

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

FACULTATEA DE FARMACIE

DISCIPLINA DE CHIMIE FARMACEUTICĂ

DERIVAȚI AI ACIZILOR ARILSULFONAMIDICI CU

POTENȚIALĂ ACȚIUNE FARMACOLOGICĂ

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. CHIRIȚĂ ILEANA CORNELIA

Student-doctorand:

ROTARU (ENACHE) IOANA DANA

2018

CUPRINS

Introducere.....	1
I. PARTE TEORETICĂ.....	5
1. Compuși cu structură arilsulfonamidică utilizați în terapeutică sau experimentați pentru a fi introduși în terapeutică.....	5
1.1. Scurt istoric.....	5
1.2. Clasificarea sulfonamidelor conform acțiunii farmacologice.....	6
• Sulfonamide cu acțiune bacteriostatică sau bactericidă.....	6
• Sulfonamide cu acțiune hipoglicemiantă	8
• Sulfonamide cu acțiune diuretică.....	9
1.3. Metode generale de sinteză.....	10
1.4. Relații între structura chimică și acțiunea farmacologică în clasa sulfonamidelor.....	12
1.5. Cercetări recente în domeniul compușilor sulfonamidici și efectele terapeutice ale acestora.....	13
1.5.1. Compuși cu acțiune antibacteriană.....	13
1.5.2. Compuși cu acțiune inhibitoare a anhidrazelor carbonice.....	14
1.5.3. Compuși cu acțiune antiglaucomatoasă.....	17
1.5.4. Compuși cu acțiune antiepileptică.....	19
1.5.5. Compuși cu acțiune inhibitoare asupra metaloproteazelor matriceale.....	21
1.5.6. Compuși cu acțiune antidiabetică.....	24
1.5.7. Compuși cu acțiune inhibitoare asupra colinesterazelor.....	26
2. Compuși cu structură ureidosulfonică experimentați pentru a fi introduși în terapeutică.....	32
2.1. Metode generale de sinteză.....	32
2.2. Cercetări recente în domeniul derivaților cu structură ureidosulfonică și efectele lor terapeutice.....	33
2.2.1. Compuși cu acțiune antibacteriană	33
2.2.2. Compuși cu acțiune antiinflamatoare.....	35
2.2.3. Compuși cu acțiune antiagregant plachetară și antiaterosclerotică.....	38
2.2.4. Compuși cu acțiune antitumorală.....	41
2.2.5. Compuși cu acțiune inhibitoare asupra anhidrazelor carbonice.....	45
2.2.6. Compuși cu acțiune anticonvulsivantă.....	47
2.2.7. Compuși cu acțiune antidepresivă.....	49
2.2.8. Compuși cu acțiune anti – Alzheimer.....	51
2.2.9. Compuși cu acțiune antidiabetică.....	52
3. Compuși ce conțin o grupă ester carbamică.....	56
3.1. Metode generale de sinteză.....	56
3.2. Compuși ester carbamici utilizați în terapeutică.....	57
3.3. Cercetări recente în domeniul derivaților ce conțin o grupă ester carbamic și efectele lor terapeutice.....	59
3.3.1. Compuși cu acțiune antibacteriană.....	59
3.3.2. Compuși cu acțiune antiinflamatoare; compuși cu acțiune anti – Alzheimer.....	61

3.3.3.	Compuși cu acțiune antidepresivă.....	64
3.3.4.	Compuși cu acțiune antiparkinsoniană	64
3.3.5.	Compuși cu acțiune antitumorală.....	65
4.	Concluzii.....	66
II.	PARTE EXPERIMENTALĂ.....	68
1.	Sinteza intermediarilor necesari obținerii noilor compuși.....	68
1.1.	Obținerea acidului 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoic (III).....	68
1.2.	Obținerea 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoatului de etil (IV).....	69
1.3.	Obținerea 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoilhidrazidei (V).....	69
1.4.	Obținerea 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoilazidei (VI).....	70
2.	Sinteza noilor compuși cu structură ureidosulfonică (Seria A).....	73
3.	Sinteza noilor compuși cu structură sulfonamică care conțin o grupă ester carbamic (Seria B).....	82
	Rezultate și discuții.....	85
4.	Considerații generale referitoare la dovedirea structurii intermediarilor și a noilor compuși sintetizați.....	88
4.1.	Analiza elementală.....	88
4.2.	Analiza spectrală în infra-roșu.....	88
4.3.	Analiza spectrală de rezonanță magnetică	90
4.4.	Rezultate și concluzii.....	122
5.	Cercetarea citotoxicității „in vitro” a noilor compuși.....	124
5.1.	Materiale și metode.....	124
5.2.	Rezultate și discuții.....	129
5.3.	Concluzii.....	144
6.	Testarea farmacologică.....	146
6.1.	Ipooteza de lucru.....	146
6.2.	Protocol experimental.....	147
6.3.	Testele farmacologice utilizate în cercetările experimentale.....	149
6.3.1.	Testarea activității motorii cu ajutorul cuștii de activitate.....	149
6.3.2.	Testarea acțiunii antidepresive prin testul înotului forțat.....	150
6.3.3.	Testarea acțiunii antidepresive prin testul suspendării de coadă...150	
6.3.4.	Testarea acțiunii asupra tonusului muscular prin testul rotarod...151	
6.3.5.	Testarea acțiunii analgezice prin testul plăcii fierbinți.....	151
6.4.	Analiza statistică.....	152
6.5.	Rezultate și discuții.....	152
6.5.1.	Determinarea toxicității acute.....	152
6.5.2.	Selecția animalelor pentru alcătuirea loturilor de cercetare.....	154
6.5.3.	Evaluarea acțiunii difenilsulfonamidelor nou-sintetizate asupra activității motorii.....	155
6.5.4.	Evaluarea acțiunii antidepresive a difenilsulfonamidelor nou sintetizate.....	161
6.5.5.	Evaluarea acțiunii difenilsulfonamidelor nou sintetizate asupra tonusului muscular în testul rotarod.....	165
6.5.6.	Evaluarea acțiunii analgezice a derivaților difenilsulfonamidici nou sintetizați în testul plăcii fierbinți.....	166
6.6.	Concluzii.....	167
7.	Testarea acțiunii antimicrobiene.....	170
7.1.	Materiale și metode.....	170
7.2.	Rezultate și discuții.....	174
7.3.	Încorporarea compușilor în sisteme de nanoparticule de magnetită....	178

7.4.Concluzii.....	183
8. Studii computaționale de andocare moleculară.....	186
8.1.Materiale și metode.....	189
8.2.Rezultate și discuții.....	191
8.3.Concluzii.....	201
9. Rezultate și concluzii generale și originalitatea tezei.....	203
9.1.Rezultate și concluzii generale.....	203
9.2.Originalitatea tezei.....	208
III. Bibliografie.....	I
Anexa 1.....	XIV
Anexa 2.....	XXV

LISTĂ LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

Articole în reviste cotate ISI

1. **Rotaru (Enache) I. D.**, Nuță C. D., Chiriță I.C., Căproiu M.T., Limban C., Missir A.V., Chiriță C., New synthesis in the N-[4-[(phenylcarbamoyl)amino]-phenyl]benzenesulfonamide derivatives series. Note I, *Farmacia*, 64 (6): 828 – 833, 2016, ISSN 0014-8237, **factor de impact 1.348**, <http://www.revistafarmacia.ro/201606/issue62016art4.html>.
2. **Rotaru (Enache) I.D.**, Nuță C.D., Chiriță I.C., Missir A.V., Bădiceanu C.D., Morușciag L., Căproiu M.T., Limban C., New synthesis of diphenylsulphonamides compounds with pharmacological properties. Note II, *Farmacia*, 65 (5): 720 – 725, 2017, ISSN 0014-8237, **factor de impact 1.348**, <http://www.revistafarmacia.ro/201705/issue52017art11.html>.

Comunicări științifice:

1. **Rotaru (Enache) I.D.**, Chiriță I.C., Missir A.V., Căproiu M.T., The synthesis of new arylsulphonamide compounds with potential pharmacological activity, From science to guidance and practice, 19-21 oct. 2015, București, poster.
2. **Rotaru (Enache) I.D.**, Chiriță I.C., Derivați ai acizilor arilsulfonamidici cu potențială acțiune farmacologică, Conferința Intermediară de Informare și Conștientizare cu Participarea Grupului Țintă, 28-29 noi. 2015, București, prezentare.
3. **Rotaru (Enache) I.D.**, Limban C., Chiriță I.C., Missir A.V., Bădiceanu C.D., Morușciag L., Nuță D.C., New synthesis in the diphenylsulphonamides compounds with pharmacological properties, Congresul Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, Perspective interdisciplinare, București, 29-31 mai 2017, prezentare.
4. **Rotaru (Enache) I.D.**, Chiriță I.C., Dinu M., Ancuceanu R.V., Synthesis and phytobiological study of new diphenylsulphonamides compounds, Congresul Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, 7-9 iunie 2018, prezentare.

