

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Мураль Дмитро Володимирович**

УДК 547.789:615.281:615.015.11:001.891

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**Молекулярний дизайн сполук з протимікробною активністю на основі  
похідних тiazолідину**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Д. В. Мураль

Наукові керівники Георгіянц Вікторія Акопівна, доктор фармацевтичних наук,  
професор, Лесик Роман Богданович, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків 2026

## АНОТАЦІЯ

Мураль Д. В. Молекулярний дизайн сполук з протимікробною активністю на основі похідних тiazолідину. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2026.

Дисертаційна робота присвячена синтезу, структурній модифікації та комплексному дослідженню біологічної активності нових похідних 4-тіазолідину як потенційних антимікробних агентів. Актуальність теми дослідження зумовлена стрімким глобальним поширенням антибіотикорезистентності, яка на сьогодні розглядається як одна з найсерйозніших загроз для системи охорони здоров'я у світі. Згідно з оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я, неконтрольоване застосування антибактеріальних препаратів, зростання кількості госпітальних інфекцій та швидка еволюція патогенних мікроорганізмів призвели до формування численних штамів бактерій, стійких до більшості відомих антибіотиків.

Особливої уваги набуває поширення мультирезистентних патогенів, зокрема представників так званої групи ESKAPE, до якої належать *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter spp.* Ці мікроорганізми здатні «уникати» дії багатьох антимікробних препаратів і є одними з основних збудників важких госпітальних інфекцій. Їхня висока стійкість до існуючих антибіотиків значно обмежує можливості ефективної терапії та створює нагальну потребу в розробці нових антимікробних засобів із принципово новими механізмами дії.

Одним із перспективних напрямів сучасної медичної хімії є створення нових біологічно активних молекул на основі гетероциклічних структур. Гетероциклічні сполуки характеризуються високою структурною різноманітністю та здатністю формувати широкий спектр фармакофорних комбінацій, що дозволяє цілеспрямовано модифікувати їхні фізико-хімічні та

фармакологічні властивості. Серед великої кількості гетероциклічних систем особливу увагу привертають похідні 4-тіазолідинону, які відомі як універсальні фармакофорні скафолди з різноманітними біологічними ефектами.

Похідні 4-тіазолідинону широко досліджуються в медичній хімії завдяки їхній здатності проявляти широкий спектр фармакологічної активності, зокрема антимікробну, протигрибкову, протипаразитарну, противірусну, протизапальну та протипухлинну. Висока біологічна активність цих сполук зумовлена наявністю реакційноздатного гетероциклічного ядра, яке може бути легко модифіковане шляхом введення різних замісників. Така структурна гнучкість дозволяє здійснювати цілеспрямований дизайн нових молекул із заданими фармакологічними властивостями.

Особливий інтерес у сучасному дизайні лікарських засобів становить стратегія молекулярної гібридизації. Цей підхід передбачає поєднання двох або більше біологічно активних фрагментів у межах однієї молекули з метою отримання нових сполук із підвищеною біологічною активністю та покращеним фармакологічним профілем. Гібридні молекули можуть поєднувати декілька механізмів дії, що дозволяє підвищити ефективність терапії та знизити ймовірність розвитку резистентності мікроорганізмів.

У межах даної дисертаційної роботи було реалізовано підхід молекулярної гібридизації шляхом поєднання 4-тіазолідинонового ядра з нітрофурановим фармакофором. Нітрофурани є добре відомими антимікробними агентами, які характеризуються широким спектром активності щодо різних видів бактерій і грибів. Їхній механізм дії пов'язаний із відновленням нітрогрупи в мікробній клітині з утворенням реакційноздатних метаболітів, що порушують синтез нуклеїнових кислот, білків та інших життєво важливих біомолекул. Поєднання нітрофуранового фрагмента з 4-тіазолідиноновим скафолдом може потенційно призвести до створення нових молекул із посиленою антимікробною активністю та новими механізмами дії.

У ході виконання дисертаційної роботи було розроблено синтетичні підходи до отримання нових гібридних молекул на основі похідних 4-

тіазолідинону, що містять нітрофурановий фрагмент. Синтетична частина дослідження передбачала одержання серії структурно модифікованих 4-тіазолідинонових скафолдів, які використовували як вихідні блоки для подальших реакцій конденсації. Синтез цільових гібридних молекул здійснювали з використанням реакції Кньюенагеля між відповідними похідними тіазолідинону та 5-нітрофуран-2-карбальдегідом або його біоізостерними аналогами.

У результаті проведених синтетичних досліджень було отримано серію нових похідних (*Z*)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів, а також заміщених 5-((*Z*)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів. Крім того, синтезовано нові роданін-3-карбонові кислоти з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом. Отримані сполуки характеризувалися високими виходами, задовільною чистотою та доброю відтворюваністю синтетичних процедур.

Структуру синтезованих молекул було підтверджено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу. Зокрема, використовували методи протонної та вуглецевої ядерно-магнітної резонансної спектроскопії ( $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР), мас-спектрометрії (LC-MS), а також інфрачервоної спектроскопії. Отримані спектральні характеристики повністю узгоджуються із запропонованими структурами синтезованих сполук та підтверджують успішність проведених синтетичних перетворень.

Наступним етапом дослідження було вивчення антимікробної активності синтезованих сполук. Біологічні дослідження проводили з використанням різних методів мікробіологічного аналізу, зокрема методу дифузії в агар та методу мікродилюції з визначенням мінімальної інгібувальної концентрації (MIC). Дослідження проводили щодо широкого спектра мікроорганізмів, включаючи як референтні, так і клінічні штами бактерій та грибів.

Установлено, що більшість синтезованих похідних проявляють виражену антимікробну активність щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також патогенних грибів. Особливу увагу було приділено дослідженню

активності щодо клінічно значущих патогенів, таких як *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*, а також грибів *Candida albicans* та *Aspergillus niger*.

За результатами антимікробного скринінгу синтезовані сполуки було класифіковано за рівнем їхньої активності. Найбільш активні похідні характеризувалися дуже низькими значеннями мінімальної інгібувальної концентрації, що свідчить про їхній високий антимікробний потенціал. Деякі сполуки продемонстрували значення МІС менше 0,18 мкМ, що є надзвичайно високим показником ефективності для нових синтетичних антимікробних агентів.

Особливу увагу привернула сполука (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, яка продемонструвала виражену протигрибкову активність щодо *Aspergillus niger*. Ця сполука не лише пригнічувала ріст грибкового міцелію, але й блокувала процес спороутворення протягом тривалого періоду. Подібний ефект є доволі рідкісним для більшості відомих протигрибкових агентів і може свідчити про наявність нового механізму дії.

З метою оцінки безпечності синтезованих молекул було проведено дослідження їхньої цитотоксичності на різних клітинних лініях ссавців. Отримані результати показали, що деякі з найбільш активних антимікробних сполук характеризуються помірною або низькою цитотоксичністю. Це свідчить про їхню селективність щодо мікробних клітин та перспективність для подальших фармакологічних досліджень.

На основі отриманих експериментальних даних було розраховано терапевтичні індекси для найбільш перспективних сполук. Найвищі значення терапевтичного індексу продемонструвала сполука (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, що свідчить про її високу селективність та потенційну безпечність.

Крім синтезу нових гібридних молекул, у дисертаційній роботі було проведено дослідження антимікробної активності неконденсованих та конденсованих похідних 4-тіазолідинону. Було ресинтезовано та досліджено

серію з 32 сполук різних структурних класів, включаючи 5-енамін(гідразин)-4-тіазолідинони, тіазолідинон-піразоли, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинони, 5-ен-4-тіазолідинони, тіопірано[2,3-*d*]тіазоли та ізатин-оксадіазольні гібриди.

Результати антимікробного скринінгу показали, що деякі з цих сполук проявляють високу активність щодо грампозитивних бактерій. Особливо перспективною виявилася сполука *N*-(5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2-(2,3-діоксоіндолін-1-іл)ацетамід, яка продемонструвала високу активність щодо ванкоміцин-резистентних штамів *Enterococcus faecium*.

Для з'ясування можливих механізмів дії синтезованих сполук було проведено дослідження молекулярного докінгу щодо бактеріальних ферментів MurV та GyrB. Отримані результати показали, що найбільш активні сполуки формують стабільні комплекси з активним центром ферменту MurV, який бере участь у біосинтезі клітинної стінки бактерій.

Додаткові дослідження молекулярної динаміки підтвердили стабільність комплексів ліганд-білок протягом тривалого часу моделювання. Це узгоджується з результатами біологічних досліджень та підтверджує перспективність досліджуваних сполук як потенційних інгібіторів MurV.

Фармакокінетичні властивості найбільш активних сполук було оцінено за допомогою сучасних *in silico* методів. Результати прогнозування показали, що деякі з досліджуваних молекул відповідають основним критеріям лікоподібності та характеризуються сприятливими фармакокінетичними параметрами.

Таким чином, у межах дисертаційної роботи проведено спрямований синтез 96 сполук, досліджено їхні фізико-хімічні характеристики та встановлено їхній значний антимікробний потенціал. Найбільш перспективні сполуки можуть розглядатися як потенційні кандидати для подальших доклінічних досліджень та розробки нових лікарських засобів для лікування інфекційних захворювань.

*Ключові слова:* тіазолідини, 5-нітрофурани, індоли, органічний синтез, гібридні молекули, біологічна активність, протимікробна дія, протигрибкова дія, SAR аналіз, цитотоксичність, молекулярний докінг.

*Список публікацій здобувача*

1. Khamitova Zh., Berillo D., Lozynskyi A., Konechnyi Y., Mural D., Georgiyants V., Lesyk R. Thiadiazole and Thiazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Mini Rev. Med. Chem.* 2024. Vol. 24. P. 531–545. DOI: 10.2174/1389557523666230713115947. **(Scopus, Q2)**. (Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Mural D., Khylyuk D., Lozynskyi A., Georgiyants V., Roman O., Kryshchyshyn-Dylevych A., Gurska S., Polishchuk P., Dzubak P., Hajduch M., Bogdanova K., Resova K., Kolar, M., Lesyk R. Thiazolidinone-Based Compounds as Dual-Purpose Therapeutics: Antimicrobial Efficacy, Cytotoxicity and Pharmacokinetic Potential. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2025. Vol. 5(57). P. 88-101. DOI:10.15587/2519-4852.2025.342467. **(Scopus, Q3)**. (Особистий внесок здобувача – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті; Khylyuk D. – дослідження; Lozynskyi A. - дослідження, написання — підготовка оригінального рукопису, візуалізація, методологія; Georgiyants V. – дослідження; Roman O. - дослідження; Kryshchyshyn-Dylevych A. – дослідження, Gurska S. - дослідження, Polishchuk P. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Dzubak P. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Hajduch M. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Bogdanova K. - дослідження, Resova K. - дослідження, Kolar, M. - дослідження, Lesyk R. - концептуалізація, методологія, ресурси, валідація, дослідження, написання — підготовка оригінального рукопису, наукове керівництво).
3. Podolak M., Horishny V., Dudchak R., Gornowicz A., Czarnomysy R., Mural D., Holota S., Bielawski K., Lesyk R., Bielawska A. Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of New 5-((5-Nitrofuranyl)allylidene)-2-thioxo-4-thiazolidinones.

*Pharmaceuticals*. 2025. Vol. 18. P. 1598. DOI:10.3390/ph18111598. (**Scopus, Q1**). (Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

4. Horishny V., Mural D., Kovalenko I., Finiuk N., Ivasechko I., Konechnyi Y., Tymchuk I., Nedzelskyi S., Kozak Y., Rumynska T., Niemczuk K., Szymańska-Czerwińska M. Georgiyants V., Stoika R., Lesyk R., Holota S. Synthesis and Evaluation of Novel 4-Thiazolidinone-5-Nitrofurans Hybrids as Promising Antimicrobial Agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2026. P. 118545. DOI:10.1016/j.bmc.2026.118545. (**Scopus, Q2**). (Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Horishny V., Yushyn I., Georgiyants V., Lesyk R. Design of Novel Nitrofurans-Thiazolidinone Hybrid Molecules as Potential Biologically Active Compounds. *International Conference “Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations 2025”*. Lithuania, Kaunas, 22 March 2024. P. 105.

6. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Georgiyants V., Lesyk R. Synthesis of Indoline-Thiazolidinone Hybrids as Potential Biologically Active Compounds. *Modern Chemistry of Medicines: матеріали Міжнар. Internet-конфер., м. Харків, 18 трав. 2023 р.* – Харків : НФаУ, 2023. С. 54.

## ANNOTATION

*Mural D. V.* Molecular design of compounds with antimicrobial activity based on thiazolidine derivatives. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree by specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy» (22 – Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2026.

The dissertation is devoted to the synthesis, structural modification, and comprehensive investigation of the biological activity of new 4-thiazolidinone derivatives as potential antimicrobial agents. The relevance of the research topic is обусловлена the rapid global spread of antibiotic resistance, which is currently considered one of the most serious threats to global healthcare systems. According to estimates of the World Health Organization, uncontrolled use of antibacterial drugs, the increasing incidence of hospital-acquired infections, and the rapid evolution of pathogenic microorganisms have led to the emergence of numerous bacterial strains resistant to most known antibiotics.

Particular concern is associated with the spread of multidrug-resistant pathogens, especially representatives of the so-called ESKAPE group, which includes *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* spp. These microorganisms are capable of “escaping” the action of many antimicrobial agents and represent major causative agents of severe hospital infections. Their high resistance to existing antibiotics significantly limits effective therapeutic options and creates an urgent need for the development of new antimicrobial agents with fundamentally novel mechanisms of action.

One of the promising directions in modern medicinal chemistry is the design of new biologically active molecules based on heterocyclic structures. Heterocyclic compounds are characterized by high structural diversity and the ability to form a wide range of pharmacophoric combinations, allowing targeted modification of their physicochemical and pharmacological properties. Among the numerous heterocyclic

systems, particular attention is focused on 4-thiazolidinone derivatives, which are recognized as versatile pharmacophoric scaffolds with diverse biological effects.

4-Thiazolidinone derivatives have been widely studied in medicinal chemistry due to their ability to exhibit a broad spectrum of pharmacological activities, including antimicrobial, antifungal, antiparasitic, antiviral, anti-inflammatory, and anticancer effects. The high biological activity of these compounds is обусловлена the presence of a reactive heterocyclic core that can be easily modified by introducing various substituents. Such structural flexibility enables the rational design of new molecules with predetermined pharmacological properties.

A particularly attractive strategy in modern drug design is molecular hybridization. This approach involves combining two or more biologically active fragments within a single molecule in order to obtain new compounds with enhanced biological activity and improved pharmacological profiles. Hybrid molecules may integrate multiple mechanisms of action, thereby increasing therapeutic efficacy and reducing the likelihood of microbial resistance development.

Within the framework of this dissertation, the molecular hybridization approach was implemented by combining the 4-thiazolidinone core with a nitrofurantoin pharmacophore. Nitrofurantoin is a well-known antimicrobial agent characterized by a broad spectrum of activity against various bacteria and fungi. Their mechanism of action involves reduction of the nitro group in microbial cells, resulting in the formation of reactive metabolites that disrupt the synthesis of nucleic acids, proteins, and other essential biomolecules. The combination of a nitrofurantoin fragment with a 4-thiazolidinone scaffold may potentially lead to the creation of new molecules with enhanced antimicrobial activity and novel mechanisms of action.

During the course of the research, synthetic approaches were developed for obtaining new hybrid molecules based on 4-thiazolidinone derivatives containing a nitrofurantoin fragment. The synthetic part of the study involved the preparation of a series of structurally modified 4-thiazolidinone scaffolds, which were used as starting building blocks for subsequent condensation reactions. The synthesis of the target hybrid molecules was carried out using the Knoevenagel reaction between appropriate

thiazolidinone derivatives and 5-nitrofuran-2-carbaldehyde or its bioisosteric analogues.

As a result of the synthetic studies, a series of new derivatives of (*Z*)-5-((5-nitrofuran-2-yl)methylene)-2-thioxo-thiazolidin-4-ones, as well as substituted 5-((*Z*)-3-(5-nitrofuran-2-yl)allylidene)thiazolidin-4-ones, were obtained. In addition, new rhodanine-3-carboxylic acids containing a nitrofuranpropenyldiene fragment were synthesized. The obtained compounds were characterized by high yields, satisfactory purity, and good reproducibility of the synthetic procedures.

The structures of the synthesized molecules were confirmed using modern physicochemical analytical methods. In particular, proton and carbon nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR), mass spectrometry (LC–MS), and infrared spectroscopy were employed. The obtained spectral characteristics fully correspond to the proposed structures of the synthesized compounds and confirm the success of the performed synthetic transformations.

The next stage of the research involved evaluation of the antimicrobial activity of the synthesized compounds. Biological studies were performed using various microbiological methods, including the agar diffusion method and the microdilution method with determination of the minimum inhibitory concentration (MIC). The investigations were carried out against a wide range of microorganisms, including both reference and clinical strains of bacteria and fungi.

