds. *Nanomaterials* 2019; 9: 515.
- [46] Vlad IM, Nuță DC, Ancuceanu RV, Costea T, Coanda M, Popa M, Marutescu LG, Zarafu I, Ionita P, Pirvu CED, et al. Insights into the Microbicidal, Antibiofilm, Antioxidant and Toxicity Profile of New O-Aryl-Carbamoyl-Oxymino-Fluorene Derivatives. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 7020.
- [47] Macarovici CG, Macarovici M. No Title. *Rev Chim Acad la Repub Pop Roum* 1956; 1: 91–104.
- [48] Elie J, Vercouillie J, Arlicot N, Lemaire L, Bidault R, Bodard S, Hosselet C, Deloye JB, Chalon S, Emond P, et al. Design of selective COX-2 inhibitors in the (aza)indazole series. Chemistry, in vitro studies, radiochemistry and evaluations in rats of a [¹⁸F] PET tracer. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2019; 34: 1–7.
- [49] **Coandă M**, Drăghici C, Pintilie L, Kapronczai E-E, Chiriță C, Marinaș I-C, Ancuceanu R-V, Zarafu I, Ioniță P, Crăciun D-I, et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of N-Acyl-Hydrazone-Linked Quinazolinone Derivatives with Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Potential. *Pharmaceuticals* 2026; 19: 57.
- [50] Tang YZ, Liu ZQ. Quantitative structure - Activity relationship of hydroxyl-substituent Schiff bases in radical-induced hemolysis of human erythrocytes. *Cell Biochem Funct* 2008; 26: 185–191.

Lista cu lucrările științifice publicate

Articole publicate în reviste de specialitate cotate în sistemul ISI

1. **Coandă M**, Limban C, Nuță DC. Small Schiff Base Molecules—A Possible Strategy to Combat Biofilm-Related Infections. *Antibiotics* 2024; 13: 75. Indexarea revistei: Q1. Factor de impact: 4.6 (2024). doi: 10.3390/antibiotics13010075. Disponibil la: <https://www.mdpi.com/2079-6382/13/1/75/htm>.
(Lucrare cuprinsă în capitolul 1, pag. 19-25)
2. **Coanda M**, Limban C, Draghici C, Ciobanu A-M, Grigore GA, Popa M, Stan M, Larion C, Avram S, Mares C, et al. Current Perspectives on Biological Screening of Newly Synthetised Sulfanilamide Schiff Bases as Promising Antibacterial and Antibiofilm Agents. *Pharmaceuticals* 2024; 17: 405. Indexarea revistei: Q1. Factor de impact: 4.8 (2024). doi: 10.3390/ph17040405. Disponibil la: <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/4/405>.
(Lucrare cuprinsă în capitolul 1, pag. 19-27, capitolul 3, pag. 45-48 și capitolul 4, pag. 56-77)
3. **Coandă M**, Drăghici C, Pintilie L, Kapronczai E-E, Chiriță C, Marinaș I-C, Ancuceanu R-V, Zarafu I, Ioniță P, Crăciun D-I, et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of N-Acyl-Hydrazone-Linked Quinazolinone Derivatives with Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Potential. *Pharmaceuticals* 2026; 19: 57. Indexarea revistei: Q1. Factor de impact: 4.8 (2024). doi: 10.3390/ph19010057. Disponibil la: <https://www.mdpi.com/1424-8247/19/1/57/htm>.
(Lucrare cuprinsă în capitolul 1, pag. 27-33, capitolul 3, pag. 44-49 și capitolul 5, pag. 85-128)