

NGHIÊN CỨU CẤU TẠO VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA PHỨC CHẤT Zn(II) VỚI THIOSEMICACBAZON 2-AXETYLPIRIDIN

Đến tòa soạn 22-11-2016

Nguyễn Thị Bích Hương

Khoa Khoa học Cơ bản, Học viện Hậu cần

Trịnh Ngọc Châu

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

SUMARY

STUDY ON THE STRUCTURAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF COMPLEXES Zn(II) WITH 2 - ACETYLPIRIDINE THIOSEMICARBAZONE

The ligand 2 - acetylpyridine thiosemicarbazone (Hthacpyr) was synthesised from the reaction of 2 - acetylpyridine and thiosemicarbazide. It reacts with zinc nitrates, in the absence of ammonia to form $Zn(thacpyr)_2$. Structure and spectroscopic of ligand and its complex has been studied. The result of methods: IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, MS and X-ray diffraction show that in the complex, ligand was deprotonated and behaved as tridentate ligand, bonding to Zn(II) via $N^{(1)}$, $N_{pyridine}$ and S donor atoms. The antimicrobial, antifungal of the ligand and its complex has also been investigated. The biological activity of the complex was higher than that of the free ligand.

Keywords: Ligand, 2 - acetylpyridine thiosemicarbazone, complex, ligand, antimicrobial and antifungal

1. MỞ ĐẦU

Các thiosemicacbazon và phức chất của chúng với các kim loại chuyển tiếp luôn nhận được sự quan tâm đặc biệt bởi hoạt tính sinh học của nó. Hiện nay, xu hướng nghiên cứu các phức chất trên cơ sở thiosemicacbazon nhằm tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, ít độc hại để sử dụng trong y dược. Các tác giả [1, 6] đã nghiên cứu và đưa ra kết luận là cả phối tử

và phức chất Pd(II) với N(4)-phenylthiosemicacbazon 2-benzoylpyridin và Pd(II), Pt(II) với thiosemicacbazon 2 - cacbanđehit pyridin đều có khả năng chống lại các dòng tế bào ung thư như MCF-7, TK-10, UACC-60. Các công trình nghiên cứu, tổng hợp, thử nghiệm một số dẫn xuất thiosemicacbazon 2-axetylpyridin và các phức chất của chúng về khả năng chống sốt rét, herpes simplex virus (HSV1-HSV2),

hoạt tính ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư [3, 4] ... Trong bài báo này, chúng tôi đưa ra qui trình tổng hợp phối tử thiosemicacbazon 2 - acetylpyridine (Hthacpyr), phức chất của nó với Zn(II) và nghiên cứu cấu tạo cũng như khả năng kháng khuẩn, kháng nấm của chúng.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Các hóa chất được sử dụng trong tổng hợp đều là các hóa chất tinh khiết gồm: thiosemicacbazit, 2- axetylpyridin của Đức, etanol và $\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ của Trung Quốc.

2.2. Kỹ thuật thực nghiệm

Phổ IR được ghi trên máy quang phổ FTIR Affinity - 1S trong vùng $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ và phổ cộng hưởng từ ^1H , ^{13}C - NMR được ghi trên máy Bruker - 500 MHz ở 300 K tại Khoa Hóa học, Trường ĐHKHTN, ĐHQGHN. Phổ MS được ghi trên máy LC-MSD-Trap-SL tại Phòng cấu trúc, Viện Hoá học. Phổ nhiễu xạ tia X đơn tinh thể được ghi trên máy Bruker D8 Quest ở nhiệt độ 100 K, đối âm cực Mo với bước sóng $K\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$), tại Bộ môn Hóa Vô cơ, Khoa Hóa học, Trường ĐHKHTN, ĐHQGHN.