It was established that most of the synthesized derivatives exhibit pronounced antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as pathogenic fungi. Particular attention was focused on activity against clinically relevant pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*, as well as the fungi *Candida albicans* and *Aspergillus niger*.

According to the results of antimicrobial screening, the synthesized compounds were classified according to their activity level. The most active derivatives were characterized by very low minimum inhibitory concentration values, indicating high antimicrobial potential. Some compounds demonstrated MIC values below 0.18  $\mu\text{M}$ ,

which represents an exceptionally high level of activity for newly synthesized antimicrobial agents.

Particular attention was drawn to the compound (*Z*)-5-((*Z*)-3-(5-nitrofuranyl)allylidene)thiazolidine-2,4-dione, which demonstrated pronounced antifungal activity against *Aspergillus niger*. This compound not only inhibited the growth of fungal mycelium but also blocked the process of sporulation for an extended period of time. Such an effect is relatively rare among most known antifungal agents and may indicate the presence of a novel mechanism of action.

To evaluate the safety profile of the synthesized molecules, cytotoxicity studies were performed on various mammalian cell lines. The obtained results showed that some of the most active antimicrobial compounds exhibit moderate or low cytotoxicity. This indicates their selectivity toward microbial cells and their potential for further pharmacological studies.

Based on the obtained experimental data, therapeutic indices were calculated for the most promising compounds. The highest therapeutic index was demonstrated by (*Z*)-5-((*Z*)-3-(5-nitrofuranyl)allylidene)thiazolidine-2,4-dione, indicating its high selectivity and potential safety.

In addition to the synthesis of new hybrid molecules, the dissertation also included investigation of the antimicrobial activity of non-condensed and condensed 4-thiazolidinone derivatives. A series of 32 compounds belonging to different structural classes was resynthesized and studied, including 5-enamine(hydrazine)-4-thiazolidinones, thiazolidinone-pyrazoles, 5-(2-oxo-2-phenylethyl)thiazolidinones, 5-ene-4-thiazolidinones, thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles, and isatin-oxadiazole hybrids.

The antimicrobial screening results demonstrated that some of these compounds exhibit high activity against Gram-positive bacteria. Particularly promising was the compound *N*-(5-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(2,3-dioxindolin-1-yl)acetamide, which showed high activity against vancomycin-resistant strains of *Enterococcus faecium*.

To elucidate possible mechanisms of action of the synthesized compounds, molecular docking studies were performed with bacterial enzymes MurB and GyrB.

The obtained results showed that the most active compounds form stable complexes with the active site of the MurB enzyme involved in bacterial cell wall biosynthesis.

Additional molecular dynamics studies confirmed the stability of ligand–protein complexes during extended simulation time. This correlates with the results of biological studies and confirms the potential of the investigated compounds as MurB inhibitors.

The pharmacokinetic properties of the most active compounds were evaluated using modern *in silico* methods. The prediction results demonstrated that some of the investigated molecules satisfy the main drug-likeness criteria and exhibit favorable pharmacokinetic parameters.

Thus, within the framework of the dissertation, a targeted synthesis of 96 compounds was carried out, their physicochemical characteristics were investigated, and their significant antimicrobial potential was established. The most promising compounds may be considered potential candidates for further preclinical studies and for the development of new drugs for the treatment of infectious diseases.

*Key words:* thiazolidines, 5-nitrofurans, indoles, organic synthesis, hybrid molecules, biological activity, antimicrobial activity, antifungal activity, SAR analysis, cytotoxicity, molecular docking.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	17
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДИЗАЙНУ ПРОТИМІКРОБНИХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНУ/ТІАЗОЛУ ТА СПОРІДНЕНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	28
1.1 Сучасні аспекти пошуку протимікробних лікарських засобів на основі азотовмісних п'ятичленних гетероциклів	28
1.2 Антимікробна та антимікобактеріальна активність похідних тіадіазолу	32
1.3. Антимікробна активність похідних тіазолу/тіазолідинону	38
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	53
2.1 Синтез похідних тіазолідину та структурних аналогів	53
2.2 Визначення антимікробної активності сполук 3.1b-3.49b	54
2.3 Визначення антимікробної активності сполук 4.1-4.32	57
2.4 Визначення мінімальної інгібувальної концентрації (MIC)	60
2.5 Клітинні лінії	63
2.6 МТТ-тест для визначення життєздатності клітин	63
2.7 Фармакокінетичне моделювання та токсикологічні властивості	66
2.8 Молекулярний докінг та молекулярно-динамічні симуляції	67

РОЗДІЛ 3	СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ З 5-НІТРОФУРАНОВИМ ФРАГМЕНТОМ	72
3.1	Синтез та фізико-хімічні характеристики 3-заміщених (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів та заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів	73
3.1.1	Спектральні характеристики 3-заміщених (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів та заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів	77
3.2	Синтез та фізико-хімічні характеристики роданінкарбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом	79
3.2.1	Спектральні характеристики роданінкарбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом	81
3.3	Дослідження протимікробної активності синтезованих молекул	85
3.3.1	Оцінка цитотоксичності нових антимікробних сполук	89
3.3.2	SAR-аналіз антимікробної активності синтезованих гібридних молекул	93
	Експериментальна частина	94
	Висновки до розділу 3	97
РОЗДІЛ 4	СИНТЕЗ ТА ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НЕКОНДЕНСОВАНИХ ТА КОНДЕНСОВАНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА ЇХ СТРУКТУРНИХ АНАЛОГІВ	100
4.1	Одержання досліджуваних молекул на основі неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів	100

4.1.2	Протимікробна активність неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів	102
4.1.3	Молекулярні фармакокінетичні та токсикологічні властивості сполук-хітів 4.21 та 4.29	104
4.1.4	Молекулярний докінг неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів	107
	Експериментальна частина	114
	Висновки до розділу 4	114
	ВИСНОВКИ	117
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	121
	ДОДАТКИ	140

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ADMET — адсорбція, розподіл, метаболізм, елімінація та токсичність (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity)

ATCC — Американська колекція типових культур (American Type Culture Collection)

BBB — гематоенцефалічний бар'єр (Blood–Brain Barrier)

CCM — Чеська колекція мікроорганізмів (Czech Collection of Microorganisms)

CLSI — Інститут клінічних та лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute)

CO<sub>2</sub> — вуглекислий газ

CYP — ферменти цитохрому P450

DMEM — середовище Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

DMSO — диметилсульфоксид

EUCAST — Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

ESBL — β-лактамази розширеного спектра дії (Extended-Spectrum β-Lactamases)

FAD — флавінаденіндинуклеотид

FBS — фетальна бичача сироватка

GI — гастроінтестинальна абсорбція

H-bond — водневий зв'язок

IC<sub>50</sub> — напівмаксимальна інгібувальна концентрація

IR — інфрачервона спектроскопія

LC–MS — рідинна хроматографія–мас-спектрометрія

LogP — коефіцієнт розподілу октанол/вода

MALDI–TOF MS — матрично-активована лазерна десорбція/іонізація з аналізом часу прольоту

MBC — мінімальна бактерицидна концентрація

MIC — мінімальна інгібувальна концентрація

MDR — мультирезистентність

МТТ — 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію бромід

NRB — кількість обергальних зв'язків

NHA — кількість важких атомів

P-gr — P-глікопротеїн

RMSD — середньоквадратичне відхилення (Root Mean Square Deviation)

RMSF — середньоквадратична флуктуація (Root Mean Square Fluctuation)

SAR — залежність «структура–активність» (Structure–Activity Relationship)

TPSA — топологічна полярна поверхня

ТШХ — тонкошарова хроматографія

ЯМР — ядерний магнітний резонанс

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Однією з найактуальніших проблем сучасної медицини є стрімке поширення антибіотикорезистентності серед патогенних мікроорганізмів. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, резистентність бактерій до існуючих антибактеріальних препаратів становить серйозну загрозу для глобальної системи охорони здоров'я та значно ускладнює лікування інфекційних захворювань. Особливу небезпеку становлять мультирезистентні штами бактерій, зокрема представники так званої групи ESKAPE, які здатні уникати дії більшості відомих антибіотиків. У зв'язку з цим пошук нових хімічних сполук із високою антимікробною активністю, новими механізмами дії та сприятливим профілем безпечності є одним із пріоритетних напрямів сучасної медичної хімії та фармацевтичних досліджень. Серед перспективних структурних платформ для створення нових біологічно активних сполук важливе місце займають похідні 4-тіазолідинону. Цей гетероциклічний скафолд характеризується значною структурною варіабельністю та здатністю формувати широкий спектр біологічної активності. У численних дослідженнях продемонстровано, що похідні 4-тіазолідинону проявляють виражену антимікробну, протигрибкову, протипаразитарну, протизапальну та протипухлинну активність. Крім того, можливість структурної модифікації цього ядра дозволяє створювати нові гібридні молекули з оптимізованими фармакологічними властивостями. Одним із ефективних підходів до підвищення біологічної активності сполук є стратегія молекулярної гібридизації, яка передбачає поєднання у межах однієї молекули декількох фармакофорних фрагментів із відомою біологічною активністю. Такий підхід дозволяє отримувати нові молекулярні системи з потенційно посиленими або комбінованими механізмами дії. У цьому контексті значний інтерес становить поєднання 4-тіазолідинонового ядра з нітровмісними гетероциклічними фармакофорами, зокрема з фрагментом 5-нітрофурану. Нітрофуранові сполуки відомі своєю широкою антимікробною активністю та здатністю впливати на

ключові метаболічні процеси мікробної клітини, що робить їх важливими структурними елементами у дизайні нових антибактеріальних агентів. Гібридні молекули, що поєднують 4-тіазолідиноновий та нітрофурановий фрагменти, можуть характеризуватися підвищеною антимікробною ефективністю завдяки поєднанню різних механізмів дії в одній молекулі. Крім того, структурна модифікація таких сполук відкриває можливість оптимізації їхніх фізико-хімічних і фармакологічних властивостей, зокрема селективності щодо мікробних клітин та зниження цитотоксичності. Додатковим аргументом на користь дослідження похідних 4-тіазолідинону є результати попередніх наукових робіт, у яких було продемонстровано перспективність неконденсованих та конденсованих тіазолідинонових систем як потенційних антимікробних агентів. Водночас подальше вивчення структури–активності таких сполук та пошук нових структурних модифікацій залишаються актуальними завданнями сучасної медичної хімії. Отже, вибір теми даного дослідження обумовлений необхідністю пошуку нових ефективних антимікробних агентів, перспективністю 4-тіазолідинонового скафолду як базової структури для створення біологічно активних молекул, а також можливістю підвищення їхньої активності шляхом молекулярної гібридизації з нітровмісними фармакофорами. Проведення комплексних досліджень, що включають синтез нових похідних, вивчення їхніх фізико-хімічних характеристик, оцінку антимікробної активності та аналіз взаємозв'язку «структура–активність», є важливим етапом у створенні нових перспективних кандидатів для подальшого фармакологічного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційну роботу виконано відповідно до планів МОЗ та НАМН України, вона є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету за темою «Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин та їх фокусованих комбінаторних бібліотек», № державної реєстрації: 0114U000944.

**Мета і завдання дослідження.** Мета дослідження полягає у молекулярному дизайні, синтезі, структурній модифікації та комплексному

дослідженні біологічної активності нових похідних 4-тіазолідинону та їх гібридних молекул із нітрофурановими й іншими фармакофорними фрагментами з метою виявлення перспективних сполук із вираженою антимікробною активністю, низькою цитотоксичністю та сприятливими фармакокінетичними характеристиками. Для досягнення поставленої мети було сформульовано такі завдання дослідження:

1. Провести аналіз літературних даних щодо антимікробної активності похідних 4-тіазолідинону та їх структурних аналогів, а також обґрунтувати доцільність використання цього гетероциклічного скафолду для створення нових антимікробних агентів.
2. Розробити підходи до синтезу нових гібридних молекул на основі 4-тіазолідинового ядра з використанням стратегії молекулярної гібридизації з нітрофурановими фармакофорами.
3. Синтезувати серію нових похідних 3-заміщених (*Z*)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів, заміщених 5-((*Z*)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів та роданін-3-карбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом.
4. Провести ресинтез і дослідження серії неконденсованих та конденсованих похідних 4-тіазолідинону та їх структурних аналогів різних класів (5-енамін(гідразин)-4-тіазолідинони, 4-тіазолідинон-піразоли, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинони, 5-ен-4-тіазолідинони, тіопірано[2,3-*d*]тіазоли та ізатин-оксадіазольні гібриди).
5. Підтвердити структуру синтезованих сполук сучасними фізико-хімічними методами аналізу, зокрема  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопією, LC-MS та ІЧ-спектроскопією.
6. Провести скринінг антимікробної та протигрибкової активності синтезованих сполук щодо широкого спектра патогенних мікроорганізмів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також патогенні гриби.

7. Визначити найбільш активні сполуки та оцінити їхню цитотоксичність на клітинних лініях ссавців для встановлення селективності дії щодо мікроорганізмів.
8. Розрахувати терапевтичні індекси для найбільш перспективних сполук та визначити їх потенціал для подальших фармакологічних досліджень.
9. Провести аналіз залежності «структура–активність» (SAR) для встановлення структурних факторів, що впливають на антимікробну активність досліджуваних сполук.
10. Дослідити можливі механізми антимікробної дії найбільш активних молекул за допомогою методів молекулярного докінгу та молекулярної динаміки щодо потенційних бактеріальних мішеней, зокрема ферментів MurB та GyrB.
11. Оцінити фармакокінетичні та токсикологічні властивості найбільш перспективних сполук із використанням сучасних *in silico* методів.

*Об'єкт дослідження* - нові похідні 4-тіазолідинону як потенційні антимікробні агенти.

*Предмет дослідження* – органічний синтез, структурна модифікація, спектральні характеристики, фізико-хімічні характеристики, антимікробна активність, цитотоксичність, фармакокінетичні властивості та можливі механізми дії (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів, заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів та неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів.

**Методи дослідження:** для досягнення поставленої мети та виконання завдань дисертаційної роботи було використано комплекс сучасних методів органічного синтезу, фізико-хімічного аналізу, мікробіологічних, біологічних та комп'ютерних досліджень. Синтез нових похідних 4-тіазолідинону та їх гібридних молекул із нітрофурановими фармакофорами здійснювали із застосуванням класичних методів органічного синтезу гетероциклічних сполук, зокрема реакцій гетероциклізації та конденсації Кньюенагеля. Для отримання вихідних 4-тіазолідинонових скафолдів використовували підхід Гольмберга та

дитіокарбаматний метод. Ресинтез структурних аналогів похідних 4-тіазолідинону проводили за модифікованими методиками, описаними в літературі. Контроль перебігу реакцій та чистоту синтезованих сполук визначали методом тонкошарової хроматографії. Очищення отриманих продуктів здійснювали методом перекристалізації з відповідних розчинників. Структуру та індивідуальність синтезованих сполук підтверджували сучасними фізико-хімічними методами аналізу. Для цього використовували  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопію, мас-спектрометрію (LC-MS), інфрачервону спектроскопію та елементний аналіз. Отримані спектральні дані використовували для встановлення будови синтезованих молекул та підтвердження їх чистоти. Антимікробну та протигрибкову активність синтезованих сполук оцінювали за допомогою мікробіологічних методів із визначенням мінімальної інгібувальної концентрації (MIC) щодо тестових штамів грампозитивних і грамнегативних бактерій та патогенних грибів. Дослідження проводили щодо клінічно значущих мікроорганізмів, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*, а також грибів *Candida albicans* та *Aspergillus niger*. Цитотоксичність найбільш активних сполук визначали *in vitro* на клітинних лініях ссавців методом МТТ-тесту з розрахунком значень напівмаксимальної інгібувальної концентрації ( $\text{IC}_{50}$ ). На основі отриманих результатів було визначено селективність дії досліджуваних сполук та розраховано їх терапевтичні індекси. Для встановлення можливих механізмів антимікробної дії синтезованих сполук використовували методи комп'ютерного моделювання. Молекулярний докінг проводили щодо потенційних бактеріальних мішеней, зокрема ферментів MurB та GyrB, із застосуванням відповідного програмного забезпечення. Стабільність комплексів ліганд-білок та динаміку їх взаємодії досліджували за допомогою молекулярно-динамічного моделювання. Фармакокінетичні та токсикологічні властивості найбільш активних сполук прогнозували за допомогою сучасних *in silico* методів із використанням програмних платформ SwissADME та ProTox II. Застосування комплексу експериментальних і комп'ютерних методів дослідження дозволило