Proiecte de cercetare-dezvoltare:

1. Proiect „Research 62 – Doctorat în context european”, număr de identificare al contractului: POSDRU/187/1.5/S/156069, Beneficiar: Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

- **Introducere**

Studiile de obținere de noi medicamente au un rol foarte important atât în dezvoltarea farmaceutică cât și în creșterea speranței de viață și a calității acesteia. Sinteza de noi derivați a devenit un proces costisitor, care se întinde pe o perioadă mare de timp și care se realizează pe baza unor strategii bine stabilite. Pe bază de studii clinice și noi strategii de drug – design, se încearcă pe o parte obținerea de noi structuri chimice active pe agenții patogeni, iar pe de altă parte creșterea eficienței și potenței unor medicamente cunoscute și testate, dar care prin modularea structurii chimice pot deveni agenți terapeutici mai activi. Pornind de la această ipoteză, am luat în calcul modificarea unei structuri de bază de sulfonamidă, în vederea obținerii de noi compuși cu activitate terapeutică îmbunătățită. Interesul nostru s-a îndreptat înspre grefarea unui rest de uree, respectiv a unei grupe de ester carbamic pe o structură de bază sulfonamidică. Am ales cele două grupe datorită informațiilor din literatura de specialitate legate de potențiale acțiuni terapeutice ale acestora.

- **Compuși cu structură arilsulfonamidică utilizați în terapeutică sau experimentați pentru a fi introduși în terapeutică**

Primul compus ce conține o grupă sulfonamidică, care a fost utilizat în terapia antimicrobiană a fost Protonsil rubrum[®].^[1] După numeroase cercetări s-a observat că agentul antibacterian activ era sulfanilamida, un compus care se obține în organism în urma unei reacții de reducere. Astfel, cercetătorii au trecut la testarea precursorului sulfanilamidă pentru activitatea antibacteriană și în urma confirmării efectului farmacologic au început studierea unor noi compuși cu structură asemănătoare.^[2]

Sulfonamidele utilizate în prezent în terapeutică au acțiune bacteriostatică sau bactericidă, hipoglicemiantă și diuretică.^[3] Cercetările recente atribuie grupei sulfonamidice acțiuni antibacteriană^[4], inhibitoare a anhidrazelor carbonice^[5], antiglaucomatoasă^[6], antiepileptică^[7], inhibitoare asupra metaloproteazelor matriceale^[8], antidiabetică^[9], inhibitoare asupra colinesterazelor^[10].

- **Compuși cu structură ureidosulfonică experimentați pentru a fi introduși în terapeutică**

Cei mai cunoscuți compuși derivați de uree utilizați în prezent în terapeutică sunt compușii cu structură ureidosulfonică, cu acțiune antidiabetică. La această acțiune se adaugă o serie de noi proprietăți farmacologice care au fost descoperite în cercetările recente precum: antibacteriană^[11], antiinflamatoare^[12], antiagregant plachetară și antiaterosclerotică^[13], antitumorală^[14,15], inhibitoare asupra anhidrazelor carbonice^[16], anticonvulsivantă^[17], antidepresivă^[18], anti – Alzheimer^[19].

- **Compuși ce conțin o grupă ester carbamic**

Una dintre cele mai importante proprietăți ale esterilor carbamici este capacitatea de inhibare a acetilcolinesterazei, enzimă din clasa hidrolazelor. Rivastigmina este un ester carbamic cu indicații terapeutice în tratamentul demenței de tip Alzheimer, sau al celei asociate cu boală Parkinson.^[20] Felbamatul este un antiepileptic de rezervă, folosit la pacienții care nu au răspuns la tratamentul cu alți compuși sau la care riscul de apariție a convulsiilor severe este atât de mare, încât depășește riscul de apariție a anemiei aplastice sau a insuficienței hepatice (principalele reacții adverse).^[21] Meprobamatul s-a folosit în tratamentul stărilor de anxietate, spasmului muscular sau în tratamentul de scurtă durată al insomniei.^[22] Capecitabina este un carbamat fluoropirimidinic cu acțiune antineoplazică^[23]. Cercetările recente atribuie esterilor carbamici acțiuni antibacteriană^[24], antiinflamatoare și anti – Alzheimer^[25,26], antidepresivă^[27], antiparkinsoniană^[28].

- **Sinteza intermediarilor necesari obținerii noilor compuși**

Pentru obținerea acidului 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoic (III) am preparat într-un pahar Berzelius o soluție 8% de carbonat de potasiu dizolvând 40 g (0,2 moli) carbonat de potasiu în 450 mL apă. În soluție se dizolvă 25 g (0,182 moli) acid *para*-aminobenzoic. Se picură pe parcursul unei ore și jumătate, sub agitare continuă, la 10 – 15 °C, 35 mL (0,265 moli) clorură a acidului benzensulfonic. Se verifică pH-ul soluției pentru a se menține la valoarea de aproximativ 9. După adăugarea soluției de clorură a acidului, se mai agită timp de o oră și jumătate. Se încălzește soluția la fierbere, agitând continuu timp de 15 minute. După răcire, se acidulează cu acid clorhidric concentrat până la pH 2-3 și se lasă în repaus 24 de ore. Se filtrează precipitatul și se purifică prin dizolvare în hidroxid de sodiu 10% și reprecipitare în mediu acid, cu acid clorhidric concentrat. Se obține un precipitat alb, granulos, cu un randament de 80% și temperatură de topire de 204 °C (apă).

Compusul IV, 4-[(fenilsulfonil)amino]benzoatului de etil, s-a obținut prin introducerea într-un balon prevăzut cu refrigerent ascendent 2,77 g (0,01 moli) acid III și 33 mL (0,553 moli) etanol absolut. Treptat am adăugat 1,22 mL (0,023 moli) acid sulfuric, în final obținând o soluție slab galbenă, ușor opalescentă. Am refluxat aproximativ 3 ore; după primele două ore soluția se limpezește. După răcire, am turnat conținutul balonului peste o soluție de carbonat de sodiu 10% rece (4-5 °C) și am observat apariția unui precipitat alb abundent. Am filtrat și spălat precipitatul până când apele de spălare au avut un pH de aproximativ 7. Am obținut 2,83g ester (IV), cu un randament al reacției de aproximativ 92 % și temperatura de topire 184 – 185 °C.

Pentru sinteza intermediarului V (4-[(fenilsulfonil)amino]benzoilhidrazida) am dizolvat 1,22 g (0,004 moli) din esterul obținut anterior în 8 mL (0,1646 moli) hidrat de hidrazină*H₂O. Am refluxat soluția într-un balon cu fund rotund timp de cinci ore. După concentrare la sec, la vid, reziduul obținut a fost recristalizat din etanol; am obținut 0,788 g (randament 67,9%) microcristale albe cu temperatura de topire 236-237 °C.

Azida (4-[(fenilsulfonil)amino]benzoilazida), intermediarul principal, l-am obținut prin dizolvarea a 0,584g (0,002 moli) hidrazidă (V) în 10 mL acid acetic glacial, la ușoară încălzire. Soluția a fost răcită pe gheață până la o temperatură de 5-8 °C. Separat, am dizolvat 0,1567g (0,00227 moli) azotit de sodiu în 4 mL apă și am răcit soluția pe gheață până la 0 °C. Am adăugat soluția de azotit de sodiu folosind o pâlnie de picurare, treptat, sub agitare peste soluția de hidrazidă. Am obținut un lichid gălbui pe care l-am menținut 5 minute pe gheață, agitând ușor cu o baghetă. Am adăugat în pahar aproximativ 8g de gheață mărunțită, când am observat apariția unui precipitat gălbui foarte fin. Am menținut amestecul pe gheață încă 15 minute, după care aproximativ o oră la temperatura camerei, agitând constant. Am separat precipitatul și l-am spălat cu apă până când pH-ul apelor de spălare a fost 6,5. Am obținut un precipitat alb, cristalin cu microcristale în rozetă, care a fost uscat în exsicator. Am obținut 0,546 g azidă (VI) cu temperatura de topire 142-143 °C și un randament de 90,1%.

- **Sinteza noilor compuși cu structură ureidosulfonică (Seria A)**

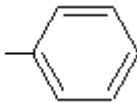
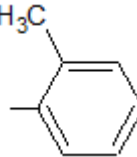
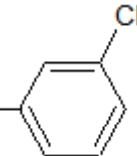
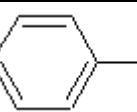
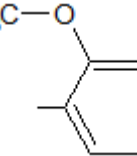
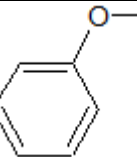
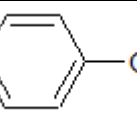
Azida, 0,2237g (0,00074 moli), am dizolvat-o, la reflux, în 20 mL dioxan. Soluția obținută am turnat-o treptat, folosind o pâlnie de picurare, într-un balon cu două gături, încălzit în prealabil pe o baie electrică. Soluția a fost adăugată în etape, deoarece la fiecare adăugare apare o spumificare datorită degajării de N₂. Am refluxat conținutul balonului timp de aproximativ o oră, după care, folosind aceeași pâlnie de picurare, am adăugat

treptat soluția de amină (în cantitate echimoleculară cu azida) în dioxan. După aproximativ 5-10 minute de la refluxarea amestecului apar primele cristale, care își măresc volumul în timp. Am mai refluxat amestecul aproximativ o oră. Am lăsat amestecul la temperatura camerei până a doua zi pentru perfectarea reacției, după care am filtrat precipitatul și am recristalizat din etanol sau amestec etanol:apă 2:1.