Hoạt tính sinh học của các hợp chất được thử tại Phòng thử hoạt tính sinh học của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Tổng hợp phối tử và phức chất

a. Tổng hợp phối tử Hthacpyr

Hoà tan 0,01 mol thiosemicacbazit (0,91 g) trong cốc thủy tinh 100 ml chứa sẵn 30 ml nước đã được axit hoá bằng dung dịch HCl ở pH = 1 - 2. Sau đó đổ từ từ dung dịch này vào cốc chứa 15 ml dung dịch etanol đã hoà tan 0,01 mol 2 - axetylpyridin (1,2 ml). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trên máy khuấy từ tới khi xuất hiện kết tủa màu trắng thì khuấy thêm 2 giờ nữa. Lọc kết

tủa trên phễu lọc đáy thủy tinh xốp, rửa bằng nước, hỗn hợp etanol - nước (tỷ lệ về thể tích là 1 : 1), cuối cùng bằng etanol. Sản phẩm được làm khô trong bình hút ẩm đến khối lượng không đổi, hiệu suất là 83%.

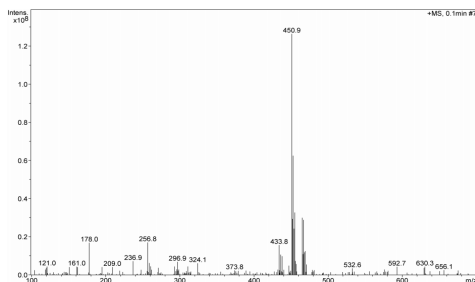
b. Tổng hợp và kết tinh lại phức chất $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$

Tổng hợp phức chất: Phức chất $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$ được tổng hợp bằng cách khuấy lần lượt hỗn hợp của 0,002 mol dung dịch muối ZnCl_2 0,2M (10 ml), đã được điều chỉnh môi trường bằng dung dịch NH_3 đặc cho tới khi tạo thành phức amoniacaat tan hoàn toàn (pH = 9 - 10) với 40 ml etanol nóng chứa trong cốc chịu nhiệt loại 100 ml đã hoà tan 0,004 mol Hthacpyr (0,776 g). Khi đó từ dung dịch thấy xuất hiện kết tủa màu vàng, tiếp tục khuấy hỗn hợp này trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Lọc, rửa kết tủa trên phễu lọc thủy tinh xốp bằng nước, hỗn hợp etanol - nước (với tỷ lệ thể tích 1: 1) và cuối cùng là etanol. Chất rắn được làm khô trong bình hút ẩm đến khối lượng không đổi, hiệu suất là 86%.

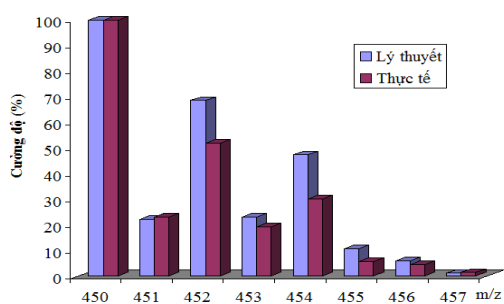
Kết tinh lại phức chất: cân khoảng 0,1 g phức chất $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$ sau đó cho vào cốc dung tích 50 ml đã chuẩn bị trước có chứa hỗn hợp dung môi gồm (10 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ và 10 ml CHCl_3). Cho cốc lên bếp khuấy từ, vừa khuấy vừa gia nhiệt đến 90°C tới khi hỗn hợp dung môi sôi và hòa tan đáng kể phức chất, sau đó tiếp tục khuấy và gia nhiệt trong khoảng 5 phút ở nhiệt độ 90°C . Lọc bỏ phần không tan bằng giấy lọc, hút 2,5 ml dung dịch lọc cho vào ống thủy tinh nhỏ dung tích 5 ml. Để ống thủy tinh trong tủ hút ở nhiệt độ phòng cho dung môi bay hơi và thu được phức chất kết tinh dưới đáy ống thủy tinh. Lấy tinh thể phức chất để xác định cấu trúc bằng phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu phức chất bằng phương pháp phổ khối lượng