здійснити раціональний молекулярний дизайн нових похідних 4-тіазолідинону, оцінити їх антимікробну активність, встановити взаємозв'язок «структура–активність» та визначити найбільш перспективні сполуки для подальших доклінічних досліджень.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У дисертаційній роботі здійснено молекулярний дизайн, спрямований синтез 96 сполук та комплексне дослідження біологічної активності нових похідних 4-тіазолідинону. Вперше синтезовано серію нових гібридних молекул на основі 4-тіазолідинового скафолду, що містять 5-нітрофурановий фармакофор. Розроблено ефективні синтетичні підходи до одержання 3-заміщених (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів, заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів та нових роданін-3-карбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом. Вперше встановлено, що синтезовані гібридні молекули 4-тіазолідинону з 5-нітрофурановим фрагментом проявляють виражену антимікробну та протигрибкову активність щодо широкого спектра патогенних мікроорганізмів. Показано, що низка синтезованих сполук характеризується надзвичайно низькими значеннями мінімальної інгібувальної концентрації, що свідчить про їх високий антимікробний потенціал. Виявлено нові високоефективні антимікробні агенти серед синтезованих похідних, зокрема (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-он, (Z)-2-аміно-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазол-4(5H)-он та (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, які продемонстрували найвищу антимікробну активність щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також патогенних грибів. Вперше встановлено виражену протигрибкову активність сполуки (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діону щодо *Aspergillus niger*, яка супроводжується тривалим пригніченням процесів спороутворення, що може свідчити про нові механізми протигрибкової дії. Вперше проведено комплексний аналіз залежності «структура–антимікробна активність» для синтезованих гібридних молекул 4-тіазолідинону з нітрофурановими фрагментами, що дозволило встановити структурні фактори,

які визначають їх біологічну активність. Розширено уявлення про антимікробний потенціал неконденсованих та конденсованих похідних 4-тіазолідинону та їх структурних аналогів. У результаті антимікробного скринінгу ідентифіковано нові активні сполуки серед різних класів гетероциклічних систем, зокрема ізатин-оксадіазольних гібриду *N*-(5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2-(2,3-діоксоіндолін-1-іл) ацетаміду, який проявив високу активність щодо грампозитивних бактерій, включаючи ванкоміцин-резистентні штами *Enterococcus faecium*. Вперше за допомогою методів молекулярного докінгу та молекулярної динаміки встановлено можливі механізми антимікробної дії синтезованих сполук. Показано, що найбільш активні похідні 4-тіазолідинону здатні утворювати стабільні комплекси з ферментом MurB, що свідчить про можливість інгібування біосинтезу клітинної стінки бактерій як одного з основних механізмів їх антибактеріальної дії. Отримані результати розширюють сучасні уявлення про можливості використання похідних 4-тіазолідинону як перспективних платформ для створення нових антимікробних агентів та можуть бути використані для подальшого раціонального молекулярного дизайну біологічно активних сполук.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані в дисертаційній роботі результати мають важливе практичне значення для розвитку медичної та фармацевтичної хімії, зокрема у напрямі створення нових антимікробних агентів на основі похідних 4-тіазолідинону. Розроблено та оптимізовано синтетичні підходи до одержання нових гібридних молекул 4-тіазолідинону, що містять нітрофуранові фармакофори, а також ряду неконденсованих і конденсованих похідних 4-тіазолідинону та їх структурних аналогів. Запропоновані методики синтезу характеризуються доступністю вихідних реагентів, відносною простотою виконання та можливістю масштабування, що створює передумови для подальшого використання отриманих сполук у фармацевтичних дослідженнях. Синтезовано серію нових похідних 4-тіазолідинону, для яких встановлено фізико-хімічні характеристики та підтверджено структуру сучасними спектральними методами аналізу. Отримані дані можуть бути

використані як довідковий матеріал для подальших досліджень у галузі органічного синтезу та медичної хімії. У результаті біологічного скринінгу виявлено низку сполук із вираженою антимікробною та протигрибковою активністю щодо клінічно значущих патогенів, включаючи *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Candida albicans* та *Aspergillus niger*. Деякі синтезовані сполуки характеризуються дуже низькими значеннями мінімальної інгібувальної концентрації, що свідчить про їх високий потенціал як перспективних антимікробних агентів. Встановлено сполуки-лідери з оптимальним співвідношенням антимікробної активності та цитотоксичності, зокрема (Z)-2-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)гексанова кислота, (Z)-4-метил-2-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)пентанова кислота, (Z)-4-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)бутанова кислота та (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, які можуть розглядатися як перспективні кандидати для подальших фармакологічних досліджень. Встановлені закономірності залежності «структура–активність» для досліджених похідних 4-тіазолідинону можуть бути використані для раціонального молекулярного дизайну нових біологічно активних сполук із покращеними антимікробними властивостями. Результати молекулярного моделювання дозволили встановити можливі механізми антимікробної дії синтезованих сполук та визначити потенційні біологічні мішені, що може бути використано для подальшої оптимізації структури активних молекул. Отримані результати можуть бути використані у наукових дослідженнях у галузі медичної хімії, фармацевтичної хімії та молекулярного дизайну лікарських засобів, а також у навчальному процесі при викладанні дисциплін, пов'язаних з органічним синтезом, медичною хімією та фармакологією. Найбільш перспективні сполуки можуть слугувати основою для подальших доклінічних досліджень і розробки нових антимікробних препаратів.

**Особистий внесок здобувача.** У процесі виконання дисертаційної роботи автором самостійно здійснено планування та виконання основної частини експериментальних досліджень, включаючи синтез досліджуваних сполук, аналіз та узагальнення отриманих результатів, а також формулювання основних наукових положень і висновків, що виносяться на захист. Автором проведено опрацювання та систематизацію літературних джерел за темою дослідження, обґрунтовано вибір напрямку наукової роботи, виконано інтерпретацію результатів фізико-хімічних та біологічних досліджень, а також здійснено підготовку наукових публікацій за результатами роботи. Співавторами наукових публікацій є науковий керівник, який брав участь у постановці завдань дослідження, обговоренні отриманих результатів та їх науковій інтерпретації, а також науковці, з якими проводилися спільні фізико-хімічні, біологічні та комп'ютерні дослідження синтезованих сполук. Їх участь полягала у виконанні окремих етапів досліджень, зокрема спектрального аналізу, дослідження біологічної активності, цитотоксичності та молекулярного моделювання.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи представлено на International Conference «Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations 2025» (Kaunas, Lithuania, 22 March 2024) та «Modern Chemistry of Medicines»: Міжнародна Internet-конференція (м. Харків, 18 травня 2023 р.).

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота, викладена на 160 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту складає 116 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 8 таблицями, 39 рисунками та 4 схемами. Список використаних джерел містить 170 найменувань, з них 1 кирилицею та 169 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДИЗАЙНУ ПРОТИМІКРОБНИХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНУ/ТІАЗОЛУ ТА СПОРІДНЕНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Тіазолідиновий та тіазольний, а також структурно споріднений тіадіазольний каркаси належать до найбільш поширених і добре відомих гетероциклічних систем, що є характерними та важливими структурними фрагментами численних лікарських засобів. Ці гетероциклічні платформи займають провідне місце в медичній хімії та виступають ключовими структурними компонентами препаратів із широким спектром фармакологічної дії. До них належать сполуки з антимікробною, протитуберкульозною, протизапальною, аналгетичною, протиепілептичною, протівірусною та протипухлинною активністю.

#### 1.1 Сучасні аспекти пошуку протимікробних лікарських засобів на основі азотовмісних п'ятичленних гетероциклів

Патогенні мікроорганізми є збудниками різних типів тяжких і навіть летальних інфекційних захворювань. Незважаючи на досягнення медицини, бактеріальні інфекції залишаються нагальною проблемою громадського здоров'я. У зв'язку з тим, що дедалі більше бактерій набувають резистентності до антибіотиків, які застосовуються в терапії, зростає інтерес до розроблення нових сполук з антимікробною активністю. Згідно з останніми даними, наведеними проєктом Global Research on antimicrobial resistance (GRAM), у 2022 році у світі було зафіксовано 7,7 мільйона смертей від 33 бактеріальних інфекцій [1]. Через старіння та зростання чисельності населення очікується подальше збільшення кількості нових випадків інфекцій. Незважаючи на значний прогрес у вивченні окремих типів інфекцій і виявлення численних потенційних специфічних терапевтичних мішеней, усе ще існує нагальна потреба в

розробленні ефективних лікарських засобів для лікування інфекційних захворювань.

Туберкульоз є одним із найдавніших інфекційних захворювань, яке у 2017 році спричинило 1,6 мільйона смертей. Його збудником є патогенна бактерія *Mycobacterium tuberculosis*, яка поширюється повітряно-крапельним шляхом, коли хворі на туберкульоз виділяють бактерії в повітря під час кашлю, чхання або відхаркування. За останні роки у світі у 2018 році близько 10,0 мільйона людей захворіли на туберкульоз. Приблизно чверть населення світу інфікована *M. tuberculosis*, що підвищує ризик розвитку туберкульозу [2].

Попри наявність препаратів першої та другої лінії для лікування туберкульозу, зростання поширеності мультирезистентних і широкорезистентних штамів *Mycobacterium tuberculosis* продовжує становити серйозну проблему та загрозу для глобального здоров'я. Це стимулює дослідників до проєктування, *in silico* дослідження та синтезу нових молекул із перспективними протитуберкульозними властивостями.

Азотовмісні п'ятичленні гетероцикли, зокрема похідні тiazолідину/тiazолів та тiazіазоли, привернули значну увагу завдяки своїм різноманітним біологічним властивостям і широкому застосуванню у створенні лікарських засобів; атом сірки в азольному кільці забезпечує підвищену ліпофільність [3]. Тiazіазоли та тiazоли — це сполуки з гетероциклічним кільцем, яке містить атоми нітрогену та сірки в складі ароматичної системи [4-7]. Структурні аналоги тiazолідину - тiazіазоли мають чотири ізомерні форми: 1,3,4-тiazіазол, 1,2,4-тiazіазол, 1,2,5-тiazіазол і 1,2,3-тiazіазол [8]; крім того, як і інші азоли, вони проявляють властивість таутомерії, що зумовлює збільшення кількості функціональних груп і забезпечує більшу гнучкість для подальших модифікацій [9] (Рис. 1.1).

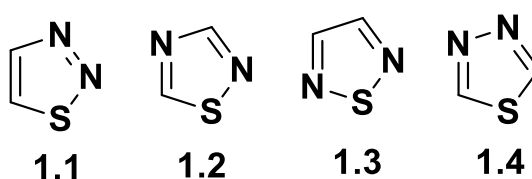


Рис. 1.1 Структури 1,2,3-тіадіазолу (1.1), 1,2,4-тіадіазолу (1.2), 1,2,5-тіадіазолу (1.3), 1,3,4-тіадіазолу (1.4)

Вважається, що похідні 1,3,4-тіадіазолу виявляють різноманітну біологічну активність завдяки наявності фрагмента  $=N-C-C-$ . Yousif E. та співавтори встановили, що біологічна активність похідних 1,3,4-тіадіазолу пов'язана з підвищеною ароматичністю кільця, що також зумовлює високе значення цієї п'ятичленної гетероциклічної системи для скринінгу *in vivo* та її високу токсичність для вищих хребетних, включно з людиною [10,11].

Таким чином, тіадіазольний фрагмент входить до складу багатьох сучасних лікарських засобів (Рис. 1.2), зокрема: діуретиків ацетазоламід 1.5 і метазоламід 1.6; цефалоспоринів першого покоління цефазолін 1.7 і цефазедон 1.8; антидепресанта атібепрон 1.9; протидіабетичних засобів глібутиазол 1.10 і глібузол 1.11; протипротозойного препарату мегазол 1.12 [12]. Крім того, похідні 1,3,4-тіадіазолу характеризуються протипухлинною, антиоксидантною, антимікробною, антидепресивною, протисудомною, аналгетичною та протизапальною активністю [13–16].

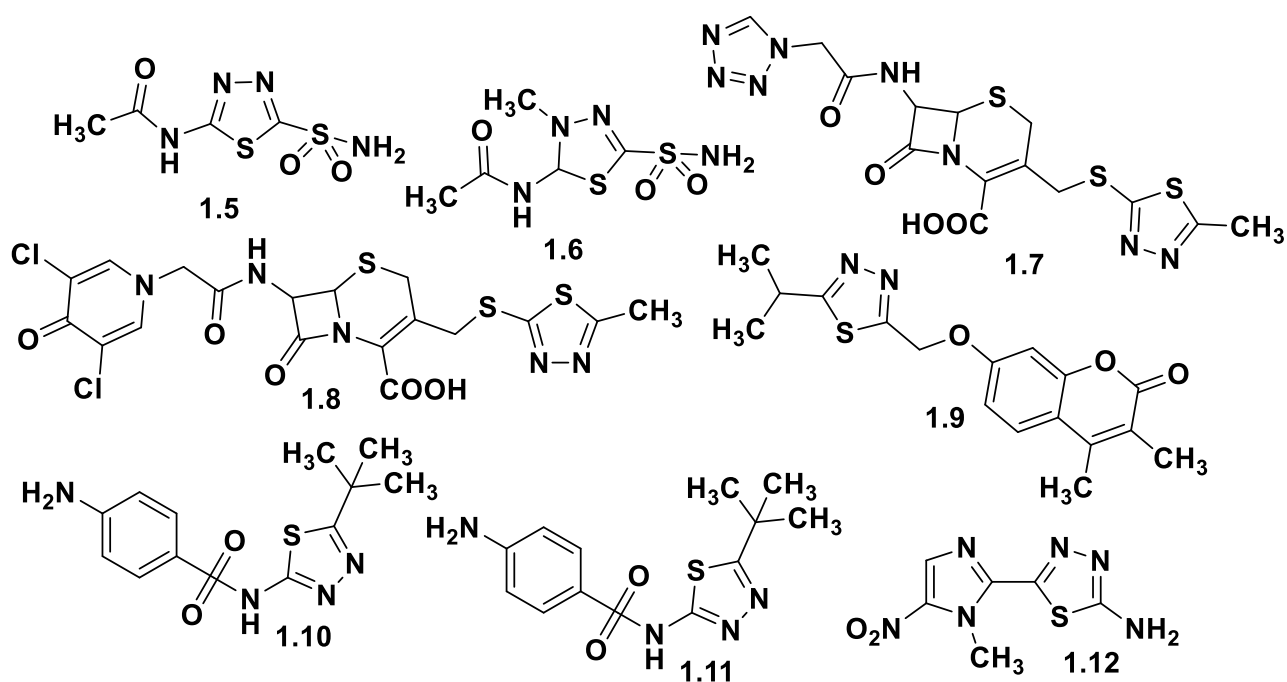


Рис. 1.2 Структури біологічно активних похідних 1,3,4-тіадіазолу

З іншого боку, похідні тiazолу є основою численних синтетичних лікарських засобів, зокрема праміпексол 1.13 — агоніст дофамінових рецепторів, який застосовується для лікування хвороби Паркінсона та синдрому неспокійних ніг (RLC); інгібітор протеази HIV-1 ритонавір і інгібітор CYP3A4 кобіцистат, що використовуються у терапії вірусу імунодефіциту людини; антагоністи H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів нізатидин 1.14 і фамотидин як противиразкового засоби; протигельмінтні препарати тіабендазол, левамізол 1.15 і тетрамізол; рилузол 1.16, що застосовується для лікування аміотрофічного латерального склерозу; протидіабетичні препарати піоглітазон, троглітазон, розиглітазон 1.17, лобеглітазон — агоністи рецептора PPAR $\gamma$ ; непуриновий інгібітор ксантиноксидази фебуксостат 1.18 як протиподагричний засіб; нестероїдний протизапальний препарат мелоксикам 1.19; інгібітор тирозинкінази дазатиніб 1.20 як протипухлинний засіб; кофермент — вітамін B<sub>1</sub> кокарбоксілаза; сульфаніламідні препарати сульфатіазол 1.21 і фталілсульфотіазол; радіофармацевтичний препарат флутеметамол (<sup>18</sup>F) для діагностики хвороби Альцгеймера (Рис. 1.3) [17,18].