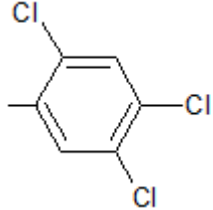
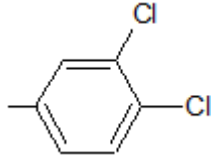
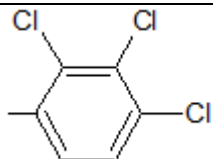
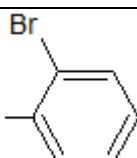
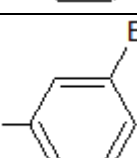
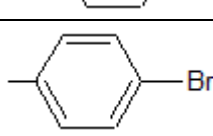
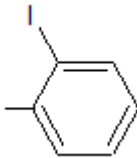
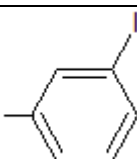
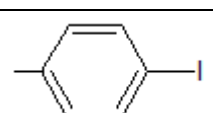
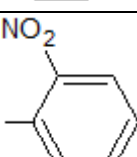
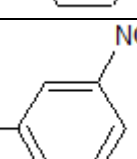
Am sintetizat astfel o serie de 33 de compuși dintre care 4 (A1, A4, A7 și A28) sunt descriși în literatura de specialitate consultată, dar obținuți prin altă metodă de sinteză. Compușii seriei A sunt ușor solubili la rece în acetonă, solubili la rece în alcooli inferiori (C₁-C₄) cu catenă normală sau ramificată, solubili la cald în alcooli superiori (C₅-C₁₀) și acetat de etil, greu solubili la cald în cloroform, benzen, toluen și xilen și insolubili în apă.

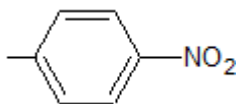
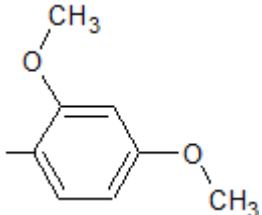
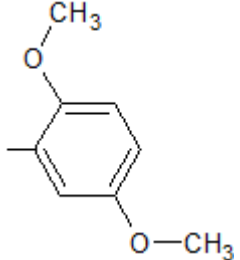
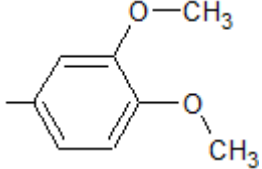
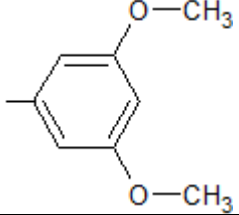
În tabelul numărul I. sunt notate semnificația radicalului R, formula moleculară a compușilor, masele lor relative și temperatura de topire.

Tabel I. Derivați ureidosulfonamidici (Seria A)

Nr.	Radicalul R	Formulă moleculară	Masă relativă	Temperatura de topire (°C)
1		C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₃ S	367,42	163-164
2		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	381,43	194-195
3		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	381,43	196-197
4		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	381,43	223-224
5		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	397,43	169-170
6		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	397,43	182-183
7		C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	397,43	210-211

8		$C_{21}H_{21}N_3O_4S$	411,46	184-185
9		$C_{21}H_{21}N_3O_4S$	411,46	177-178
10		$C_{21}H_{21}N_3O_4S$	411,46	213-214
11		$C_{19}H_{16}N_3O_3SCl$	401,86	196-197
12		$C_{19}H_{16}N_3O_3SCl$	401,86	185-186
13		$C_{19}H_{16}N_3O_3SCl$	401,86	224-225
14		$C_{19}H_{15}N_3O_3SCl_2$	436,31	216-217
15		$C_{19}H_{15}N_3O_3SCl_2$	436,31	191-193
16		$C_{19}H_{15}N_3O_3SCl_2$	436,31	208-209
17		$C_{19}H_{15}N_3O_3SCl_2$	436,31	201-203

18		$C_{19}H_{14}N_3O_3SCl_3$	470,75	235-236
19		$C_{19}H_{15}N_3O_3SCl_2$	436,31	209-210
20		$C_{19}H_{14}N_3O_3SCl_3$	470,75	228-230
21		$C_{19}H_{16}N_3O_3SBr$	446,32	197-198
22		$C_{19}H_{16}N_3O_3SBr$	446,32	195-196
23		$C_{19}H_{16}N_3O_3SBr$	446,32	228-229
24		$C_{19}H_{16}N_3O_3SI$	493,32	203-204
25		$C_{19}H_{16}N_3O_3SI$	493,32	205-206
26		$C_{19}H_{16}N_3O_3SI$	493,32	232-233
27		$C_{19}H_{16}N_4O_5S$	412,41	178-179
28		$C_{19}H_{16}N_4O_5S$	412,41	201-202

29		$C_{19}H_{16}N_4O_5S$	412,41	212-213
30		$C_{21}H_{21}N_3O_5S$	427,47	189-190
31		$C_{21}H_{21}N_3O_5S$	427,47	177-178
32		$C_{21}H_{21}N_3O_5S$	427,47	176-177
33		$C_{21}H_{21}N_3O_5S$	427,47	172-174

- **Sinteza noilor compuși cu structură sulfonamică care conțin o grupă ester carbamic (Seria B)**

Pentru obținerea noilor derivați am greșit o grupă ester carbamic pe o structură de bază sulfonamică. Am plecat de la azida sintetizată anterior pe care am dizolvat-o în diferiți alcooli în exces, folosiți atât ca solvent, cât și ca reactant. S-a refluxat amestecul timp de o oră – o oră și jumătate, după care am adus soluția obținută la sec, la vid. Reziduul a fost recristalizat din amestec alcool:apă 2:1 sau 2:2.

Folosind această tehnică de lucru, am sintetizat o serie de 15 compuși, dintre care trei (B1, B2, B8) sunt descriși în literatura de specialitate. Compușii obținuți sunt ușor solubili în acetonă și cloroform la rece, solubili în alcooli și acetat de etil la rece, solubili la cald în benzen, toluen și xilen și insolubili în apă.

Formulele moleculare, masa relativă și temperaturile de topire ale derivaților sunt prezentate în tabelul numărul II.

Tabel II. Derivații carbamați sintetizați (Seria B)

Nr.	Radicalul R	Formulă moleculară	Masă relativă	Temperatura de topire (°C)
1	—CH ₃	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	306.33	127-128
2	—CH ₂ CH ₃	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	320.36	154-155
3	—CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	334.38	119-120
4	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{—HC—} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	334.38	141-142
5	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄ S	348.41	130-131
6	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄ S	348.41	97-98
7	$\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{CH—CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄ S	348.41	153-154
8	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{—C—CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄ S	348.41	119-120
9	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₄ S	362.43	127-128
10	$\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{CH}_2\text{CH—CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₄ S	362.43	117-118
11	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄ S	376.46	101-102
12	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O ₄ S	390.49	110-111
13	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₁ H ₂₈ N ₂ O ₄ S	404.51	111-112
14	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₄ S	418.54	87-88
15	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₄ S	432.56	94-95

