

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Кафедра медичної та фармацевтичної хімії

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація
спеціалізація 226.01 Фармація
на тему:

**СИНТЕЗ ТА ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ (ТІО)СЕМИКАРБАЗОНІВ
4-ФОРМІЛ-5-ХЛОРОПРОЛ-3-КАРБОКСИЛАТІВ**

Виконала: здобувач вищої освіти
V курсу, 4 групи
фармацевтичного факультету,
спеціальність 226 Фармація, промислова
фармація,
спеціалізація 226.01 Фармація
денна форма здобуття вищої освіти
ФЕДЮШКО Єлизавета Миколаївна

Керівник: доцент закладу вищої освіти
кафедри медичної та фармацевтичної
хімії,
кандидат хімічних наук,
ГРОЗАВ Аліна Миколаївна

Рецензент: доцент закладу вищої освіти
кафедри фармації,
кандидат фармацевтичних наук,
ПАЛАМАР Аліна Олександрівна

До захисту допущено

протокол №17 від 16.05.2024 р.

засідання кафедри медичної та фармацевтичної хімії

Завідувач кафедри _____ проф. Віталій ЧОРНОУС

Чернівці – 2024

ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ (ТІО)СЕМИКАРБАЗОНІВ	6
1.1. Протибактеріальна та протигрибкова активність	6
1.2. Протитуберкульозна активність	12
1.3. Антипротозойна активність	15
1.4. Антиоксидантна активність	22
1.5. Протиракова активність	24
1.6. Протівірусна активність	28
1.7. Протизапальна активність	30
РОЗДІЛ 2. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	33
2.1. Синтез (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів	33
2.2. Комп'ютерне прогнозування біологічної активності отриманих сполук	34
2.3. Протимікробна активність (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів	37
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	39
3.1. Методика синтезу, фізичні та спектральні характеристики (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів	39
3.2. Методика визначення протимікробної активності	42
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45
ДОДАТКИ	54

ВСТУП

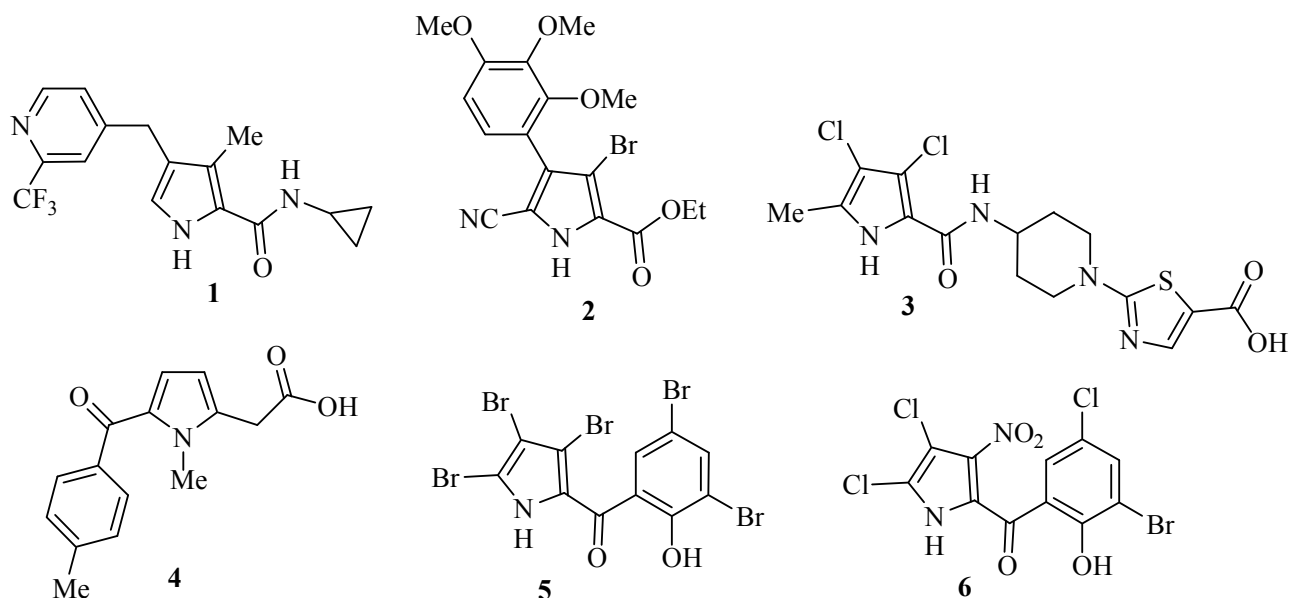
Сучасний фармацевтичний ринок представлений широким асортиментом протимікробних препаратів [1]. Незважаючи на це, пошук нових лікарських засобів з протимікробною активністю залишається актуальним завданням фармацевтичної хімії. Насамперед це пов'язано з високою токсичністю відомих препаратів та швидким розвитком резистентності мікрофлори до бактеріостатиків, що приводить до зниження ефективності лікування.

За останні 50 років (тіо)семикарбазони ароматичних та гетероциклічних альдегідів привертають увагу науковців через їх широкий спектр фармакологічних властивостей: протизапальну, протипухлинну, противірусну, антибактеріальну, протималярійну та протигрибкову активність. (Тіо)семикарбазонний фрагмент вважається універсальним фармакофором завдяки здатності утворювати стійкі комплекси з перехідними металами та електронним і структурним властивостям, що забезпечують різні режими зв'язування з біомолекулами [2].

В свою чергу піроловмісні системи є важливими об'єктами біохімічних процесів, які відбуваються в живому організмі. Біомолекули хлорофіл, гемоглобін, міоглобін, цитохром та кобаламін є природними комплексами, важливим структурним фрагментом яких є пірол. Окрім природніх сполук цього класу, останні роки піроли стали важливими «білдинг-блоками» при конструюванні біологічно активних сполук з протималярійною **1** [3], протипухлинною **2** [4], антибактеріальною і антифунгіцидною **3** [5], протизапальною **4** [6], противірусною **5**, та протитуберкульозною **6** активністю [7]. Пірол також є структурним фрагментом молекул флуоресцентних барвників, кон'югованих полімерів та напівпровідників [8, 9]. Незважаючи на його широке використання у синтетичній хімії більше ніж 100 років, пірол залишається важливою синтетичною мішенню і в сучасній органічній та фармацевтичній хімії.

Аналіз залежності структура-активність в ряду полізаміщених біоактивних піролів дозволив з'ясувати деякі закономірності впливу природи функціональних замісників в гетероциклі на їх біологічні властивості. Зокрема, на їх

фармакологічній дії суттєвим чином позначається наявність у структурі пірольного ядра атомів галогенів та різного роду карбонільних груп (карбоксильної, естерної, амідної). Окрім того, присутність таких функціональних замісників відкриває значні синтетичні перспективи для формування бібліотек функціоналізованих та конденсованих похідних піролу.



Враховуючи сказане вище, модифікація пірольного скафолду, який містить атом хлору, семи- та тіосемикарбазонний фрагмент може бути вдалим прийомом для синтезу нових перспективних біологічно активних гетероциклічних сполук.

Саме тому, **мета роботи** полягала у моделюванні перспективних структур похідних (тіо)семикарбазонів пірол-4-карбальдегіду, їх синтезі та вивченні протимікробної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні **завдання**:

- використовуючи методи комп'ютерного прогнозування проаналізувати віртуальну бібліотеку функціоналізованих похідних (тіо)семикарбазонів пірол-4-карбальдегіду за критеріями лікоподібності;
- синтезувати (тіо)семикарбазони 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів, відібрані за результатами комп'ютерного прогнозування;
- підтвердити будову (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів комплексом сучасних фізико-хімічних методів;

- провести скринінг протимікробної активності синтезованих сполук.

Об'єкт дослідження: методи синтезу та біологічна активність похідних (тіо)семикарбазонів пірол-4-карбальдегіду.

Предмет дослідження: (тіо)семикарбазони 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

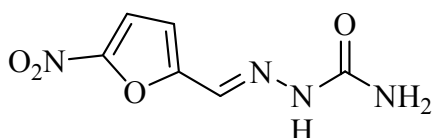
ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ (ТІО)СЕМИКАРБАЗОНІВ

Протягом останніх десятиліть тіосемикарбазони були важливими об'єктами проведення фармакологічного скринінгу. В огляді зібрані літературні дані щодо протибактеріальної, протигрибкової, протитуберкульозної, антипротозойної, протипухлинної та протизапальної активності похідних (тіо)семикарбазонів ароматичних та гетероциклічних карбонільних сполук.

1.1 Протибактеріальна та протигрибкова активність

Розвиток стійкості до антимікробних лікарських засобів у всьому світі змушує вчених шукати нові сполуки, до яких мікроорганізми були б чутливими. Багато нових структур з антибактеріальною та протигрибковою активністю містять (тіо)семикарбазонний фрагмент. В даному розділі хочемо звернути вашу увагу на найперспективніших представників цього класу.

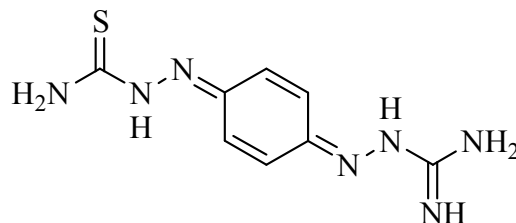
Фрагмент семикарбазону міститься в складі молекули відомого лікарського засобу Нітрофуралу (Фурациліну), який виявляє антибактеріальну дію по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, деяких найпростіших та має антиексудативну дію. Протимікробний ефект фурациліну викликаний порушення утворення ацетил-КоА із піровиноградної кислоти, внаслідок чого порушується обмін та синтетичні процеси в мікробній клітині. Застосовують у формі розчинів при пролежнях і виразках, опіках, для полоскання ротової порожнини і горла при стоматиті та ангіні, для лікування кон'юнктивіту. Також іноді призначають всередину для лікування гострого бактеріального шигельозу [10].



**Нітрофурал
(Фурацилін)**

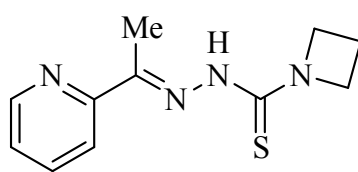
Фрагмент тіосемикарбазону містить лікарський засіб Амбазон (Фарингосепт). Засіб є місцевим антисептиком, який має високу активність щодо

патогенних мікроорганізмів, що найчастіше викликають інфекції ротової порожнини та верхніх дихальних шляхів: стрептококів, пневмококів, а також має помірну протистафілококову активність. Не впливає на кишкову мікрофлору, отже, не викликає дисбактеріозу травного тракту.



**Амбазон
(Фарингосепт)**

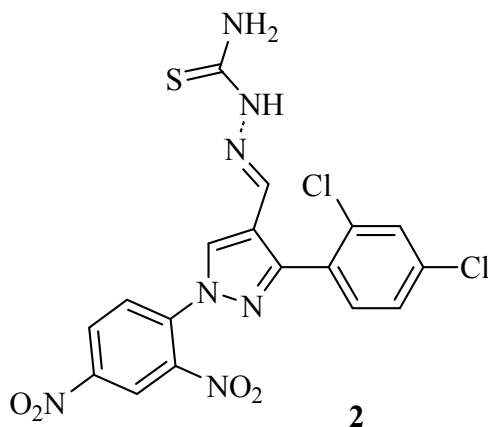
Вивчення протимікробної активності похідних (тіо)семикарбазонів за останні десятиліття є предметом дослідження великої кількості наукових публікацій. Автори роботи [11] досліджували вплив тіосемикарбазону **1** на ріст тест-штамів та клінічних ізолятів бактерії *Escherichia coli* (ATCC 25922, ATCC86980, ATCC 29181, АНDRCC 81113). Результати експерименту показали, що сполука **1** пригнічує ріст бактерії при мінімальній інгібуючій концентрації (МІК) 128 мкг/мл. Досліджуваний тіосемикарбазон зупиняв ріст як чутливих, так і стійких до антифолатів штамів даної бактерії, що вказує на можливість використання сполуки **1** як потенційно активної речовини для припинення росту бактерій, резистентних до протимікробних засобів.



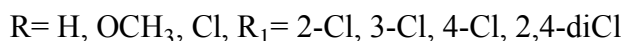
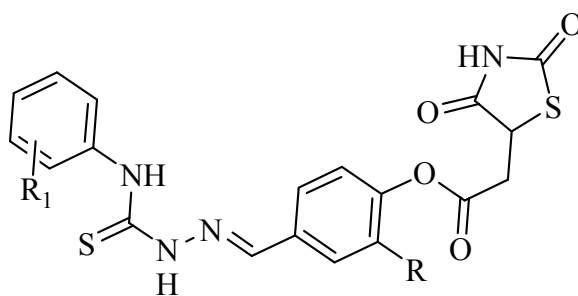
1

У роботі [12] дослідники провели аналіз похідних тіосемикарбазону, тестуючи їх на антимікробну активність проти двох грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus* MRSA і *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та чотирьох грамнегативних бактерій *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31458, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 і *Salmonella Typhimurium* ATCC 25922. Сполуки показали активність проти всіх штамів бактерій, однак найвищу виявлено у сполуки **2**, яка зупиняє ріст бактерій *S. aureus* (MRSA) та *S. Typhimurium* при

концентрації <1 мкМ, *P. aeruginosai* – 5.0 мкМ, *E. coli* та *K. pneumonia* – 39.1 мкМ. Аналіз «структура–активність» показав, що присутність 2,4-дихлорного фрагмента вплинула на активність сполуки. Дослідження молекулярного докінгу сполук до кристалічної структури топоізомерази II і топоізомерази IV припускають, що сполука переважно взаємодіє з мішенями через водневі зв'язки.

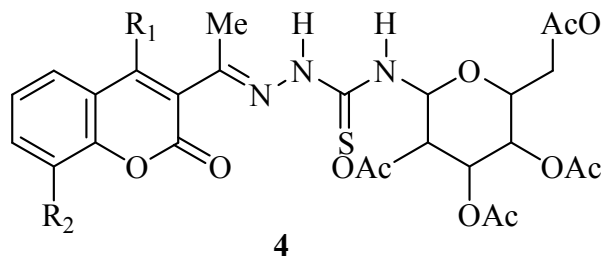


В дослідженні [13] науковці, реакцією конденсації хлорофенілтіосемикарбазидів з формілфеніл 2-(2,4-діоксотіазолідин-5-іл/іліден)ацетатами, синтезували ряд нових гібридів хлорофенілтіосемикарбазону на основі тіазолідин-2,4-діону. Сполуки **3** було випробувано на штаммах грампозитивних і грамнегативних бактерій. Найбільший активні з них мали мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) у межах від 3.91 мг/л до 15.63 мг/л, що вказує, в деяких випадках, на вищу ефективність у порівнянні зі контрольними препаратами цефуроксимом і ампіциліном.

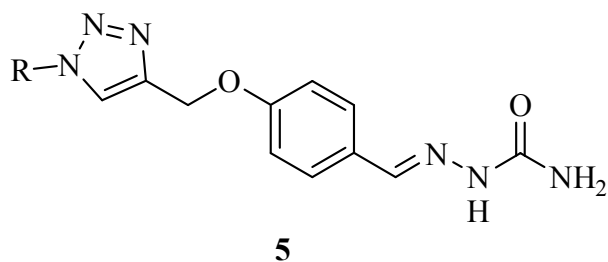


У роботі [14] було проведено аналіз активності похідних тіосемикарбазонів заміщених 3-ацетилкумаринів, що мають фрагмент D-глюкози. Вивчено вплив синтезованих сполук на ріст бактерій (*B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P.*

aeruginosa, *K.pneumoniae*, *S. typhimurium*) та грибів (*A. niger*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* і *A. flavus*). Сполуки показали високу активність до досліджуваних мікроорганізмів МІК = 0.78 – 31.25 мкМ. Найактивнішими виявились сполуки **4**, які містили метильну та нітрогрупу в 3-ацетилкумариновому фрагменті.


$$R_1 = H, CH_3; R_2 = H, NO_2$$

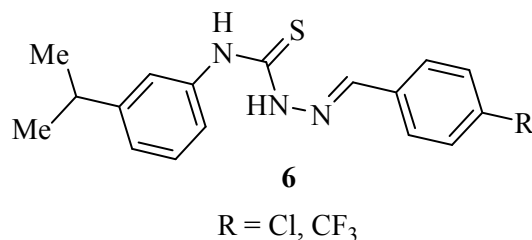
Групою дослідників з Тунісу було синтезовано ряд похідних семикарбазону, які містять в структурі молекули триазольне ядро. Встановлено, що сполуки **5** виявили дію проти *S. enteritidis*, *M. luteus*, *S. aureus* і *B. cereus*. Для усіх було визначено показник ліпофільності, який становив відповідно менше 5, тому ці сполуки забезпечують хорошу біодоступність при пероральному прийомі. Дослідження проводили методом дифузії за яким встановили, що діаметр затримки росту мікроорганізму становив для *S. enteritis* 14.00 ± 0.66 мм (МІК=1.58 мг/мл, МВС=3.17 мг/мл), а для *M. luteus* – 29.00 ± 0.22 мм, (МВС = 3.17 мг/мл). Відповідні результати було порівняно зі стандартним препаратом хлорамфеніколом [15].



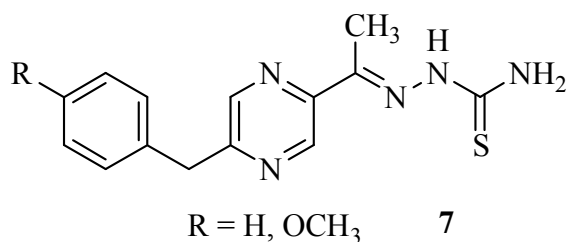
R= 4-CH₃, 2,6-MeC₆H₃, 4-OMeC₆H₄, 4-ClC₆H₄

Автори роботи [16] аналізували сполуки тіосемикарбазону **6** на наявність протигрибкової активності проти чотирьох штамів: *Botryosphaeria ribis*, *Botryosphaeria berengriana*, *Rhizopus maize* та *Gibberella*. Використовуючи метод дискової дифузії, вони встановили, що (Е)-1-(4-трифторметилбензиліден)-4-(3-ізопропілфеніл)тіосемикарбазон проявляє більш виражену протигрибкову дію, порівняно з іншими сполуками. Молекулярний докінг показав, що (Е)-1-(4-

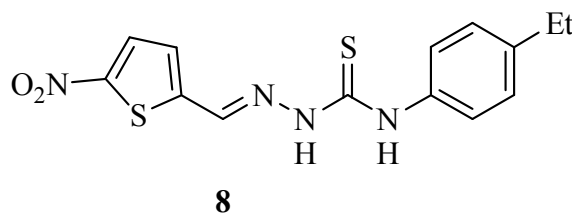
хлорбензиліден)-4-(3-ізопропілфеніл)тіосемикарбазон має найвищу спорідненість з рецепторним білком (1NMT).



Протигрибкову активність тіосемикарбазонів, які містять піразиновий фрагмент в структурі молекули оцінювали проти восьми штамів грибів: *Candida albicans* ATCC 44859, *Candida tropicalis* 156, *Candida krusei* E 28, *Candida glabrata* 20/I, *Trichosporon asahii* 1188, *Aspergillus fumigatus* 231, *Lichtheimia corymbifera* 272 і *Trichophyton interdigitale* 445. Найкращі результати зафіксовані при тестуванні сполук типу **7** щодо росту *Candida glabrata* 20/I та *Trichosporon asahii* 1188 MIC = 4.46 мг/л [17].

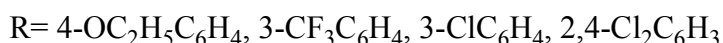
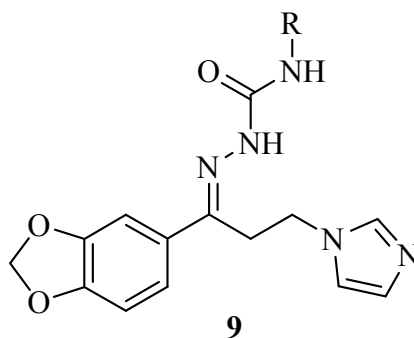


В роботі [18] було синтезовано дванадцять N-заміщених похідних 2-(5-нітротіофен)тіосемикарбазонів, охарактеризовано та оцінено їх протигрибкову активність *in vitro* проти ряду штамів роду *Candida* і *Cryptococcus neoformans*. Представлена сполука **8** виявила протигрибкову дію відносно штамів *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* (МІК = 2.0-8.0 мкг/мл). Досліджено, що механізм дії полягає в інгібуванні ферментів, пов'язаних з біосинтезом ергостерину.

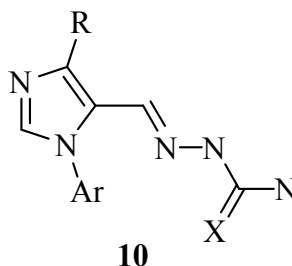


Ряд кон'югатів імідазолу та семикарбазону синтезовано авторами [19]. Протигрибковий потенціал сполук був оцінений відносно чотирьох штамів грибів:

C. albicans, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *A. niger*. Сполука, що містить 4-етоксифенільний фрагмент, продемонструвала найкраще значення МІК (0.304 мкмоль/мл) проти грибів *C. tropicalis* і *C. parapsilosis*. Відносно *C. albicans* активними виявились сполуки з 3-хлорофенільним (МІК = 0.311 мкмоль/мл), 3-трифторометилфенільним та 2,4-дихлорофенільним (МІК = 0.287 мкмоль/мл) фрагментами.