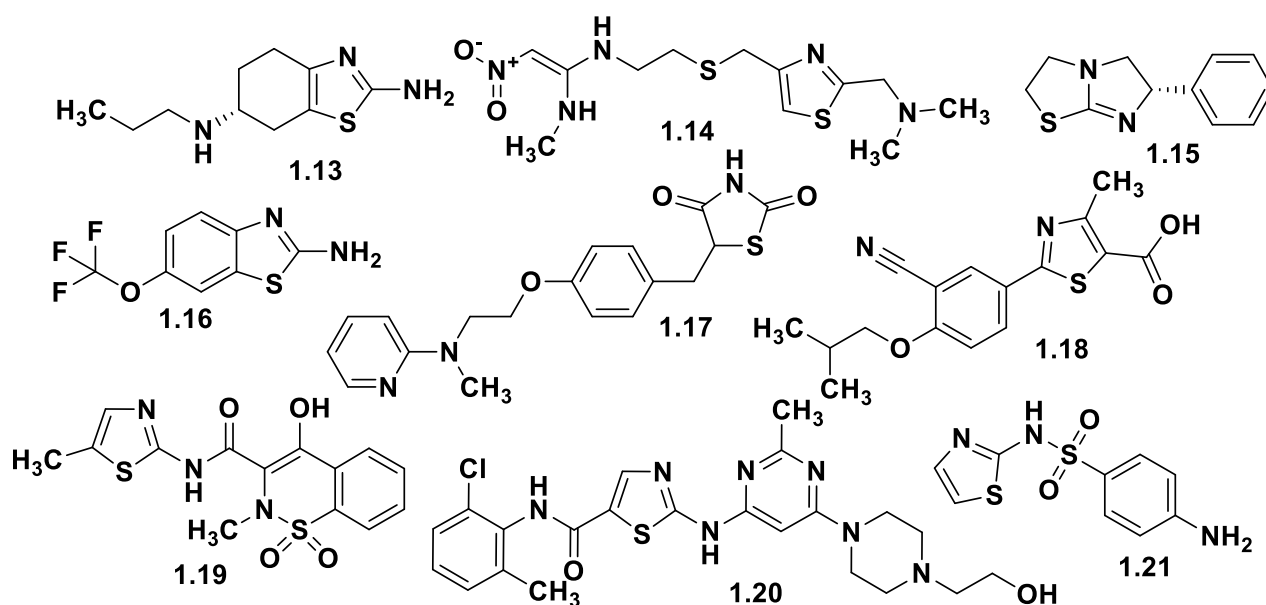


Рис. 1.3 Структури біологічно активних похідних на основі тiazолу

## 1.2 Антимікробна та антимікобактеріальна активність похідних тiazолу

Emad Yousif та співавтори синтезували ліганд 2*N*-саліциліден-5-(п-нітрофеніл)-1,3,4-тіадіазол. Ліганд координувався з п'ятьма різними йонами металів через атоми оксигену та нітрогену з утворенням відповідних комплексів. Антибактеріальну активність визначали шляхом вимірювання діаметра зони інгібування; стрептоміцин використовували як стандартний контроль. Загалом активність усіх отриманих комплексів була помірною навіть за вищих концентрацій (зона інгібування 11–20 мм) і дещо вищою порівняно з лігандом (зона інгібування 5–10 мм) [10].

Demirchi та співавтори повідомили про синтез нових гібридних сполук фторхінолонів на основі 1,3,4-тіадіазолу із застосуванням підходу молекулярної гібридизації. Сполука 1-етил-6-флуоро-7-[4-(2-{[5-(2,4-дихлорофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]аміно}-2-оксо-етил)піперазин-1-іл]-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонова кислота 1.22 продемонструвала значну антимікробну активність проти *E. coli* та *S. aureus* з мінімальною інгібувальною концентрацією (МІС) 4 мкг/мл і 2 мкг/мл відповідно [19] (Рис. 1.4).

Xu Tang та колеги синтезували серію похідних бензотіазолу, що містять фрагмент 1,3,4-тіадіазолу, у п'ять етапів, включаючи реакції естерифікації, амидування та циклізації. Біотестування показало, що більшість сполук мають добру антибактеріальну активність щодо *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* та *Ralstonia solanacearum*. Зокрема, ефект *N*-(5-метоксибензо[*d*]тіазол-2-іл)-2-((5-(2-толіл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)тіо)ацетаміду 1.23 і *N*-(5-нітробензо[*d*]тіазол-2-іл)-2-((5-(4-(трифлуорометил)феніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)тіо)ацетаміду 1.24 досягав 52,4% і 71,6% інгібування при 100 мкг/мл відповідно, що перевищувало показники бісмертіазолу (32,0% і 52,3%). Це свідчить про те, що похідні бензотіазолу з фрагментом 1,3,4-тіадіазолу можуть розглядатися як перспективні лідерні структури для пошуку вискоелективних антибактеріальних засобів [20] (Рис. 1.4).

Halit Muglu та співавтори синтезували нові 1,3,4-тіадіазоли на основі тіофен-2-карбонової кислоти шляхом циклізації тіофен-2-карбонової кислоти з *N*-арилтіосемікарбазидами у присутності POCl<sub>3</sub> у дві стадії. Антибактеріальну

активність досліджували щодо грамнегативних і грампозитивних штамів бактерій. Сполуки *N*-(4'-флуорофеніл)-5-(тіофен-2-іл)-1,3,4-тіадіазол-2-амін 1.25, *N*-бензил-5-(тіофен-2-іл)-1,3,4-тіадіазол-2-амін 1.26 і *N*-(4'-метоксифеніл)-5-(тіофен-2-іл)-1,3,4-тіадіазол-2-амін 1.27 у концентрації 80 мкг/мл продемонстрували високу антибактеріальну активність із зонами інгібування 13, 12 і 11 мм відповідно, порівняно зі стандартним препаратом стрептоміцином (18 мм) [21] (Рис. 1.4).

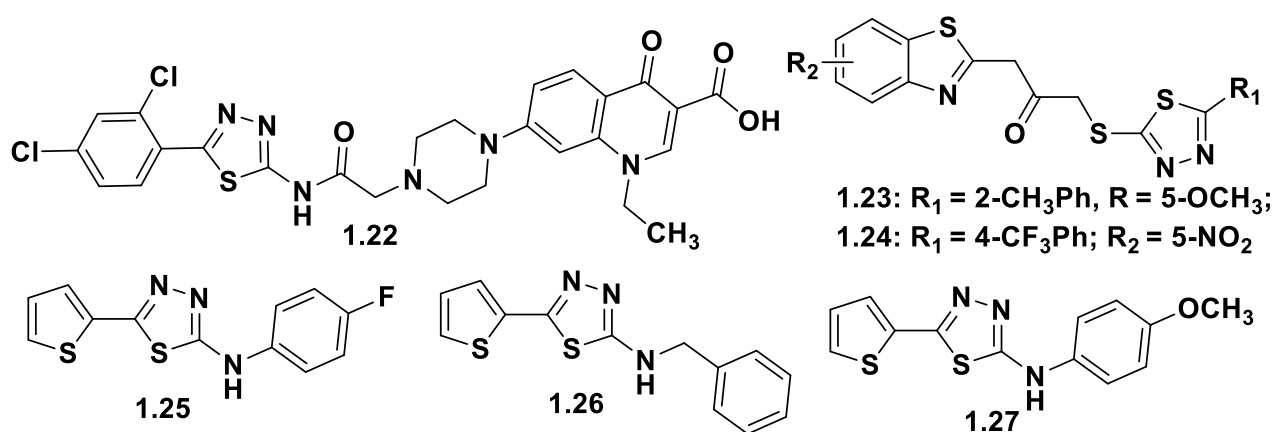


Рис. 1.4 Структури біологічно активних похідних 1.22-1.27

М. Madhu Sekhar та співавтори одержали новий клас метилтіозаміщених 1,3,4-тіадіазолів із виходом 87–93% при використанні методу ультразвукової обробки та 64–74% — за умов традиційного синтезу. Антибактеріальна активність сполук 2,4-біс[5-(4-хлорофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-ілметилтіо]-6-метилпіримідин 1.28 і 2,4-біс[5-(4-нітрофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-ілметилтіо]-6-метилпіримідин 1.29 продемонструвала перспективну активність проти *P. aeruginosa* з мінімальною інгібувальною концентрацією (МІС) 50 мкг/мл (Рис. 1.5) [22].

Khakan Takhtachi та співавтори синтезували нову серію фенілзаміщених імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазолів. Найвищу антибактеріальну активність виявила сполука 1-феніл-2-((6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-2-іл)тіо)етанон 1.30 зі значенням МІС 0,03 мкг/мл проти *S. aureus* та *B. subtilis* (для референтного препарату хлорамфеніколу МІС становить 0,4 мкг/мл і 0,85 мкг/мл відповідно) (Рис. 1.5) [23].

ME Naggar та співавтори синтезували похідні 5-(3,5-динітрофеніл)-1,3,4-тіадіазолу з виходом 51–87% із 5-(3,5-динітрофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-аміну. Сполука 1-[5-(3,5-динітрофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]-3-феніл-2-тіоксодигідро піримідин-4,6(1H,5H)-діон 1.31 продемонструвала вищу антимікробну активність порівняно зі стандартним препаратом амоксициліном при концентрації 100 мкг/мл [24] (Рис. 1.5).

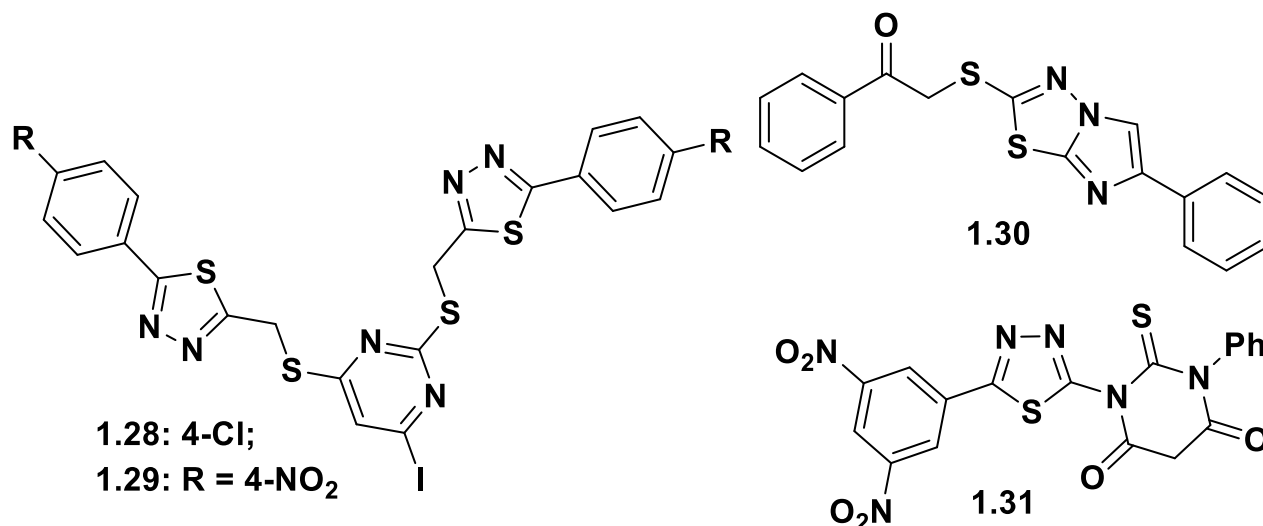


Рис. 1.5 Структури біологічно активних похідних 1.28-1.31

Tengfei Qu та співавтори одержали низку нових похідних 8-метоксихінолін-2-карбоксаміду, що містять фрагмент 1,3,4-тіадіазолу. Антибактеріальну активність синтезованих сполук *in vitro* оцінювали щодо трьох грампозитивних бактерій (*S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*) і трьох грамнегативних бактерій (*E. coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*). За результатами аналізу встановлено, що сполука із 2-хлоро-4-флуорозаміщеним бензеновим кільцем 1.32 проявляла вищу активність проти *B. subtilis* (MIC = 4 мкг/мл), що відповідало активності референтного препарату хлороміцетину. Інший похідний виявив добру активність проти *C. aureus*, *M. luteus* і *P. aeruginosa* з MIC 32, 16 і 32 мкг/мл відповідно (Рис. 1.6) [25].

Taflan та співавтори повідомили про нові сполуки імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазолу з вираженим протитуберкульозним профілем і значеннями MIC у діапазоні 0,24–0,49 мкг/мл щодо *Mycobacterium smegmatis* [26].

Sevda Türk та співавтори синтезували низку нових основ Шиффа шляхом конденсації 1,3,4-тіадіазолів із різними заміщеними бензальдегідами. Їхню протитуберкульозну активність визначали щодо *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*. Сполука з феноксистаміном, приєднаним до 4-нітрофенілтіадіазольного ядра (2-(4-нітрофеніл)аміно-5-[4-(3-(4-фенокси))бензиліден-амінофеніл]-1,3,4-тіадіазол) 1.33, продемонструвала найвищий рівень інгібування — 80% щодо *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* при MIC 6,25 мкг/мл (Рис. 1.6) [27].

Violina T. Angelova та колеги отримали ароїлгідрозони на основі індоли та індазолу з розчинністю у воді 0,36 г/100 г, що є важливим параметром фармакокінетики речовини. Як референтні препарати використовували ізоніазид і етамбутол. Гідразонова сполука, що містить фрагмент 1,2,3-тіадіазолу 1.34, продемонструвала відмінну активність проти *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* (MIC 0,39 мкМ), низьку цитотоксичність і відсутність токсичного ефекту при пероральному або внутрішньочеревному введенні експериментальним тваринам (Рис. 1.6) [28].

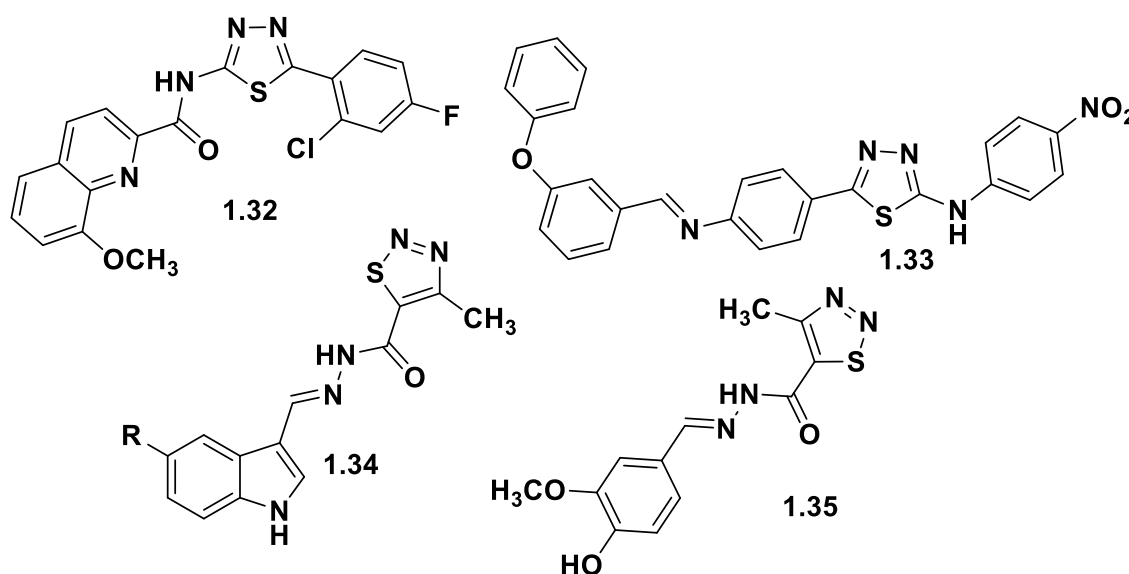


Рис. 1.6 Структури біологічно активних похідних 1.32-1.35

Надалі ці ж дослідники синтезували 15 похідних гідразонів на основі 4-метил-1,2,3-тіадіазолу та сульфонілгідразонів. Похідне гідразону на основі 4-

гідрокси-3-метоксифенілзаміщеного 1,2,3-тіадіазолу 1.35 виявило найвищу антимікобактеріальну активність (МІС 0,0730 мкМ), співставну з ізоніазидом (МІС 0,0343 мкМ). Порівняння цієї сполуки з раніше описаним аналогом — *N*'-[(*E*)-(5-метокси-1*H*-індол-3-іл)метиліден]-4-метил-1,2,3-тіадіазол-5-карбогідразидом 1.35 — засвідчило важливу роль фрагмента 1,2,3-тіадіазолу в сполучному бічному ланцюзі (Рис. 1.6) [29].

Jaichree K. Malі та співавтори синтезували поверхнево-активні похідні *N*-(5-арил-1,3,4-тіадіазол-2-іл)алканаміду. Серед досліджених речовин сполука *N*-(5-(піридин-4-іл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)додеканамід 1.36 продемонструвала високу активність проти *M. tuberculosis H37Rv* із мінімальною інгібувальною концентрацією (МІС) 2,34 мкг/мл, тоді як для ізоніазиду МІС становить 0,4 мкг/мл (Рис. 1.7) [30].

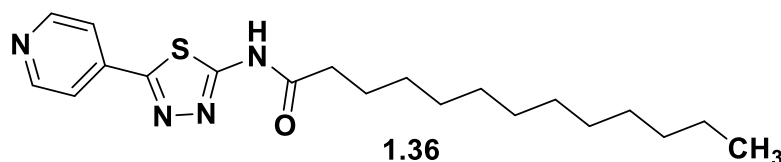


Рис. 1.7 Структура *N*-(5-(піридин-4-іл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)додеканаміду 1.36

Aslı Demірчі та співавтори розробили серію похідних фторхінолону на основі 5-заміщеного 1,3,4-тіадіазолу та оцінили їхню антибактеріальну й протипухлинну активність. Серед синтезованих похідних фторхінолону сполуки 1-етил-6-флуоро-7-[4-(2-{[5-(4-хлорофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]аміно}-2-оксо-етил)піперазин-1-іл]-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонова кислота 1.37 і 1-етил-6-флуоро-7-[4-(2-{[5-(2,4-дихлорофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]аміно}-2-оксо-етил)піперазин-1-іл]-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонова кислота 1.38 продемонстрували помірну протитуберкульозну активність із значеннями МІС по 8 мкг/мл для кожної сполуки (Рис. 1.8) [19].