Schemă generală de sinteză

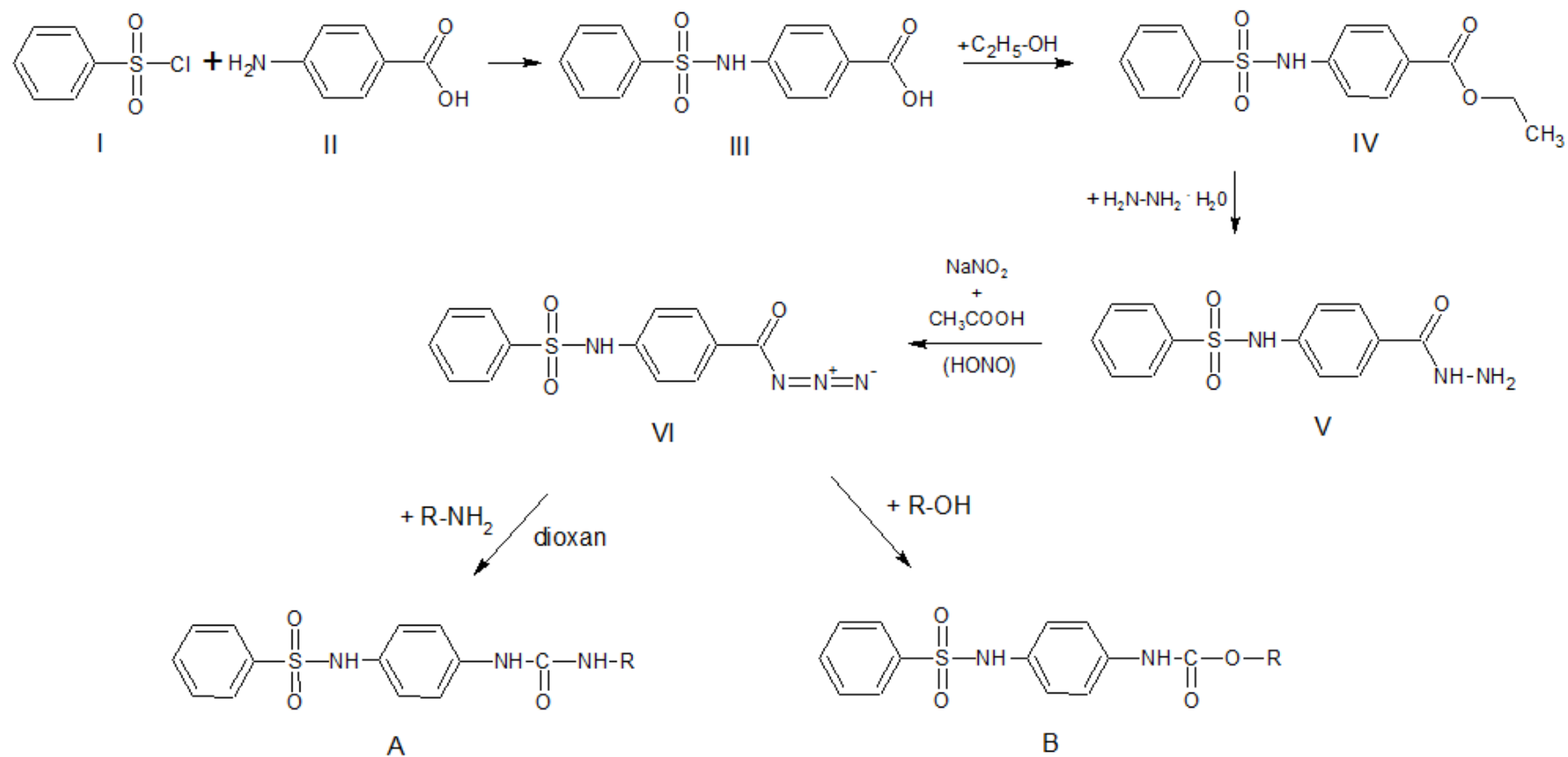


Figura 1 - Schemă generală de sinteză a compușilor nou sintetizați

- **Considerații generale referitoare la dovedirea structurii intermediarilor și a noilor compuși sintetizați**

Compușii nou sintetizați au fost caracterizați prin analiză elementală, spectroscopie în infraroșu, spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară de proton ($^1\text{H-RMN}$) și de carbon ($^{13}\text{C-RMN}$). Datele au fost comparate cu literatura de specialitate [29, 30, 31, 32, 33, 34] și s-a observat că analizele au confirmat structurile chimice ale compușilor sintetizați în totalitate.

- **Cercetarea citotoxicității *in vitro* a noilor compuși**

Scopul determinării a fost să se observe o corelație între structura chimică a compușilor nou sintetizați și efectul pe care aceștia îl au asupra alungirii radiculare sau asupra filmului cariochinet.^[35] Cercetările au fost efectuate pe rădăcini embrionare de grâu (*Triticum aestivum* Mill, *Gramineae*, cultură certificată organic, provenite de la Bioforce AG, Germania).

Am ales dintre compușii sintetizați 10 reprezentanți: 7 derivați de uree (A1, A4, A7, A13, A23, A26, A29) și 3 carbamați (B1, B5, B7). Cariopsele de grâu au fost selecționate și îmbibate cu apă distilată timp de 24 de ore la temperatura camerei (18 – 25°C), după care au fost puse la germinat în vase Linhart pe substrat de hârtie de filtru umectată cu apă distilată. În momentul în care lungimea rădăcinilor principale a ajuns la 1 cm, câte 10 cariopse au fost mutate în cutii Petri cu diametrul de 90 mm care conțineau 15 mL soluție de analizat. Vasele au fost acoperite, iar cariopsele au avut contact cu soluțiile de analizat timp de 3 zile. Pentru a determina citotoxicitatea compușilor am ales patru concentrații: 10^{-3} , $6,6 \cdot 10^{-4}$, $3,3 \cdot 10^{-4}$, $6,6 \cdot 10^{-5}$.

Am determinat alungirea rădăcinii principale la interval de 24, 48 și 72 de ore (3 zile consecutive) prin tehnica măsurătorii liniare. Am ales această perioadă pentru că reprezintă faza cea mai activă de creștere. Rezultatele au fost interpretate prin compararea cu martorul. La 24 de ore de la introducerea cariopselor în cutiile Petri în care se găsesc soluțiile de analizat, se cercetează dacă există eventuale modificări ale filmului mitotic la nivelul rădăcinii principale. Rezultatele se interpretează tot comparativ cu martorul.

Rezultatele obținute în urma evaluării lungimii radiculare a cariopselor de grâu aflate în contact cu soluțiile compușilor testați la 24, 48 și 72 de ore sunt prezentate în figura 2.

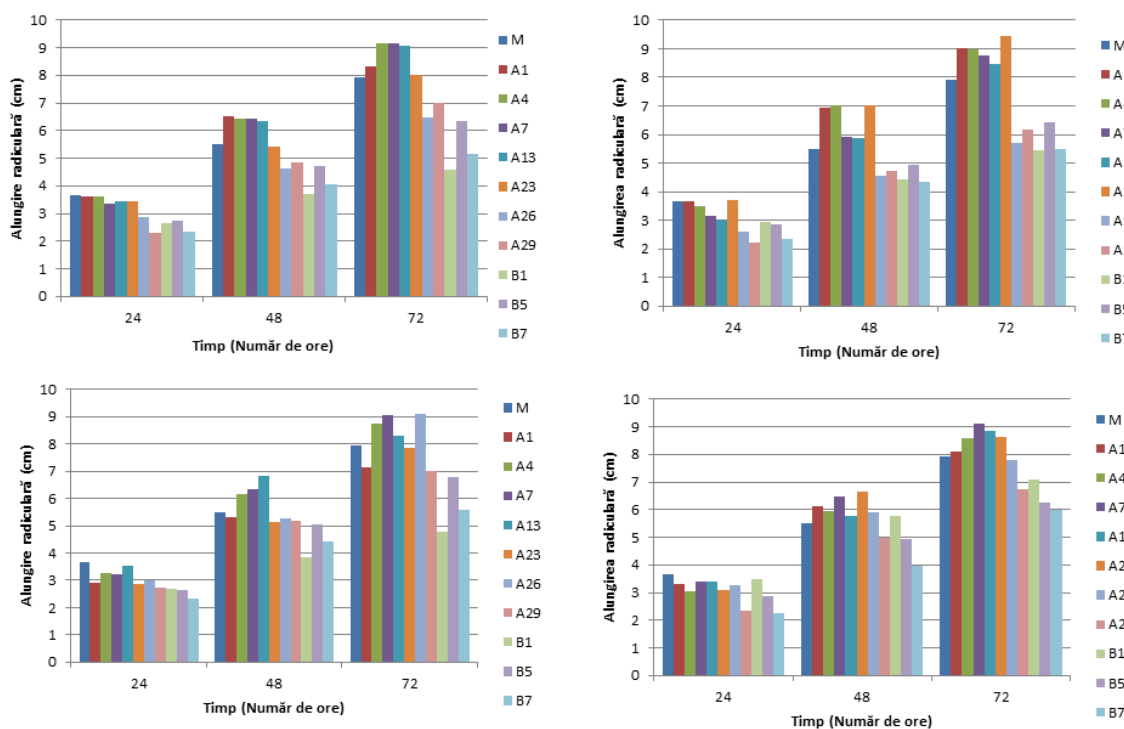


Figura 2 - Rezultate obținute în urma testării compușilor

În concluzie, substanțele A4, A7, A13 și A23 au un efect ușor stimulator (dar semnificativ statistic) asupra creșterii rădăcilor de *T. aestivum* L., iar substanțele A29, B1, B5 și B7 au un efect inhibitor limitat asupra creșterii radiculare, cel mai pronunțat efect fiind observat pentru B7; efectele substanțelor A1 și A27 nu au fost semnificativ diferite de cele ale matorului.

Efectele genotoxice sunt în corelație cu rezultatele obținute la analiza macroscopică și statistică. Un efect mitoinhibitor limitat a fost observat în cazul compușilor de tip carbamați și pentru compusul A29.

Astfel, putem afirma că derivații sintetizați reprezintă o bază bună din punct de vedere al toxicității asupra celulelor vegetale, aceasta fiind redusă și existând un risc scăzut de genotoxicitate.

- **Testarea farmacologică a noilor derivați**

Pentru testarea farmacologică a noilor derivați, am luat în lucru 3 derivați de uree: A7, A13 și A23 și 3 esteri carbamici: B1, B5 și B7.