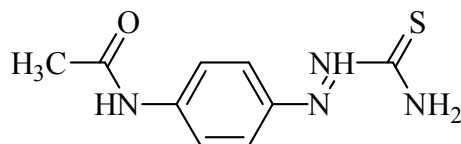
На кафедрі медичної та фармацевтичної хімії Буковинського державного медичного університету в рамках НДР «Молекулярний дизайн біоактивних систем на основі функціоналізованих азолів» було синтезовано ряд похідних імідазолів, які містять (тіо)семикарбазонний фрагмент **10** [20]. Отримані результати бактерицидної та фунгіцидної активності відносно ряду тест-штамів свідчать проте, що сполуки проявляють помірну біологічну дію на тест-культури різних видів грампозитивних та грамнегативних бактерій і грибів. Вони пригнічують розвиток вегетативних форм мікроорганізмів у концентраціях 62.5-2000 мкг/мл. Найкращі результати зафіксовані при тестування тіосемикарбазону [(1-(4-метил)-5-формілімідазол-4-іл)тіо]оцтової кислоти відносно штаму *S.aureus* ATCC 25923 (MIC = 62.5 мкг/мл)



1.2. Протитуберкульозна активність

У всьому світі туберкульоз є однією з основних причин смертності входячи до п'ятірки найбільш смертельних інфекційних захворювань. Сучасна ера протитуберкульозних ліків почалася в 1944 році з розробки стрептоміцину, за який Сельман Ваксман отримав Нобелівську премію. Згодом були розроблені більш потужні препарати з кращою переносимістю, включаючи *n*-аміносаліцилову кислоту (PAS) у 1949 році, ізоніазид у 1952 році, піразинамід у 1954 році, етамбутол у 1962 році, рифампін у 1963 році та циклосерин у 1964 році. Розвиток хіміотерапії туберкульозу є одним із найбільших досягнень біомедичних досліджень 20-го століття [21].

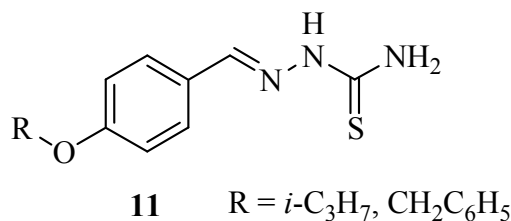
Серед арсеналу протитуберкульозних засобів тіосемикарбазонний фрагмент містить засіб Тіоацетазон (тіосемикарбазон 4-ацетиламінобензальдегіду). Протитуберкульозна активність останнього пов'язана з бактеріостатичною дією на мікобактерію даного захворювання. Застосовують головним чином при туберкульозі слизових і серозних оболонок (оболонок тіла, що вистилають внутрішні органи), лімфаденітах (запаленні лімфатичного вузла), скрофулодерма (туберкульозі шкіри), специфічних свищах (каналах, що з'єднують порожнини тіла або повні органи із зовнішнім середовищем, або між собою, утворилися в результаті запального процесу, викликаного мікобактеріями туберкульозу). У ряді випадків Тіоацетазон надає лікувальну дію при лепрі, найбільш ефективний в ранніх стадіях захворювання [10].



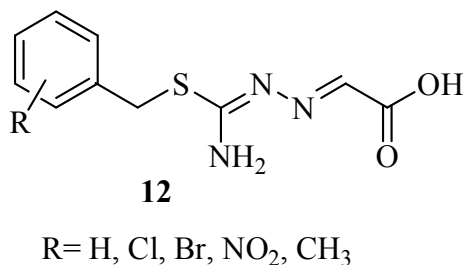
Тіоацетазон

Однак важливо, що основні протитуберкульозні препарати мають гепатотоксичний потенціал, включаючи клінічно очевидні гострі захворювання печінки, а також гостру печінкову недостатність і смерть або потребу в екстреній трансплантації печінки. Тому, пошук нових лікарських речовин, які б володіли такою активністю є актуальною проблемою.

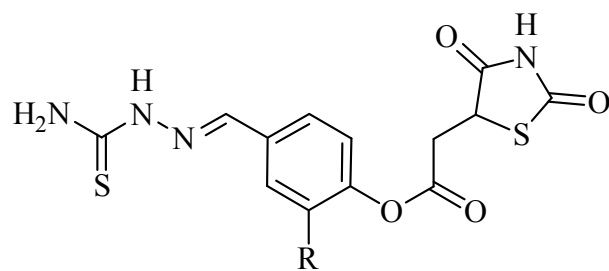
В дослідження [22] визначали протитуберкульозну активність похідних бензальдегідтіосемикарбазону щодо штаму *Mycobacterium tuberculosis*. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) мали відповідно такі значення 0.14 – 2.2 мкМ. Сполуки **11** 2-(4-фенетоксибензиліден)гідразин-1-карботіоамід і 2-(3-ізопропоксибензиліден)гідразин-1-карботіоамід, виявили низьку цитотоксичність та антимікобактеріальну активність проти *M. tuberculosis* за умов гіпоксії з МІК значення 0.68 і 0.74 мкМ.



Автори роботи [23] синтезували та досліджували похідні тіосемикарбазонів, оцінюючи антимікобактеріальну активність. Дві сполуки з серії **12**, 5-бромсаліцилальдегід-S-(4-фторбензил)-ізотіосемикарбазон та саліцилальдегід-S-(4-бромбензил)ізотіосемикарбазон, продемонстрували здатність впливати на активність ізоцитратліази та проявили кращу інгібуючу дію при концентрації 10 мкмоль/л, ніж 3-нітропропіонова кислота, яка є стандартним інгібітором.

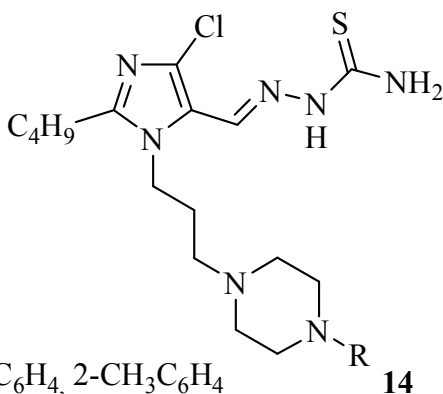


Нова група сполук **13**, які включають похідні на основі тiazолідин-2,4-діонного ядра з 4-незаміщеним тіосемикарбазоновим замісником, показала найвищу антимікобактеріальну активність з МІК у діапазоні від 0.031 до 0.125 мкг/мл. Усі аналізовані сполуки у цій групі відзначаються малою токсичністю для клітин. Зважаючи на високу ефективність і безпечність отриманих сполук вони є багатообіцяючими кандидатами на роль потенційних антимікобактеріальних засобів. [24]



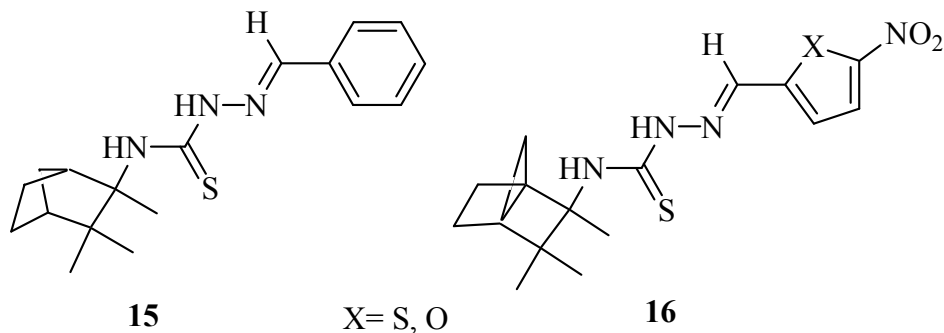
R = H, Br **13**

Автори [25] аналізували серію піперазин-тіосемикарбазонових гібридів та перевіряли солуки на антимікобактеріальну активність. Серед шістнадцяти сполук похідних **14**, які були протестовані *in vitro* проти *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, дві сполуки (E)-2-((2-бутил-4-хлор-1-(3-(4-(о-толіл)піперазин)-1-іл)пропіл)-1H-імідазол-5-іл)метиле)нгідразинкарботіоамід та (E)-2-((2-бутил-4-хлор-1-(3-(4-(2-метоксифеніл)) піперазин-1-іл)пропіл)-1H-імідазол-5-іл)метиле)нгідразинкарботіоамід виявилися найпотужнішими протитуберкульозними агентами з результатом МІК 3.13 мкг/мл та низьким рівнем токсичності.



R = 2-CH₃C₆H₄, 2-CH₃C₆H₄ **14**

Серію нових тіосемикарбазонів **15** та **16** досліджували в роботі [26] як перспективних антимікобактеріальних агентів. Результати порівнювались зі стандартними засобами проти туберкульозу.



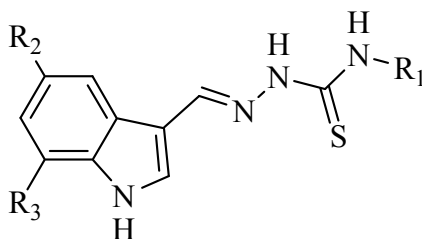
X = S, O

16

Більшість показали значний інгібуючий вплив на ріст *M. tuberculosis*. Значення МІК досліджуваних сполук становили від 3.9 до > 250 мкг/мл.

1.3. Антипротозойна активність

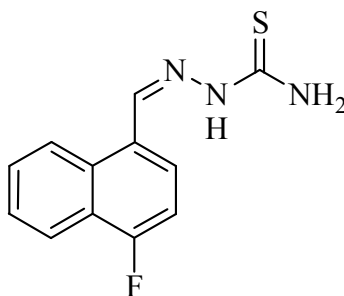
Тіосемикарбазони **17** були визначені як перспективні структури проти лейшманіозів. Було проведено аналіз цитотоксичності з використанням активності макрофагів проти форм *Leishmania infantum* і *Leishmania amazonensis promastigote*, а також ультраструктурних промастигот. При оцінці цитотоксичності індол-тіосемикарбазонові сполуки показали значення IC_{50} в діапазоні від 53.23 до 357.97 мкМ. Щодо оцінки активності проти промастигот *L. amazonensis*, значення IC_{50} варіювалися від 12.31 до > 481.52 мкМ, в той час як для промастигот *L. infantum* ці значення складали від 4.36 до 23.35 мкМ. Найкращі результати зафіксовані при тестуванні проти *L. infantum*, оскільки зафіксовані найнижчі значення IC_{50} : 5.60 і 4.36 мкМ, дія даних сполук призвела до нежиттєздатності паразитів. [27]



17

a $R_1 = C_6H_5$, $R_2 = Br$, $R_3 = CH_3$; **b** $R_1 = C_2H_5C_6H_5$, $R_2 = Br$, $R_3 = CH_3$

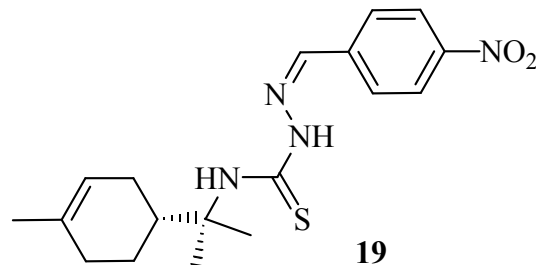
В роботі [28] досліджувався вплив тіосемикарбазону як потенційного антилейшманіозного засобу. Загалом було синтезовано 32 сполуки та оцінено їх ефективність проти амастигот *Leishmania donovani*. Сполука **18** виявила найкращу антипаразитарну дію з IC_{50} 0.8 мкМ, з низькою токсичністю у клітинах MRC-5 та найкраще співвідношення ефективності та безпечності ($SI > 250$).



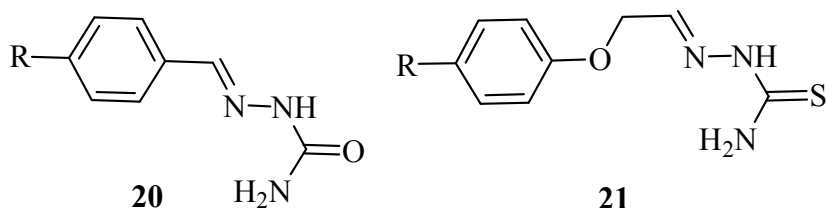
18

Дослідження впливу 4-нітробензальдегіду тіосемикарбазону (BZTS) на *Leishmania amazonensis* є завданням роботи [29]. Сполука **19** пригнічувала форми

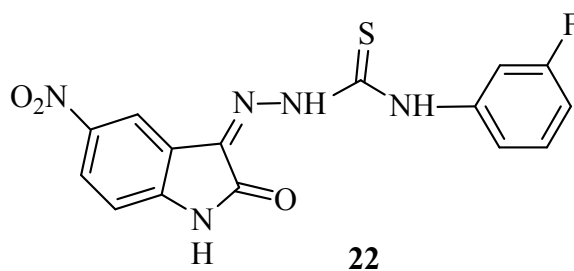
амастигот з IC_{50} на рівні 3.8 та 8.0 мкМ відповідно. Внутрішньоклітинні амастиготи були інгібовані сполукою з IC_{50} 7.7 мкМ. BZTS проявив IC_{50} 88.8 мкМ для штаму макрофагів J774A1. Виявлено, що дана сполука змінює форму, розмір і ультраструктуру паразитів, тобто має деструктивний вплив на них.



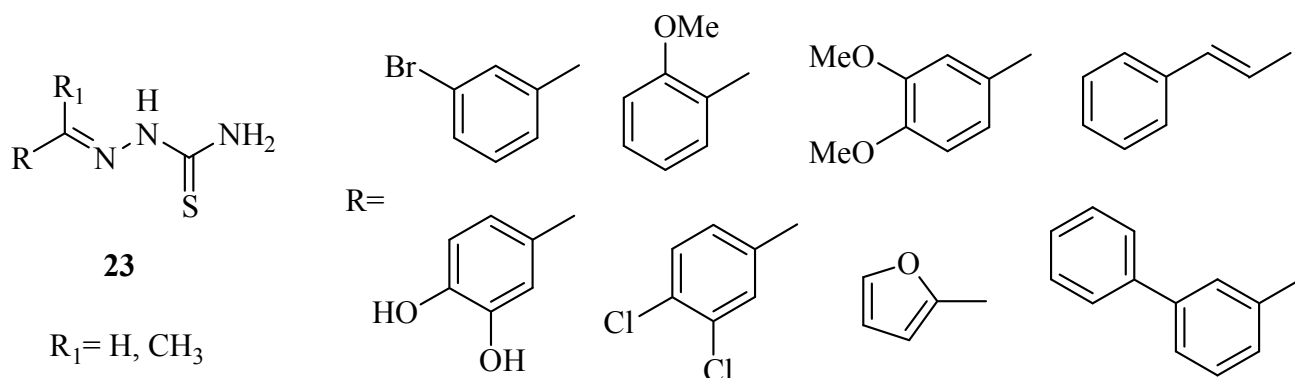
В дослідженні [30] проводився аналіз активності (тіо)семикарбазону та похідних феноксиметил-тіосемикарбазонів **20** та **21** проти *Aedes aegypti*, що є переносником лихоманки денге та багатьох інфекційних тропічних хвороб. Результати докінгових досліджень підтвердили, що AeSCP-2 може бути потенційною мішенню, яка може пояснити ларвіцидні властивості сполук. Спостереження між результатами докінгу *in silico* та даними pLC_{50} *in vitro* (еквівалентно $-\log LC_{50}$ при молярній концентрації) вказує на те, що найбільш ларвіцидні сполуки або ті, що мають найвищі значення pLC_{50} , зазвичай проявляють вищий рівень докінгу, тобто вони виявляють більшу відповідність *in silico* до мішені AeSCP-2.



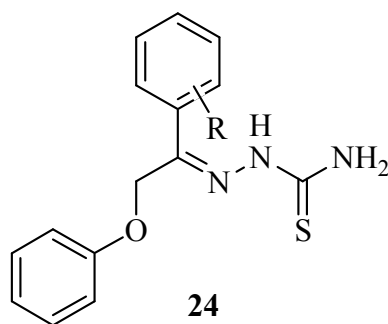
N(4)-заміщені 5-нітроізатин-3-тіосемикарбазони були синтезовані та перевірені на антилейшманіозну активність. Майже всі виявили хорошу активність, однак серед них відмінну виявила сполука **22** зі значеннями IC_{50} 1.78 ± 0.35 , 0.44 ± 0.02 , 1.91 ± 0.04 і 4.28 ± 0.75 мкг/мл, в порівнянні зі стандартним препаратом пентамідином ($IC_{50} = 5.09 \pm 0.04$ мкг/мл). [31]



Як підтверджено дослідниками [32], тіосемикарбазони – це сполуки, які можуть бути використані у боротьбі з *Trypanosoma brucei*, внутрішньоклітинними амастиготними формами *Leishmania infantum* та *Trypanosoma cruzi*. Серед 28 синтезованих сполук типу **23**, найкращу активність показав (E)-2-(4-((3,4-дихлоробензил)окси)бензиліден)гідразинкарботіоамід, що має антипаразитарну активність проти трьох паразитичних видів (Tb EC₅₀ = 2.31 мкМ, Li EC₅₀ = 6.14 мкМ, Tc EC₅₀ = 1.31 мкМ) та індекс селективності вище 10 по відношенню до людських макрофагів, отже, демонструючи пан-антитрипаносоматидний діяльність

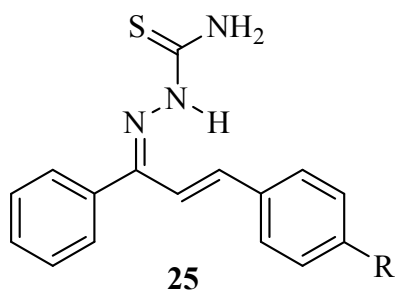


Автори дослідження [33] оцінили активність 7 арилтіосемикарбазонів типу **24** проти *L. amazonensis*. Вони показали низьку цитотоксичність, деякі не виявили токсичності щодо макрофагів. Значення EC₅₀ коливалися від 111.8 до 163.1 мкМ для. Результати *in vitro* з промастиготами *L. amazonensis* підтверджують, що сполуки мають здатність пригнічувати клітинний ріст, з IC₅₀ значеннями у діапазоні від 3.5 до 87.5 мкМ. Сполука **24 b** виявилася найбільш активною серед усіх перевірених на промастиготах. Значення IC₅₀ для внутрішньоклітинних амастигот варіювалося від 18.3 до 40.3 мкМ, тоді як значення SI₅₀ від 2.96 до 4.67. Сполука **24 d** проявила найбільшу активність проти амастигот (IC₅₀ = 18.3 мкМ), а **24 e** була найбільш селективною.



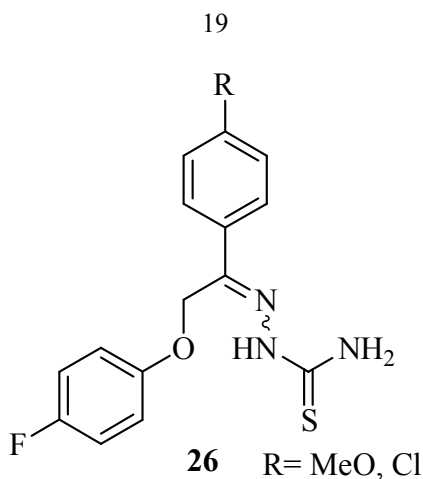
R= H (a), 4-CH₃ (b), 4-OCH₃ (c), 4-F (e) , 4-Cl (f), 4-Br (g), 3,4-Cl₂(i)

Синтез та скринінг біоактивності серії з семи халкон-тіосемикарбазонів **25** як потенційних нових засобів з антилейшманіозною дією було проведено в роботі [34]. Значення напівмаксимальної інгібуючої концентрації (IC₅₀) для внутрішньоклітинних амастигот були визначені у діапазоні від 3.40 до 5.95 мкМ для всіх досліджених сполук. Найбільш активна сполука з (R= Cl), показала значення IC₅₀ 5.22 ± 0.75 мкМ, в той час коли пентамідин мав значення IC₅₀ 4.90 ± 0.60 мкМ. Аналізи з аксеничними амастиготидами *L. amazonensis* проводили з майже усіма сполуками, окрім (R= CN, NO₂). Результати показали хороші ефекти інгібування росту з IC₅₀ в діапазоні від 3.19 до 7.08 мкМ з хлорзаміщеним халкон-тіосемикарбазоном.

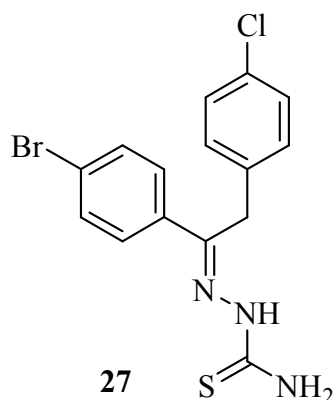


R= H, CH₃, CN, F, Cl, Br, NO₂

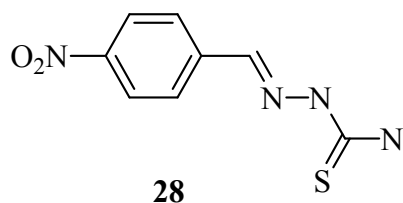
В роботі [35] синтезували сполуки арилоксиацетофенони тіосемикарбазонів як агентів проти *Toxoplasma gondii*. 4-Фторофеноксипохідна **26** виявилася найефективнішою сполукою з найвищою селективністю стосовно клітин господаря (клітини Vero) SI₅₀ = 19, порівняно з показниками піриметаміну. Значення IC₅₀ сполук проти клітин, інфікованих *T. gondii*. були в діапазоні 1.09–25.19 мкг/мл.