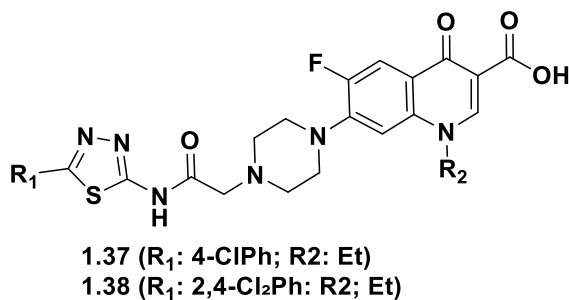
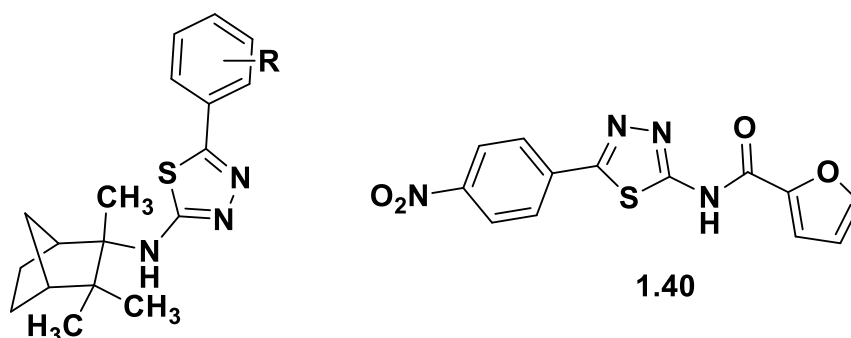


Рис. 1.8 Структура фторхінолон–тіадіазолових гібридів 1.37, 1.38

Giovana F Costacurta та співавтор. оцінили активність 12 нових похідних 1,3,4-тіадіазолу на основі (-)-камфену проти *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*. Сполуки (1.39a, 1.39b, 1.39c, 1.39д, 1.39e і 1.39f) продемонстрували виражену протитуберкульозну активність із МІС 3,9–7,8 мкг/мл та не виявили антагонізму з протитуберкульозними препаратами, що вже застосовуються для лікування туберкульозу. Також було визначено індекс селективності, значення якого досягали 42,9 для штаму *H37Rv* і 97,1 для клінічного ізоляту (Рис. 1.9) [31].

Harun Patel та співавтори синтезували серію заміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу та дослідили їхню антимікобактеріальну активність *in vitro*. Серед протестованих сполук *N*-(5-(4-нітрофеніл)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)фуран-2-карбоксамід 1.40 продемонстрував добру інгібувальну активність зі значенням МІС 9,87 мкМ порівняно з ізоніазидом (МІС = 3,64 мкМ) (Рис. 1.9) [32].



1.39a, R = H; 1.39b, R = 4-F; 1.39c, R=4-Cl; 1.39d, R = 4-NO<sub>2</sub>; 1.39e, R = 3-NO<sub>2</sub>; 1.39f, R = 4-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Рис. 1.9 Структури похідних 1.39, 1.40

### 1.3 Антимікробна активність похідних тіазолу/тіазолідинону

Похідні 4-тіазолідинону як потенційні лікарські засоби залишаються актуальними для сучасної фармацевтичної та медичної хімії ще з початку минулого століття. Для цього класу гетероциклів історично характерними видами біологічної активності були антимікробна, фунгіцидна та противірусна дія [33,34]. До середини 1970-х років це пояснювали певною структурною подібністю до антибіотиків пеніцилінового ряду. Проте розвиток методів медичної хімії та революційні зміни у скринінгових дослідженнях біологічно активних сполук, насамперед пов'язані з упровадженням високопродуктивного фармакологічного скринінгу, дали змогу переосмислити значення цієї групи гетероциклів.

Було встановлено зовсім неочікувані фармакологічні ефекти, що привело до впровадження у медичну практику принципово нової групи протидіабетичних засобів, а також окреслило перспективи застосування 4-тіазолідинонів у терапії найскладніших для людства захворювань, зокрема онкологічних, серцево-судинних патологій і запальних станів.

Пошук оригінальних сучасних антибактеріальних і протигрибкових лікарських засобів є актуальною проблемою медицини та фармацевтичної промисловості. Аналіз інноваційних препаратів, схвалених FDA у 2011–2015 роках, за належністю до фармакологічних груп показав, що антимікробні засоби посідають друге місце (~16% від загальної кількості впроваджених препаратів), поступаючись лише протипухлинним засобам (~27%) [35]. Ключовою проблемою існуючих антимікробних препаратів є розвиток резистентності та поява нових штамів збудників [36]. Скринінг потенційних антимікробних агентів серед нових класів хімічних сполук є одним із перспективних шляхів подолання проблеми резистентності.

У ранніх дослідженнях, присвячених 4-тіазолідинонам як біологічно активним сполукам, часто повідомлялося про їхню антимікробну активність, яку вчені переважно пов'язували зі спільними структурними фрагментами (тіазолідинове ядро) з пеніцилінами [37]. Проте сучасні дослідження дещо змінили це уявлення. Нещодавно було встановлено, що 5-ариліден-2-тіоксо-4-

тіазолідинони 1.41 є високоселективними інгібіторами UDP-MurNAc/L-Ala-лігази, яка бере участь у формуванні клітинної стінки грампозитивних метицилін-резистентних штамів *S. aureus* (MRSA), і є перспективними для подальших досліджень [38] (Рис. 1.10).

Серія 5-бензиліден-2,4-тіазолідиндіонів 1.42 демонструє високу ефективність щодо грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*). Було встановлено низку прогностичних залежностей «структура–активність». Зокрема, наявність групи 3-NH є мінімально необхідною умовою для прояву активності. Також для досягнення ефекту обов'язковою є присутність гетероатома в положенні 1 п'ятичленного кільця, причому сірка та нітроген мають суттєву перевагу над киснем [39] (Рис. 1.10).

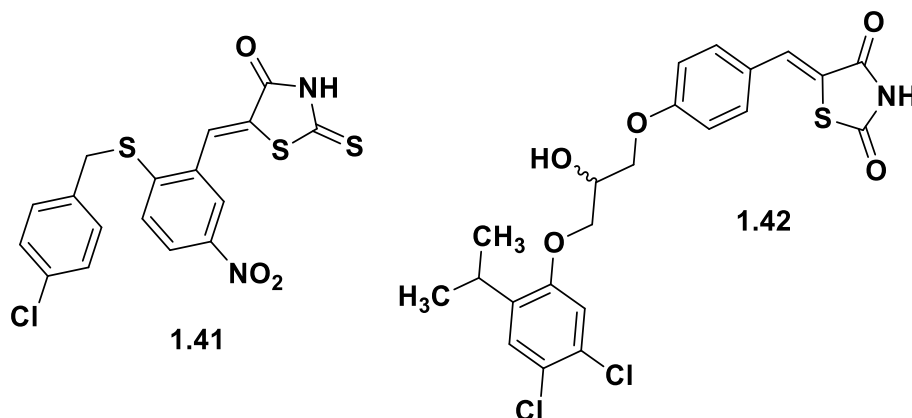


Рис. 1.10 Структури похідних 1.41, 1.42

5-Ариліден-4-тіазолідинон-3-алканкарбонові кислоти 1.43–1.48 демонструють виражену антимікробну активність як щодо грампозитивних, так і грамнегативних бактерій [40,41]. Вони інгібують дві завершальні стадії біосинтезу пептидоглікану — основного компонента клітинної стінки мікроорганізмів, що призводить до лізису бактерій, які діляться (Рис. 1.11).

Окремі похідні 1.43 також інгібують дегідрогенази [42]. У результаті молекулярної модифікації фрагмента C5 (36) було отримано інгібітори грибової манозилтрансферази 1 (PMT1), які ефективно індукували зміни морфології *C. albicans* [38] (Рис. 1.11).

5-Ариліден-4-тіазолідинон-3-алканкарбонові кислоти 1.47, 1.48 є інгібіторами летального фактора сибірки (LF), одним із компонентів якого є

металопротеаза; цей фактор є головним чинником вірулентності *Bacillus anthracis* [44] (Рис. 1.11).

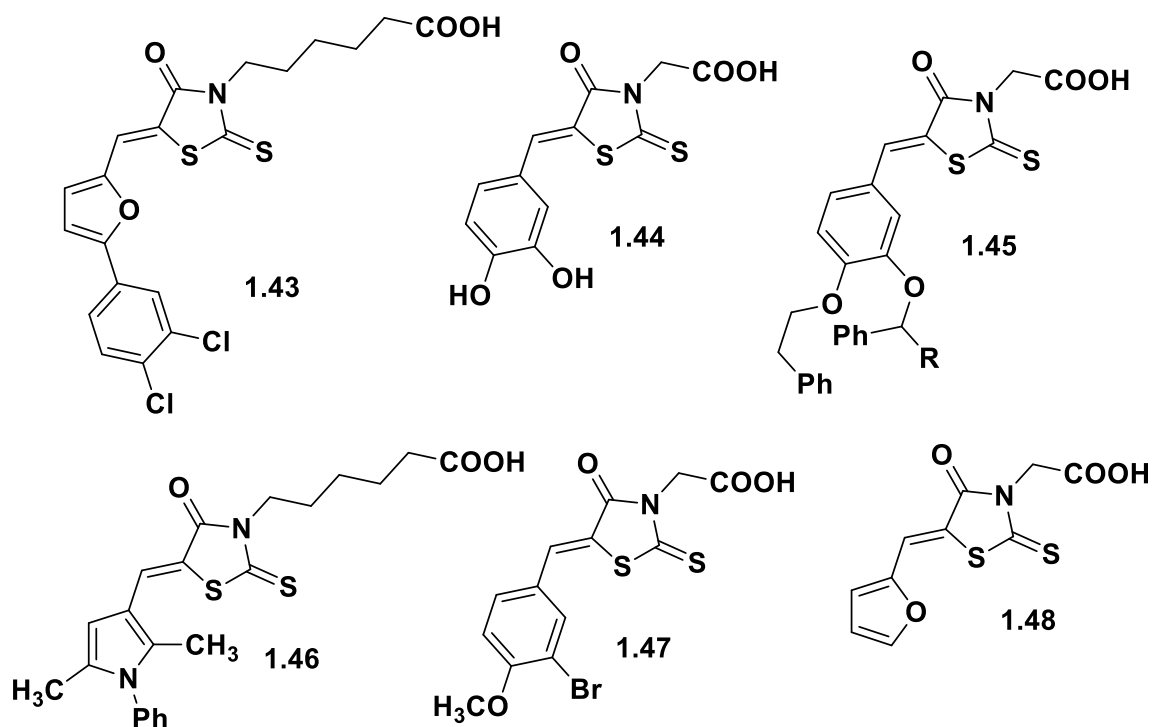


Рис. 1.11 Структури похідних 5-Ариліден-4-тіазолідион-3-алканкарбонових кислот 1.43–1.48

Похідні 5-гетероариліден-2,4-тіазолідиндіонів 1.49 є конкурентними інгібіторами рекомбінантних бактеріальних ариламін-*N*-ацетилтрансфераз (NATс), що має особливе значення для пошуку інноваційних антимікобактеріальних засобів (Рис. 1.12).

Серед 4-тіазолідинон-3-алканкарбонових кислот 1.50 і 2-іміно-похідних 1.51 виявлено високу здатність інгібувати UDP-галактопіранозомутаза (UGM). UGM є ферментом, необхідним для життєздатності мікобактерій, і відсутній у людини, що робить його важливою терапевтичною мішенню [45] (Рис. 1.12).

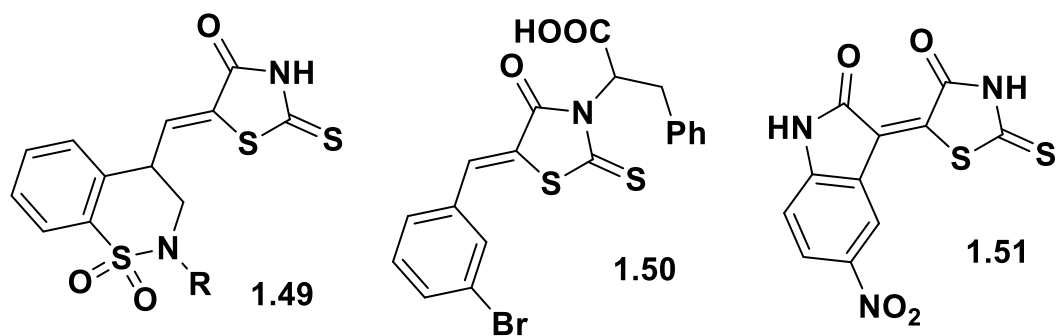


Рис. 1.12 Структури похідних 1.49-1.51

В умовах прогресуючої резистентності мікроорганізмів до існуючих антибіотиків активно досліджуються нові гетероциклічні сполуки з антимікробною та протигрибковою активністю, серед яких окрему нішу займають похідні, що містять у своїй структурі тiazолідинові та піридинові фрагменти [46].

Так, серед кон'югатів 4-тіазолідинон–тіадіазол–піридин 1.52 було виявлено сполуки з високою активністю проти *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* та *Bacillus subtilis*. Крім того, найактивніші представники цієї серії продемонстрували ефект, що перевищував або був еквівалентним дії препаратів порівняння, зокрема таких відомих засобів, як гризеофульвін, гентаміцин і ципрофлоксацин. У зв'язку з цим автори детально проаналізували особливості кореляції «структура–активність» [47] (Рис. 1.13).

Під час фармакологічного скринінгу *in vitro* серії 2-(3-піридил)-4,5-дизаміщених тiazолів щодо десяти бактеріальних і п'яти грибкових патогенних для людини штамів було ідентифіковано високоактивну сполуку 5-ацетил-4-метил-2-(3-піридил)тіазол 1.53. Вона виявилася удвічі активнішою за ампіцилін у пригніченні росту епідермального стафілокока (MIC 0,24 мг/мл) та продемонструвала протигрибковий ефект, еквівалентний амфотерицину В, щодо *Geotrichum candidum* (MIC 0,48 мг/мл) [48] (Рис. 1.13).

5-[4-(4-Піридил)амінобензиліден]-2,4-тіазолідиндіон 1.54 і деякі його похідні проявили значну антибактеріальну активність проти *S. aureus* та *E. coli*, а

також слабку протигрибкову активність щодо *Aspergillus niger* і *Candida albicans* [49] (Рис. 1.13).

Sharma та співавтори синтезували нові похідні *N*-(5-метил-4-оксо-тіазолідин-3-іл)нікотинаміду 1.55, які продемонстрували виражену антимікробну активність проти різних штамів мікроорганізмів, співставну з ефектом ампіциліну [50] (Рис. 1.13).

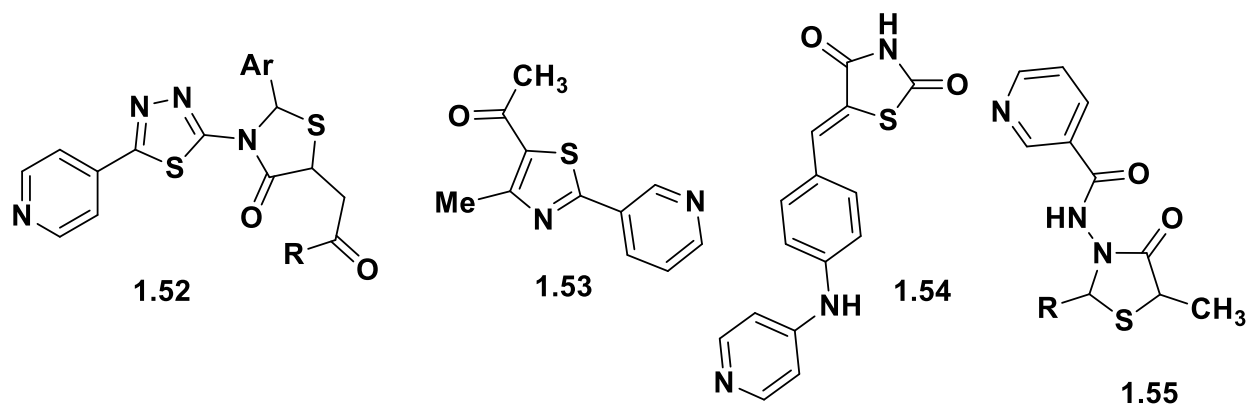


Рис. 1.13 Структури похідних 1.52-1.55

Тіазол–піразолін–піридиновий кон'югат 1.56 продемонстрував перспективну антимікробну активність проти *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis* та *Aeromonas hydrophila*. Крім того, виявлено протигрибкову активність щодо *Candida albicans* і *Candida glabrata* [51] (Рис. 1.14).