Hình 1: Phổ khối lượng của $Zn(thacpyr)_2$



Biểu đồ 1. Cường độ tương đối của các pic đồng vị trong cụm pic ion phân tử phức chất $Zn(thacpyr)_2$

Tín hiệu pic có cường độ cao nhất với trị số m/z là 450 ứng đúng bằng khối lượng mol phân tử của phức chất cộng thêm 1 đơn vị. Do vậy, có thể thấy phức chất tồn tại ở trạng thái đơn nhân trong điều kiện ghi phổ và công thức phân tử giả định là $C_{16}H_{18}N_8S_2Zn$.

Kết quả so sánh cường độ tương đối của các pic trong cụm pic đồng vị giữa thực nghiệm và theo lý thuyết theo công thức phân tử giả định của phức chất được thể hiện trên biểu đồ 1. Từ biểu đồ có thể thấy sự chênh lệch không nhiều. Điều đó khẳng định công thức giả định của phức chất là đúng.

3.2. Nghiên cứu các phối tử và phức chất bằng phương pháp phổ hấp thụ hồng ngoại

Dải dao động hóa trị đặc trưng cho nhóm NH ($3200 - 3400 \text{ cm}^{-1}$) đều xuất

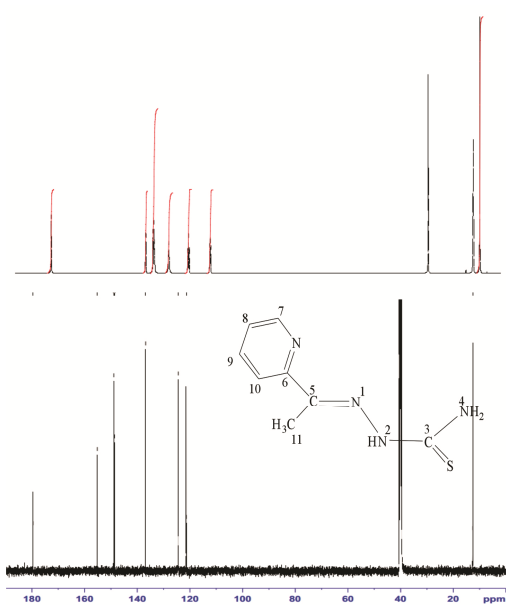
Hiện. Phổ khối lượng của phức chất $Zn(thacpyr)_2$ được đưa ra ở hình 1. Hiện trên phổ IR của phối tử và phức chất. Tuy nhiên, trong phổ IR của phức chất đã có sự biến mất một dải dao động. Trên phổ IR của phối tử không thấy xuất hiện dải dao động của nhóm SH ở vùng $2500-2600 \text{ cm}^{-1}$. Dải hấp thụ đặc trưng của nhóm C=S ở 837 cm^{-1} trong phổ của Hthacpyr tự do và không thấy xuất hiện trong phổ IR của $Zn(thacpyr)_2$. Điều này chứng tỏ phối tử tồn tại ở dạng thion và bị thiol hóa, phối trí giữa phối tử với Zn(II) được thực hiện qua S [7, 8]. Trên phổ IR của phối tử và phức chất tương ứng cho thấy, dải dao động hóa trị của nhóm CNN, C=N⁽¹⁾ và NN ($1431, 1608$ và 1150 cm^{-1}) trong phối tử cũng bị giảm đáng kể khi chuyển vào phức chất ($1409, 1589$ và 1120 cm^{-1}). Điều này chứng tỏ nguyên tử N⁽¹⁾ có tham gia tạo liên kết phối trí với ion kim loại trung tâm.

Ngoài ra, trên phổ IR dải dao động biến dạng của vòng pyridin cũng thay đổi đáng kể khi chuyển vào phức chất, từ 611 cm^{-1} trong phối tử thành 632 cm^{-1} trong phức chất. Đây là bằng chứng cho thấy N-pyridin đã tham gia phối trí với Zn(II) [9].