Структурно подібні ароксипохідні **27** були предметом дослідження роботи [36]. Сполука **27** проявила пригнічувальну протипаразитарну активність проти *Trypanosoma cruzi* етіологічного збудника хвороби Шагаса ($CC_{50} = 1,8$ мкМ).

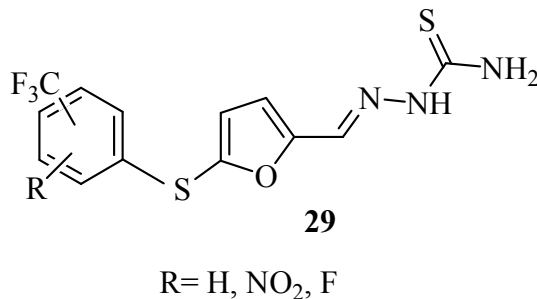


Метою наступного дослідження [37] було оцінити антитрипаносомну активність тіосемикарбазон 4-нітробензальдегіду **28** відносно *T. cruzi*. Дана сполука інгібувала ріст епімастигот при $IC_{50} = 9.20$ мкМ, внутрішньоклітинних при $IC_{50} = 3.23$ мкМ та пригнічувала життєздатність трипомастигот $EC_{50} = 1.43$ мкМ. Виявилось, що вона також змінює ультраструктуру та фізіологію мітохондрій, що може бути тісно пов'язане із загибеллю паразита.

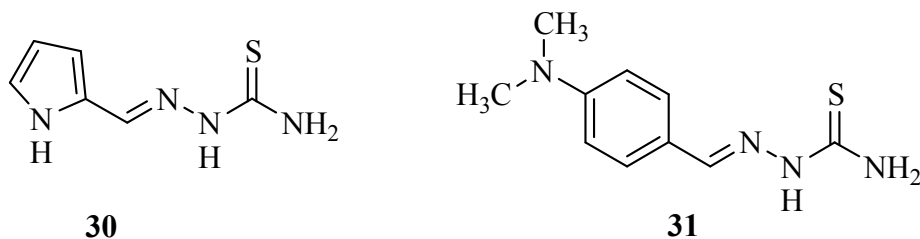


Ефективність тіосемикарбазонових похідних 5-[(трифторметил)фенілтіо]-2-фуральдегіду **29** проти *Trypanosoma cruzi* оцінювали у роботі [38]. Найефективнішою виявився 5-[нітро-4-(трифторметил)фенілтіо]-2-

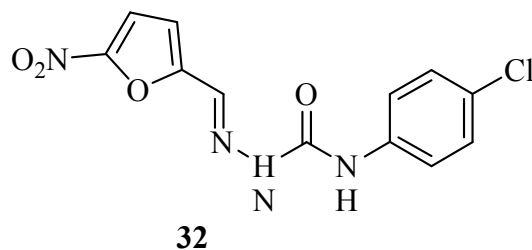
фуральдегідтіосемикарбазон. Ця активність пояснюється тим, що сполука у своїй структурі містить нітрогрупу, яка відпоідно і підсилює антитрипаносомну дію.



Ряд похідних семи- та тіосемикарбазону було синтезовано в роботі [39]. Було проведено оцінку здатності пригнічувати реплікацію епімастигот *Trypanosoma cruzi*, паразита, що викликає хворобу Шагаса. Значення IC₅₀, що спостерігалися в епімастиготних формах *T. cruzi*, становили від 20 мкМ до 140 мкМ. Крім того, сполуки не виявляли цитотоксичності в концентраціях до 50 і 250 мкМ. Найефективнішими виявились сполуки **30** та **31**.

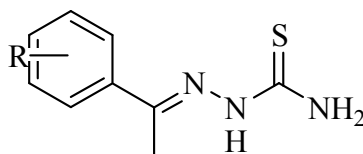


Антипаразитарна активність похідні семикарбазону також була проаналізована в роботі [40]. В результаті проведених досліджень виявилось, що сполука **32** продемонструвала хорошу подвійну дію проти *Leishmania major* (IC₅₀ = 1.5 мМ), *Trypanosoma cruzi* (IC₅₀ = 11.9 мМ) порівняно зі стандартними препаратами ніфуртимоксом (IC₅₀ = 7.7 мМ).



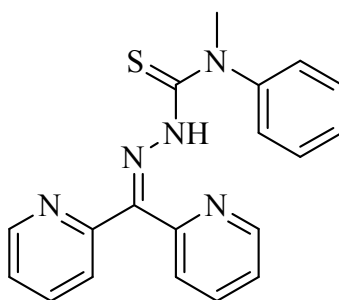
Протималярійна активність ряду тіосемикарбазонів *in vitro* відносно *Plasmodium falciparum* за допомогою методу флуоресцентного аналізу була описана в роботі [41]. Серед усіх сполук, (*E*)-2-(1-(4-фторфеніл)етіліден)гідразин-1-карботіоамід, (*E*)-2-(1-(3-бромфеніл)етіліден)гідразин-1-карботіоамід та (*E*)-2-

(3,4,5-триметоксибензиліден)гідразин-1-карботіоамід (**33**) продемонстрували хорошу протималярійну дію з відповідними значеннями EC_{50} 13.54 мкМ, 15.83 мкМ і 14.52 мкМ відповідно.

**33**

R = 3-Br, 4-F, 4-OCH₃

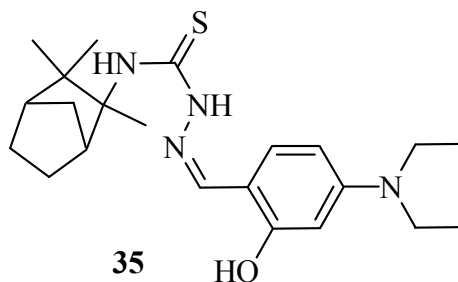
Протималярійна активність похідних тіосемикарбазонів також була вивчена в роботі [42]. Ряд тіосемикарбазонів типу **34** випробувано на наявність протималярійної активності *in vitro* проти *Plasmodium falciparum*. Індекс селективності, обчислений як співвідношення між EC_{50} для клітин та EC_{50} для лінії Pf W2, перевищував 500 у двох з трьох ліній клітин ссавців. Одноразова пероральна доза 16 мг/кг у здорових мишей досягала середньої максимальної концентрації в крові 1883 нг/мл через 1 годину після введення дози та періоду напіввиведення 48,7 годин у групах із п'яти мишей. Найактивніша сполука з усієї серії тіосемикарбазон **34** є перспективним об'єктом для розробки ефективного протималярійного засобу для перорального застосування.

**34**

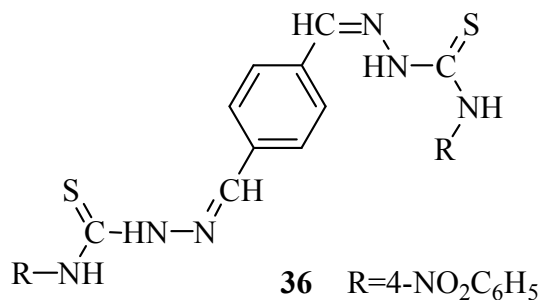
1.4. Антиоксидантна активність

У людському організмі проходить велика кількість хімічних процесів. Одним з яких є реакції окиснення. Окиснення є важливою частиною аеробного метаболізму в живих організмах. У складному процесі окиснення постійно утворюються вільні радикали, які містять активні форми кисню та азоту. Широко відомо, що вільні радикали відіграють подвійну роль *in vivo* як корисні та шкідливі сполуки. Сприятливий вплив вільних радикалів включає важливу фізіологічну роль у функції низки міжклітинних сигнальних шляхів, тощо. Навпаки надмірна кількість вільних радикалів може спричинити незворотне пошкодження тканин, атакуючи такі біомолекули, як ліпіди, білки та ДНК, що сприяє розвитку найпоширеніших захворювань – серцево-судинних, онкологічних, цукрового діабету та ін. Тому для виживання організмів та їхнього здоров'я необхідний баланс. Щоб підтримувати такий баланс активності вільних радикалів у живих клітинах, організм розвинув антиоксидантні захисні системи, які захищають від пошкодження вільними радикалами. Концентрація вільних радикалів зростає при зниженні активності антиоксидантної системи організму в процесі його старіння, при постійних стресах, при дії радіації, УФ-опромінення [43]. Активізувати роботу захисних сил можна за допомогою антиоксидантної терапії. Саме тому пошук альтернативних антиоксидантів є актуальним і сьогодні. Серед потенційних антиоксидантів є і похідні (тіо)семикарбазонів.

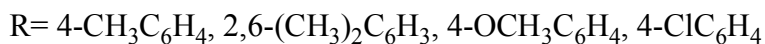
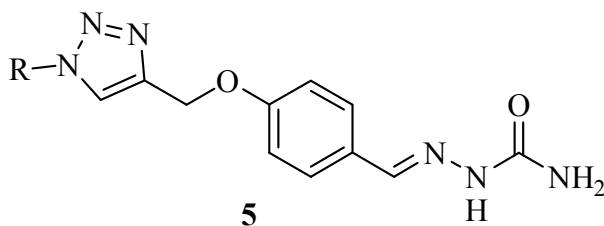
У роботі [44] було проведено дослідження на антиоксидантну активність шести тіосемикарбазонів на основі камфену. Найвищу ефективність у поглинанні радикала DPPH виявив тіосемикарбазон **35** з найкращим значенням EC_{50} (0.208 ± 0.004 моль/моль DPPH), а також найвищою константою бімолекулярної швидкості, що в 1.18 раза більше ніж Тролокс. Також доведено, що електронодонорний ефект діетиламіногрупи в тіосемикарбазоні **35** призводить до посилення активності поглинання.



У дослідженні [45] отримано нові похідні біс(тіосемикарбазону) типу **36**. Антиоксидантну активність синтезованих сполук досліджували шляхом використання методу захоплення вільних радикалів 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозилу *in vitro*. Вимірювали значення IC_{50} синтезованих молекул від 3.81 ± 0.01 до 29.05 ± 0.11 мкМ. Дана робота розкрила взаємозв'язок між структурою та активністю синтезованих молекул з різними замісниками у реакціях захоплення радикалів. Найкращу антиоксидантну активність виявила сполука **36**, яка містила 4-нітрофенільний фрагмент.



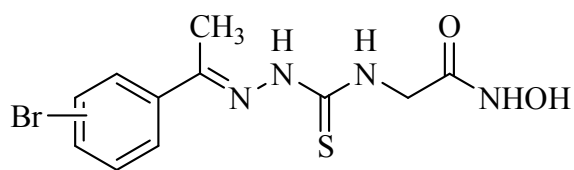
Антиоксидантну активність похідних семикарбазонів було вивчено в роботі [15]. Для дослідження використовували три модельні об'єкти: DPPH (1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозил), ABTS (2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфо кислота) і FRAP (антиоксидант, що зменшує залізо). Отримані дані вказують на те, що сполуки **5** найкраще поглинали вільні радикали при 10 мг/мл, ($96.42\% - 89.82\% \pm 1.33\% - 0.90\%$).



1.5. Протиракова активність

В даний час рак і його прогресування до метастазування призводять до великої кількості смертей. Відсутність нових ліків, відповідних клінічних випробувань, препаратів для профілактики метастазування та незавершеність розуміння молекулярного механізму є основною перешкодою для запобігання метастадам і лікування. Тіосемикарбазони та їх біоізостери, повторюються в широкому діапазоні біологічно активних сполук, які досягають різні цілі в контексті пухлини та є багатообіцяючою відправною точкою для синтезу нових речовин з протипухлинною активністю. Аналіз літературних джерел підтвердив, що завдяки своєму біорізноманіттю та універсальності протираковий потенціал таких структур пов'язаний з різними механізмами підсилення значення цих ядер у розробці протипухлинних ліків. [46]

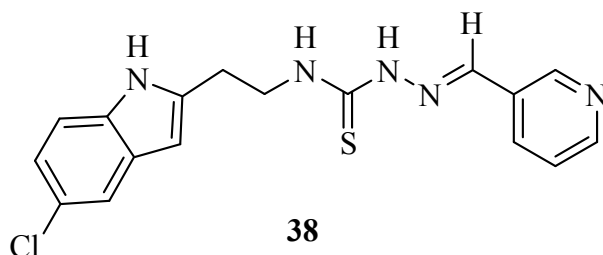
У дослідженні [47] було синтезовано ряд сполук похідних тіосемикарбазону. Сполука **37** проявила вибірккову деструктивну дію щодо Р-глікопротеїну, який є надмірно вираженим у стійких до лікування лейкемічних клітинах K562/A02, з IC₅₀ значенням на рівні 0.44 мкМ. Попередні дослідження механізму дії показали, що вона може збільшувати рівні ROS у клітинах K562/A02 у залежності від дози. Це може призводити до селективного знищення клітин K562/A02 і, відповідно, викликати потенційний ефект індукції апоптозу.



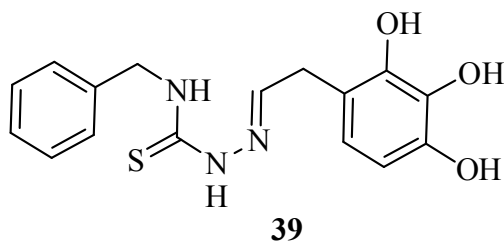
37

Ряд нових похідних тіосемикарбазону, що містять індольний фрагмент вивчались в роботі [48]. Виявилось, що сполука **38** може селективно пригнічувати клітини РС3 у трьох досліджуваних пухлинних клітинах з IC₅₀ значенням 0.14 мкМ, що відображає синергетичний ефект після введення фрагмента індолу у структуру. Також виявлено, що сполука може ефективно пригнічувати проліферацію клітин РС3, їх колонізацію та спричиняти апоптоз. Крім того, значно

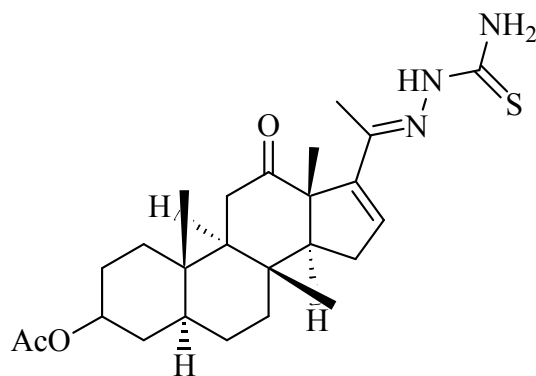
знижує міграцію та інвазію, перешкоджаючи процесу епітеліально-мезенхімної трансформації водночас не впливаючи на клітинний цикл.



У роботі [49] ряд похідних тіосемикарбазону перевірили на їх цитотоксичну активність проти лінії клітин раку молочної залози MDA-MB 231. Виявилось, що сполука **39** володіє протипухлинним ефектом і запускає механізм клітинного апоптозу. Рівень фосфорилування p53 був більш вираженим у клітини, яка була оброблена цисплатином та даною сполукою.

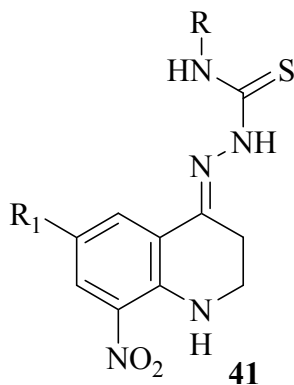


У зв'язку з пошуком нових дієвих речовин, що зданті припиняти ріст рак молочної залози, було синтезовано ряд похідних тіосемикарбазону та семикарбазону [50]. Результати випробувань на цитотоксичність вказують на те, що сполука **40** ефективно пригнічує проліферацію клітин різних типів раку, включаючи клітини раку молочної залози (MCF-7 і MDA-MB-231), клітини раку легенів (A549) і клітини раку товстої кишки (HT-29), при низьких концентраціях у мікромольному діапазоні. Що є важливим, додаткові дослідження механізму виявили, що дана сполука спроможна індукувати апоптоз у клітинах MDA-MB-231 шляхом зупинки клітинного циклу.

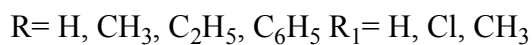


40

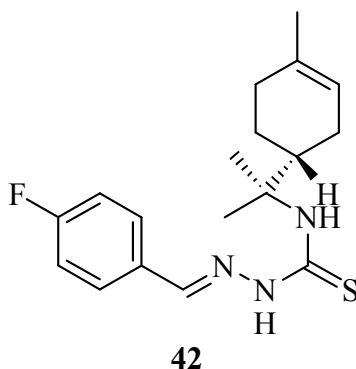
Тіосемикарбазони **41** досліджувались на виявлення протипухлинних властивостей раку молочної залози MCF-7 [51]. Досліджувані сполуки виявили чудову здатність інгібувати проліферацію ракових клітин. Додатково спостерігалось, що тіосемикарбазони **41** призводили до зупинки клітинного циклу на фазах G1/S і G2/M, а також індукували апоптоз. Він був обумовлений активацією каспази-3, важливого біомаркера апоптозу та зниженням експресії антиапоптотичного білка Bcl-2.



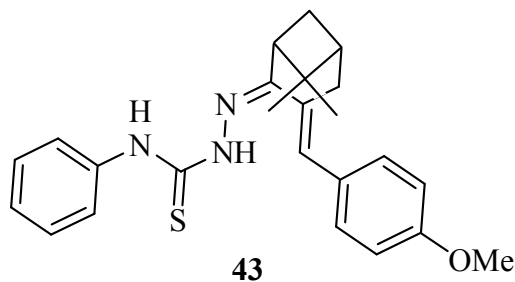
41



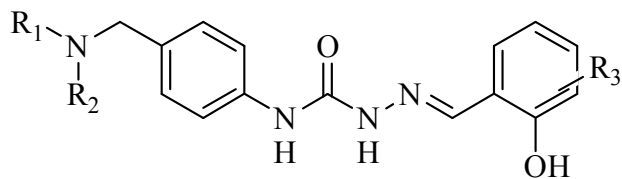
Автори роботи [52] вивчали параметри токсичності та антипроліферативні ефекти N(1)-4-фторбензальдегід-N(4)-{1-метил-1-[(1R)-4-метилциклогексен-3-іл]етил}-тіосемикарбазону **42** у клітинах аденокарциноми простати PC-3. Виявилось, що сполука продемонструвала багатообіцяючу цитотоксичну дію ($IC_{50} = 18.46$ мкМ). Щодо токсичного профілю, спостерігалася помірна гематологічна токсичність, його пероральне вживання мало низький ризик гострої системної токсичності.



В роботі [53] аналізували похідні тіосемикарбазону на протипухлинну активність. *In vitro* більшість показали значну цитотоксичну активність проти трьох ліній ракових клітин людини (MDA-MB-231, SMMC-7721 і Hela). Зокрема, сполука **43** виявила найкращу активність проти вищезазначених ліній ракових клітин, з IC_{50} значеннями відповідно 2.79 ± 0.38 , 2.64 ± 0.17 і 3.64 ± 0.13 мкМ. В ході дослідження вона може суттєво затримувати клітинний цикл на фазі G2/M і викликати апоптоз ракових клітин, що є важливими властивостями численних інгібіторів полімеризації тубуліну.



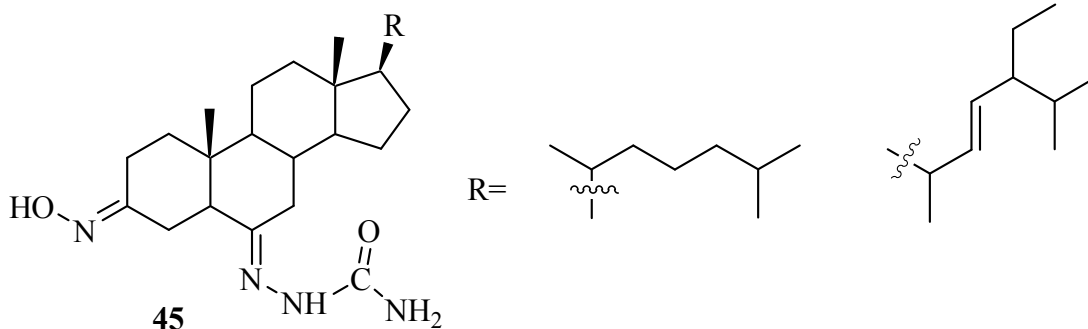
Протипухлинна активність семикарбазонів відносно ряду ліній ракових клітин вивчалась у роботі [54], дослідники синтезували та досліджували протипухлинну активність похідних семикарбазонів типу **44** щодо раку товстої кишки людини (HT29), нейробластоми людини (SK-N-SH), раку молочної залози людини (MDA-MB). Дані сполуки продемонстрували високу протипухлинну дію проти тестових ракових ліній клітин з IC_{50} значеннями від 0.32 до 1.57 мкМ відповідно, при цьому мали низьку токсичність для нормальних клітин. В результаті цитометричного аналізу клітинного циклу та апоптозу, виявилось, що сполуки **44** спричинили зупинку клітинного циклу Sub-G1 і припинили проліферацію ракових клітин шляхом індукції апоптозу залежно від дози.