Також нові похідні 4-тіазолідинон–бензотіазол–піридину 1.57 проявили перспективну активність проти *E. coli* (25–100 мкг/мл), *P. aeruginosa* (50–100 мкг/мл), *S. aureus* (25–150 мкг/мл) і *C. albicans* (100–500 мкг/мл) [52] (Рис. 1.14).

2-Піридилзаміщені 4-тіазолідинони 1.58 виявили ефективність щодо бактеріальних штамів, зокрема *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium smegmatis* та *Mycobacterium tuberculosis*. Крім того, ці сполуки продемонстрували перспективну протигрибкову активність щодо *Candida krusei*, *Candida albicans* і *Malassezia furfur* [53] (Рис. 1.14).

Для спіро-заміщених 4-тіазолідинонів 1.59 встановлено значну активність проти *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *E. coli* 3-Заміщені 2-(6-метилпіридин-2-іл)іміно-4-тіазолідинони та тіазоліни (1.60, 1.61) були досліджені на ефективність щодо різних грампозитивних і грамнегативних бактерій, включаючи *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* та *Serratia marcescens*. Найбільш виражений ефект спостерігався щодо *S. aureus* і, в окремих випадках, щодо *B. cereus* [54] (Рис. 1.14).

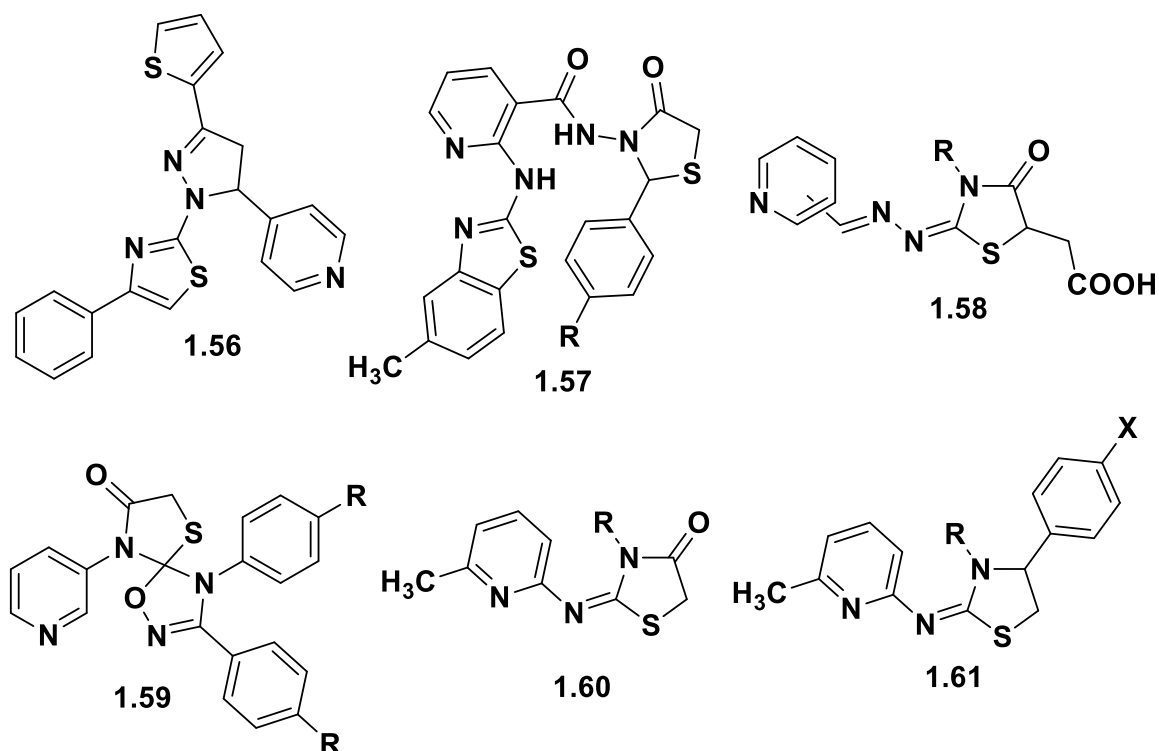


Рис. 1.14 Структури похідних 1.56-1.61

5,5'-Заміщені похідні біциклічного 3,3'-(піридин-2,6-дііл)біс(2-фенілтіазолідин-4-ону) 1.62, 1.63 продемонстрували виражену антимікробну та протигрибкову активність, еквівалентну дії референтних препаратів стрептоміцину та хлорамфеніколу, щодо *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Botrytis fabae*, *Fusarium oxysporum* і *Trichoderma viride* [55].

4-Тіазолідинон-бензотіазол-піридини 1.64 та їх синтетичні попередники — основи Шиффа 1.65 — продемонстрували виражену активність проти *S.*

*aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Aspergillus clavatus* і *Aspergillus niger* [56] (Рис. 1.15).

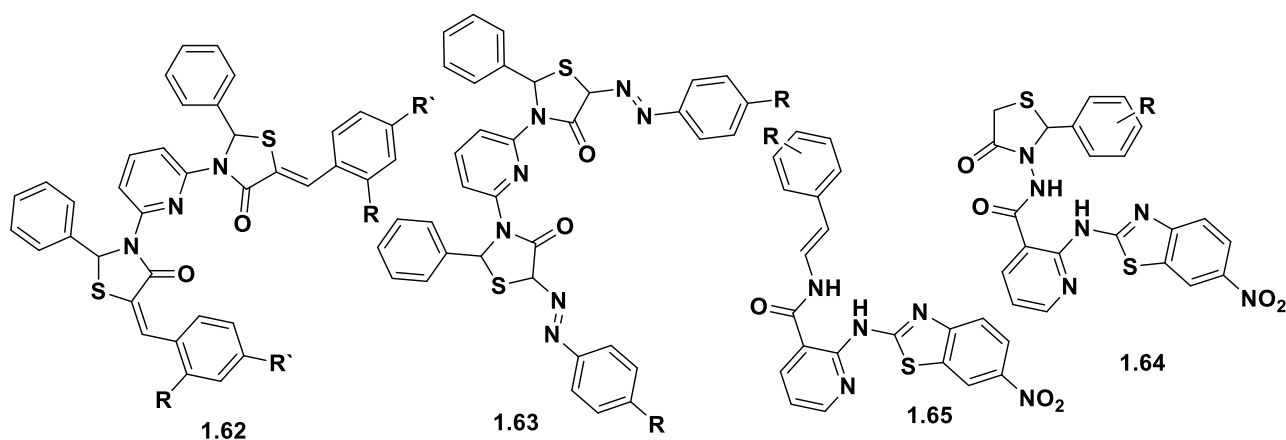


Рис. 1.15 Структури похідних 1.62-1.65

Спіро-заміщені 4-тіазолідинон–імідазолін–піридини 1.66-1.69 продемонстрували виражену протигрибкову активність щодо *Aspergillus niger* та *Candida albicans* [57] (Рис. 1.16).

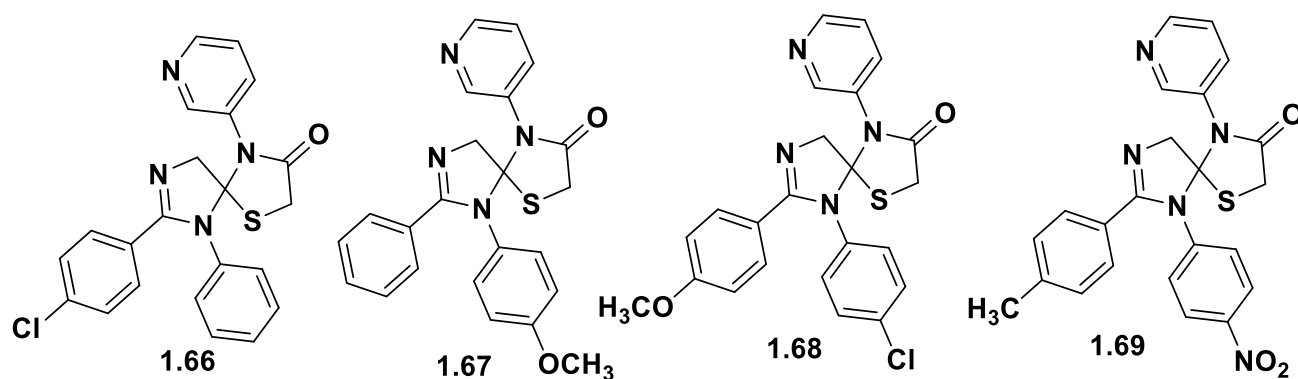


Рис. 1.16 Структури спіро-заміщених 4-тіазолідинон–імідазолін–піридинів 1.66-1.69

Одним із добре відомих напрямів біологічних досліджень похідних тіазолідину та піридину є вивчення їхньої протитуберкульозної активності. Так, поліциклічні неконденсовані похідні тіазоліну, тіадіазолу та піридину 1.70 проявили активність проти клінічних ізолятів штамів *M. tuberculosis* [58] (Рис. 1.17).

Похідні 4-тіазолідинону на основі ізоніазиду 1.71 продемонстрували перспективну протитуберкульозну активність порівняно зі стандартними препаратами — ізоніазидом і рифампіцином [59].

Для тіазол-піридину 1.72 встановлено значну протигрибкову активність ( $IC_{50} = 6,22$  мг/мл та  $IC_{90} = 6,78$  мг/мл) за умов низької цитотоксичності ( $CC_{50} > 40$  мг/мл), що стало підставою для подальших поглиблених досліджень цієї сполуки [60] (Рис. 1.17).

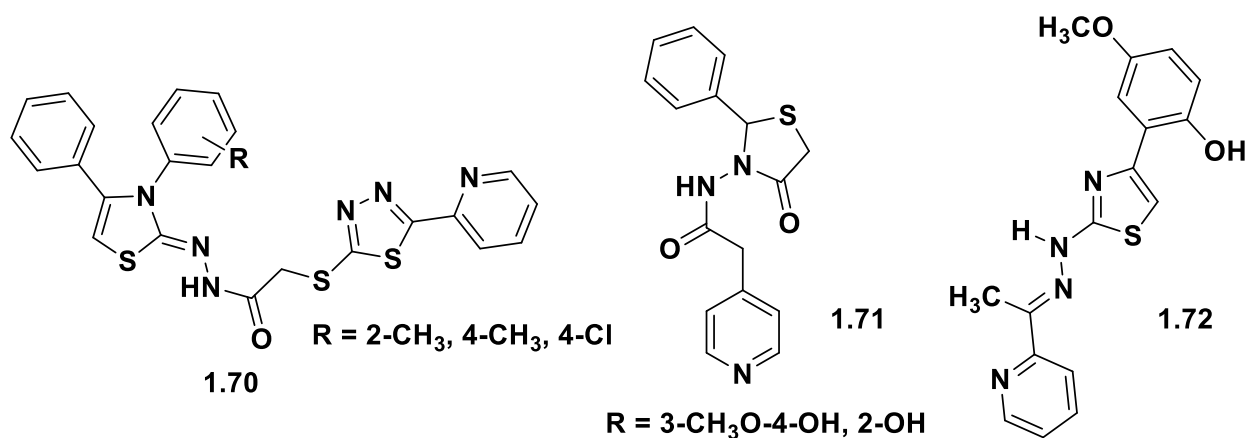


Рис. 1.17 Структури похідних 1.70-1.72

Характерною особливістю конденсованих гетеросистем на основі 4-тіазолідинонів є їхня антимікробна активність. Методом диско-дифузійного скринінгу для тіазоло[3,2-*a*]піримідин-3-онів 1.73, 2-іміден-6-арилпохідних тіазоло[3,2-*a*]піридин-3-онів 1.74 [61] та фууро[2,3-*d*]тіазолідинів 1.75 [62] було виявлено помірну антимікробну активність щодо *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* і *P. aeruginosa* (Рис. 1.18).

Помірну антимікробну активність проти грамположитивних і грамнегативних мікроорганізмів встановлено також для серії нових тіазоло[3,2-*a*]піримідин-3,5-діонів, тіазоло[3,2-*a*]піридинів, тіазоло[3,2-*a*][1,8]нафтиридинів і тіазоло[2',3':1,6]піридо[2,3-*d*]піримідинів (стандарт — ампіциліну тригідрат) [61].

Дослідження протитуберкульозної активності дозволили ідентифікувати низку нових піразоліно[3,4-*d*]тіазолідинів 1.76, які продемонстрували перспективні результати щодо інгібування росту *M. tuberculosis*. Крім того, серед

піразоліно[3,4-*d*]тіазолідин-5-онів 1.77 виявлено високоактивні сполуки під час досліджень протигрибкової активності щодо *Penicillium simplex*, *Mucor hiemalis*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae*, *Candida albicans*, *Actinomyces sp.* та *Aspergillus fumigatus* (стандарт — флуконазол) [63] (Рис. 1.18).

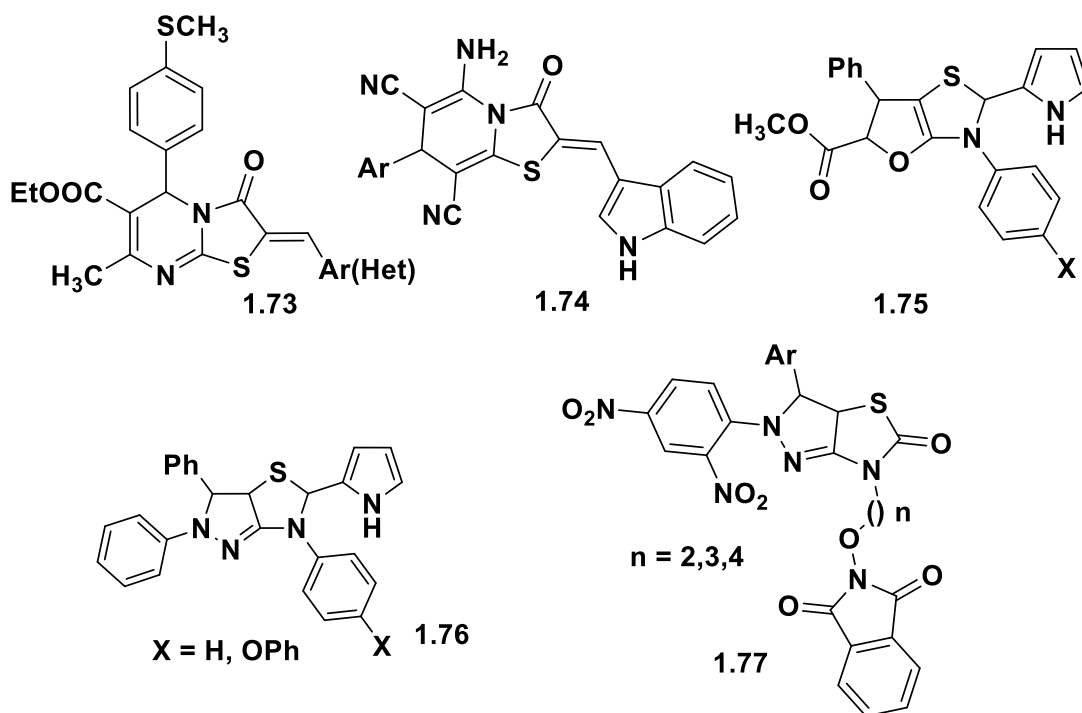


Рис. 1.18 Структури конденсованих похідних 1.73-1.77

Ismail Althagaf та співавтори повідомили про синтез серії сполук, що містять ди-, три- та тетратіазольні фрагменти. Такі похідні утворювалися в реакції 2-бромо-1-(4-метил-2-(метиламіно)тіазол-5-іл)етан-1-ону 1.78 з гетероциклічними амінами, о-амінотіофенолом і похідними тіосемікарбазону. Результати показали, що похідні з ди- та тритіазольними кільцями проявляли високу активність проти *Aspergillus niger*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Salmonella typhimurium*, яка перевищувала дію використаного стандартного антибіотика [64] (Рис. 1.19).

Desai N.C. та співавтори здійснили синтез 2-(5-(3-(4-флуорофеніл)-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)-3-(арил)-4,5-дигідро-1*H*-піразол-1-іл)тіазол-4(5*H*)-онів 1.79. Синтезовані сполуки були досліджені *in vitro* на антибактеріальну активність

щодо представників грампозитивних (*S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*) і грамнегативних (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) бактерій. Крім того, їх протестували на протигрибкову активність щодо *Candida albicans*, *Aspergillus niger* та *Aspergillus clavatus*. Отримані сполуки продемонстрували виражену інгібувальну дію на тест-організми, співставну з референтними антибіотиками [65] (Рис. 1.19).

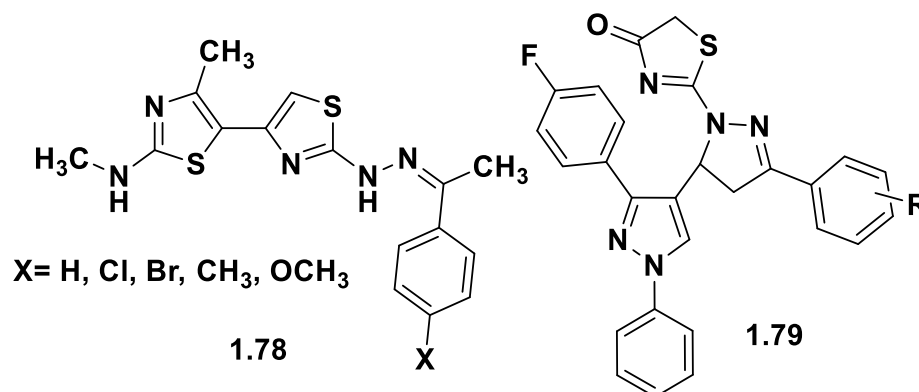


Рис. 1.19 Структури похідних 1.78, 1.79

Було синтезовано, охарактеризовано та досліджено біологічну активність нової серії 2-піридин-заміщених 1.80 і 4-піридин-заміщених похідних тiazолу 1.81. Біологічні властивості синтезованих сполук визначали шляхом оцінки антимікробної активності щодо грампозитивних, грамнегативних бактерій і дріжджів методом визначення мінімальної інгібувальної концентрації (МІС), а також у дослідженнях здатності до розщеплення ДНК (Рис. 1.20).

Найбільш вагомим результатом стало встановлення того, що з огляду на біологічну активність і хімічну реакційну здатність 4-піридин-тіазольні гібридні сполуки виявилися активнішими за 2-піридин-заміщені тiazоли. Загалом антимікробна активність синтезованих сполук зменшувалася в ряду: *Bacillus cereus* > *S. aureus* > *Candida albicans* > *E. coli* > *P. Aeruginosa*.

Найактивніша сполука з МІС 0,02 мМ продемонструвала виражену антимікробну дію щодо *S. aureus* і *Bacillus cereus* [66] (Рис. 1.20).

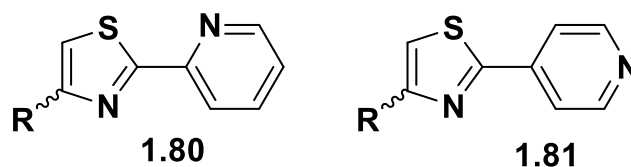


Рис. 1.20 Структури піридин-заміщених тіазолів 1.80, 1.81

Gülhan Turan-Zitouni та співавтори описали синтез низки похідних 2-[(бензазол-2-іл)тіоацетиламіно]тіазолу 1.82 шляхом взаємодії похідних 4-метил-2-(хлороацетиламіно)тіазолу з бензазол-2-тіолом в ацетоні у присутності  $K_2CO_3$ . Результати скринінгу показали, що 2- та 5-заміщені похідні бензазолу проявляють значну антимікробну активність щодо грампозитивних бактерій і *E. coli*, а також грибків роду *C. albicans* [67] (Рис. 1.21).

Nitin D. Gaikwad та співавтори описали синтез серії нових 1-[4-(2,3,4-заміщений-феніл)тіазол-2-іл]-3-(2,3,4-заміщений-феніл)-1*H*-піразол-4-карбальдегідів 1.83, 4-[4-(4-заміщений-феніл)тіазол-2-іл]-3-(4-заміщений-феніл)-1-феніл-1*H*-піразолів 1.84 і 4-[4-(4-заміщений-феніл)тіазол-2-іл]-1-феніл-1*H*-піразол-3-амінів 1.85 з використанням формілювання за Вільсмаєром–Хааком і реакції Ганча з високими виходами. Більшість синтезованих сполук продемонстрували помірну або добру активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також обох досліджених видів грибів [68] (Рис. 1.21).

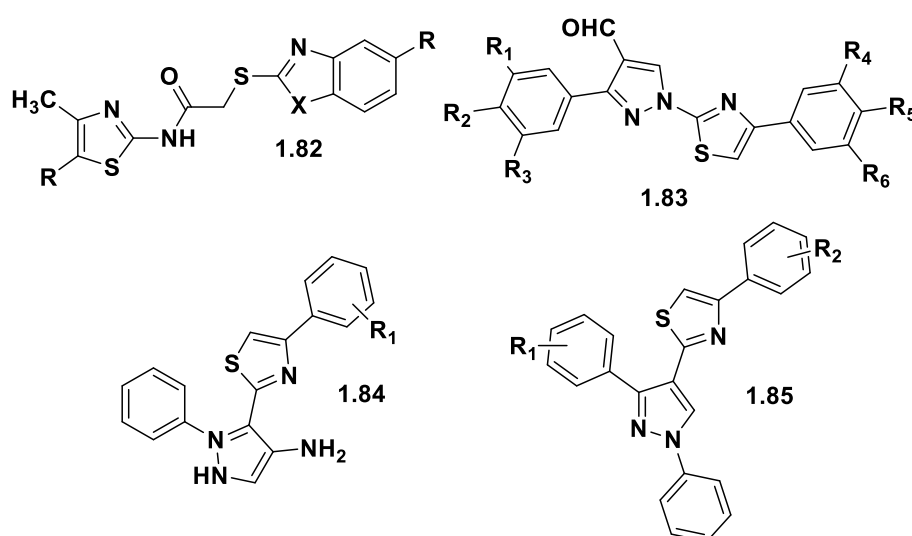


Рис. 1.21 Структури піридин-заміщених тіазолів 1.82-1.85

Yurttaş L. повідомив про синтез різних сполук, що містять тiazольні та пірольні цикли, з'єднані гідразоновим містком. Цільові сполуки синтезували, виходячи з пірол-2-карбальдегідів, які безпосередньо взаємодіяли з тиосемікарбазидом в етанолі з утворенням тиосемікарбазонів. Останні далі конденсували з похідними  $\alpha$ -бромоацетофенону (реакція Ганча), що приводило до утворення 1-заміщених пірол-2-карбальдегід-[4-(4-заміщений феніл)-1,3-тіазол-2-іл]гідразонів 1.86.

За допомогою методу мікробульйонного розведення сполуки було досліджено на антибактеріальну та протигрибкову активність щодо дванадцяти різних мікроорганізмів. Як стандартні препарати використовували кетоконазол і хлорамфенікол. Усі синтезовані сполуки продемонстрували добру активність проти *S. aureus* та *Enterococcus faecalis* [69] (Рис. 1.22).

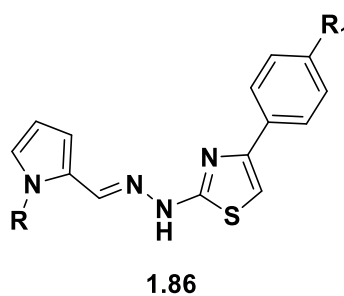


Рис. 1.22 Структура похідних пірол-2-карбальдегід-[4-(4-заміщений феніл)-1,3-тіазол-2-іл]гідразонів 1.86

Сульфаніламідни — це синтетичні антибіотики (сульфапрепарати), які діють як конкурентні інгібітори ферменту дигідрофтоатсинтази (DHPS) [70,71]. DHPS каталізує перетворення пара-амінобензоату на дигідрофтоат — ключовий етап біосинтезу фолатів. Фолати необхідні клітинам для синтезу нуклеїнових кислот, тому сульфаніламідні антибактеріальні засоби чинять бактеріостатичну, а не бактерицидну дію.

Сульфаніламідни не впливають на клітини ссавців цим механізмом, оскільки організм людини потребує готової фолієвої кислоти та не здатний синтезувати її самостійно. Вони мають широкий спектр активності щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій. Водночас поширеною є резистентність до сульфаніламідів, тому їх часто застосовують у комбінації з триметопримом, який

блокує інший етап метаболізму фолієвої кислоти, що знижує ризик виникнення резистентних штамів.

Різні сульфпрепарати містять у структурі різні гетероциклічні фрагменти, зокрема піримідинові, оксазолові та тiazолові (сульфатіазол) 1.87, але мають спільне хімічне ядро — п-амінобензолсульфонамід [72] (Рис. 1.23).

Противірибкові засоби застосовують для лікування грибкових інфекцій, таких як мікози шкіри (стопа атлета, стригучий лишай), кандидози, а також тяжкі системні інфекції (наприклад, криптококовий менінгіт) та інші. До азольних антимікотиків належать імідазоли, триазоли та тiazоли, які інгібують цитохром Р450-залежний фермент 14-стеролдегідеметилазу. Цей фермент каталізує перетворення ланостеролу на ергостерол — компонент, необхідний для синтезу клітинної мембрани грибів.

Препарати також можуть впливати на синтез стероїдів у людини, що зумовлює пригнічення росту грибів. Серед гетероциклічних аналогів тiazолу, які застосовуються як противірибкові засоби, відомі ізавуконазол 1.88 [73,74] та равуконазол 1.89 [75–78] (Рис. 1.23).

Abafungin 1.90 є першим представником нового класу синтетичних противірибкових сполук — арилгуанідинів [79,80]. Його вперше синтезовано в компанії Bayer AG (Леверкузен, Німеччина), а противірибкову дію було виявлено під час скринінгу антагоністів H<sub>2</sub>-рецепторів, створених на основі структури фамотидину. Абафунгін проявив потужну противірибкову активність (Рис. 1.23).

Дослідження механізму дії показали, що абафунгін чинить ефект незалежно від фази росту патогенів (як у фазі росту, так і у стані спокою). Однією з його мішеней є інгібування трансметилування в положенні С-24 бічного ланцюга стеролу, яке каталізується ферментом стерол-С-24-метилтрансферазою. Інший механізм дії, ймовірно, пов'язаний із безпосереднім впливом на клітинну мембрану грибів [81,82] (Рис. 1.23).

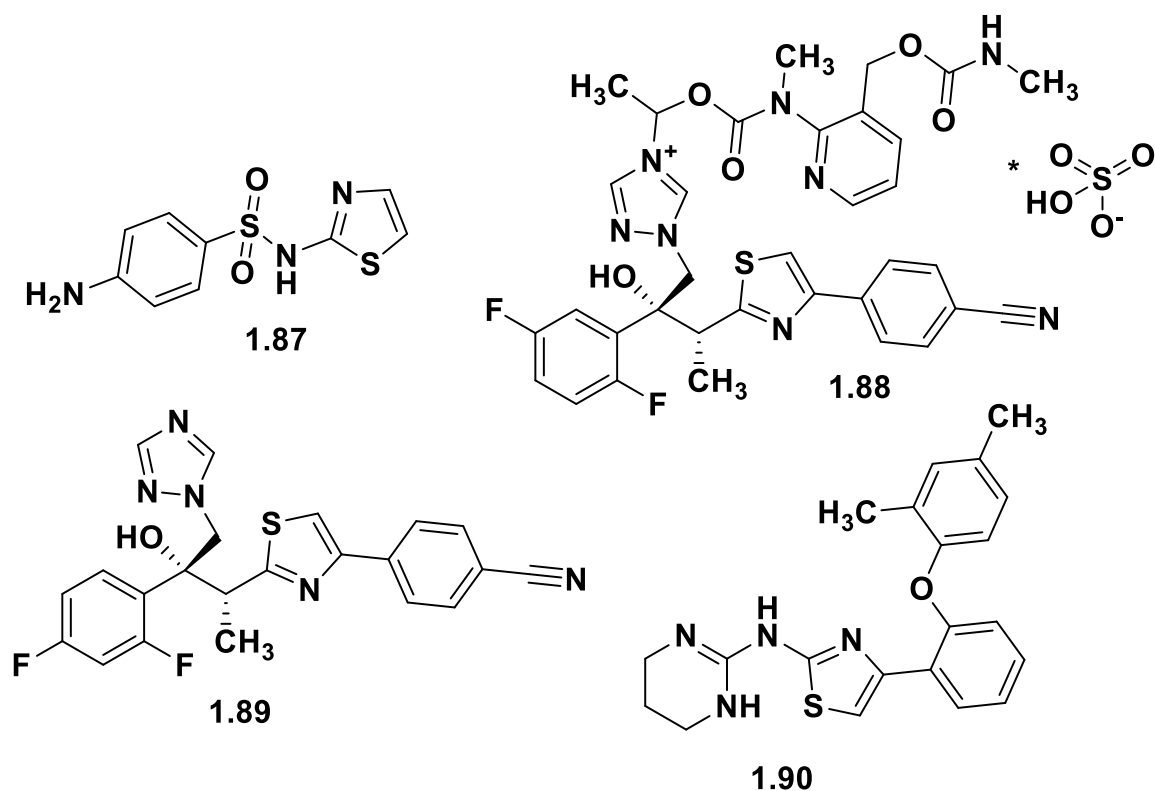


Рис. 1.23 Структури антибактеріальних і протигрибкових препаратів на основі тіазолу 1.87-1.90

У представленому огляді літератури систематизовано сучасні наукові дані щодо лікувального потенціалу похідних тіазолідину, тіадіазолу та тіазолу як перспективних фармакофорних структур у медичній хімії. Проаналізовано результати експериментальних досліджень, що підтверджують виражену антимікробну активність тіазолідину, 1,3,4-тіадіазолів і тіазолів щодо широкого спектра бактеріальних і грибкових патогенів, включно з резистентними штамми.

Показано, що структурна варіабельність цих гетероциклічних систем і різноманіття механізмів їхньої біологічної дії створюють підґрунтя для раціонального молекулярного дизайну нових протимікробних агентів. Узагальнення наведених даних свідчить про доцільність подальшого цілеспрямованого пошуку та оптимізації похідних тіадіазолу, тіазолідину та тіазолу з метою підвищення їхньої ефективності, селективності та безпечності.

Таким чином, результати аналізу літератури підтверджують значний потенціал зазначених сполук як перспективної основи для розробки нових лікарських засобів антимікробної дії та обґрунтовують актуальність подальших досліджень у цьому напрямі.

*Результати досліджень цього розділу наведено в наступних публікаціях:*

1. Khamitova Zh., Berillo D., Lozynskyi A., Konechnyi Y., Mural D., Georgiyants V., Lesyk R. Thiadiazole and Thiazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Mini Rev. Med. Chem.* 2024. Vol. 24. P. 531–545. DOI: 10.2174/1389557523666230713115947.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Синтез похідних тiazолідину та структурних аналогів

Температури плавлення визначали у відкритих капілярних трубках за допомогою приладу для визначення температури плавлення BÜCHI B-545 (BÜCHI Labortechnik AG, Флавіль, Швейцарія) та Cole-Parmer IA9200 (Antylia Scientific Ltd., Стоун, Велика Британія) без внесення поправок.

Елементний аналіз (C, H, N) проводили на аналізаторі Perkin-Elmer 2400 CHN (PerkinElmer, Волтем, Массачусетс, США) та Thermo Scientific FlashSmart Elemental Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Волтем, Массачусетс, США); отримані результати відхилялися від теоретичних значень не більше ніж на  $\pm 0,4$  %.

Спектри  $^1\text{H}$  (500 МГц) та  $^{13}\text{C}$  (126 МГц) реєстрували на спектрометрі Bruker AVANCE-500 (Bruker, Бремен, Німеччина) та спектри  $^1\text{H}$  (400 МГц) та  $^{13}\text{C}$  (100 МГц) реєстрували на спектрометрі Varian Unity Plus 400 (400 МГц) (Varian Inc., Пало-Альто, Каліфорнія, США). Усі спектри записували при кімнатній температурі, якщо не зазначено інше, з внутрішнім стандартуванням за частотами розчинника. Хімічні зсуви ( $\delta$ ) наведені в ppm, а константи спінової взаємодії (J) — у Гц.

LC–MS спектри отримували на приладі Finnigan MAT INCOC-50 (Thermo Finnigan LLC, Сан-Хосе, Каліфорнія, США).

Інфрачервоні спектри ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , KBr) визначали на спектрометрі Shimadzu IRSpirit-TX (Японія).

Перебіг реакції контролювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) із використанням комерційних пластинок на скляній підкладці (Merck Kieselgel 60 F254).

Комерційно доступні розчинники та реагенти використовували без додаткового очищення.

## 2.2 Визначення антимікробної активності сполук 3.1b-3.49b

Дослідження проводилось на базі Центр молекулярного дизайну, досліджень лікарських засобів та біологічно-активних сполук Державного некомерційного товариства «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». Антимікробну активність синтезованих гібридних похідних 4-тіазолідинону, які у своїй структурі містять 5-нітрофурановий фрагмент як потенційно фармакофорно значущий структурний елемент, оцінювали методом дифузії в агар відповідно до стандартизованого протоколу EUCAST Disk Diffusion Method (version 8.0, 2020), а також із урахуванням сучасних методичних підходів, описаних у роботах Valouigi та співавторів [83,84]. Використання саме цього підходу обумовлене його високою відтворюваністю, можливістю порівняння результатів між різними лабораторіями та широким застосуванням у первинному скринінгу нових біологічно активних сполук.

Для проведення дослідження було сформовано панель мікроорганізмів, яка включала як референтні, так і клінічні ізоляти з різними фенотиповими характеристиками та рівнями антибіотикорезистентності, що дозволило більш повно охарактеризувати спектр антимікробної дії синтезованих сполук. До складу тест-набору входили п'ять грампозитивних та сім грамнегативних бактеріальних штамів. Серед грампозитивних бактерій використовували *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (референтний небіоплівкоутворюючий штам ATCC 12228), а також клінічний біоплівкоутворюючий штам *Staphylococcus aureus* № b2. Його здатність до формування біоплівки підтверджували шляхом визначення оптичної щільності методом кристалічного фіолетового у 96-лункових планшетах за методом Крістенсена, а також молекулярно-біологічними методами, зокрема полімеразною ланцюговою реакцією для детекції генів *icaA* та *icaD*, асоційованих із синтезом міжклітинного полісахаридного матриксу.

До грамнегативних мікроорганізмів було включено клінічні ізоляти *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, а також референтний штам *Raoultella ornithinolytica* (ATCC 31898), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), клінічний MDR-штам *Acinetobacter baumannii*, MDR-штам *Escherichia coli*, а також представників роду *Enterococcus spp.* (не-MDR). Такий вибір мікроорганізмів зумовлений їхньою клінічною значущістю, поширеністю у госпітальних інфекціях та здатністю до формування резистентності до сучасних антимікробних препаратів.

Окрім бактеріальних культур, до дослідження були залучені грибкові тест-об'єкти, зокрема два штами дріжджоподібних грибів *Candida albicans* (ATCC 885-653 та клінічний ізолят), один штам пліснявого гриба *Aspergillus niger*, а також непатогенний штам *Lactobacillus fermentum* і штам *Corynebacterium diphtheriae*, що дало можливість оцінити антимікробний потенціал сполук у ширшому спектрі біологічних мішеней.

Ідентифікацію всіх референтних та клінічних культур здійснювали із застосуванням сучасного високоточного методу MALDI-TOF MS (матрично-активована лазерна десорбція/іонізація з аналізом часу прольоту) із використанням системи Bruker MALDI Biotyper компанії Bruker Daltonics, що дозволяло достовірно підтвердити видову належність досліджуваних мікроорганізмів та мінімізувати ризик помилкової інтерпретації результатів.

Перед внесенням на поживні середовища мікробні суспензії стандартизували до 0,5 одиниці за шкалою МакФарланда, що відповідало приблизно  $1 \times 10^3$  КУО/мл, після чого проводили висів на агар Мюллера–Гінтона (M173, HiMedia Laboratories) для бактеріальних культур або на агар Сабуро для грибів. Досліджувані сполуки наносили на стерильні паперові диски у кількості 20 мкл розчину з концентрацією 5 мг/мл у ДМСО з подальшим висушуванням при кімнатній температурі до повного випаровування розчинника. Після цього диски переносили на поверхню інокульованого агару.

Інкубацію проводили за оптимальних температурних режимів: для бактерій — при 37 °C протягом 24–48 годин, тоді як для грибових культур —

при 28 °С упродовж від 48 годин до 14 діб залежно від швидкості росту тест-культури. Для штамів, здатних до біоплівкоутворення, додатково встановлено наявність гена *roh*, який асоціюється з механізмами формування біоплівкової структури та підвищеною стійкістю до антимікробних агентів.

Для визначення активності щодо *Corynebacterium diphtheriae* використовували окремий протокол: 20 мкл розчину досліджуваної сполуки (5 мг/мл) наносили на диск діаметром 5,5 мм, висушували та розміщували на поверхні поживного агару виробництва Biolife Italiana, збагаченого 3% еритромасою. Після цього поверхню інокулювали бактеріальною суспензією стандартної щільності та інкубували при 37 °С протягом 24–48 годин.

Як препарати порівняння використовували Ciprofloxacin, Fluconazole та Amphotericin B, що застосовувалися як позитивні контролю, тоді як негативним контролем слугував чистий ДМСО, що дозволяло оцінити відсутність власної антимікробної активності розчинника.

Усі експериментальні визначення проводили у трьох незалежних повторностях ( $n = 3$ ), що забезпечувало статистичну достовірність отриманих результатів. Результати виражали як середнє значення  $\pm$  стандартне відхилення, при цьому величина стандартного відхилення не перевищувала 0,7 мм, що свідчить про високу відтворюваність експерименту.

Інтерпретацію антимікробної активності здійснювали за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо диска: до 8 мм — сполуки вважали неактивними; 9–15 мм — характеризували як такі, що проявляють низьку активність; 16–25 мм — відносили до сполук із помірною антимікробною дією; понад 25 мм — до високоефективних антимікробних агентів. Такий підхід дозволяв стандартизовано порівнювати біологічну активність усіх синтезованих похідних між собою та визначати перспективні структури для подальших поглиблених фармакологічних досліджень.

### 2.3 Визначення антимікробної активності сполук 4.1-4.32

Дослідження проводилось на базі Центр молекулярного дизайну, досліджень лікарських засобів та біологічно-активних сполук Державного некомерційного товариства «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». У межах дослідження *in vitro* для оцінки антимікробного потенціалу синтезованих сполук було використано панель із восьми тест-мікроорганізмів, яка включала п'ять грампозитивних бактерій, дві грамнегативні бактерії та один представник дріжджоподібних грибів — *Candida albicans*. Формування такого набору тест-культур дозволяло комплексно охарактеризувати спектр антимікробної дії досліджуваних речовин щодо клінічно значущих патогенів різної таксономічної належності, включаючи як чутливі, так і мультирезистентні ізоляти.

Як стандартні референтні штами використовували *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 = CCM 4224), *Staphylococcus aureus* (MSSA, ATCC 29213 = CCM 4223), *Escherichia coli* (ATCC 25922 = CCM 3954), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 = CCM 3955) та *Candida albicans* (ATCC 90028 = CCM 8161). Усі зазначені референтні культури були отримані з Czech Collection of Microorganisms, що функціонує на базі факультету природничих наук Masaryk University. Використання саме референтних штамів забезпечувало можливість стандартизованого порівняння отриманих результатів із літературними даними та міжнародними протоколами.

Окрім референтних штамів, до дослідження було включено клінічно значущі мультирезистентні бактеріальні ізоляти, що дозволило оцінити перспективність синтезованих сполук щодо мікроорганізмів із сучасними механізмами антибіотикорезистентності. Серед них використовували метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA) штам 4591/A, який характеризувався наявністю білка PBP2a, що визначає резистентність до β-лактамних антибіотиків. Також досліджували ванкоміцин-резистентний *Enterococcus faecium* (VRE) фенотипу VanA 419/ANA, який є одним із

найважливіших госпітальних патогенів через обмежені терапевтичні можливості лікування інфекцій, спричинених цим мікроорганізмом.

До панелі тест-культур додатково включали *Staphylococcus epidermidis* ССМ 7221 — референтний штам із підтвердженою здатністю до біоплівкоутворення, позитивний за іса-опероном, який відповідає за синтез міжклітинного полісахаридного матриксу. Залучення цього штаму мало особливе значення для оцінки потенційної активності нових сполук щодо біоплівкових форм бактерій, які відомі підвищеною толерантністю до антимікробних агентів.

Окрему увагу приділяли штамам із множинною лікарською стійкістю, зокрема резистентним до фторхінолонів унаслідок мутацій гена ДНК-гірази, до аміноглікозидів,  $\beta$ -лактамних антибіотиків, а також ESBL-позитивним штамам, що продукують  $\beta$ -лактамази розширеного спектра дії. Крім того, до дослідження були залучені ізоляти, резистентні до колістину, однак негативні за геном *mec*, що свідчить про альтернативні механізми формування стійкості до поліміксинів.

Штами, які не мали кодування ССМ, були отримані з колекції культур кафедри мікробіології медичного та стоматологічного факультету Palacký University Olomouc. Усі досліджувані мікроорганізми перед початком експериментальної роботи проходили повторну ідентифікацію із застосуванням системи Bruker MALDI Biotyper виробництва Bruker Daltonics, що забезпечувало високу точність видової верифікації. Для довготривалого зберігання культур використовували кріопробірки виробництва ITEST plus при температурі  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , що дозволяло підтримувати стабільність фенотипових властивостей мікроорганізмів.

Антимікробну активність синтезованих сполук визначали методом мікродилуції в рідкому поживному середовищі з установленням мінімальної інгібувальної концентрації (MIC) відповідно до чинних рекомендацій European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Для виконання експерименту застосовували стерильні одноразові мікротитраційні планшети, що забезпечували точність дозування та уніфікацію умов дослідження.

Досліджувані сполуки попередньо розчиняли у середовищі Mueller–Hinton broth, використовуючи середовище виробництва Bio-Rad Laboratories, після чого проводили серійні розведення у відповідних лунках планшета. До кожної лунки вносили стандартизований інокулюм тест-мікроорганізму, при цьому кінцева щільність клітин становила  $5 \times 10^5$  КУО/мл. Така концентрація відповідає міжнародним вимогам до проведення мікродилуційних тестів і забезпечує відтворюваність результатів.

Інкубацію планшетів здійснювали протягом  $18 \pm 2$  годин при температурі  $35 \pm 1$  °C в умовах аеробного культивування. Після завершення інкубації мінімальну інгібувальну концентрацію визначали як найнижчу концентрацію досліджуваної сполуки, за якої візуально не спостерігалось росту мікроорганізмів у середовищі [85]. Такий підхід дозволяє об'єктивно оцінити бактеріостатичний або фунгістатичний потенціал досліджуваних речовин.

Поряд із визначенням МІС додатково встановлювали мінімальну бактерицидну концентрацію (МВС), яка характеризує найменшу концентрацію речовини, необхідну для повного незворотного пригнічення життєздатності мікроорганізму після певного часу експозиції. Це є важливим критерієм для розмежування бактеріостатичної та бактерицидної дії нових сполук.

Для визначення значень МВС із лунок, у яких після інкубації не спостерігалось видимого росту, відбирали по 1 мкл середовища та висівали на тверді поживні середовища: для бактеріальних культур — на кров'яний агар, для дріжджових грибів — на глюкозо-пептонний агар виробництва Trios. Після цього чашки додатково інкубували протягом  $18 \pm 2$  годин при температурі  $35 \pm 1$  °C.

Значення МВС визначали як найнижчу концентрацію досліджуваної сполуки, при якій після повторного висіву повністю була відсутня поява мікробних колоній. Такий підхід дозволяє більш повно охарактеризувати антимікробний профіль досліджуваних молекул та оцінити їхню перспективність для подальших фармакологічних досліджень.

## 2.4 Визначення мінімальної інгібувальної концентрації (МІС)

Для оцінки антимікробної ефективності синтезованих сполук у дослідженні було використано панель тест-мікроорганізмів, до складу якої входили як референтні, так і клінічні штами бактерій і грибів, що відрізнялися за біологічними властивостями, здатністю до біоплівкоутворення та клінічною значущістю. Такий підхід дозволяв отримати більш повну характеристику спектра антимікробної дії досліджуваних молекул та оцінити їхню потенційну ефективність щодо мікроорганізмів із різними механізмами адаптації до антимікробного впливу.

До числа бактеріальних тест-культур було включено *Staphylococcus aureus subsp. aureus* — референтний біоплівкоутворюючий штам АТСС 25923, який широко використовується як стандартний контроль у дослідженнях антимікробної активності завдяки стабільності фенотипових характеристик і добре вивченому профілю чутливості до антибактеріальних агентів. Крім того, використовували клінічний біоплівкоутворюючий штам *Staphylococcus aureus* № b2, що дозволяло оцінити активність сполук щодо клінічних ізолятів із підвищеним рівнем адаптаційної стійкості.

Серед грамнегативних бактерій до експерименту залучали *Pseudomonas aeruginosa* — референтний штам АТСС 10145, який є типовим представником неферментуючих грамнегативних бактерій із природною стійкістю до багатьох антибактеріальних препаратів, а також клінічний штам *Klebsiella pneumoniae* (216), що належить до числа поширених збудників госпітальних інфекцій. Додатково використовували *Raoultella ornithinolytica* DSM 7464 (176), який представляє умовно-патогенну мікрофлору родини *Enterobacteriaceae* та останніми роками привертає увагу у зв'язку зі зростанням кількості клінічних випадків інфекцій, спричинених цим мікроорганізмом.

Для оцінки протигрибкової активності синтезованих сполук було використано два штами *Candida albicans*: референтний штам АТСС 885-653 та клінічний ізолят *Candida albicans* № 85. Використання як стандартного, так і

клінічного грибкового штаму дозволяло порівняти дію досліджуваних речовин щодо лабораторно стандартизованих і клінічно релевантних форм грибів, що мають різну чутливість до антимікотичних агентів.

Визначення мінімальної інгібувальної концентрації (MIC) проводили методом мікродилуції у рідкому поживному середовищі відповідно до міжнародно визнаних стандартів Clinical and Laboratory Standards Institute: протоколу M07-A10 для бактеріальних культур і M27-A3 для дріжджових грибів. Застосування стандартизованої методики забезпечувало відтворюваність отриманих результатів і можливість їх коректного порівняння з даними інших досліджень.

Маточні розчини досліджуваних сполук готували у диметилсульфоксиді (ДМСО) в концентрації 5 мг/мл, що забезпечувало повне розчинення синтезованих похідних і стабільність при подальшому серійному розведенні. Надалі отримані розчини послідовно розводили у бульйоні Мюллера–Гінтона для бактеріальних тест-культур або в бульйоні Сабуро для грибкових штамів до досягнення кінцевого діапазону концентрацій від 0,09 до 64 мкМ. Важливо, що кінцева концентрація ДМСО в усіх дослідних лунках не перевищувала 1%, що виключало можливий власний антимікробний вплив розчинника на результати тестування.

Для постановки експерименту використовували стерильні 96-лункові мікропланшети, у кожену лунку яких вносили по 100 мкл відповідного розведення сполуки та 100 мкл стандартизованої суспензії мікроорганізму. Інокулюм попередньо стандартизували до 0,5 одиниці за шкалою МакФарланда, що відповідало приблизно  $1 \times 10^3$  КУО/мл. Така стандартизація щільності клітин є критично важливою для забезпечення однакових умов росту тест-культур у всіх дослідних серіях.

Інкубацію мікропланшетів проводили за температурних режимів, оптимальних для росту відповідних мікроорганізмів: бактеріальні культури інкубували при 37 °С протягом 24 годин, тоді як грибові культури — при 28 °С упродовж 48 годин. Після завершення інкубації ріст мікроорганізмів оцінювали

спочатку візуально, а далі підтверджували колориметрично шляхом внесення 0,01% розчину резазурину.

Застосування резазурину дозволяло підвищити точність визначення МІС, оскільки цей індикатор у присутності метаболічно активних клітин змінює колір із синього на рожевий, що свідчить про життєздатність мікроорганізмів і збереження їхнього росту [83]. Відсутність зміни кольору в лунці розцінювали як повне пригнічення росту тест-культури.

Мінімальну інгібувальну концентрацію визначали як найнижчу концентрацію досліджуваної сполуки, за якої не спостерігалось видимого росту мікроорганізмів і не відбувалося колориметричної трансформації резазурину. Як препарати порівняння для оцінки відносної активності синтезованих сполук використовували Ciprofloxacin для бактеріальних штамів та Fluconazole для грибкових культур. Негативним контролем у всіх експериментальних серіях слугував чистий ДМСО.

Кожне визначення проводили у трьох незалежних повторностях, що забезпечувало статистичну достовірність отриманих результатів і мінімізувало вплив випадкових експериментальних відхилень. Значення МІС виражали у мкМ, що дозволяло коректно порівнювати активність сполук незалежно від їхньої молекулярної маси.

Для більш системної інтерпретації результатів усі синтезовані сполуки розподіляли на чотири групи залежно від рівня антимікробної активності. До першої групи відносили високоактивні сполуки зі значенням МІС  $\leq 0,18$  мкМ. Другу групу становили сполуки з помірною активністю у межах 0,19–7,63 мкМ. До третьої групи включали низькоактивні похідні, для яких значення МІС перевищувало 7,63 мкМ. Четверту групу формували сполуки, що не виявляли пригнічення росту тест-мікроорганізмів у досліджуваному концентраційному діапазоні.

Такий підхід до класифікації забезпечував можливість швидкої порівняльної оцінки антимікробного потенціалу досліджуваних структур і

дозволяв виділити найбільш перспективні молекули для подальших етапів фармакологічного вивчення.

## 2.5 Клітинні лінії

Псевдонормальні клітинні лінії BALB-3T3 (фібробласти ембріона миші) та HaCaT (кератиноцити епідермісу людини), а також ракова клітинна лінія MDA-MB-231 (трипл-негативний рак молочної залози людини) були надані Колекцією Інституту молекулярної біології і генетики Національної академії наук України (Київ, Україна).

Клітини раку товстої кишки HCT-116 були передані Колекцією Інституту дослідження раку Медичного університету Відня (Відень, Австрія).

Клітинні лінії Ba/F3 — модель мієлопроліферативних неоплазій — були надані для досліджень проф. Робертом Краловіцем (Медичний університет Відня).

Клітини культивували в середовищі Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Biowest, