

Potentiel anticancéreux des complexes du cuivre(II) avec la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone et des ligands amines

Irina Usataia

Laboratoire des Matériaux Avancés en
Biopharmaceutique et Techniques
Institut de Chimie, Université d'État de
Moldavie
Chisinau, République de Moldavie
usataiairina@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6749-0687

Greta Balan

Département de médecine préventive
Université d'État de médecine et de
pharmacie « Nicolae Testemitanu »
Chişinău, République de Moldavie
greta.balan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-3704-3584

Vasiliu Graur

Laboratoire des Matériaux Avancés en
Biopharmaceutique et Techniques
Institut de Chimie, Université d'État de
Moldavie
Chisinau, République de Moldavie
vasilii.graur@usm.md
ORCID: 0000-0001-8153-2153

Olga GARBUZ

Laboratoire de Systématique et de
Phylogénétique Moléculaire
Institut de Zoologie, Université d'État
de Moldavie
Chisinau, République de Moldavie
olga.garbutz@sti.usm.md

ORCID: 0000-0001-8783-892X

Elena Mihaela Pahonţu

Université de médecine et de pharmacie
« Carol Davila »
Bucarest, Roumanie
elenaandmihaela@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-6522-7033

Aurelian Gulea

Laboratoire des Matériaux Avancés en
Biopharmaceutique et Techniques
Institut de Chimie, Université d'État de
Moldavie
Chisinau, République de Moldavie
guleaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

Résumé — Une série de complexes mixtes du cuivre(II) avec la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone et des amines mono- et bidentates (A), incluant la pyridine, la 3-picoline, la 4-picoline, la 3,4-lutidine, l'imidazole et la 1,10-phénanthroline, ont été synthétisés. L'activité anticancéreuse a été évaluée sur les lignées cellulaires cancéreuses HeLa, BxPC-3 et RD, avec les cellules MDCK utilisées comme contrôle normal. Plusieurs complexes ont montré une cytotoxicité significative avec une sélectivité élevée. Notamment, le complexe $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a présenté une activité six fois supérieure contre les cellules HeLa par rapport à la doxorubicine, tandis que $\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ont démontré une sélectivité accrue envers les cellules RD. Les essais antioxydants contre les radicaux cationiques $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ont révélé une activité augmentée pour les complexes contenant des amines. Ces résultats suggèrent que les complexes mixtes du cuivre(II) constituent des agents anticancéreux et antioxydants prometteurs, présentant une faible toxicité vis-à-vis des cellules normales.

Mots-clés — Complexes du cuivre(II), salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone, amines hétérocycliques, cytotoxicité, activité anticancéreuse

I. INTRODUCTION

La demande mondiale croissante pour des agents anticancéreux efficaces et sélectifs a suscité un intérêt considérable pour la conception de composés de coordination à base de métaux de transition. Parmi ceux-ci, les complexes du cuivre(II) ont attiré une attention particulière en raison de leur capacité à interagir avec des cibles biomoléculaires et à présenter des propriétés cytotoxiques notables. Des études récentes soulignent que les systèmes mixtes de ligands, en particulier ceux impliquant des amines hétérocycliques, peuvent améliorer à la fois l'activité et la sélectivité de ces composés. Dans ce contexte, la synthèse de complexes du cuivre(II) contenant la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL) associée à des amines mono- et bidentates telles que la pyridine, la 3-picoline, la 4-picoline, la 3,4-lutidine, l'imidazole et la 1,10-phénanthroline, offre une opportunité d'évaluer le rôle de la coordination des amines dans la modulation des performances biologiques.

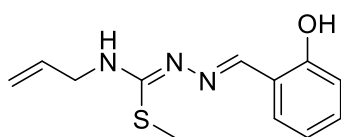


Fig. 1. Formule structurelle de la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL)

Cette approche permet d'examiner les relations structure-activité et peut contribuer au développement de nouveaux candidats pour la thérapie anticancéreuse.

II. EXPÉRIMENTAL

A. Matériaux

Tous les réactifs utilisés étaient de qualité analytique et employés tels quels. Le nitrate de cuivre(II) trihydraté, $\text{Cu(NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Darmstadt, Allemagne), ainsi que les amines mono- et bidentates — pyridine, 3-picoline, 4-picoline, 3,4-lutidine, imidazole et 1,10-phénanthroline (Sigma-Aldrich, Munich, Allemagne) — ont été utilisés sans purification supplémentaire. La 4-allylthiosemicarbazide a été préparée selon une méthode décrite dans la littérature [1, 2], par réaction de l'allylisothiocyanate avec une solution aqueuse d'hydrazine à 40 % (m/m). Les solvants ont été purifiés et séchés conformément aux procédures standards [3].

B. Synthèse de la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone

La salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL) a été synthétisée en deux étapes. Dans un premier temps, l'atome de soufre de la 4-allylthiosemicarbazide a été alkylé avec l'iodométhane afin d'obtenir la thiosemicarbazide S-méthylée. Dans un second temps, cette dernière a été condensée avec la salicylaldéhyde dans un rapport molaire 1:1 dans des conditions douces. L'hydrohalogénure obtenu a ensuite été neutralisé jusqu'à des conditions légèrement basiques, et le HL a été extrait au chloroforme puis séché.

C. Synthèse des complexes de coordination mixtes du cuivre(II) Avec les amines monodentates :

Des solutions éthanoliques de la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL) et de $\text{Cu(NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (rapport molaire 1:1) ont été agitées à 60 °C pendant 40 minutes. Une solution éthanolique de l'amine monodentate (imidazole, pyridine, 3-picoline, 4-picoline ou 3,4-lutidine) a ensuite été ajoutée dans un rapport molaire 1:2, et le mélange a été agité à 50–60 °C pendant 30 minutes. Après refroidissement, le précipité formé a été filtré, lavé avec une petite quantité d'éthanol, puis séché à l'air pour donner les complexes cibles $\text{Cu(A)(L)(NO}_3)_n \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

Avec la 1,10-phénanthroline:

Le complexe intermédiaire $\text{Cu(L)(NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a d'abord été préparé comme décrit ci-dessus. Le solide a ensuite été dissous dans un mélange méthanol-acétonitrile et réagi avec la 1,10-phénanthroline (rapport molaire 1:1) pendant 30 minutes. Le refroidissement a conduit à un précipité vert foncé, lequel a été filtré, lavé avec du méthanol, puis séché à l'air pour donner $\text{Cu(1,10-Phen)(L)NO}_3$.

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. Spectres RMN ^1H et ^{13}C

La structure de la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL) a été étudiée par spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C afin de confirmer l'alkylation du fragment thiosemicarbazide. L'analyse comparative des spectres RMN ^{13}C de la thiosemicarbazone S-méthylée et non méthylée a montré la disparition du signal à 177–179 ppm, caractéristique du carbone C=S, et l'apparition d'un nouveau signal à 160–161 ppm, correspondant au carbone C-S du motif isothiosemicarbazide. Les signaux dans la région 10–35 ppm ont été attribués aux atomes de carbone du groupe CH_3 -S. Dans les spectres RMN ^1H , les singulets dans la région 2,4–2,5 ppm correspondent au fragment alkyle du groupe S- CH_3 . Tous les signaux des spectres RMN de HL apparaissent doublés, ce qui indique la présence de formes tautomériques en solution. Le rapport des deux formes dans HL était de 1:0,4 (HL(A):HL(B)). Ces formes correspondent aux tautomères isothioamide (A) et isothioimide (B), pouvant être attribués à l'isomérisation syn/anti autour de la double liaison C=N1 et à l'isomérisation cis/trans (Z/E) autour de la double liaison C=N4.

B. Mesures de conductivité

La conductivité molaire des complexes $\text{Cu(A)(L)NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ synthétisés a été mesurée dans le méthanol et se situe dans l'intervalle 78–96 $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$. Ces valeurs indiquent que les complexes se comportent comme des électrolytes de type 1:1.

C. Études magnétiques

Les mesures magnétiques des complexes mixtes du cuivre(II) ont montré des moments magnétiques effectifs compris entre 1,79 et 2,10 μB . Ces valeurs indiquent l'absence d'interactions magnétiques entre les centres cuivre, suggérant que les complexes possèdent une structure monomérique.

D. Spectroscopie infrarouge

Le mode de coordination de la salicylaldéhyde 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone (HL) et des amines mono- et bidentates aux ions cuivre(II) a été étudié par comparaison des spectres IR du ligand libre et des complexes mixtes synthétisés. Les spectres IR des complexes ont révélé des bandes d'absorption dans les régions 3300–3100, 1600–1550 et 1250–1190 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation des molécules ligandes coordonnées. La bande $\nu(\text{O-H})$ dans la région 3300–3200 cm^{-1} a disparu dans tous les complexes, indiquant la déprotonation du groupe hydroxyle phénolique. De plus, les bandes $\nu(\text{C=N})$ et $\nu(\text{N-H})$ ont été déplacées vers des fréquences plus basses de 26–34 cm^{-1} et 20–73 cm^{-1} respectivement, confirmant la coordination du HL au centre cuivre via l'oxygène phénolique déprotoné, l'azométhine azotée et l'azote du thioamide. L'atome de soufre ne participe pas à la coordination.

E. Études biologiques

L'activité anticancéreuse des complexes du cuivre(II) synthétisés a été évaluée sur les lignées cellulaires cancéreuses HeLa, BxPC-3 et RD à des concentrations allant de 0,1 à 100 μM . La cytotoxicité vis-à-vis des cellules normales MDCK a également été mesurée afin de déterminer la sélectivité. Parmi les composés testés, le complexe mixte $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a montré la plus forte activité contre les cellules HeLa, six fois supérieure à celle de la doxorubicine, avec un indice de sélectivité de 4,48. L'introduction de groupes méthyle dans le cycle pyridine des ligands amines (Cu(Py)(L)NO_3 , $\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu(3,4-Lut)(L)NO}_3$) a réduit l'activité contre les cellules HeLa. Les complexes les plus sélectifs contre les cellules BxPC-3 étaient ceux avec la pyridine et la 3-picoline, montrant une toxicité dix fois plus faible envers les cellules MDCK que vis-à-vis des cellules cancéreuses. $\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ont démontré la plus forte sélectivité vis-à-vis des cellules RD, surpassant celle de la doxorubicine.

En outre, certains complexes du cuivre(II) contenant des amines ont été testés pour leur activité antioxydante contre les radicaux $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Tous les composés étudiés ont montré une activité piègeuse significative, supérieure à celle du Trolox, avec des valeurs de CI_{50} comprises entre 1,51 et 3,73 μM . L'introduction d'amines dans la sphère de coordination interne a considérablement renforcé l'activité antioxydante par rapport au ligand libre HL. L'inhibition la plus élevée des radicaux $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a été observée pour le complexe contenant le ligand bidentate 1,10-phénanthroline.

TABLEAU 1. VALEURS DE CI_{50} DES COMPLEXES MIXTES DU CUIVRE(II) VIS-À-VIS DES LIGNES CELLULAIRES CANCÉREUSES HeLa, BxPC-3, RD ET DES CELLULES NORMALES MDCK

Composé	MDCK	HeLa		BxPC-3		RD	
	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)	$\text{IC}_{50}(\text{MDCK}) / \text{IC}_{50}(\text{HeLa})$	IC_{50} (μM)	$\text{IC}_{50}(\text{MDCK}) / \text{IC}_{50}(\text{BxPC-3})$	IC_{50} (μM)	$\text{IC}_{50}(\text{MDCK}) / \text{IC}_{50}(\text{RD})$
Cu(Py)(L)NO_3	12.2	5.0	2.44	1.28	9.53	11.4	1.07
$\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	12.8	13.5	0.95	1.3	9.85	2.8	4.57
$\text{Cu(3,4-Lut)(L)NO}_3$	12.3	71.2	0.17	6.3	1.95	10.2	1.21
$\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	9.4	2.1	4.48	2.0	4.7	1.33	7.07
$\text{Cu(1,10-Phen)(L)NO}_3$	1.34	2.7	0.50	0.96	1.40	1.28	1.05
DOXO	7.1	10.0	0.71	3.7	1.92	16.2	0.44

Remarque: le tableau présente les résultats moyens de trois expériences.