44



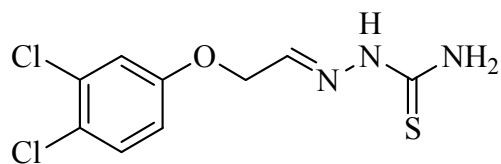
Сетроїдні семикарбазони, тіосемикарбазони та гідразони також можуть виявляти протипухлинну дію [55]. Тому було синтезовано сполуки **45**, охарактеризовано їхні вищеперелічені активності. В результаті дослідження виявилось, що сполуки **45** виявили значну активність проти ракових клітин печінки та шлунка людини. Значення IC_{50} для них були в діапазоні 4.2 – 15.0 мкМ відповідно (цисплатин, IC_{50} : 11,6 мкМ).



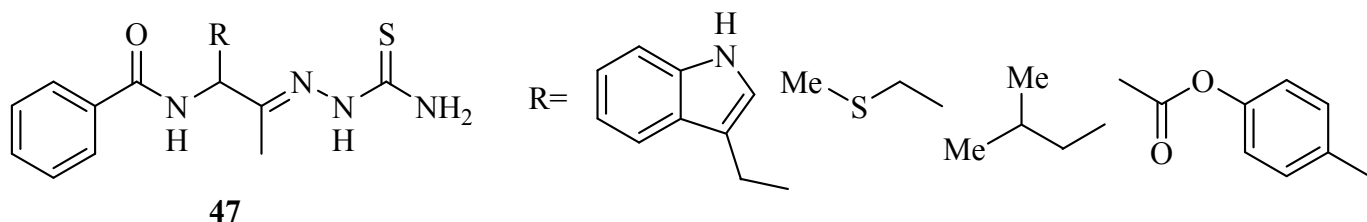
1.6. Протівірусна активність

Серед похідних (тіо)семикарбазонів є і сполуки, які володіють протівірусною активністю. Дослідження похідних тіосемикарбазонів спрямоване на вивчення пригнічення активності вірусу жовтої лихоманки (YFV) та вірусу енцефаліту Сент-Луїса (SLEV) було описано в роботі [56]. Для цих вірусів не існує конкретних протівірусних препаратів, тільки симптоматичне лікування, спрямоване на полегшення симптомів та запобігання ускладнень. Результати свідчать про те, що похідні тіосемикарбазону проявляють протівірусну активність як проти YFV, так і проти SLEV, тоді як сполуки фталілтіазолу були ефективними тільки проти SLEV. В ході проведення виявлено, що феноксиметил-

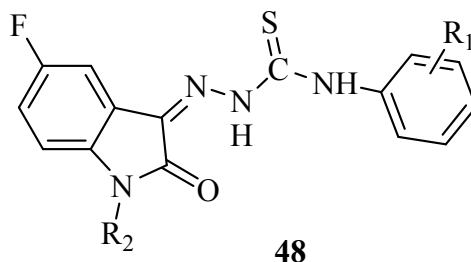
тіосемикарбазон **46** здатний зменшити реплікацію вірусу жовтої лихоманки (YFV) на 60% і реплікацію вірусу енцефаліту Сент-Луїса (SLEV) на 75%.

**46**

У роботі [57] проведено оцінку протівірусної активності тіосемикарбазонів з фрагментами α-амінокислот типу **47**. Дослідження підтверджує здатність Vz-Trp-TSC перешкоджати механізму розмноження вірусу, що викликає хворобу Денге. При концентраціях, які не перевищують максимальну нецитотоксичну концентрацію (MNCC), ці сполуки повністю унеможливають зараження вірусом Денге в клітинах vero, що підтверджується відсутністю цитопатичних ефектів залежно від дози.

**47**

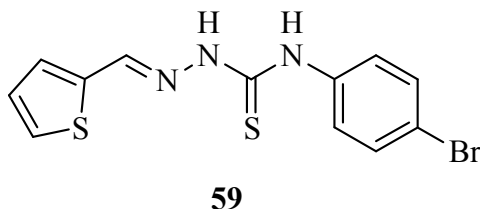
Тіосемикарбазони типу **48** вивчались на предмет наявності протівірусної активності відносно вірусів HSV-1 (KOS), HSV-2 (G) HSV-1 TK - KOS ACVr і VV, в порівнянні зі стандартними препаратами ацикловіром та ганцикловіром [58]. Виявилося, що етилзаміщені похідні проявили кращу активність, у той час як метилзаміщені не показали подібного ефекту. Сполука з трифторметильним фрагментом продемонструвала протівірусний ефект проти вірусу Коксаки В4 при 10 мкМ.

**48**

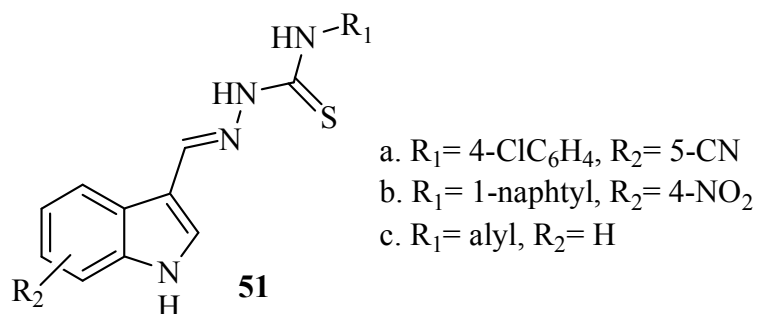
$R_1 = \text{H}, 3\text{-CH}_3, 4\text{-CH}_3, 4\text{-CF}_3, 4\text{-C}_2\text{H}_5, 3\text{-OCH}_3, 4\text{-OCH}_3, 4\text{-SCH}_3, 3\text{-F}, 4\text{-F}, 3\text{-Cl}, 4\text{-Cl}, 4\text{-Br}$
 $R_2 = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$

1.7. Протизапальна активність

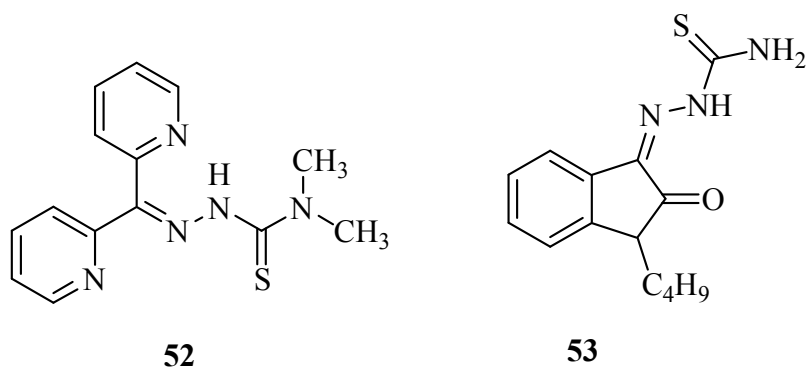
Запалення впливає на виникнення і розвиток багатьох захворювань. Протизапальні препарати широко використовуються для лікування запальних захворювань, але тривале застосування може спричинити токсичні побічні ефекти та вплинути на різноманітні функції в організмі людини. Тому пошук речовин з протизапальною активністю є завжди актуальним завданням. Аналізуючи протизапальну активність похідних тіосемикарбазону увагу привертає оглядова робота [59] в якій зібрані матеріали всіх публікацій, що стосується протизапальної активності похідних тіосемикарбазонів та продуктів їх перетворень. У роботі [60] дослідники вивчали протизапальну активність N-(4-бромфеніл)-2-(тіофен-2-ілметиле)тіосемикарбазону **59** на моделі набряку лапи піддослідної тварини викликаний карагеном. Встановлено, що застосування сполуки **59**, зменшує набряк на 81.9 і 83.2% у перші два рази експерименту при найвищій використаній дозі. Дослідники довели, що сполука **59** має антиноцицептивні ефекти пов'язані з периферичними механізмами.



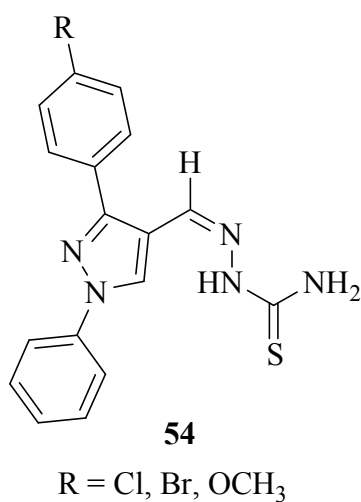
Автори роботи [61] синтезували та оцінили протизапальну активність нових похідних індолу, які містили тіосемикарбазонний фрагмент. Сполуки **60** (а-с) продемонстрували здатність до пригнічення проліферації лімфоцитів, з вказаними значеннями CC_{50} : 0.56 ± 0.036 , 0.9 ± 0.01 та 0.5 ± 0.07 мкМ відповідно, що продемонструвало кращу ефективність порівняно з індометацином ($CC_{50} > 12$ мкМ). Результати показали, що сполуки здатні пригнічувати міграцію лейкоцитів, знижувати експресію прозапальних цитокінів і інгібують фермент активність ЦОГ-2.



Було досліджено, що сполука **52** ефективно зменшує рівні білка HIF-1 і VEGF та продукцію цитокінів, мРНК експресію, уникаючи фосфорилування. В результаті виявилось, що сироваткові рівні IL-1 β і TNF- α , зменшуються під час лікування алергічного риніту даною сполукою. Таким чином, проведене дослідження, свідчить про те, що тіосемикарбазон виявляє активну протизапальну дію *in vitro* та *in vivo*. [62]



1-Інданон тіосемикарбазони типу **53** [63] виявили потенційне інгібування фосфоліпази A2. Результати показали, що 50% інгібування sPLA2 спостерігалось при концентрації ~200 мкг/мл для всіх сполук. Також при проведенні дослідження молекулярного докінгу *in silico* виявили декілька взаємодій і високий потенціал зв'язування сполуки **53** з активним sPLA2 сайтом.



Автори [63] описали потужне та селективне інгібування ЦОГ-2 ряду нових похідних піразолу, що містять тіосемикарбазонний фрагмент. Проведено дослідження інгібування ЦОГ-1/ЦОГ-2 *in vitro*. Встановлено, що похідні **54** є потужніші інгібітори ЦОГ-2, ніж ЦОГ-1. Сполука з 4-метоксифенільним фрагментом показала найкращі результати, інгібіторна активність ЦОГ-2 з $IC_{50} = 2.5$ мкМ.

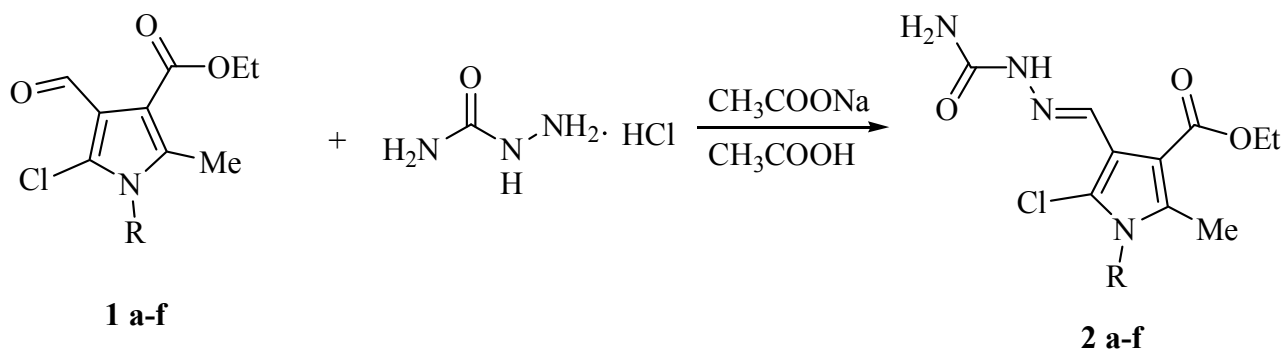
Таким чином, наведений вище аналіз літературних джерел свідчить про широкий спектр біологічної активності похідних (тіо)семикарбазонів і дає вагомі підстави стверджувати, що вони є одним із перспективних типів сполук для раціонального дизайну нових сполук з потенційною біологічною активністю

РОЗДІЛ 2

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

2.1. Синтез (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів

Для одержання такого роду сполук були використані реакції синтезованих на кафедрі медичної та фармацевтичної хімії 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів **1 a-f** [64] із семикарбазидом та тіосемикарбазидом. Семикарбазони **2 a-f** із виходами 88-93 %, отримували взаємодією альдегідів **1 a-f** з семикарбазиду гідрохлоридом в 80%-ній киплячій оцтовій кислоті в присутності натрій ацетату (Схема 1). Отримані семикарбазони **2 a-f** – це світло-жовті кристалічні речовини з температурою плавлення 200-250 °С. В спектрах ЯМР ^1H поряд з сигналами протонів замісників, які вже були наявні в пірольному циклі є і характеристичні синглети протонів азометинової групи при 8.22-8.27 м.ч., протонів NH при 10.06-10.24 м.ч. та протонів NH_2 при 6.02-6.16 м.ч. В спектрах ЯМР ^{13}C показовими є сигнали двох карбонільних груп при 156.7-157.7 і 164.3-164.8 м.ч.



R = H (a), CH_3 (b), C_2H_5 (c), C_3H_7 (d), C_4H_9 (e), $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (f)

Схема 1. Синтез семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів **2 a-f**

Для отримання тіосемикарбазонів **3 a-f** застосована конденсація карбальдегідів **1 a-f** з тіосемикарбазидом, яка легко протікає в 80%-ній киплячій оцтовій кислоті і приводить до цільових сполук з виходами 81-95% (Схема 2). Отримані тіосемикарбазони **3 a-f** – це світло-жовті кристалічні речовини з температурою плавлення 200-250 °С. В спектрах ЯМР ^1H спостерігаються типові сигнали протонів групи $\text{CH}=\text{N}$ при 8.45-8.50 та протонів групи NH при 11.45-11.53 м.ч. При детальному аналізі спектрів ЯМР ^1H виявлено, що два протони групи NH_2 не

проявляються разом у вигляді синглету як у випадку аналогічних похідних піролу з семикарбазонним фрагментом. Сигнал одного з цих протонів фіксується в діапазоні 7.05-7.10 м.ч., іншого в діапазоні – 8.12-8.18 м.ч., що свідчить про тіон-тіольну таутометрію та існування в умовах зняття спектрів у вигляді тіольної форми. В спектрах ЯМР ^{13}C показовими є сигнали карбону зв'язаного з тіольною групою при 177.5-177.9 м.ч.

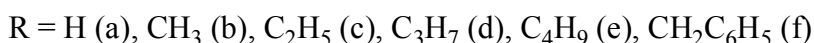
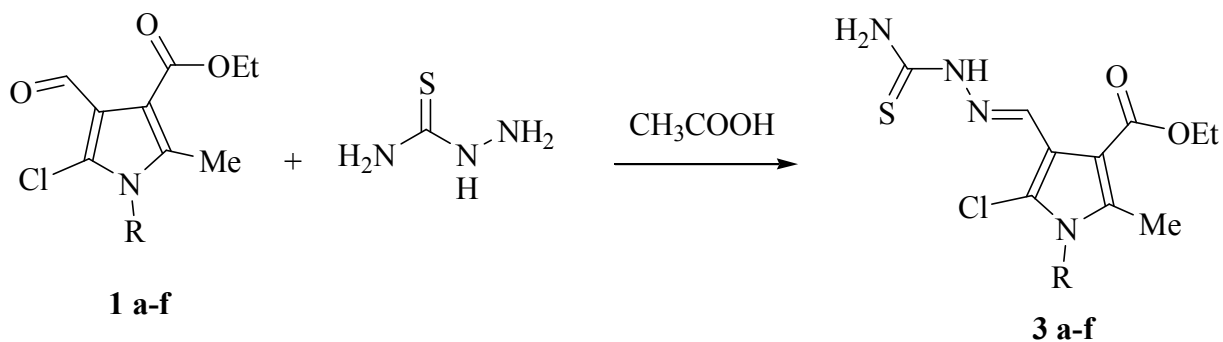


Схема 2. Синтез тіосемикарбазонів 4-форміл-5-хлорпірол-3-карбоксилатів **3 a-f**

2.2. Комп'ютерне прогнозування біологічної активності отриманих сполук

Синтезовані похідні (тіо)семикарбазонів **2 a-f** та **3 a-f** були оцінені за деякими параметрами критерію Ліпінського за допомогою ProTox 3.0, віртуальної лабораторії для прогнозування токсичності та встановлення кореляційних залежностей біологічних властивостей сполуки від молекулярних [65].

Програма дозволяє будувати структури з допомогою хімічного редактора і обчислює властивості досліджуваної речовини за такими критеріями: коефіцієнт розподілу в системі «вода – *n*-октанол» (logP), величина молекулярної маси (M), кількість донорів та акцепторів водневого зв'язку, кількість зв'язків, що обертаються тощо. Якщо значення таких показників для сполуки відповідає емпіричному правилу Ліпінського [66], то дані речовини можуть використовуватись для подальших експериментальних біологічних досліджень.

**Значення деяких критеріїв лікоподібності
(тіо)семикарбазонів 2 а-f та 3 а-f**

Номер сполуки	LogP	Молекулярна маса	Кількість акцепторів водневого зв'язку	Кількість донорів водневого зв'язку	Кількість зв'язків, що обертаються
2 а	2.25	273	6	3	6
2 б	2.26	287	6	2	6
2 с	2.74	301	6	2	7
2 d	3.13	315	6	2	8
2 е	3.52	329	6	2	9
2 f	3.77	363	6	2	8
3 а	2.41	289	6	3	6
3 б	2.42	303	6	2	6
3 с	2.9	317	6	2	7
3 d	3.29	331	6	2	8
3 е	3.69	345	6	2	9
3 f	3.93	379	6	2	8
Нітрофурал	1.28	200	6	4	4
Згідно з правилами Ліпінського	Не більше 5	Не більше 500	Не більше 10	Не більше 5	Не більше 10

Аналіз результатів розрахованих показників (табл. 1) вказує на те, що похідні (тіо)семикарбазонів **2 а-f** та **3 а-f** не мають відхилень від правила Ліпінського, що дозволяє зробити висновок про перспективність експериментального вивчення даного класу сполук для отримання в подальшому на їх основі лікарських засобів.

При отриманні нових біологічно активних сполук важливим також є визначення показників токсичності, оскільки від них залежить безпечність лікарського засобу. Прогнозування токсичності сполук є частиною процесу розробки дизайну лікарських засобів. Обчислювальні оцінки токсичності не тільки швидші, ніж визначення токсичних доз у тварин, але також можуть допомогти зменшити кількість експериментів на тваринах.

Використовуючи віртуальну лабораторію ProTox 3.0 встановлено, що ймовірна смертельна доза LD_{50} при пероральному шляху введення речовин досліджуваного класу знаходиться в межах 750-4000 мг/кг, що дозволяє класифікувати дані сполуки як малотоксичні (4 клас) та майже нетоксичні (5 клас). До майже нетоксичних (5 клас токсичності) відносяться сполуки **2a**, **2c-e**, **3c-e** ймовірна смертельна доза знаходиться у діапазоні $2000 < LD_{50} \leq 5000$ (табл. 2). Сполуки **2b**, **2f**, **3a**, **3b**, **3f** є помірнотоксичними (4 клас токсичності), тому значення показника токсичності варіюються в межах $300 < LD_{50} \leq 2000$. Проаналізувавши токсичність усіх (тіо)семикарбазонів, виявилось, що сполука **3c** ($LD_{50} = 4000$ мг/кг) має найменший рівень токсичності. Слід звернути увагу на те, що структурно подібний препарат Фурацилін, який використовувався для порівняння відноситься до 3 класу токсичності, що свідчить про перспективність вивчення запропонованих нами об'єктів для обрання сполук-лідерів для отримання нових лікарських засобів.

Таблиця 2

**Результати комп'ютерного прогнозу гострої токсичності похідних
(тіо)семикарбазону 2a-f та 3 a-f**

Номер сполуки	Пероральний шлях введення	
	LD_{50} мг/кг	Клас токсичності
2 a	2930	5
2 b	2000	4
2 c	2275	5
2 d	2275	5
2 e	2275	5
2 f	750	4
3 a	750	4
3 b	2000	4
3 c	4000	5
3 d	2275	5
3 e	2275	5
3 f	2000	4
Фурацилін	200	3

2.3 Протимікробна активність (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів

Антибактеріальну та протигрибкову активність нових похідних (тіо)семикарбазонів **2a-f** та **3a-f** *in vitro* визначали методом подвійних серійних розведень відносно музейних штамів деяких типів бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* 4636) та гриба (*Candida albicans* ATCC 885/653). За негативний контроль було взято диметилсульфоксид (ДМСО), який використовувався як розчинник, за позитивний контроль структурно подібний протибактеріальний засіб Фурацилін. Протибактеріальну та протигрибкову активність оцінювали за значенням мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Аналіз даних антимікробного скринінгу (табл. 3) показав, що мінімальна інгібуюча концентрація при дії досліджуваних сполук на бактерії та гриби коливалася в межах 31.25-250 мкг/мл, що свідчить про наявність антимікробної активності цього класу сполук.