Compusul A7 reduce cel mai intens activitatea motorie orizontală a șoarecilor după administrare acută, însă nesemnificativ statistic conform testului ANOVA. Influența compușilor asupra AMO (activității motorii orizontale) este mică după 7 zile de administrare, cu rezultate nesemnificative statistic conform ANOVA. Toți compușii testați

au crescut AMV (activitatea motorie verticală) față de lotul martor, cu procente cuprinse între 16,23-44,49%. Compusul A7 a determinat creșterea cea mai intensă a AMV, comparabilă cu cea produsă de imipramină. Nici un rezultat nu este însă semnificativ statistic conform ANOVA. Toți compușii testați au crescut AMO și AMV față de martor, după 14 zile de administrare. Cele mai mari efecte le-a produs compusul A13, care a crescut AMO cu 28,68%, iar asupra AMV a avut un efect de 110,32%. Rezultatele sunt în concordanță cu cele ale imipraminei, care a produs o creștere a AMO cu 30,51% și a AMV cu 91,06% față de martor.

Rezultatele sunt prezentate în figura 3.

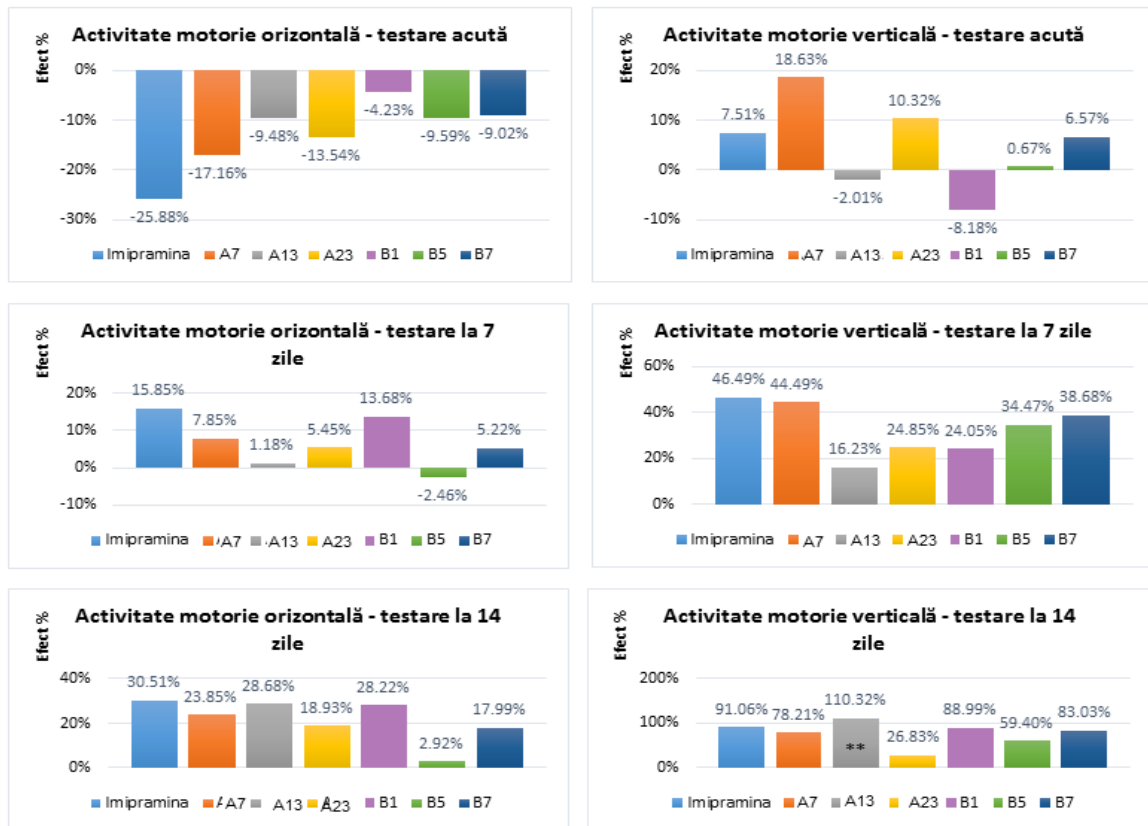


Figura 3 - Rezultatele testării compușilor asupra activității motorii

În ceea ce privește efectul antidepresiv evaluat după administrare acută, compușii A23, A13 și B7 au determinat scăderile cele mai intense ale timpului de imobilizare în testul înotului foțat. Ținând cont că după administrare acută s-a înregistrat și o reducere ușoară a activității motorii a animalelor, scăderea timpului de imobilizare ar putea fi pusă și pe seama influenței negative a compușilor asupra componentei psihomotorii, deci un posibil fals efect antidepresiv. Compusul A23 a produs cel mai intens efect antidepresiv după 7 zile de administrare, cuantificat prin scăderea timpului de imobilizare cu 24,31% ($p < 0,01$ – ANOVA + posttest Bonferroni) în raport cu lotul martor. Acest efect s-a

apropiat cel mai mult de efectul imipraminei (26,06%, $p < 0,05$). Alți doi compuși, B5 și B7, au redus timpul de imobilizare cu 18,58%, respectiv 20,32% față de martor, efecte semnificative statistic - $p < 0,05$. Compușii din seria B au scăzut cel mai mult timpul de imobilizare în testul suspendării de coadă după două săptămâni de administrare, cu 18,75% - 25% față de martor, fără a fi însă semnificative statistic conform posttestului Bonferroni. Rezultatele sunt prezentate în figura 4.

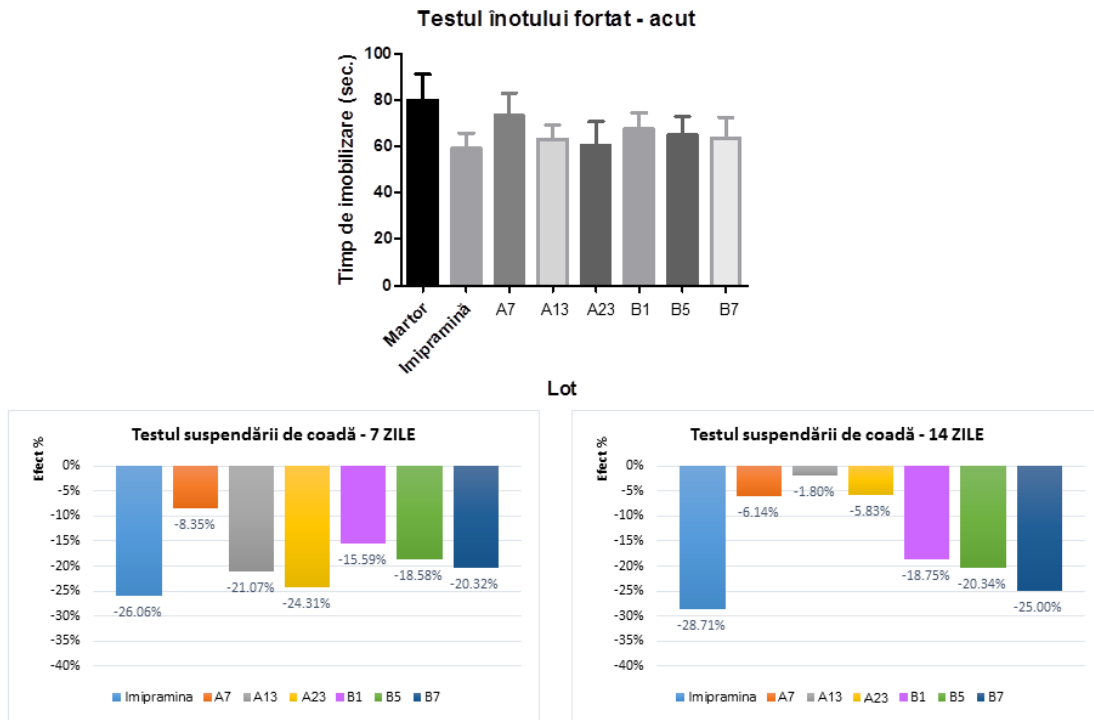


Figura 4 - Rezultatele testării compușilor asupra activității antidepressive

În testul rotarod, numai compusul A23 reduce mai mult timpul de cădere a șoarecilor de pe axul în rotație, comparativ cu șoarecii netratați, ceea ce ar putea semnifica un posibil efect de relaxare la nivelul mușchilor striati. Ceilalți compuși influențează nesemnificativ acest parametru.

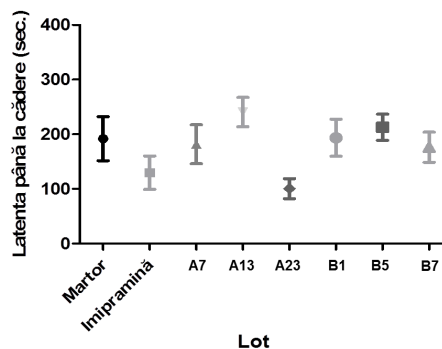


Figura 5 - Rezultatele testării compușilor asupra tonusului muscular

Doi dintre compușii testați, B7 și A7 au crescut timpul primei reacții la durere în testul plăcii fierbinți. Efectele analgezice au fost de 30,92%, respectiv 24,28% față de martor. Rezultatele nu sunt semnificative statistic conform testului ANOVA. Cele două efecte sunt asemănătoare cu cel al imipraminei – 29,19%. Ceilalți patru compuși cercetați au un efect analgezic mai redus.