IV. CONCLUSION

Une série de complexes mixtes du cuivre(II) avec la 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone de salicylaldéhyde (HL)) et diverses amines mono- et bidentates (pyridine, 3-picoline, 4-picoline, 3,4-lutidine, imidazole et 1,10-phénanthroline) a été synthétisée avec succès et caractérisée par analyse élémentaire, mesures de susceptibilité magnétique, conductivité molaire et spectroscopie IR. Les complexes mixtes avec des donneurs monoamines, $\text{Cu(A)(L)NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($\text{A} = \text{Py}$, 3-Pic, 4-Pic, 3,4-Lut, Im), sont monomériques, avec l'atome central de Cu(II) adoptant une géométrie carrée pyramidale déformée. HL se coordonne comme ligand tridentate NNO via l'oxygène phénolique déprotoné, l'azote de l'azométhine et l'azote du thioamide, tandis que l'atome de soufre reste non coordonné. Les études magnétocinétiques ont montré des moments magnétiques effectifs compris entre 1,79 et 2,10 μB , confirmant l'absence d'interactions magnétiques entre les centres cuivre. Les mesures de conductivité molaire dans le méthanol ($\lambda = 78\text{--}96 \text{ } \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$) indiquent que les complexes $\text{Cu(A)(L)NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ se comportent comme des électrolytes 1:1. L'analyse spectrale IR a confirmé la coordination de HL via l'oxygène phénolique, l'azométhine et l'azote du thioamide, avec disparition de la bande $\nu(\text{O-H})$ et déplacements des bandes $\nu(\text{C=N})$ et $\nu(\text{N-H})$, tandis que l'atome de soufre reste non coordonné.

L'évaluation biologique a révélé une activité anticancéreuse significative des complexes du cuivre(II) sur les lignées cellulaires HeLa, BxPC-3 et RD ($\text{CI}_{50} = 0,1\text{--}100 \text{ } \mu\text{M}$), avec une sélectivité démontrée par rapport aux cellules normales MDCK. Le complexe $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a présenté la plus forte activité contre les cellules HeLa (6 fois supérieure à la doxorubicine, $\text{SI} = 4,48$), tandis que Cu(Py)(L)NO_3 et

$\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ étaient les plus sélectifs vis-à-vis des cellules BxPC-3. Les complexes $\text{Cu(3-Pic)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et $\text{Cu(Im)(L)NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ont montré la plus forte sélectivité pour les cellules RD, surpassant la doxorubicine. De plus, tous les complexes ont démontré une forte activité antioxydante contre les radicaux $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ($\text{CI}_{50} = 1,51\text{--}3,73 \text{ } \mu\text{M}$), le complexe bidentate à la phénanthroline présentant l'effet piègeur de radicaux le plus important. L'introduction d'amines dans la sphère de coordination interne des complexes Cu(II)-HL a significativement amélioré les propriétés anticancéreuses et antioxydantes par rapport au ligand HL seul.

Ainsi, l'incorporation d'amines mono- et bidentates dans les complexes cuivre(II) de 4-allyl-S-méthylisothiosemicarbazone offre une approche polyvalente pour moduler leurs propriétés structurales, magnétiques et biologiques, aboutissant à des composés présentant des activités anticancéreuses et antioxydantes sélectives prometteuses.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier du sous-programme 010602 du projet institutionnel.

RÉFÉRENCES

- [1] G. Pulvermacher, "Ueber einige Abkömmlinge des Thiosemicarbazids und Umsetzungsproducte derselben", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, vol. 27(1), pp. 613-630, 1894.
- [2] W. Zhao, M. Zhao, "Synthesis and characterization of some multi-substituted thiosemicarbazones as the multi-dental ligands of metal ions", *Chin. J. Org. Chem.*, vol. 21 (9), pp. 681-684, 2001.
- [3] D. D. Perrin, W. L. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, second ed., Pergamon, New York 1990.