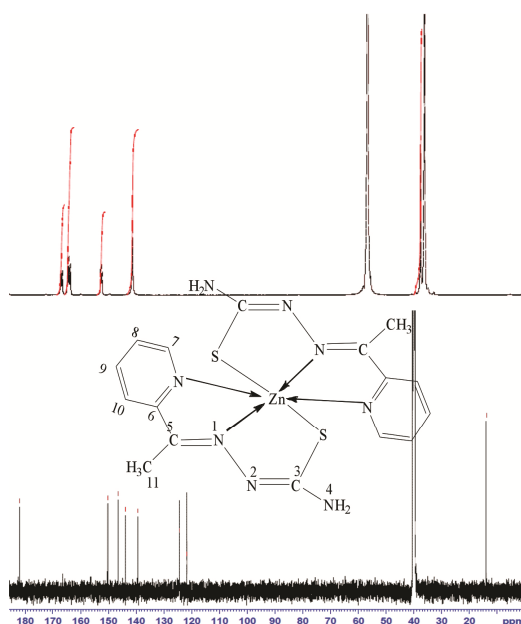
Qua phân tích phổ hồng ngoại có thể thấy phối trí giữa phối tử với Zn(II) được thực hiện qua 3 nguyên tử S, N¹ và N_{pyridin}.

3.3. Kết quả nghiên cứu phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H , ^{13}C của Hthacpyr và $Zn(thacpyr)_2$

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H , ^{13}C của Hthacpyr và $Zn(thacpyr)_2$ được đưa ra trên hình 2 và 3. Các tín hiệu cộng hưởng trên phổ 1H , ^{13}C - NMR được liệt kê trên bảng 1.



Hình 2: Phổ ^1H , ^{13}C -NMR của Hthacpyr



Hình 3: Phổ ^1H , ^{13}C -NMR của $\text{Zn}(\text{thacpyr})_3$

Bảng 1: Các tín hiệu cộng hưởng trong phổ ^1H , ^{13}C - NMR của Hthacpyr, $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$

Qui gán (ppm)	^1H -NMR		Qui gán (ppm)	^{13}C -NMR	
	Hthacpyr	$\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$		Hthacpyr	$\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$
$\text{HN}^{(2)}$	10,33 (s, 1)	-	C^3	179,55	181,98
$\text{HN}^{(4)}$	8,59 (d, 1) 8,15 (s, 1)	6,83 (s, 2)	C^5	146,65	143,92
HC^{10}	8,43 (m, 2)	7,76 (m, 2)	C^6	155,18	150,29
HC^7	8,58 (d, 1, 5,0Hz)	7,88 (t, 1, 7,5; 7,5Hz)	C^{10}	121,38	121,67
HC^8	7,39 (m, 1)	7,76 (m, 2)	C^7	148,88	146,48
HC^9	7,79 (m, 1)	7,29 (t, 1, 6,0; 6,0Hz)	C^8	124,40	124,32
HC^{11}	2,39 (s, 3)	2,57 (s, 3)	C^9	136,83	139,42
-	-	-	C^{11}	12,57	13,90

Phản ứng ngưng tụ tạo thành phối tử được xảy ra giữa hai proton nhóm $\text{N}^{(1)}\text{H}_2$ và nguyên tử O nhóm $\text{C}=\text{O}$. Bằng chứng là trên phổ ^{13}C -NMR của phối tử xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của cacbon nhóm $\text{CN}^{(1)}$ ở 148,65 ppm. Cacbon nhóm này cộng hưởng ở 143,92 ppm trong phổ ^{13}C -NMR của $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$ do N^1 tạo liên kết phối trí với $\text{Zn}(\text{II})$. Vị trí phối trí thứ hai là S.

Bằng chứng là: tín hiệu của cacbon nhóm CS chuyển dịch về vùng trường cao hơn khi chuyển từ phối tử tự do vào phức chất, ở 179,55 và 181,98 ppm tương ứng. Tín hiệu singlet với tích phân là 1 của Hthacpyr xuất hiện ở vị trí 10,32 ppm được gán cho proton nhóm $\text{N}^{(2)}\text{H}$. Tín hiệu này không thấy trên phổ phức chất do phối tử bị thiol hóa khi chuyển vào phức chất. Hai

proton $N^{(4)}H_2$ cộng hưởng ở 8,59 và 8,15 ppm nhưng trong phức bị hạn chế quay tự do nên chúng cộng hưởng ở một vị trí 6,83 ppm.

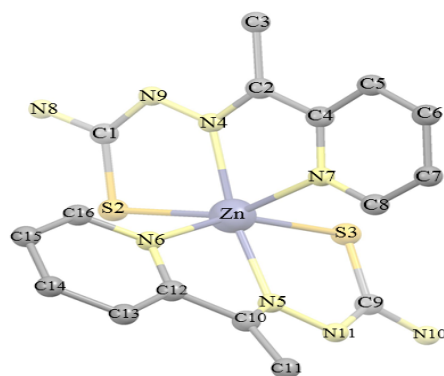
Các tín hiệu cộng hưởng cộng hưởng proton hay cacbon trong vòng pyridin của phức chất có độ chuyển dịch hóa học thường thấp hơn của phối tử và được liệt kê trong bảng 1.

Từ sự phân tích trên cho phép khẳng định phản ứng ngưng tụ giữa thiosemicacbazit và 2 - acetylpyridin đã xảy ra hoàn toàn và phối tử phối trí với $Zn(II)$ qua 3 nguyên tử cho $N^{(1)}$, S và $N_{pyridin}$.

3.4. Kết quả phân tích cấu trúc $Zn(thacpyr)_2$ bằng phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể

Các nguyên tử trong phân tử

$Zn(thacpyr)_2$ được đánh số như hình 4, các thông số thực nghiệm thu được từ cấu trúc đơn tinh thể $Zn(thacpyr)_2$ được trình bày ở các bảng 2, 3.



Hình 5: Cấu trúc phân tử phức chất $Zn(thacpyr)_2$

Bảng 2: Độ dài liên kết và góc liên kết trong phức chất $Zn(thacpyr)_2$

Liên kết	Độ dài liên kết (Å)	Liên kết	Độ dài liên kết (Å)
Zn – S(2)	2,4600(7)	C(5) – C(6)	1,384(3)
Zn – S(3)	2,4393(8)	C(6) – C(7)	1,381(3)
Zn – N(4)	2,136(2)	C(7) – C(8)	1,388(3)
Zn – N(5)	2,165(2)	C(8) – N(7)	1,333(3)
Zn – N(6)	2,217(2)	C(4) – N(7)	1,354(3)
Zn – N(7)	2,265(2)	C(16) – C(15)	1,389(4)
C(1) – S(2)	1,734(2)	C(9) – S(3)	1,727(2)
C(1) – N(9)	1,325(3)	C(15) – C(14)	1,381(3)
C(9) – N(11)	1,332(3)	C(14) – C(13)	1,394(4)
N(9) – N(4)	1,371(3)	C(13) – C(12)	1,388(4)
N(11) – N(5)	1,371(3)	C(12) – N(6)	1,350(3)
C(4) – C(5)	1,393(3)	C(16) – N(6)	1,337(3)
Liên kết	Góc liên kết (°)	Liên kết	Góc liên kết (°)
S(2) Zn S(3)	101,78(2)	S(3) Zn N(7)	90,90(5)
S(2) Zn N(4)	79,33(5)	N(4) Zn N(5)	161,90(7)
S(2) Zn N(5)	116,89(5)	N(4) Zn N(6)	99,37(7)
S(2) Zn N(6)	90,10(5)	N(4) Zn N(7)	73,94(7)
S(2) Zn N(7)	152,74(5)	N(5) Zn N(6)	73,91(7)
S(3) Zn N(4)	106,42(5)	N(5) Zn N(7)	88,97(7)
S(3) Zn N(5)	79,23(5)	N(6) Zn N(7)	89,08(7)
S(3) Zn N(6)	153,14(5)		

Bảng 3: Một số thông tin về cấu trúc của tinh thể phức chất Zn(thacpyr)₂

Công thức phân tử	C ₁₆ H ₁₈ N ₈ S ₂ Zn
Hệ tinh thể	Đơn tà (Monoclinic)
Nhóm đối xứng không gian	<i>P</i> 2 ₁ <i>c</i>
Số phân tử trong 1 ô mạng cơ sở	4
Thông số mạng	<i>a</i> = 14,6743 Å <i>b</i> = 8,0060 Å <i>c</i> = 16,7344 Å <i>α</i> = 90° <i>β</i> = 110,411° <i>γ</i> = 90°
Độ sai lệch	<i>R</i> ₁ = 0,0308; <i>R</i> ₂ = 0,0697

Qua các dữ kiện thu được từ phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể có thể thấy phức Zn(thacpyr)₂ tồn tại với kiểu mạng không gian đơn giản, phức đơn nhân. Bằng chứng về sự thiol hóa khi phối tử chuyển từ trạng thái tự do vào phức chất một lần nữa được khẳng định qua kết quả chụp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể của phức chất (Hình 4). Liên kết CS lần lượt là 1,734 và 1,727 Å trong phức chất Zn(thacpyr)₂ dài hơn độ dài liên kết C = S (1,656 Å [2]). Liên kết N(9) – C(1) = 1,325 Å; N(11) – C(9) = 1,332 Å trong phức chất Zn(thacpyr)₂ đều ngắn hơn liên kết đơn C – N (1,46 Å) do tồn tại liên kết đôi C = N. Bên cạnh đó còn thấy liên kết C – C trong vòng chelat của phức chất ngắn hơn liên kết C – C = 1,54 Å thông thường và dài hơn liên kết C = C (1,33 Å) [5]. Liên kết C(1) – N(9) = 1,325 Å; N(9) – N(4) = 1,371 Å; C(2) – N(4) = 1,291 Å và

N(5) – N(11) = 1,371 Å; N(11) – C(9) = 1,332 Å; C(10) – N(5) = 1,295 Å trong phức Zn(thacpyr)₂. Điều này có thể giải thích bởi sự hình thành mạch liên hợp C = N – N = C và sự giải tỏa electron π trong vòng chelat khi tạo phức với Zn(II). Như vậy, trong phức chất Zn(thacpyr)₂, ion Zn(II) có số phối trí 6, với cấu hình bát diện lệch. Điều đó thể hiện ở chỗ các góc S(2) Zn N(5) = 116,89; S(2) Zn N(7) = 152,74; N(4) Zn N(5) = 161,90 trong phức chất đều khác 180°.

Kết quả thu được từ phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể đã khẳng định phức chất được hình thành nhờ sự phối trí qua S, N⁽¹⁾ và N_{pyridin} hoàn toàn phù hợp với các phương pháp vật lý ở trên.

3.5. Kết quả nghiên cứu hoạt tính kháng vi sinh vật của Hthacpyr và Zn(thacpyr)₂

Kết quả thử hoạt tính kháng sinh của phối tử và phức chất trên 02 dòng vi khuẩn Gram (+), 02 dòng vi khuẩn Gram (-) và 02 dòng nấm mốc, 02 dòng nấm men được liệt kê trong bảng 4.

Mẫu Zn(thacpyr)₂ kháng được 02 vi khuẩn Gram (+): *B.subtilis* và *S. aureus* với nồng độ ức chế tối thiểu MIC là 50 µg/ml (0,111 µmol/ml). Mẫu Hthacpyr kháng được 01 vi khuẩn Gram (-): *E. coli* và 02 vi khuẩn Gram (+): *B.subtilis* và *S.aureus* với giá trị MIC là 50 µg/ml (0,258 µmol/ml). Như vậy, độc tính với các dòng vi khuẩn và nấm đem thử của phối tử khá cao, khi tạo phức bền với Zn(II) độc tính của nó bị giảm bớt.