Аналізуючи вплив синтезованих сполук на ріст штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, слід звернути увагу на семикарбазон **2c**, мінімальна інгібуюча концентрація становить 31.25 мкг/мл, МІК для інших сполук коливається в межах 61.25-125 мкг/мл. При дослідженні протимікробної дії відносно штаму *Proteus vulgaris* 4636 у більшості випадків МІК=62.5 мкг/мл, виключенням є лиш сполуки **2d-f** для яких мінімальна концентрація, яка зупиняє ріст бактерій дорівнює 250 мкг/мл. У випадку тест-штаму *Escherichia coli* ATCC 25922 сполуки **2a**, **2b**, **3 a-c**, **3e**, **3f** зупиняють ріст бактерій при МІК = 62.5 мкг/мл, а сполуки **2 c-f**, **3 d** – при МІК=125 мкг/мл. Фунгіцидна активність сполук **2a-f** відносно гриба *Candida albicans* ATCC 885/653 не є вибірковою, мінімальна інгібуюча концентрація для всієї серії сполук становить 62.5 мкг/мл.

Таблиця 3

Протимікробна активність сполук 2 а-f та 3 а-f

№	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>
	МІК	МІК	МІК	МІК
2a	125	62.5	62.5	62.5
2b	125	62.5	62.5	62.5
2c	31.25	125	62.5	62.5
2d	250	125	250	62.5
2e	250	125	250	62.5
2f	250	125	250	62.5
3a	125	62.5	62.5	62.5
3b	125	62.5	62.5	62.5
3c	125	62.5	62.5	62.5
3d	250	125	62.5	62.5
3e	250	62.5	62.5	62.5
3f	250	62.5	62.5	62.5
ДМСО	+	+	+	+
Фурацилін*	3.91	7.81	7.81	31.25

+ виявлено ріст бактерій,

* як контроль використовували Фурацилін таблетки 20 мг №20 (Галичфарм) з перерахунком на чисту субстанцію

РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Спектри ЯМР ^1H та ^{13}C отримували на спектрометрі Varian VXR-400 з робочою частотою 400 МГц для ^1H та 125 МГц для ^{13}C в імпульсному Фур'є-режимі, розчинник ДМСО- d_6 . Хімічні зміщення (δ , м.ч.) наведено стосовно сигналу ТМС. Хроматомас-спектри одержували на приладі Agilent LC/MSD SL; колонка Zorbax SB-C18, 4.6×15 мм, 1.8 мкм (PN 82(c)75-932); розчинник ДМСО, іонізація електророзпиленням при атмосферному тиску. Елементний аналіз здійснювали на приладі PerkinElmer CHN Analyzer серії 2400 в аналітичній лабораторії Інституту органічної хімії НАН України.

Семикарбазони 2-метил-4-форміл-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилатів (2 a-f). До розчину 1 ммоль альдегіду **1 a-f** в 5 мл 80 %-ної оцтової кислоти додавали 0.11 г (1 ммоль) семикарбазиду гідрохлориду та 0.14 г (1 ммоль) натрій ацетату, нагрівали до кипіння і охолоджували. Осад, що утворився відфільтровували, промивали водою та сушили.

Етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-2-метил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (2 a). Вихід 88%, жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 205^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.ч., DMSO- d_6 J, Гц): 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.35 (s, 3H), 4.17 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.15 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 12.23 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 MHz, DMSO- d_6) δ 12.96, 14.17, 59.26, 109.56, 111.56, 114.02, 134.9 (2C), 156.73, 163.85. Мас-спектр, m/z : 273 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: C 44.05; H 4.81; N 20.55. Знайдено, %: C 43.80; H 4.76; N 20.42.

Етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-1,2-диметил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (2 b). Вихід 88%, білдо-жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 200^\circ\text{C}$. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.46 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 4.15 – 4.23 (m, 2H), 6.13 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 10.20 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 MHz, DMSO- d_6) δ 12.17, 14.63, 31.25, 59.99, 109.72, 114.15, 115.08, 135.11, 136.49, 157.18, 164.30. Мас-спектр, m/z : 287 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: C 46.08; H 5.27; N 19.54. Знайдено, %: C 46.04; H 5.20; N 19.40.

Етил 4-{{(амінокарбоніл)гідразоно}метил}-1-етил-2-метил-5-хлоро-1Н-пірол-3-карбоксилат (2 с). Вихід 89%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 220^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.50 (s, 3H), 4.01 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.05 (s, 2H), 8.22 (s, 1H), 10.20 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.82, 14.68 (2C), 15.27, 60.04, 110.13, 114.28, 135.13, 136.64, 157.22, 164.34. Мас-спектр, m/z : 301 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: С 47.93; Н 5.70; N 18.63. Знайдено, %: С 48.15; Н 5.78; N 18.75.

Етил 4-{{(амінокарбоніл)гідразоно}метил}-2-метил-1-пропіл-5-хлоро-1Н-пірол-3-карбоксилат (2 d). Вихід 93%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 214^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.89 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.65 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 3.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.02 (s, 2H), 8.22 (s, 1H), 10.06 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.26, 12.07, 14.68, 23.12, 45.52, 60.06, 110.11, 114.44, 114.72, 135.12, 135.99, 157.21, 164.31. Мас-спектр, m/z : 315 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: С 49.61; Н 6.08; N 17.80. Знайдено, %: С 49.87; Н 5.99; N 17.77

Етил 4-{{(амінокарбоніл)гідразоно}метил}-1-бутил-2-метил-5-хлоро-1Н-пірол-3-карбоксилат (2 e). Вихід 88%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 215^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.31 (dt, $J = 13.7, 7.3$ Hz, 5H), 1.58 (q, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 3.96 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.21 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 6.04 (s, 2H), 8.22 (s, 1H), 10.08 (s, 1H). Мас-спектр, m/z : 329 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: С 51.14; Н 6.44; N 17.04. Знайдено, %: С 51.42; Н 6.49; N 17.19.

Етил 4-{{(амінокарбоніл)гідразоно}метил}-1-бензил-2-метил-5-хлоро-1Н-пірол-3-карбоксилат (2 f). Вихід 89%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 242^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 5.29 (s, 2H), 6.16 (s, 2H), 7.00 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 8.27 (s, 1H), 10.24 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.19, 14.61, 47.08, 60.16, 110.53, 114.73, 115.23, 126.35 (2 C), 127.96, 129.32, 136.38, 136.62, 157.14, 164.25. Мас-спектр, m/z : 363 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_3$. Розраховано, %: С 56.28; Н 5.28; N 15.44. Знайдено, %: С 56.55; Н 5.25; N 15.39.

Тіосемикарбазони 2-метил-4-форміл-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилатів (3 a-f). До розчину 1 ммоль альдегіду **1 a-f** в 5 мл 80 %-ної оцтової кислоти додавали 0.11 г (1 ммоль) тіосемикарбазиду та нагрівали до кипіння. Охолоджували, осад, що утворився відфільтровували, промивали водою та сушили.

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-2-метил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 a). Вихід 81%, жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 247^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.37 (s, 3H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.05 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 11.45 (s, 1H), 12.33 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (101 MHz, DMSO- d_6) δ 13.44, 14.74, 59.91, 110.44, 113.24, 113.85, 135.96, 164.23, 177.97. Мас-спектр, m/z : 289 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$. Розраховано, %: C 41.60; H 4.54; N 19.40. Знайдено, %: C 41.89; H 4.46; N 19.54.

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-1,2-диметил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 b). Вихід 95%, білідо-жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 244^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.47 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.07 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 11.50 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 MHz, DMSO- d_6) δ 12.10, 14.68, 31.33, 60.08, 110.13, 116.17, 137.07, 164.15, 177.92. Мас-спектр, m/z : 303 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$. Розраховано, %: C 43.64; H 4.99; N 18.50. Знайдено, %: C 43.92; H 4.88; N 18.62.

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-1-етил-2-метил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 c). Вихід 87%, білідо-жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 204^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.50 (s, 3H), 4.01 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 4.23 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.46 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (101 MHz, DMSO- d_6) δ 11.76, 14.72, 15.72, 60.14, 110.55, 113.81, 115.94, 136.23, 138.96, 164.19, 178.01. Мас-спектр, m/z : 317 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$. Розраховано, %: C 45.50; H 5.41; N 17.68. Знайдено, %: C 45.76; H 5.50; N 17.53.

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-2-метил-1-пропіл-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 d). Вихід 82%, білідо-жовтий порошок, $T_{\text{пл.}} = 206^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.62 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 3.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 11.49 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 MHz, DMSO-

d_6) δ 10.71, 14.19, 22.54, 45.09, 59.60, 113.25, 115.28, 136.00, 138.01, 163.65, 177.55. Мас-спектр, m/z : 331 $[M+H]^+$. $C_{13}H_{19}ClN_4O_2S$. Розраховано, %: C 47.20; H 5.79; N 16.93. Знайдено, %: C 47.03; H 5.87; N 16.77

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-1-бутил-2-метил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 e). Вихід 82%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 213^\circ C$. 1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.30 (q, $J = 7.0$ Hz, 5H), 1.51 – 1.62 (m, 2H), 3.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.08 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 11.49 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (101 MHz, DMSO- d_6) δ 11.97, 14.72, 19.75, 31.79, 60.15, 110.53, 113.75, 115.74, 136.49, 138.53, 164.18, 177.98. Мас-спектр, m/z : 345 $[M+H]^+$. $C_{14}H_{21}ClN_4O_2S$. Розраховано, %: C 48.76; H 6.14; N 16.25. Знайдено, %: C 49.01; H 6.06; N 16.10.

Етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно}метил}-1-бензил-2-метил-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилат (3 f). Вихід 83%, білідо-жовтий порошок, $T_{пл.} = 232^\circ C$. 1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 4.22 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 5.30 (s, 2H), 7.01 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 7.28 (q, $J = 7.4$, 6.9 Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 8.17 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 11.53 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (126 MHz, DMSO- d_6) δ 12.13, 14.66, 47.18, 60.25, 110.93, 114.04, 116.32, 126.38 (2 C), 128.00, 129.34, 136.47, 136.94, 138.37, 164.10, 177.98. Мас-спектр, m/z : 363 $[M+H]^+$. $C_{17}H_{19}ClN_4O_2S$. Розраховано, %: C 53.89; H 5.05; N 14.79. Знайдено, %: C 54.14; H 5.12; N 14.90.

Методика визначення протимікробної активності

Антимікробну активність синтезованих сполук досліджували методом мікророзведення живильного бульйону згідно з рекомендаціями EUCAST (Європейського комітету з тестування антимікробної чутливості) [67]. Відповідно до цього методу визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) як концентрацію кожної синтезованої сполуки, необхідну для придушення проліферації даної мікробної культури в багатолунковому мікропланшеті. Базовий розчин 1000 мкг/мл готували шляхом розчинення необхідної кількості сполуки в диметилсульфоксиді (ДМСО). Крім того, для визначення значень МІК

використовували розведені розчини з концентраціями від 500 до 3.9 мкг/мл. Тричі перевіряли чутливість кожної мікробної культури до кожної концентрації синтезованих сполук. Крім того, проводили контрольні досліди для перевірки розмноження мікробів у чистому бульйоні, у цьому ж бульйоні з ДМСО, а також у бульйоні з ДМСО та контрольними пробами (нітрофурал).

У контролях росту тест-штамів і розчинника спостерігали наявність росту мікроорганізмів, а контроль середовища залишався прозорим, що підтверджувало стерильність.

ВИСНОВКИ

1. Методами комп'ютерного прогнозування серед віртуальної бібліотеки функціоналізованих похідних (тіо)семикарбазонів пірол-4-карбальдегіду обрано найбільш перспективні структури.
2. Конденсацією семикарбазиду та тіосемикарбазиду з 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатами синтезовано ряд (тіо)семикарбазонів 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів, структура яких достовірно підтверджена елементним аналізом, методами ^1H -, ^{13}C -ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.
3. Встановлено, що (тіо)семикарбазони 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів проявляють протибактеріальну та протигрибкову активність (МІК = 31.25-250 мкг/мл). Найкращий результат зафіксований при тестуванні семикарбазону 1-етил-4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилату відносно тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (МІК = 31.25 мкг/мл).
4. Зважаючи на наявність протимікробної активності та меншу прогнозовану токсичність, синтезовані (тіо)семикарбазони 4-форміл-5-хлоропірол-3-карбоксилатів є перспективними об'єктами для подальших поглиблених досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державний реєстр лікарських засобів України.
<http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&stype=8>
2. Matesanz, I. A.; Herrero, M. J.; Quiroga, G. A. Chemical and Biological Evaluation of Thiosemicarbazone-Bearing Heterocyclic Metal Complexes. *Curr Top Med Chem.* 2021, 21(1), 59-72.
3. Kokkonda, S.; Deng, X.; White, K.L.; El Mazouni, F.; White, J.; Shackleford, D. M.; Katneni, K.; Chiu, F. C. K.; Barker, H.; McLaren, J.; Crighton, E.; Chen, G.; Angulo-Barturen, I.; Belen Jimenez-Diaz, M.; Ferrer, S.; Huertas V. L.; Martinez-Martinez, M. S.; Lafuente-Monasterio, M. J.; Kumar, C. R.; Shahi, S. P.; Wittlin, S.; Waterson, D.; Burrows, J. N.; Matthews, D. Lead optimization of a pyrrole-based dihydroorotate dehydrogenase inhibitor series for the treatment of Malaria. *J. Med. Chem.* 2020, 63 (9), 4929-4956.
4. Gupton, J. T.; Yeudall, S.; Telang, N.; Hoerrner, M.; Huff, E.; Crawford, E.; Lounsbury, K.; Kimmel, M.; Curry, W.; Harrison, A.; Juekun, W.; Shimoazono, A.; Ortolani, J.; Lescalleet, K.; Patteson, J.; Moore-Stoll, V.; Rohena, C. C.; Mooberry, S. L.; Obaidullah, A. J.; Kellogg, G. E.; Sikorski, J. A. Ortho group activation of a bromopyrrole ester in Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions: Application to the synthesis of new microtubule depolymerizing agents with potent cytotoxic activities. *Bioorg Med Chem.* 2017, 25(12), 3206-3214.
5. Abd El-Hameed, R. H.; Sayed, A. I.; Ali, S. M.; Mosa, M. A.; Khoder, Z. M.; Fatahala, S. S. Synthesis of novel pyrroles and fused pyrroles as antifungal and antibacterial agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2021, 36 (1), 2183-2198.
6. Fatahala, S. S.; Hasabelnaby, S.; Goudah, A.; Mahmoud, G. I.; Abd-El Hameed, R. H. Pyrrole and Fused Pyrrole Compounds with Bioactivity against Inflammatory Mediators. *Molecules.* 2017, 22 (3), 461-828.
7. Basha, N. J.; Basavarajaiah, S. M.; Shyamsunder, K. Therapeutic potential of pyrrole and pyrrolidine analogs: an update. *Mol Divers.* 2022, 13(2), 1-23.

8. Schäfer, C.; Mony, J.; Olsson, T.; Börjesson, K. Effect of the Aza-N-Bridge and Push–Pull Moieties: A Comparative Study between BODIPYs and Aza-BODIPY. *J. Org. Chem.* 2022, 87(5), 2569-2579.
9. Philkhana, S. C.; Badmus, F. O.; Dos Reis, I. C.; Kartika, R. Recent advancements in pyrrole synthesis. *Synthesis*, 2021, 53, 1531–1555.
10. Нековаль І.В., Казанюк Т.В. Фармакологія: підручник. 4-е вид., виправл. Київ: ВСВ «МЕДИЦИНА», 2011. 64 с.
11. Sadaca, C.; Damborg, P.; Watts, J. L. High-Throughput Screen Identifying the Thiosemicarbazone NSC319726 Compound as a Potent Antimicrobial Lead Against Resistant Strains of Escherichia coli. *Biomolecules*. 2018, 8(4),166.
12. Ebenezer, O.; Singh-Pillay, A.; Koorbanally, N. A.; Singh, P. Antibacterial evaluation and molecular docking studies of pyrazole–thiosemicarbazones and their pyrazole–thiazolidinone conjugates. *Mol Divers*. 2021, 25(1), 191-204.
13. Trotsko, N.; Kosikowska, U.; Paneth, A.; Plech, T.; Malm, A.; Wujec, M. Synthesis and Antibacterial Activity of New Thiazolidine-2,4-dione-Based Chlorophenylthiosemicarbazone Hybrids. *Molecules*. 2018, 23(5), 1023.
14. Ngoc T., V.; Dinh Thanh, N.; Minh Tri, N. Synthesis and biological screening of thiosemicarbazones of substituted 3-acetylcoumarins having d-glucose moiety. *Bioorg Med Chem Lett*. 2020, 30(24), 127664
15. Brahmi, J.; Bakari, S.; Nasri, S.; Nasri, H.; Kadri, A.; Aouadi, K. Synthesis and SPAR exploration of new semicarbazone-triazole hybrids in search of potent antioxidant, antibacterial and antifungal agents. *Mol Biol Rep*. 2019, 46(1), 79-686
16. Fan Q.; Qianqian Q.; Jirong S.; Jie H. Synthesis, Crystal Structure, Biological Evaluation and in Silico Studies on Novel (E)-1-(Substituted Benzyldiene)-4-(3-isopropylphenyl)thiosemicarbazone Derivatives. *Chem Biodivers*. 2021, 18(2), e2000804.
17. Opletalova, V.; Dolezel, J.; Kunes, J.; Buchta, V.; Vejsova, M.; Kuceroval-Chlupacova, M. Synthesis and Antifungal Screening of 2- {[1-(5-Alkyl/arylalkylpyrazin-2-yl)ethylidene]hydrazono}-1,3-thiazolidin-4-ones. *Molecules*. 2016, 21(11), 1592.

18. De Araújo Neto, L. N.; do Carmo Alves de L., M.; de Oliveira, J. F.; de Souza, E. R.; Silva Buonafina, M. D.; Vitor Anjos, M. N.; Brayner, F. A.; Alves, L. C.; Neves, R. P.; Jaime Bezerra Mendonça-Junior, F. Synthesis, cytotoxicity and antifungal activity of 5-nitro-thiophene-thiosemicarbazones derivatives. *Chem Biol Interact.* 2017, 272, 272-181.
19. Al-Wabli, R.; Al-Ghamdi, A.; Ghabbour, H.; Al-Agamy, M.; Attia, M. Synthesis and Spectroscopic Identification of Certain Imidazole-Semicarbazone Conjugates Bearing Benzodioxole Moieties: New Antifungal Agents. *Molecules.* 2019, 24(1), 200.
20. Чорноус, В.О.; Паламар, А.О.; Грозав, А.М.; Яремій, І.М.; Вовк, М.В. Синтез і біологічна дія тіосемикарбазонів та (1,3-тіазол-2-іл)-гідразонів [(1-арил-5-формілімідазол-4-іл)тіо]оцтових кислот. *Журн. орг. та фарм. хімії.* 2013, Т.11, №4(44). 55-60 с.
21. Tomioka, H.; Namba, K. Development of antituberculous drugs: current status and future prospects. *Kekkaku.* 2006, 81(12), 753-74.
22. Volynets, G. P.; Tukalo, M. A.; Bdzhola, V. G.; Derkach, N. M.; Gumeniuk, M. I.; Tarnavskiy, S. S.; Starosyla, S. A.; Yarmoluk, S. M. Benzaldehyde thiosemicarbazone derivatives against replicating and nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antibiot (Tokyo).* 2019, 72(4), 218-224.
23. Novotná, E.; Waisser, K.; Kuneš, J.; Palát, K.; Skálová, L.; Szotáková, B.; Buchta, V.; Stolaříková, J.; Ulmann, V.; Pávová, M.; Weber, J.; Komrsková, J.; Hašková, P.; Vokřál, I.; Wsól, V. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Isothiosemicarbazones with Antimycobacterial Activity. *Arch Pharm (Weinheim).* 2017, 350(8).
24. Trotsko, N.; Golus, J.; Kazimierczak, P.; Paneth, A.; Przekora, A.; Ginalska, G.; Wujec, M. Design, synthesis and antimycobacterial activity of thiazolidine-2,4-dione-based thiosemicarbazone derivatives. *Bioorg Chem.* 2020, 97, 103676.
25. Jallapally, A.; Addla, D.; Yogeesswari, P.; Sriram, D.; Kantevari, S. 2-Butyl-4-chloroimidazole based substituted piperazine-thiosemicarbazone hybrids as potent inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorg Med Chem Lett.* 2014, 24(23), 5520-4.