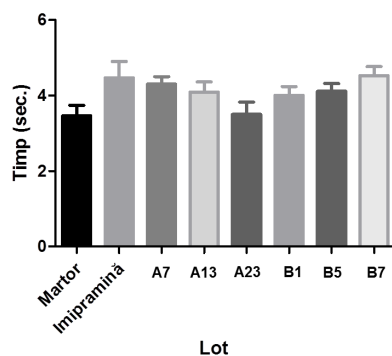


Figura 6 - Rezultatele testării compușilor asupra acțiunii analgezice

În urma testelor farmacologice efectuate, se poate trage concluzia că substanțele cercetate au un potențial farmacologic destul de ridicat, ceea ce le-ar putea face subiectul unor cercetări ulterioare mai aprofundate.

- **Testarea acțiunii antimicrobiene a noilor compuși**

Din seria de substanțe sintetizate am ales câțiva reprezentanți care au fost supuși unor teste pentru a se determina activitatea antimicrobiană a acestora. Obiectivul principal a fost evaluarea activității prin determinarea *in vitro* a unor parametri specifici cantitativi, respectiv concentrația minimă inhibitorie (CMI) și de eradicare a biofilmului (CMEB). S-au testat 12 derivați de uree (A1, A4, A7, A10, A13, A14, A16, A18, A23, A26, A29, A32) și 3 esteri carbamici (B1, B5, B7). A18 și A23 s-au încorporat în sisteme de nanoarticule de magnetită, determinându-se activitatea antibacteriană a acestora prin aceleași metode. Studiul potențialei activități antimicrobiene s-a realizat utilizând următoarele tulpini microbiene:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (bacterie Gram – pozitivă);
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (bacterie Gram – pozitivă);
- *Escherichia coli* ATCC 25922 (bacterie Gram – negativă);
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (bacterie Gram – negativă);
- *Candida albicans* ATCC 10231 (tulpină fungică).

Rezultatele sunt prezentate în figurile 7, respectiv 8.

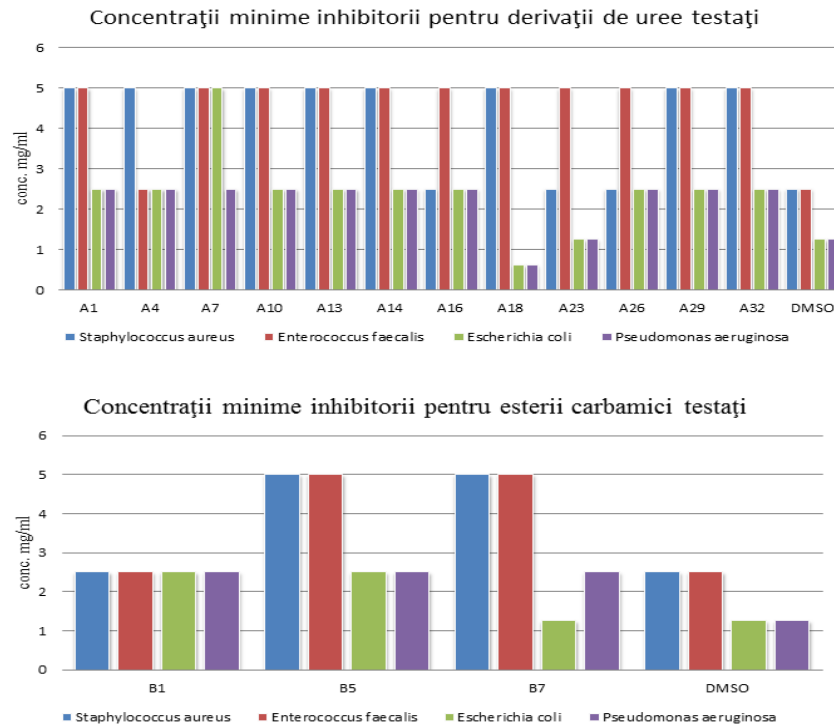


Figura 7 - CMI obținute pentru compușii testați

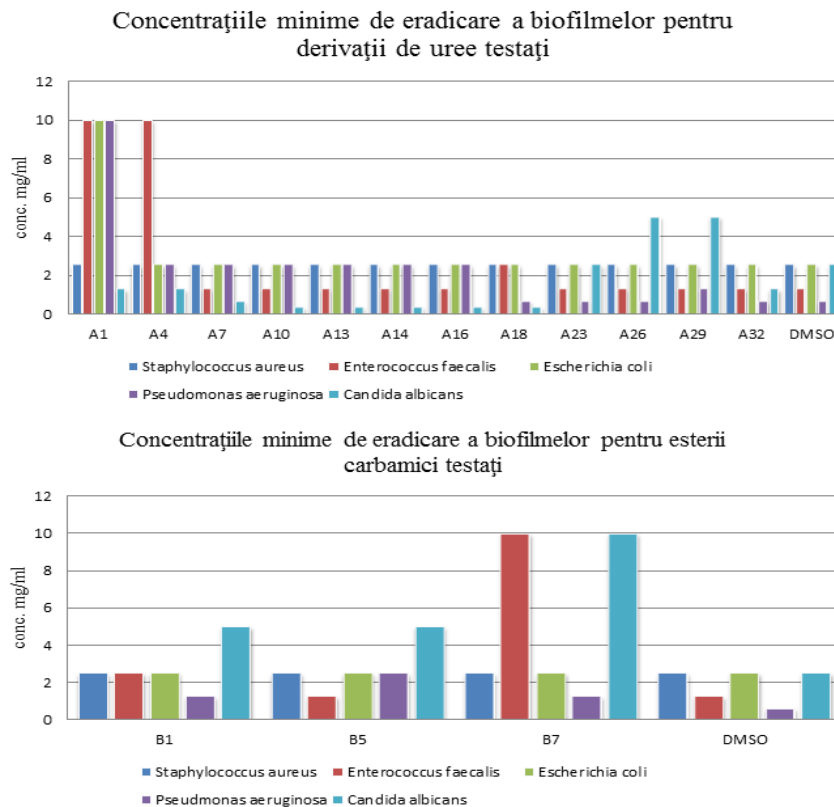


Figura 8 - CMEB obținute pentru compușii testați

În urma studiilor *in vitro*, de evaluare cantitativă a activității antimicrobiene față de celule în fază de creștere planctonică și aderată realizate, am observat că:

- cea mai bună activitate antimicrobiană față de celulele planctonice a fost evidențiată pentru compusul A18 asupra tulpinilor bacteriene Gram – negative (*Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*); concentrația minimă inhibitorie la care derivatul de uree cu radical fenil triclorurat a prezentat activitate fiind de 0,61 mg/ml.

- compusul A23, care conține în moleculă un radical fenil bromurat, a inhibat dezvoltarea bacteriilor Gram – negative la o concentrație minimă inhibitorie de 1,25 mg/ml.

- compușii A16, A23 și A26 au prezentat activitate inhibitoare asupra creșterii planctonice a tulpinii bacteriene Gram – pozitive de *Staphylococcus aureus*, toți fiind substituiți pe nucleul benzenic cu halogeni (A16 cu clor, A23 cu brom și A26 cu iod).

- dintre esterii carbamici, compusul B1 a prezentat cea mai bună activitate asupra bacteriilor Gram – pozitive, iar B7 asupra bacteriilor Gram – negative.

- compușii A18, A23, A26 și A32 au fost activi la concentrații mici de 0,61 mg/ml față de biofilmele microbiene monospecifice experimentale. Astfel, se observă că derivații substituiți cu halogeni au avut o activitate ridicată anti – biofilm. Compușii mono- și disubstituiți cu atomi de clor au inhibat biofilmele fungice, la concentrații de 0,31 mg/ml similar cu compusul A10.

- dintre esterii carbamici, cei mai eficienți au fost B1 și B7 care au eradicat biofilmul tulpinii de *Pseudomonas aeruginosa* și respectiv B5 pentru tulpina de *Enterococcus faecalis*. Biofilmele de *Candida albicans* s-au dovedit rezistente la acțiunea carbamaților.

- A18 testat sub formă de nanoparticule a prezentat concentrații minime inhibitorii de eradicare a biofilmelor mai mici față de compusul testat anterior.

În urma studiului realizat putem afirma că atât derivații de uree, cât și esterii carbamici sintetizați prezintă un potențial farmacologic antimicrobian și merită studierea lor în continuare pentru a se determina dacă pot fi folosiți cu succes în tratamentul diferitelor afecțiuni induse de o serie de agenți infecțioși, bacterieni și fungici, în stare de creștere planctonică sau sub formă de biofilme, cunoscute pentru rezistența lor crescută la acțiunea diferitelor substanțe antimicrobiene.

- **Studii computaționale de andocare moleculară**

Andocarea studiază formarea complexilor proteină – ligand, cunoscând structurile chimice ale celor două componente. Metoda se bazează pe orientarea preferată a unei molecule față de cealaltă pentru a forma un complex stabil.^[36] Între cele două componente pot apărea interacțiuni necovalente de tipul legături de hidrogen, hidrofobe sau van der

Walls.^[37] Fiind vorba de o modelare matematică, această orientare se caracterizează printr-o serie de scoruri de docare care pot fi folosite pentru a obține informații legate de profilul energetic și stabilitatea complexului, precum și de afinitatea receptorului față de ligand.^[38]

Studiile de andocare moleculară au fost realizate cu ajutorul programului CLC Drug Discovery Workbench 2.4 pentru a identifica și vizualiza modul ligandului de a interacționa cu receptorul. Proteina receptor a fost selectată din Protein Data Bank: ADN giraza B a bacteriei *Escherichia coli*, PDB ID: 4DUH.^[39]

S-au realizat studii de andocare moleculară pe 28 compuși derivați de uree și 11 compuși carbamați. Din clasa derivaților de uree cel mai mare scor de andocare s-a observat pentru compusul **A14** (N_1 -(2,4-diclorofenil)- N_2 -[4-(benzensulfonamido)fenil]uree): -64,88 (RMSD 0,15), compus ce formează 4 legături de hidrogen cu următoarele resturi de aminoacizi: ASN 46 (2,527 Å), VAL 120 (3,067 Å), ALA 100 (2.685 Å) și GLU 50 (3.142 Å).

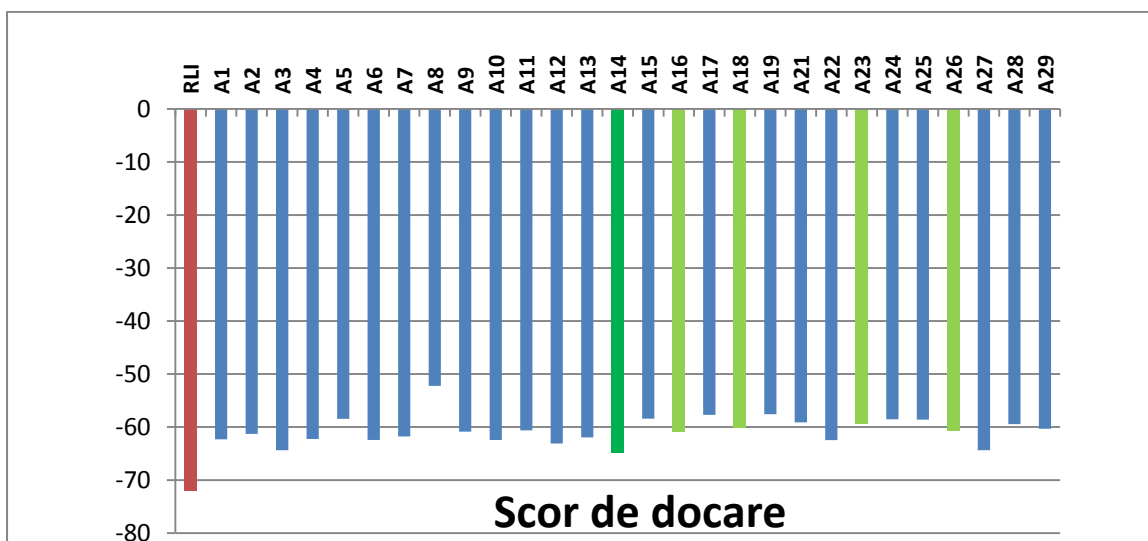


Figura 9 - Scorul de docare pentru derivatii de uree A1-A29 comparativ cu scorul de docare pentru co-cristalizat

Din clasa carbamaților s-a observat că cel mai mare scor de andocare l-a prezentat compusul B7: -58.69 (RMSD 0,09), compus ce formează 6 legături de hidrogen cu următoarele resturi de aminoacizi: ARG 136 (3.035 Å), 2 legături cu ARG 76 (3.212 Å respectiv 3.170 Å), LYS 103 (3.200 Å) și 2 legături cu ASN 46 (3.030 Å și 3.170 Å).

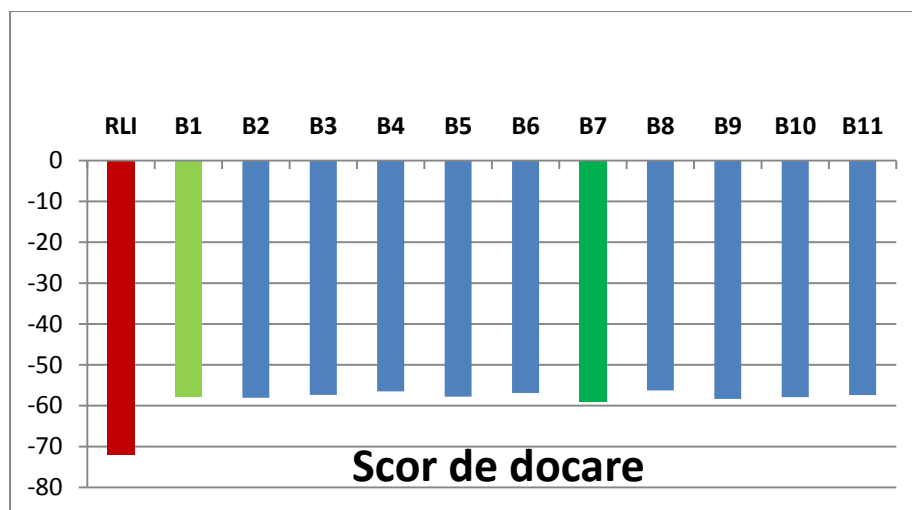


Figura 10 - Scorul de docare pentru carbamații B1 – B11 comparativ cu scorul de docare pentru co-cristalizat

Am realizat aceste studii de andocare moleculară pentru a pune în evidență activitatea antimicrobiană a compușilor. Simularea de andocare computerizată a fost făcută pentru a determina afinitatea și orientarea compușilor, precum și modul de legare al acestora de un fragment proteic din ADN giraza bacteriei de *Escherichia coli*. S-a observat că majoritatea compușilor a prezentat scoruri de andocare bune, care confirmă activitatea antimicrobiană determinată în capitolul anterior prin metoda microdiluțiilor. Studiul arată importanța andocării moleculare în strategia de sinteză a noilor medicamente, observându-se că acești parametri pot oferi informații relevante și folositoare legate de modul de legare dintre un ligand și o proteină. Aceste studii computaționale pot înlesni procesul de obținere a unor noi compuși activi, mai potenți și cu eficacitate mai bună.

- **Concluzii și originalitatea lucrării**

- ✓ Am sintetizat:

- **33 de compuși** cu structură sulfonamidică, **derivați de uree**, din care 4 au fost descriși în literatura de specialitate consultată;

- o serie de **15 compuși** cu structură sulfonamidică, ce conțin și o **structură de ester carbamic**, din care 3 au fost descriși în literatura de specialitate consultată.

- ✓ Pentru compușii sintetizați s-au determinat principalele proprietăți fizico – chimice:

- aspect,
- culoare,
- temperatură de topire.

- ✓ **Structurile chimice** ale compușilor sintetizați au fost **confirmate** prin:

- analiză elementală,
- analiză spectrofotometrică în infra – roșu și
- analiză spectrală de rezonanță magnetică nucleară de proton (^1H -RMN) și carbon (^{13}C -RMN).

- ✓ Prin **studiile realizate pe celula vegetală** (testul Triticum) s-a determinat că:

- derivații A5, A8, A14 și A24 au avut un efect stimulator asupra creșterii radiculare;
- A27, A30, B1, B5 și B7 au avut un efect inhibitor, de dimensiuni mici.
- efectul nu a fost dependent de concentrație, ci de identitatea substanței.
- riscul de genotoxicitate este redus la toți compușii.

- ✓ **Testele farmacologice** au arătat prezența unui potențial efect terapeutic la nivelul sistemului nervos central. Astfel:

- A7 a redus **activitatea motorie orizontală** a șoarecilor după administrare acută. Toți compușii au crescut **activitatea motorie pe verticală** după 7 zile de administrare. După 14 zile, compusul A13 a determinat o creștere a efectului de 110,32% față de martor.

- compusul A23 a produs cel mai intens **efect antidepresiv** după 7 zile de la administrare, prin scăderea timpului de imobilizare în testul înotului forțat, urmat de B5 și B7.

- A23 a redus **timpul de cădere a șoarecilor** de pe axul de rotație, influențând **tonusul muscular** al animalelor de laborator.

- B7 și A7 au prezentat **efecte analgezice** în testul plăcii fierbinți.

✓ În urma **testării activității antimicrobiene** s-a observat că:

- derivatul A18 a avut un efect bun asupra tulpinilor de bacterii Gram – negative.

- A16, A23 și A26 au prezentat activitate bună asupra tulpinii de *Staphylococcus aureus*.

- compusul B1 a prezentat activitate mai bună asupra bacteriilor Gram – pozitive, iar B7 asupra bacteriilor Gram – negative.

- în cazul eradicării biofilmelor fungice, cei mai activi compuși au fost A13, A14, A16, A18. B5 a acționat bine asupra tulpinii de *Enterococcus faecalis* și B1, respectiv B7 asupra tulpinii de *Pseudomonas aeruginosa*.

- A18 încorporat în nanosisteme de magnetită a avut o activitate antibacteriană mai bună comparativ cu rezultatele obținute anterior.

✓ **Studiile computaționale de andocare moleculară** realizate au confirmat existența unei corelații între structura chimică a compușilor și activitatea antimicrobiană. S-a pus în evidență faptul că responsabile de activitate sunt cele trei grupe active: **sulfonamidică** și **ureică**, respectiv **esterul carbamic**.

Bibliografie selectivă

1. Chast F., *A History of Drug Discovery*; Academic Press, 2003;
2. Wainwright M., Dyes in the development of drugs and pharmaceuticals, *Dyes and pigments*, 76, 582 – 589, 2008;
3. Cristea A.N., Negreş S., Marineci C.D., Turculeţ I.L., Chiriţă C., Brezina A., Popescu F.D., Pavelescu M., Hriscu A., Dogaru M.T., Vari C.E., Mogoşan C., Popescu F., Țarălungă G., *Tratat de farmacologie – ediția I*, Editura Medicală, Bucureşti, 2006;
4. Elumalai K., Mohammed A. A., Srinivasan S., Elumalai M., Eluri K.; Antimicrobial and in vitro cytotoxicity of novel sulphanilamide condensed 1,2,3,4 – tetrahydropyrimidines; *Journal of Taibah University for Science*; 139, 1 – 11, 2015;
5. Rosatelli E., Carotti A., Ceruso M., Supuran C., Gioiello A.; Flow synthesis and biological activity of aryl sulfoamides as selective carbonic anhydrase IX and XII inhibitors; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; 24, 3422 – 3425, 2014;
6. Winum J.-Y., Casini A., Mincione F., Starnotti M., Montero J.-L., Scozzafava A., Supuran C.; Carbonic anhydrase inhibitors: N – (p – sulfamoylphenyl) – α – D – glycopyranosylamines as topically acting antiglaucoma agents in hypertensive rabbits; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; 14, 225 – 229, 2004;
7. Siddiqui N., Pandeya S. N., Khan S., Stables J., Rana A., Alam M., Arshad F., Bhat M., Synthesis and anticonvulsant activity of sulfonamide derivatives – hydrophobic domain; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 255 – 259, 2007;
8. Nuti E., Orlandini E., Nencetti S., Rossello A., Innocenti A., Scozzafava A., Supuran C.; Carbonic anhydrase and matrix metalloproteinase inhibitors. Inhibition of human tumos-associated isozymes IX and cytosolic isozyme I and II with sulfonylated hydroxamates; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*; 15, 2298 – 2311, 2001;
9. Adachi R., Ishii T., Ogawa K., Matsumoto S., Satou T., Sakamoto J., Sato K., Kawamoto T.; Pharmacological characterization of a series of aryl – sulfonamide derivatives that potently and selectively inhibit monoacylglycerol acyltransferase 2, *European Journal of Pharmacology*, 79, 569 – 577, 2016;
10. Mutahir S., Jonczyk J., Bajda M., Khan U. Is., Khan U. N., Ashraf M., Ain Q., Riay S., Hussain S., Yar M.; Novel biphenyl bis-sulfonamides as acetyl and butyrylcholinesterase inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies; *Bioorganic Chemistry*, 64, 13 – 20, 2016;
11. Keche A.P., Hatnapure G.D., Tale R.H., Rodge A.H., Birajdar S.S., Kamble V.M., A novel pyrimidine derivatives with aryl urea, thiourea and sulfonamide moieties: Synthesis, anti-inflammatory and antimicrobial evaluation; *Bioorg. Med. Chem*, 22, 3445 – 3448, 2012;
12. Somakala K., Amir M.; Synthesis, characterization and pharmacological evaluation of pyrazolyl urea derivatives as potential anti – inflammatory agents; *Acta Pharmaceutica Sinica B*; 7 (2), 230 – 240, 2017;
13. Cyrus T., Yao Y., Ding T., Dogne J.M., Pratico D., A novel thromboxane receptor antagonist and synthase inhibitor, BM – 573, reduces development and progression of atherosclerosis in LDL receptor deficient mice; *European Journal of Pharmacology*, 561, 105 – 111, 2007;
14. Zhang H., Gong F., Ye J., Zhang C., Yue X., Li C., Xu Y., Sun L.; Design and discovery of 4 – anilinoquinazoline – urea derivatives as dual TK inhibitors of EGFR and VEGFR – 2; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 245 – 254, 2017;
15. Ravez S., Arsenlis S., Barczyk A., Dupont A., Frederick R., Hesse S., Kirsch G., Depreux P., Goossens L; Synthesis and biological evaluation of di-aryl urea derivatives as c-Kit inhibitors; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 7340 – 7347, 2015;
16. Mboge M.Y., Mahon B.P., Lamas N., Socorro L., Carta F., Supuran C.T., Frost S.C., McKenna R., Structure activity study of carbonic anhydrase IX: Selective inhibition with ureido – substituted benzenesulfonamides; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 132, 184 – 191, 2017;
17. Kumari S., Mishra C.B., Tiwari M., Pharmacological evaluation of novel 1-[4-(4-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-phenyl-urea as potent anticonvulsant and antidepressant agent; *Pharmacological Reports*, 68, 250 -258, 2016;
18. Perveen S., Fatima N., Khan M.A., Dar A., Khan K.M., Afza N., Voelter W., Antidepressant activity of carbamates and urea derivatives; *Med Chem Res*, 21, 2709 – 2715, 2012;
19. Kurt B. Z., Gazioglu I., Basile L., Sonmez F., Ginex T., Kucukislamoglu M., Guccione S., Potential of aryl – urea – benzofuranylthiazoles hybrids as multitasking agents in Alzheimer’s disease, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 102, 80 – 92, 2015;
20. FDA, Exelon, [Internet], 2007 [citată în iunie 2016], disponibil la https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/0220831bl.pdf

21. FDA, Felbamat [Internet], 2012, [citat în noiembrie 2017], disponibil la https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/020189s027lbl.pdf;
22. RCP, Meproamat [Internet], 2006, [citat în mai 2016], disponibil la https://www.anm.ro/_/RCP/rcp_6840_19.10.06.pdf?anmPage=940&ID=18797
23. Blagosklonny M.V., Analysis of FDA approved anticancer drugs reveals the future of cancer therapy; *Cell Cycle*, 3 (8), 1035 – 1042, 2004;
24. Baranyai Z., Kratky M, Vinsova J., Szabo N., Senoner Z., Horvati K., Stolarikova J., David S., Bosze S., Combating highly resistant emerging pathogen *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium tuberculosis* with novel salicylanilide esters and carbamates; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 692 – 704, 2015;
25. Saxena J., Meloni D., Huang M.T., Heck D.E., Laskin J.D., Heindel N.D., Young S.C., Ethynylphenyl carbonates and carbamates as dual-action acetylcholinesterase inhibitors and anti-inflammatory agents; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25, 5609 – 5612, 2015;
26. Anand P., Singh B., Synthesis and evaluation of novel carbamate – substituted flavanone derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors and anti – amnesic agents; *Med Chem Res*, 22, 1648 – 1659, 2013;
27. Perveen S., Mustafa S., Khan M.A., Dar A., Khan K.D., Voelter W., Substituted Urea Derivatives: A Potent Class of Antidressant Agents; *Med. Chem.*, 8, 330 – 336, 2012;
28. Robinson S.J., Petyer J. P., Rousseau A.L., Terre'Blanche G., Petzer A., Lourens A. C. U., Carbamate substituted 2 – amino – 4,6 – diphenylpyrimidines as adenosine receptor antagonists, *Bioorg. & Med. Chem Lett.*, 26, 734 – 738, 2016;
29. Braun S., Hans-Otto K., Berger S., *Carbon 13 NMR Spectroscopy*, Wiley, New York, 1998;
30. Dingley A.J., Cordier F., Grzesiek, S., An introduction to hydrogen bond scalar couplings; *Concepts in Magnetic Resonance*, 13 (2): 103 – 127, 2001;
31. Emsley J.W., Feeney J., Sutcliffe L.H., *High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, P. Press, Oxford, 1967;
32. Pregosin P.S., Rueegger H., *Nuclear Magnetic resonance spectroscopy; Comprehensive Coordination Chemistry*, 2: 1 – 35, 2004;
33. Ramsey N.F., Purcell E.M., Interactions Between Nuclear Spins in Molecules; *Phys. Rev.*, 85: 143, 1952;
34. *Sigma Aldrich, Library of 13C and 1H FT-NMR Spectra*, Aldrich Chemical, 1992.
35. Socea L.I., Socea B., Dimcevic N.P., Dinu M., Gîrd C.E., Phytobiological assessment of some new compounds with dizeo[a,d][7]annulene moieties; *Farmacia*, 63: 677 – 685, 2015;
36. Mukesh B., Rakesh R., Molecular docking: A review; *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*; 2 (6): 1746 – 1751, 2011;
37. Tripathi A., Misra K., Molecular Docking: A structure – based drug designing approach; *JSM Chem*; 5 (2): 1042, 2017;
38. Shweta A., Ranjana M., An overview of molecular docking; *JSM Chem*; 4 (2): 1024, 2016;
39. Brvar, M.; Perdih, A.; Renko, M.; Anderluh, G.; Turk, D. and Solmajer, T. Structure-Based Discovery of Substituted 4,5'-Bithiazoles as Novel DNA Gyrase Inhibitors. *J. Med. Chem.*, 55 (14), 6413–6426, 2012;