Bảng 4: Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Mẫu	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)							
	Vi khuẩn Gr (-)		Vi khuẩn Gr (+)		Nấm mốc		Nấm men	
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>
Hthacpyr	50	(-)	50	50	(-)	(-)	(-)	(-)
Zn(thacpyr) ₂	(-)	(-)	50	50	(-)	(-)	(-)	(-)

4. KẾT LUẬN

Công thức phân tử và cấu trúc của phối tử Hthacpyr và phức chất $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$ đã được xác định bằng các phương pháp vật lý hiện đại như: phổ hấp thụ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H , ^{13}C , phổ khối lượng và phương pháp nhiễu xạ tia X đơn tinh thể. Phức chất $\text{Zn}(\text{thacpyr})_2$ có cấu trúc bát diện lệch. Khi tạo phức với $\text{Zn}(\text{II})$ hoạt tính kháng khuẩn của Hthacpyr bị giảm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Duraippandi P., Ashoka G. S. (2013), "Dinuclear Zinc bis(thiosemicarbazone) complexes, in vitro anticancer activity, cellular uptake and AND interaction study", *Inorganica Chimica Acta*, 408, pp. 152 - 161.
2. Ekpe U.J., Ibok U.J., Offiong O.E., Ebenso E.E. (1995), "Inhibitory action of methyl and phenylthiosemicarbazone derivatives on the corrosion of mild steel in hydrochloric acids", *Materials Chemistry and Physics*, 40(2), pp.87 - 93.
3. Gabrieli L. P., Karina S.O. F., Josane A. L., Bernardo L. R., Jonas P. R., (2014), "Metal complexes with 2-acetylpyridine-N(4)-orthochlorophenylthiosemicarbazone: Cytotoxicity and effect on the enzymatic activity of thioredoxin reductase and glutathione reductase", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, pp. 537 - 544.
4. Jessica C., Amber L. T., Michael W. J., Josephine M. P. (2010) "Synthesis and structural studies of gallium(III) and indium(III) complexes", *Inorganica Chimica Acta*, 363, pp. 1140-1149.
5. José M. P., Ana I. M., Alfonso M.A., Paloma N. (2013), "Synthesis and characterization of complexes of p-isopropyl benzaldehyde and methyl 2-pyridyl ketone thiosemicarbazones with $\text{Zn}(\text{II})$ and $\text{Cd}(\text{II})$ metallic centers. Cytotoxic activity and induction of apoptosis in Pam-ras cells", *Journal of Inorganic Biochemistry*, 75, pp. 255 - 261.
6. Leuteris P., Mavroudis A. D., Paras N.Y. (2004), "Palladium(II) and platinum(II) complexes of 2-hydroxy acetophenone N(4)-ethylthiosemicarbazone - crystal structure and description of bonding properties", *Inorganica Chimica Acta*, 357, pp. 4113 - 4120.
7. Marthakutty J., Mini K., (2006), "Structural, antimicrobial and spectral studies of copper (II) complexes of 2-benzoyl pyridine N(4)-phenylthiosemicarbazone", *Polyhedron*, 25, pp. 61 - 70.
8. Offiong O.E., Martelli S. (1992), "Antifungal and antibacterial activity of 2-acetylpyridin-(4-phenylthiosemicarbazones and its metal(II) complexes", *Farmaco*, 47, pp. 1543 - 1554.
9. Ramana Murthy G. V. and Sreenivasulu Reddy T. (1992), "o-Hydroxyacetophenone thiosemicarbazone as a reagent for the rapid spectrophotometric determination of palladium", *Talanta*, 39(6), pp. 697 - 701.