26. Souza, M. R. P.; Coelho, N. P.; Baldin, V. P.; Scodro, R. B. L.; Cardoso, R. F.; da Silva, C. C.; Vandresen, F. Synthesis of novel (-)-Camphene-based thiosemicarbazones and evaluation of antiMycobacterium tuberculosis activity. *Nat Prod Res.* 2019, 33(23), 3372-3377.
27. Da Silva, P. R.; de Oliveira, J. F.; da Silva, A. L.; Queiroz, C. M.; Feitosa, A. P. S.; Duarte, D. M. F. A.; da Silva, A. C.; de Castro, M. C. A. B.; Pereira, V. R. A.; da Silva, R. M. F.; Alves, L. C.; dos Santos, F. A. B.; de Lima, M. do C. A. Novel indol-3-yl-thiosemicarbazone derivatives: Obtaining, evaluation of in vitro leishmanicidal activity and ultrastructural studies. *Chem Biol Interact.* 2020, 315, 108899.
28. Manzano, J. I.; Cochet, F.; Boucherle, B.; Gómez-Pérez, V.; Boumendjel, A.; Gamarro, F.; Peuchmaur, M. Arylthiosemicarbazones as antileishmanial agents. *Eur J Med Chem.* 2016, 123, 161-170.
29. Britta, E.; Scariot, D.; Falzirolli, H.; Ueda-Nakamura, T.; Silva, C.; Filho, B.; Borsali, R.; Nakamura, C. Cell death and ultrastructural alterations in *Leishmania amazonensis* caused by new compound 4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone derived from S-limonene. *BMC Microbiol.* 2014, 236.
30. Da Silva, J. B. P.; Navarro, D. M. do A.F.; da Silva, A. G.; Santos, G. K.N.; Dutra, K. A.; Moreira, D. R.; Ramos, M. N.; Espíndola, J. W. P.; de Oliveira, A. D. T.; Brondani, D. J.; Leite, A. C. L.; Hernandez, M. Z.; Pereira, V. R. A.; da Rocha, L. F.; de Castro, M. C. A. B.; de Oliveira, B. C.; Lan, Q.; Merz, K. M. Thiosemicarbazones as *Aedes aegypti* larvicidal. *Eur J Med Chem.* 2015, 100, 162-75.
31. Pervez, H.; Manzoor, N.; Yaqub, M.; Khan, K. M. 5-Nitroisatin-derived thiosemicarbazones: potential antileishmanial agents. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2014, 29(5), 628-32.
32. Linciano, P.; Moraes, C. B.; Alcantara, L. M.; Franco, C. H.; Pascoalino, B.; Freitas-Junior, L. H.; Macedo, S.; Santarem, N.; Cordeiro-da-Silva, A.; Gul, S.; Witt, G.; Kuzikov, M.; Ellinger, B.; Ferrari, S.; Luciani, R.; Quotadamo, A.; Costantino, L.; Costi, M. P. Aryl thiosemicarbazones for the treatment of trypanosomatidic infections. *Eur J Med Chem.* 2018, 146, 423-434.

33. Da Silva, A. C.; dos Santos, T. A. R.; da Silva, I. V. B.; de Oliveira, M. V. G.; Moreira, D. R. M.; Leite, A. C. L.; Pereira, V. R. A. Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against *L. amazonensis*. *Exp Parasitol*. 2017, 177, 57-65.
34. Mendes, E. D.; Goulart, C. M.; Chaves, O. A.; Faiões, V.; Canto-Carvalho, M. M.; Machado, G. C.; Torres-Santos, E. C.; Echevarria, A. Evaluation of Novel Chalcone-Thiosemicarbazones Derivatives as Potential Anti-Leishmania *amazonensis* Agents and Its HSA Binding Studies. *Biomolecules*. 2019, 9(11), 643.
35. Ansari, M.; Montazeri, M.; Daryani, A.; Farshadfar, K.; Emami, S. Synthesis and in vitro anti-Toxoplasma gondii activity of a new series of aryloxyacetophenone thiosemicarbazones. *Mol Divers*. 2020, 24(4), 1223-1234.
36. Espíndola, J. W. P.; Cardoso, M. V. de O.; Filho, G. B. de O.; Oliveira e Silva, D. A.; Moreira, D. R. M.; Bastos, T. M.; Simone, C. A. de; Soares, M. B. P.; Villela, F. S.; Ferreira, R. S.; Castro, M. C. A. B. de; Pereira, V. R. A.; Murta, S. M. F.; Sales Junior, P. A.; Romanha, A. J.; Leite, A. C. L. Synthesis and structure–activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxyl thiosemicarbazones inhibiting *Trypanosoma cruzi* cruzain. *Eur J Med Chem*. 2015, 101, 818-35.
37. Britta, E. A.; Scariot, D. B.; Falzirolli, H.; Da Silva, C. C.; Ueda-nakamura, T.; Dias Filho, B. P.; Borsali, R.; Nakamura, C. V. 4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone: a new compound derived from S-(-)-limonene that induces mitochondrial alterations in epimastigotes and trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology*. 2015, 142(7), 978-88.
38. Moreno-Rodríguez, A.; Salazar-Schettino, P. M.; Bautista, J. L.; Hernández-Luis, F.; Torrens, H.; Guevara-Gómez, Y.; Pina-Canseco, S.; Torres, M. B.; Cabrera-Bravo, M.; Martinez, C. M.; Pérez-Campos, E. In vitro antiparasitic activity of new thiosemicarbazones in strains of *Trypanosoma cruzi*. *Eur J Med Chem*. 2014, 87, 23-9.
39. Vital, D. G.; Damasceno, F.; Rapado, L. N.; Silber, A. M.; Vilella, F. S.; Ferreira, R. S.; Maltarollo, V. G.; Trossini, G. H. G. Application of bioisosterism in design of the semicarbazone derivatives: A theoretical and experimental study *J Biomol Struct Dyn*. 2017, 35(6), 1244-1259.

40. Alves, M. A; de Queiroz, A. C.; Alexandre-Moreira, M. S.; Varela, J.; Cerecetto, H.; González, M.; Lima, L. M. Design, synthesis and in vitro trypanocidal and leishmanicidal activities of novel semicarbazone derivatives. *Eur J Med Chem.* 2015, 100, 24-33.
41. Matsa, R.; Makam, P.; Kaushik, M.; Hoti, S.L.; Kannan, T. Thiosemicarbazone derivatives: Design, synthesis and in vitro antimalarial activity studies. *Eur J Pharm Sci.* 2019, 137, 104986.
42. Parkinson, C. J; Birrell, G. W; Chavchich, M.; Mackenzie, D.; Haynes, R. K; de Kock, C.; Richardson, D. R.; Edstein, M. D. Development of pyridyl thiosemicarbazones as highly potent agents for the treatment of malaria after oral administration. *J Antimicrob Chemother.* 2019, 74(10), 2965-2973.
43. Опейда Й.О. Синтетичні і природні антиоксиданти. Вінниця, Львів: ДонНУ, 2016. 190 с.
44. Yang, L.; Liu, H.; Xia, D.; Wang, S. Antioxidant Properties of Camphene-Based Thiosemicarbazones: Experimental and Theoretical Evaluation. *Molecules.* 2020, 25(5), 1192.
45. Yakan, H. Preparation, structure elucidation, and antioxidant activity of new bis(thiosemicarbazone) derivatives. *Turk J Chem.* 2020, 44(4), 1085-1099.
46. De Siqueira, L. R. P.; de Moraes Gomes, P. A. T.; de Lima Ferreira, L. P.; de Melo Rego, M. J. B.; Leite, A. C. L. Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. *Eur J Med Chem.* 2019, 170, 237-260.
47. Gu, X.; Li, X.; Guan, M.; Jiang, C.; Song, Q.; Sun, N.; Zou, Y.; Zhou, Q.; Chen, J.; Qiu, J. Discovery of thiosemicarbazone-containing compounds with potent anti-proliferation activity against drug-Resistant K562/A02 Cells *Bioorg Med Chem Lett.* 2020, 30(24), 127638.
48. He, Z.; Qiao, H.; Yang, F.; Zhou, W.; Gong, Y.; Zhang, X.; Wang, H.; Zhao, B.; Ma, L.; Liu, H.; Zhao, W. Novel thiosemicarbazone derivatives containing indole fragment as potent and selective anticancer agent. *Eur J Med Chem.* 2019, 184, 111764.

49. El Majzoub, R.; Fayyad-kazan, M.; Nasr El Dine, A.; Makki, R.; Hamade, E.; Grée, R.; Hachem, A.; Talhouk, R.; Fayyad-Kazan, H.; Badran, B. A thiosemicarbazone derivative induces triple negative breast cancer cell apoptosis: possible role of miRNA-125a-5p and miRNA-181a-5p. *Genes Genomics*. 2019, 41(12), 1431-1443.
50. Chengfeng B.; Shuangjie W.; Shengnan R.; Meiqi Z.; Guoshun L.; Hua X. Synthesis and evaluation of novel thiosemicarbazone and semicarbazone analogs with both anti-proliferative and anti-metastatic activities against triple negative breast cancer. *Bioorg Med Chem*. 2021, 1, 37, 116107.
51. Shyamsivappan, S.; Vivek, R.; Saravanan, A.; Arasakumar, T.; Suresh, T.; Athimoolam, S.; Subramaniam Mohan, P. A Novel 8-Nitro Quinoline-Thiosemicarbazone Analogues Induces G1/S & G2/M Phase Cell Cycle Arrest and Apoptosis through ROS Mediated Mitochondrial Pathway. *Bioorg Chem*. 2020, 97, 103709.
52. Dos Santos Rodrigues, B.; de Ávila, R. I.; Benfica, P. L.; Bringel, L. P.; de Oliveira, C. M. A.; Vandresen, F.; da Silva, C. C.; Valadares, M. C. 4-Fluorobenzaldehyde limonene-based thiosemicarbazone induces apoptosis in PC-3 human prostate cancer cells. *Life Sci*. 2018, 15, 203, 141-149.
53. Wang, Y.; Gu, W.; Shan, Y.; Liu, F.; Xu, X.; Yang, Y.; Zhang, Q.; Zhang, Y.; Kuang, H.; Wang, Z.; Wang, S. Design, synthesis and anticancer activity of novel nopinone-based thiosemicarbazone derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017, 27(11), 2360-2363.
54. Ma, J.; Ni, X.; Gao, Y.; Huang, K.; Wang, Y.; Liu, J.; Gong, G. Semicarbazone derivatives bearing phenyl moiety: synthesis, anticancer activity, cell cycle, apoptosis-inducing and metabolic stability study. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2019, 67(4), 351-360.
55. Gan, C.; Cui, J.; Su, S.; Lin, Q.; Jia, L.; Fan, L.; Huang, Y. Synthesis and antiproliferative activity of some steroidal thiosemicarbazones, semicarbazones and hydrozones. *Steroids*. 2014, 87, 99-107.
56. Pacca, C. C.; Marques, R. E.; Espindola, J. W. P.; Filho, Gevânio B.O.Oliveira; Leite, A. C. L.; Teixeira, M. M.; Nogueira, M. L. Thiosemicarbazones and Phthalyl-

Thiazoles compounds exert antiviral activity against yellow fever virus and Saint Louis encephalitis virus. *Biomed Pharmacother.* 2017, 87, 381-387.

57. Padmapriya, P.; Khaleefathullah, S.; Kaveri, K.; Gunasekaran, P.; Ramanathan, G.; Thennarasu, S.; Tirichurapalli Sivagnanam, U. Antiviral activity of Thiosemicarbazones derived from α -amino acids against Dengue virus. *J Med Virol.* 2017, 89(3), 546-552.

58. Sevincli, Z. Å.; Duran, G. N.; Ozbil, M.; Karali, N. Synthesis, molecular modeling and antiviral activity of novel 5-fluoro-1*H*-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazones. *Bioorg Chem.* 2020, 104, 104202.

59. Kanso, F.; Khalil, A.; Nouredine, H.; El-Makhour, Y. Therapeutic perspective of thiosemicarbazones derivatives in inflammatory pathologies: A summary of in vitro/in vivo studies. *Int Immunopharmacol.* 2021, 96, 107778.

60. De Oliveira, J. F.; Nonato, F. R.; Zafred, R. R. T.; Leite, N. M. S.; Ruiz, A. L. T. G.; de Carvalho, J. E.; da Silva, A. L.; de Moura, R. O.; Alves de Lima, M. Carmo. Evaluation of anti-inflammatory effect of derivative (E)-N-(4-bromophenyl)-2-(thiophen-2-ylmethylene)-thiosemicarbazone. *Biomed Pharmacother.* 2016, 80, 388-392.

61. Íris T. T. J.; Gomes, F. O. S.; de Miranda, M. D. S.; Sinara, M. V. A.; Iranildo, J. C. F.; Peixoto, C. A.; da Silva, T. G.; Diogo R. M. M.; de Melo, C. M. L.; de Oliveira, J. F.; de Lima, M. C. A. Anti-inflammatory activity of novel thiosemicarbazone compounds indole-based as COX inhibitors. *Pharmacol Rep.* 2021, 73(3), 907-925.

62. Nam, S.Y.; Han, N.R.; Yoon, K.W.; Kim, H.M.; Jeong, H.J. Di-2-pyridylketone 4,4-dimethyl-3-thiosemicarbazone (Dp44mT), an anticancer agent, exerts an antiinflammatory effect in activated human mast cells. *Inflamm. Res.* 2017, 66(10), 871-879.

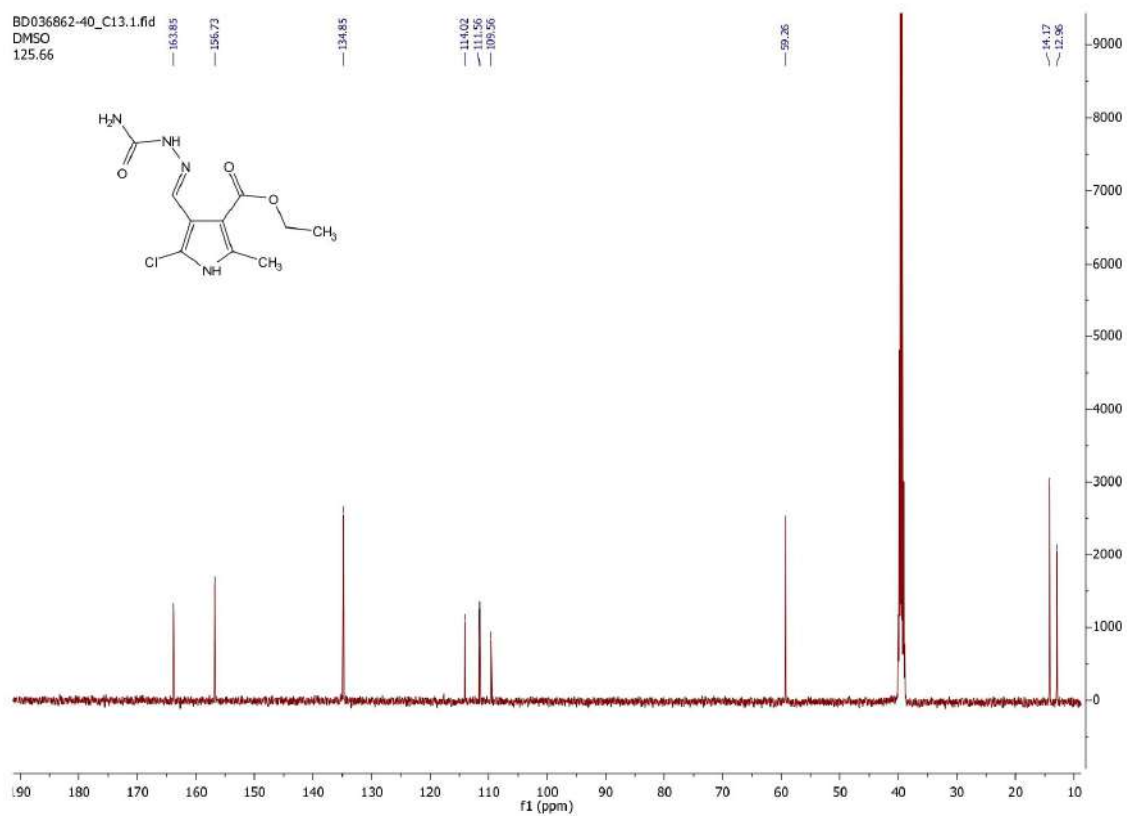
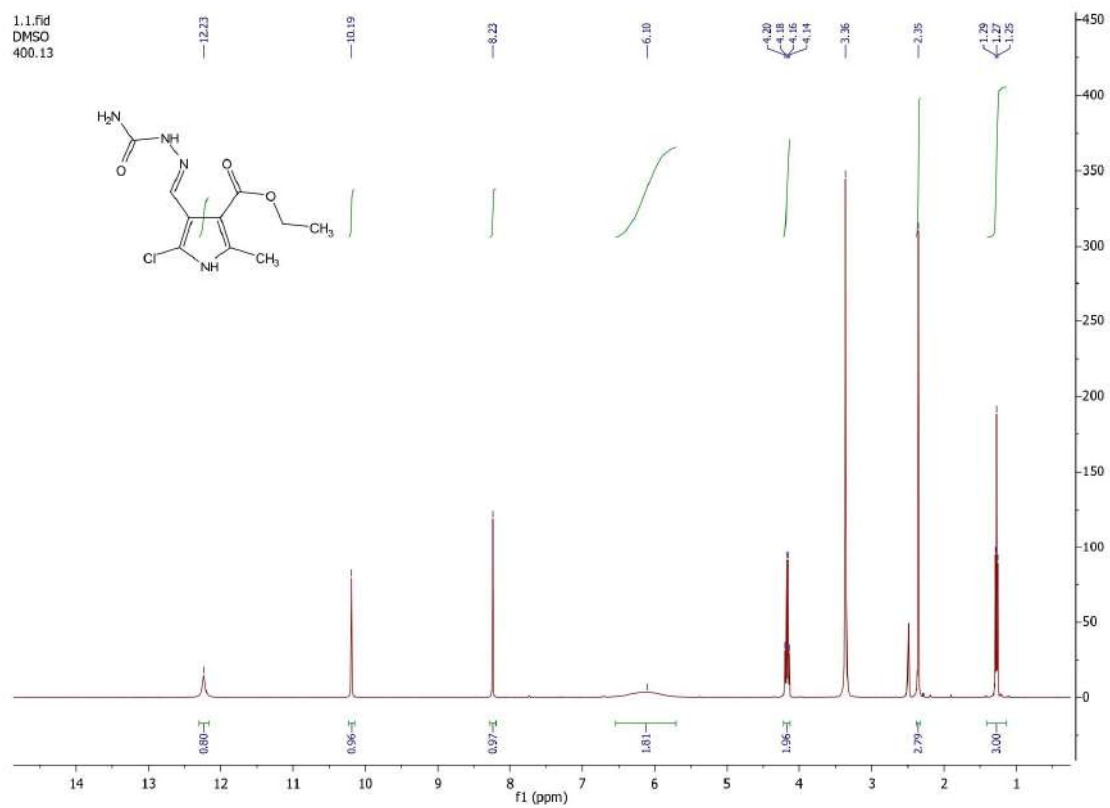
63. Nazim, U.; Ahmed, M.; Ali, B.; Khan, K.M.; Ali, M.; Kobarfard, F.; Arshia; Ayatollahi, S.; Hassan, A.; Jabeen, A.; Faheem, A. Thiosemicarbazone andthiazolylyhydrazones of 1-indanone: as a new class of nonacidic anti-inflammatory and antiplatelet aggregation agents. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2019, 32 (1), 15-19.

64. Grozav, A.N.; Fedoriv, M.Z.; Chornous, V.A., Palamar, A.A.; Bratenko, M.K., Vovk, M.V. Synthesis of thieno[2,3-*b*]pyrrole-2(4)-carboxylic and 2,4-dicarboxylic acids. *Chem. Het. Comp.* 2019, 55 (4-5), 435-441.

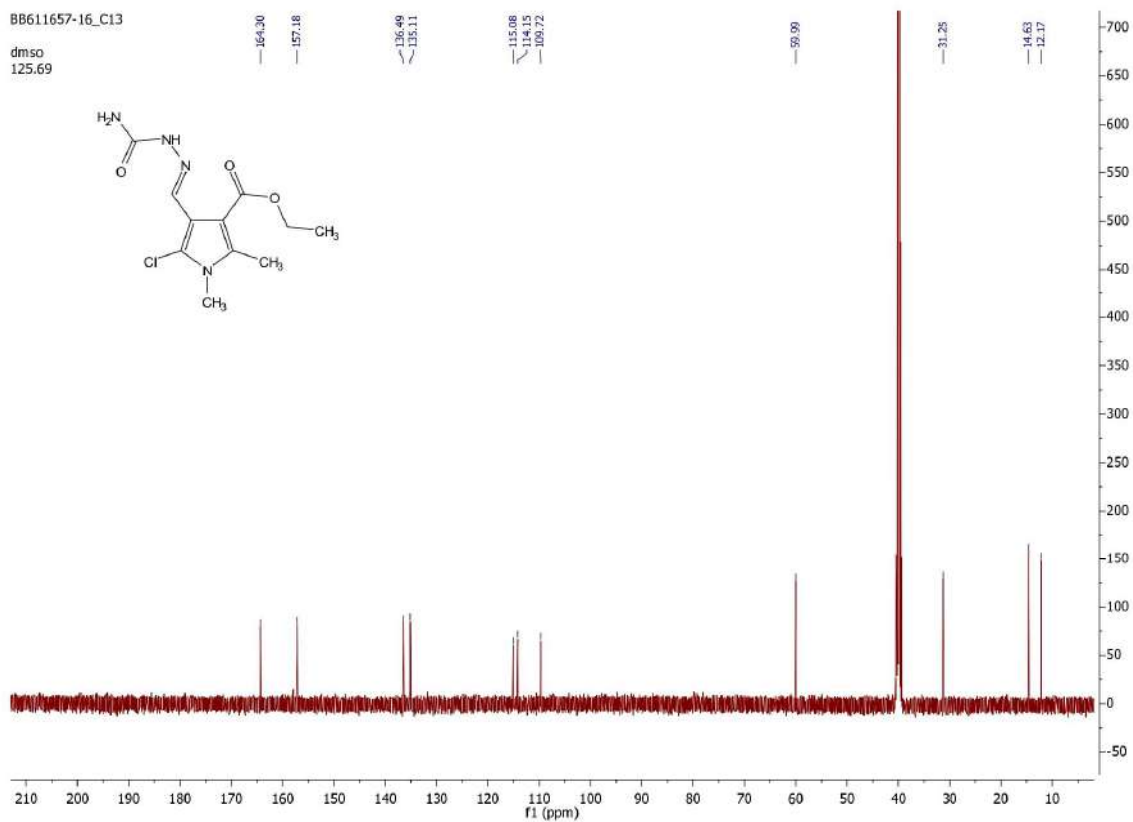
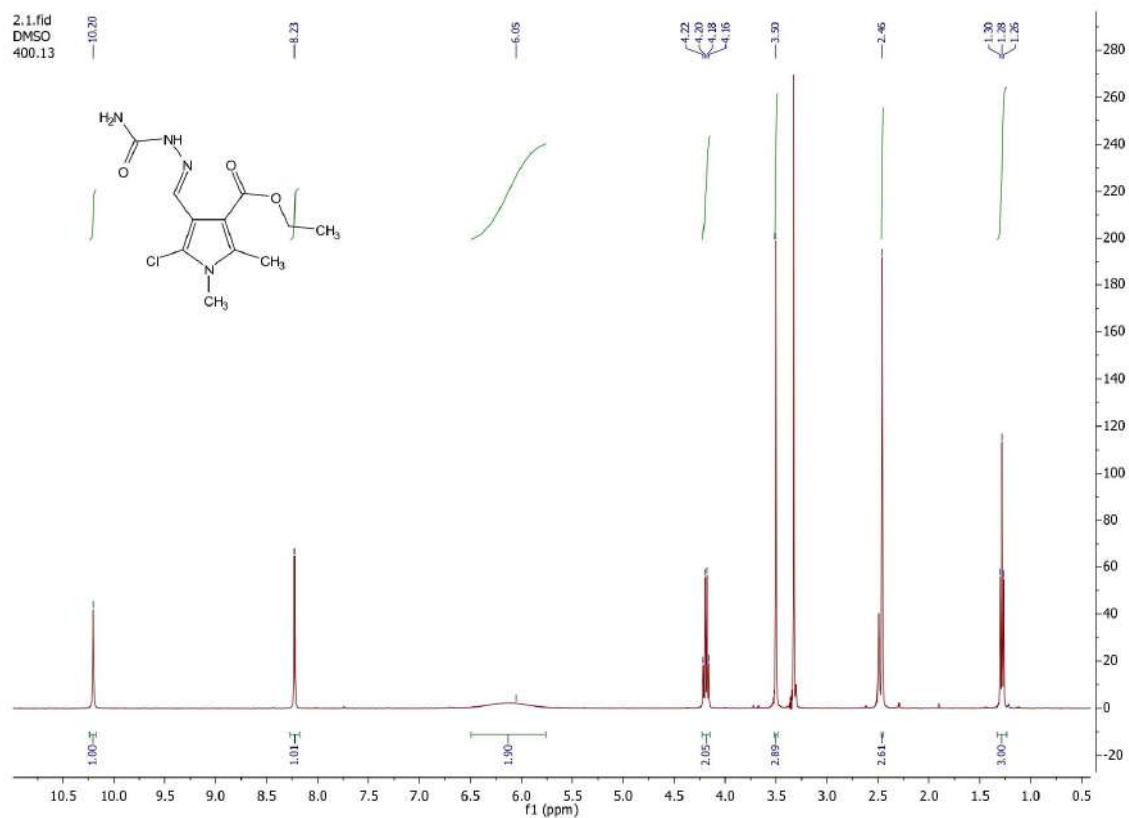
65. <https://tox.charite.de/protox3/>
66. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P.J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001, 46 (1-3), 3-26.
67. Janowska, S.; Andrzejczuk, S.; Gawryś, P.; Wujec, M. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Mannich Bases with Piperazine Moiety. *Molecules*. 2023, 28 (14), 5562.

ДОДАТКИ

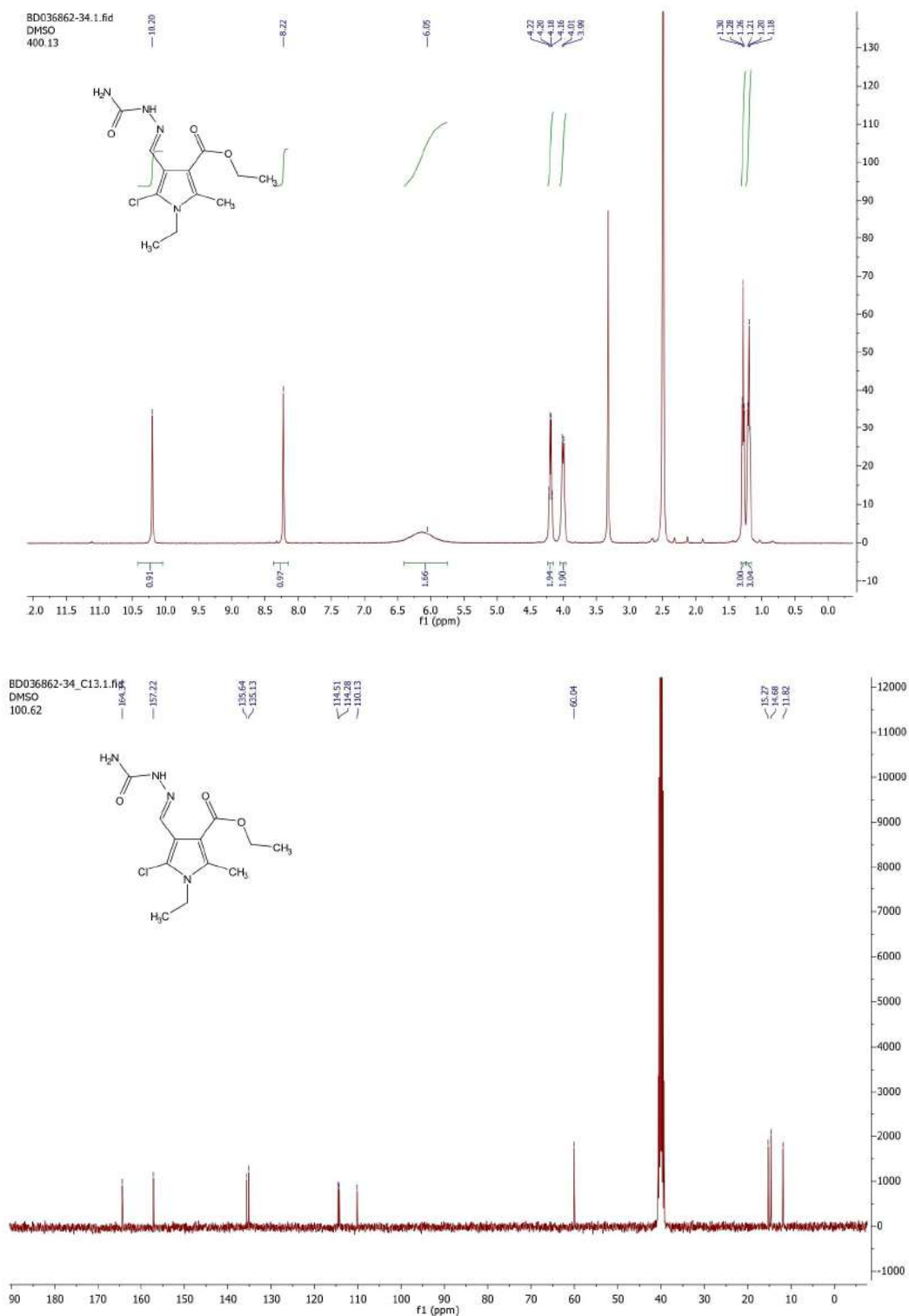
Додаток 1. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 а



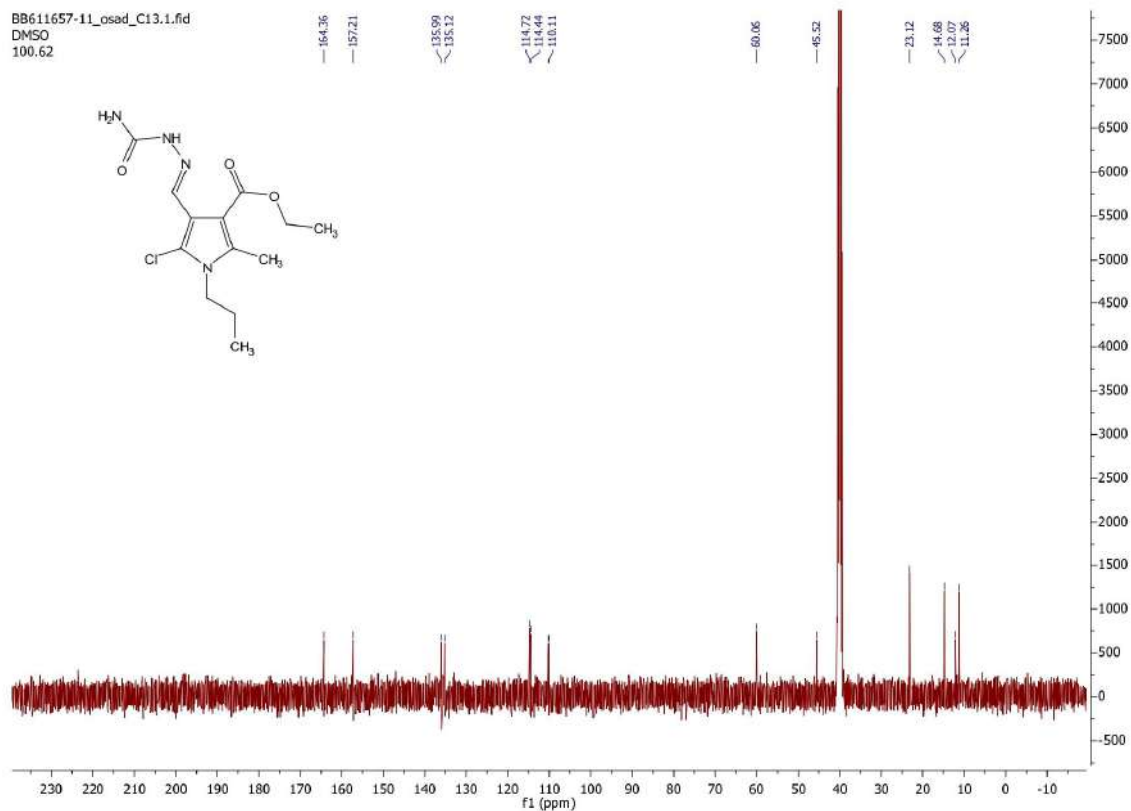
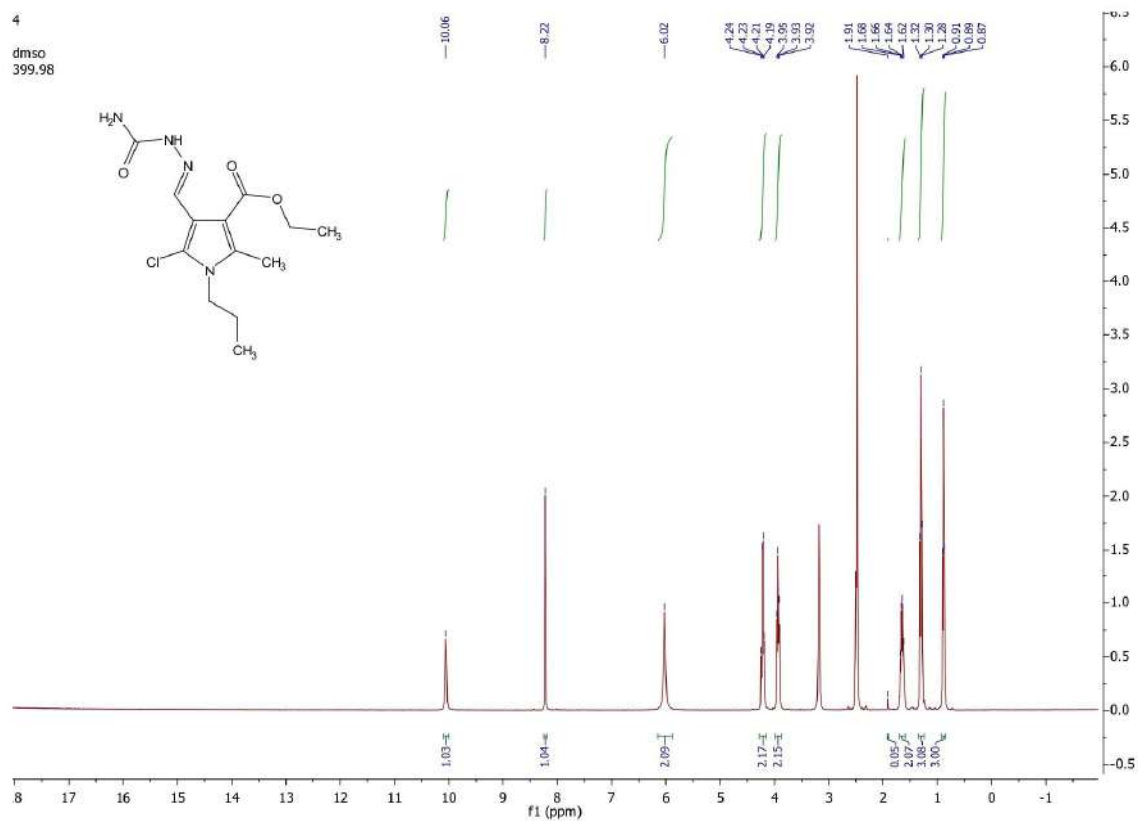
Додаток 2. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-1,2-диметил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 б



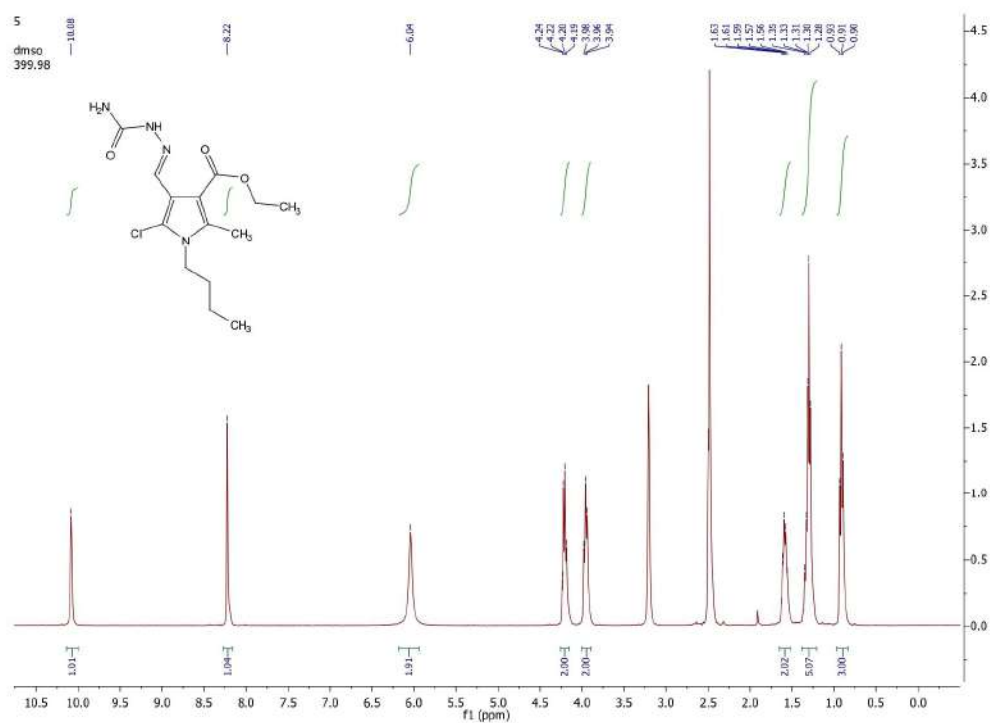
Додаток 3. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-1-етил-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 с



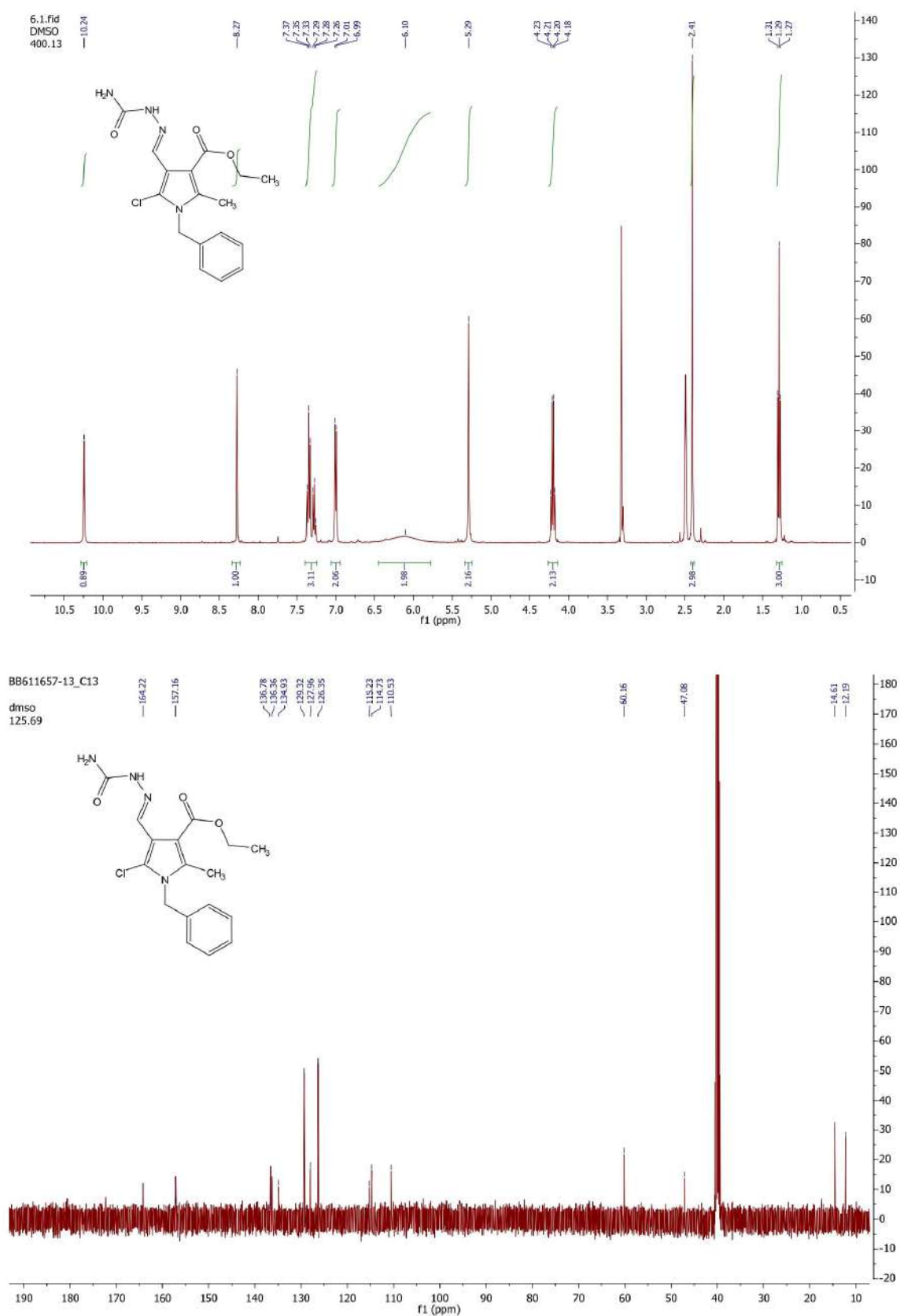
Додаток 4. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-2-метил-1-пропіл-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 d



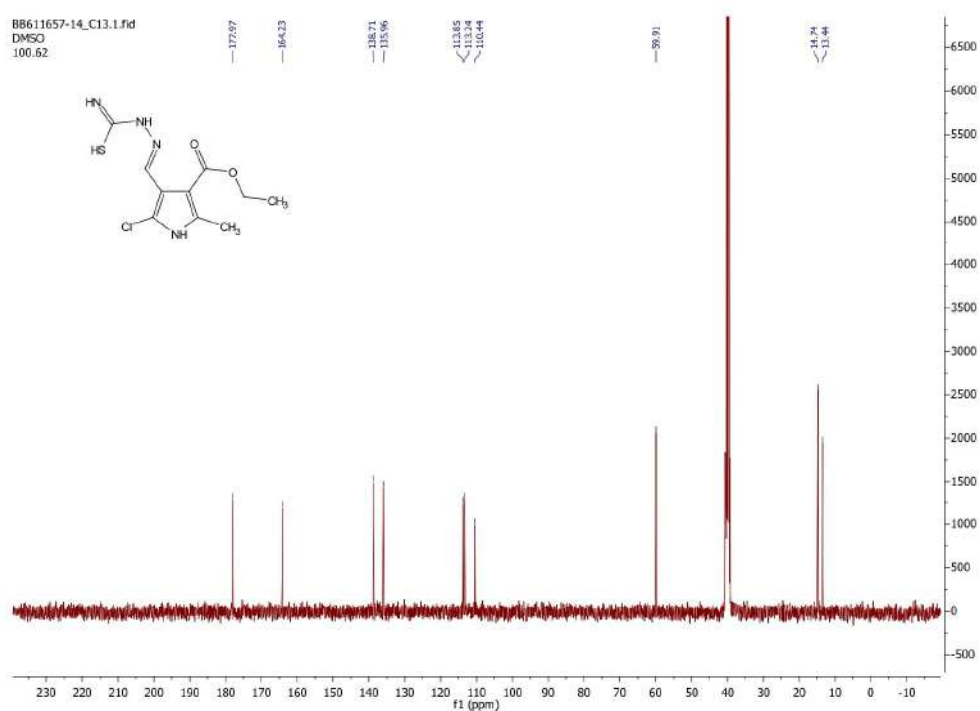
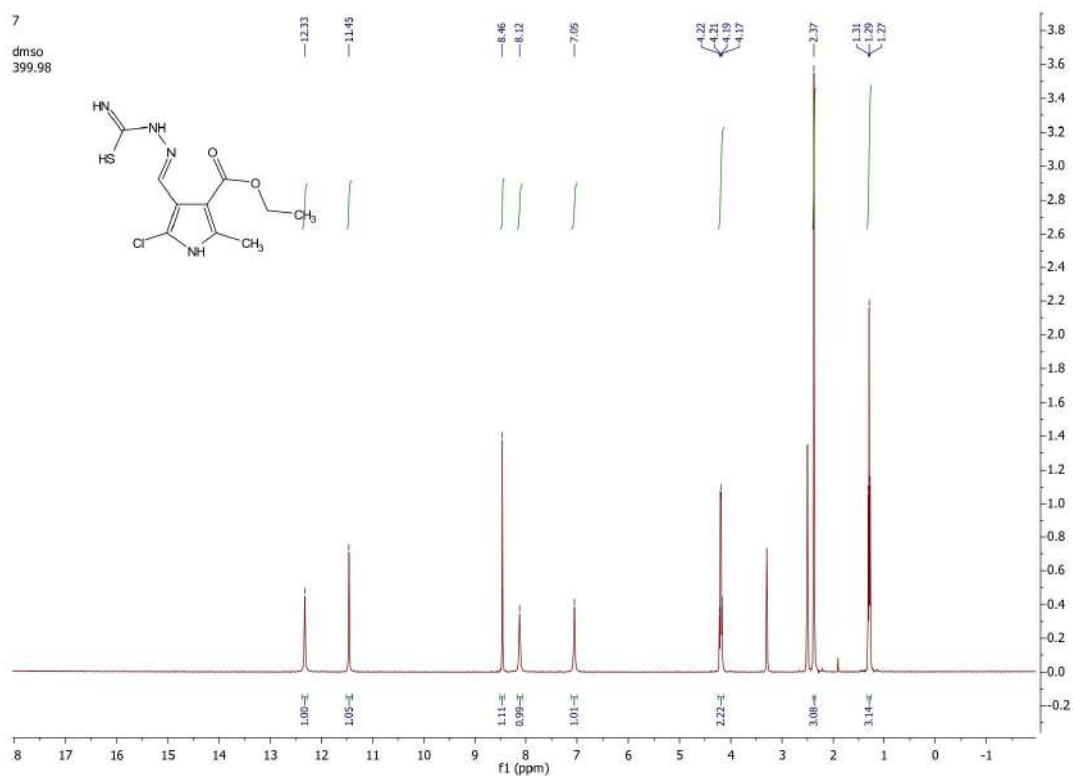
Додаток 5. ЯМР ^1H спектр етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-1-бутил-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 е



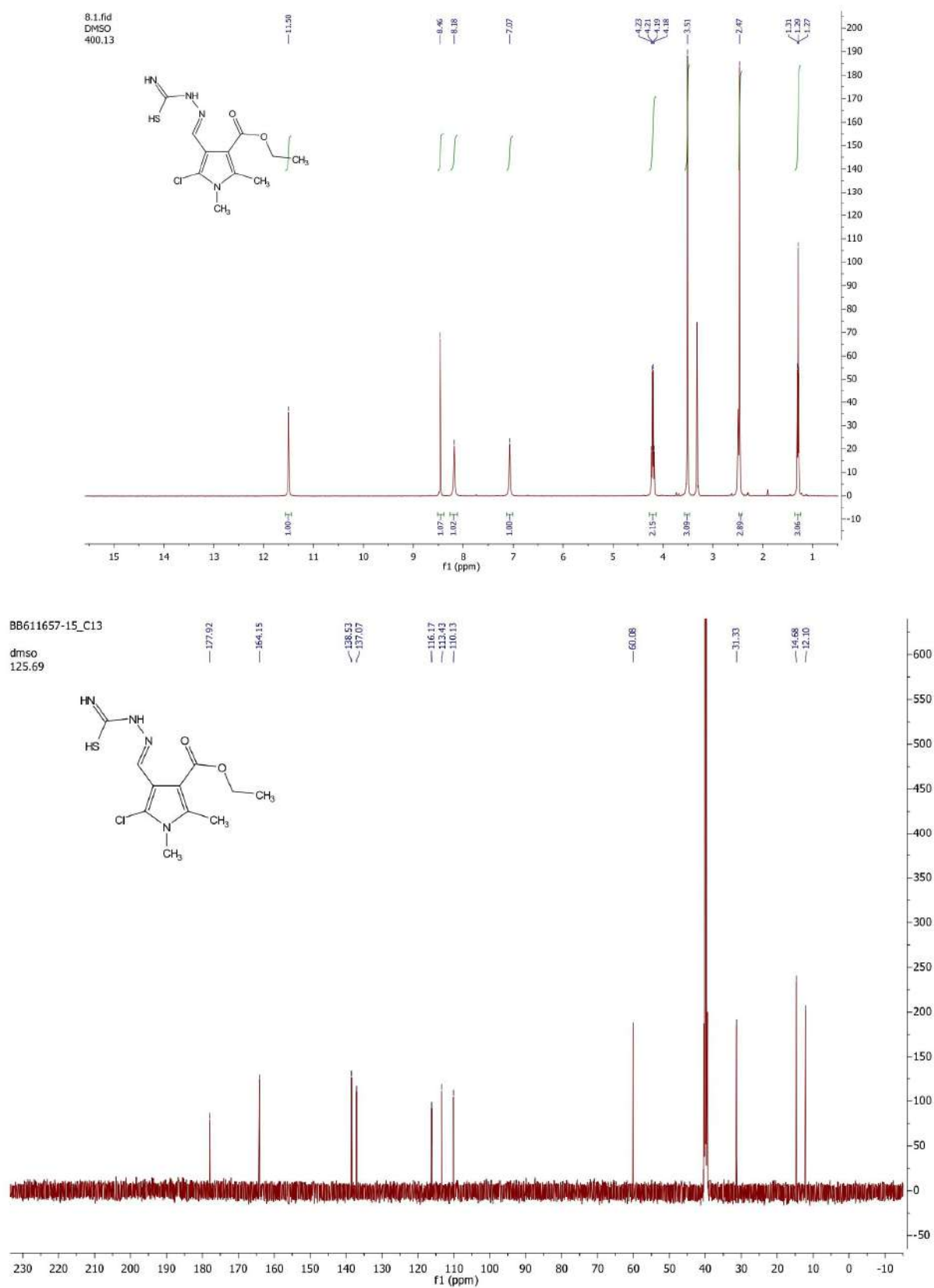
Додаток 6. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбоніл)гідразоно]метил}-2-метил-1-пропіл-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 2 d



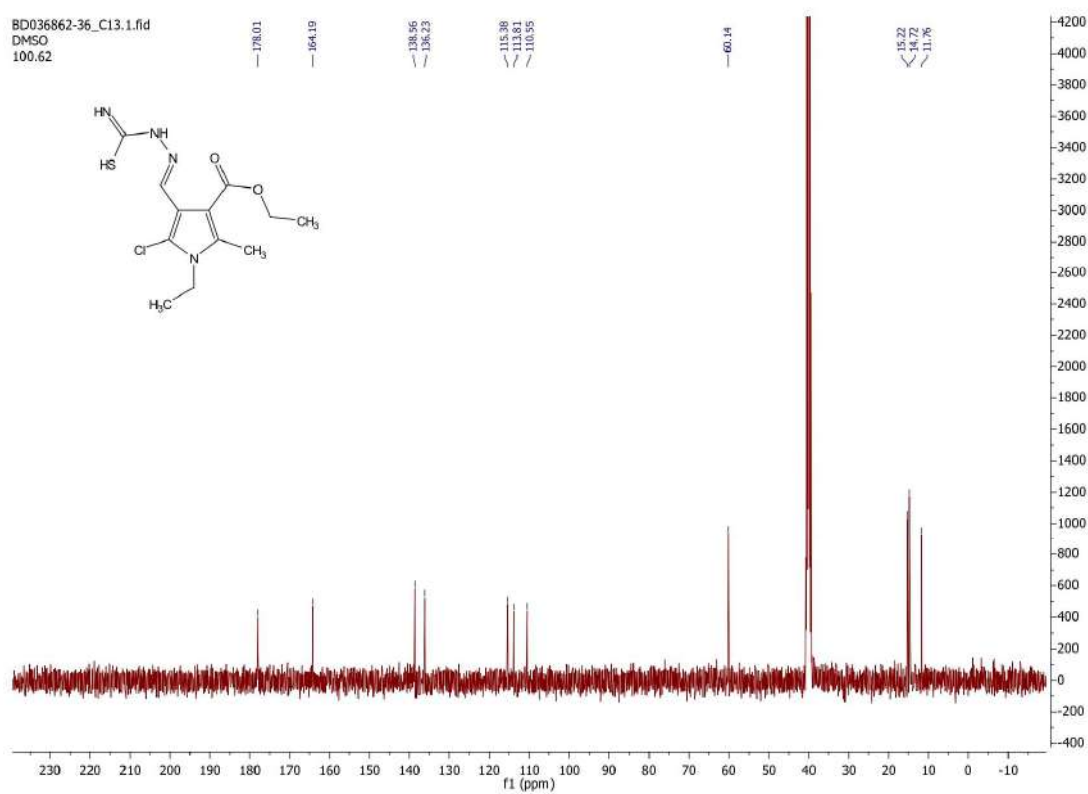
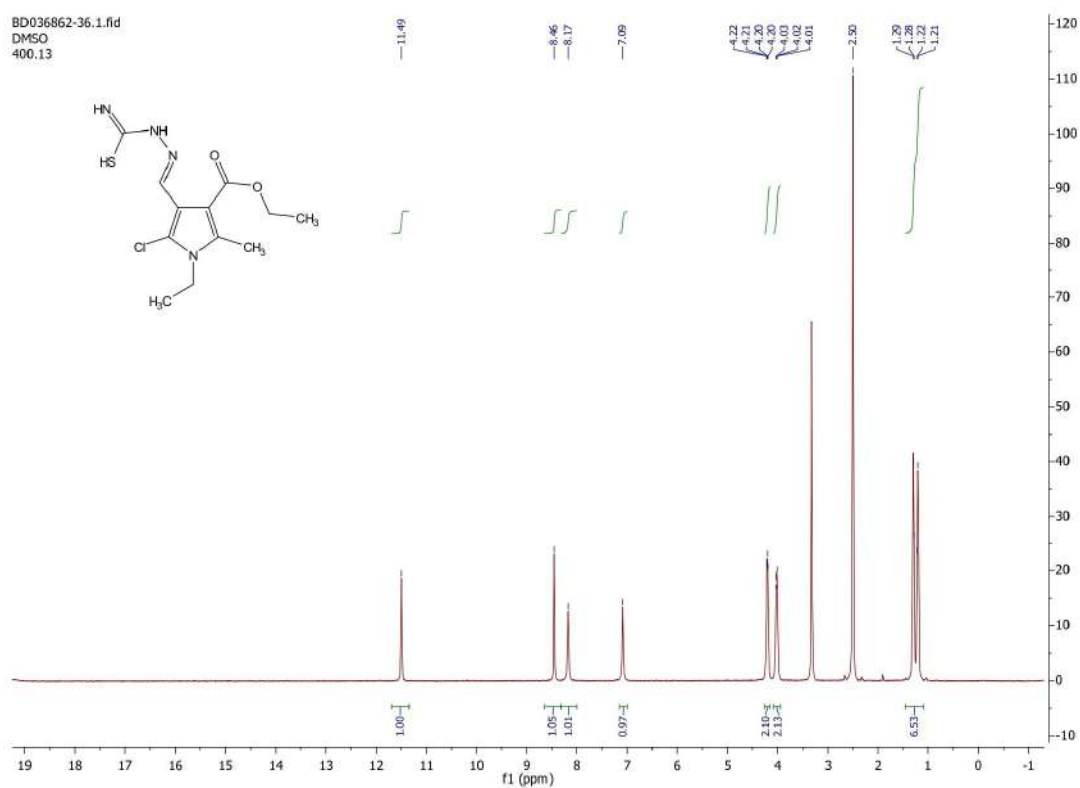
Додаток 7. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{[(амінокарбонотіоніл)гідразоно]метил}-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 3 а



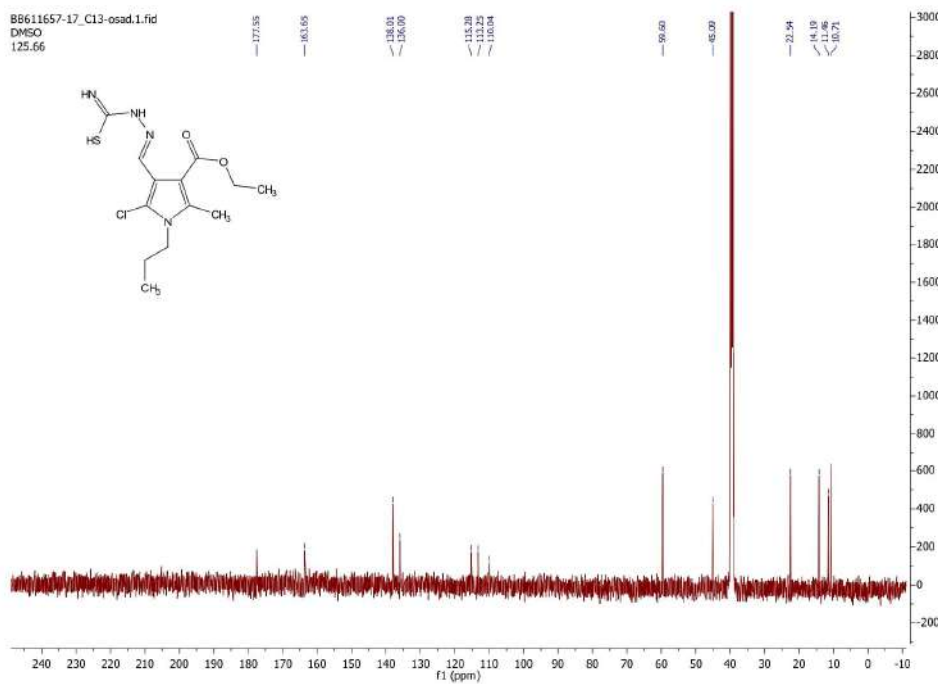
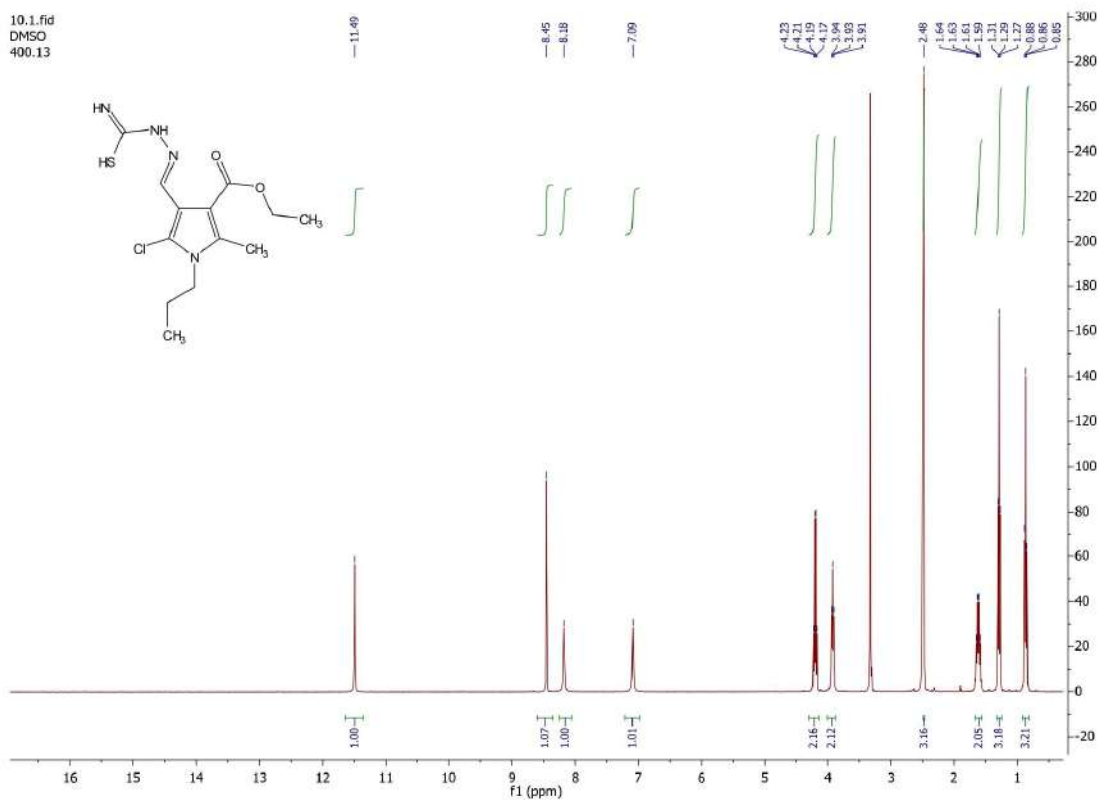
Додаток 8. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно]метил}-1,2-диметил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 3 в

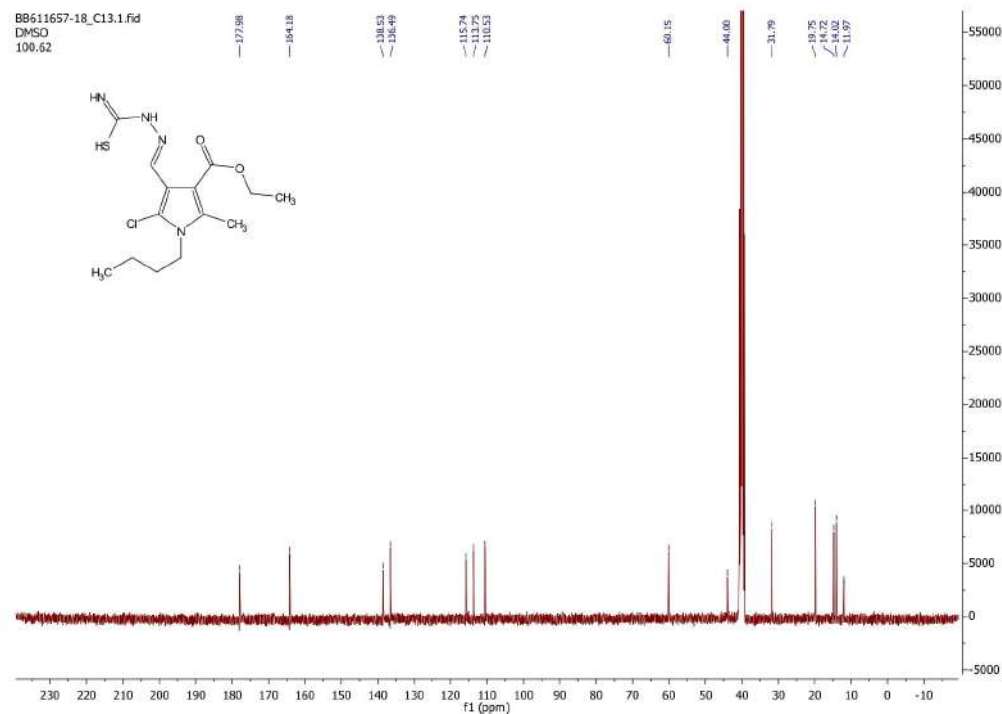


Додаток 9. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-{{(амінокарбонотіоніл)гідразоно]метил}-1-етил-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилату 3 с



Додаток 10. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-
 {[(амінокарбонотіоніл)гідразоно]метил}-2-метил-1-пропіл-5-хлоро-1*H*-пірол-3-
 карбоксилату 3 d





Додаток 12. ЯМР ^1H та ^{13}C спектри етил 4-
 {[(амінокарбонотіоніл)гідразоно]метил}-1-бензил-2-метил-5-хлоро-1*H*-пірол-3-
 карбоксилату 3 f

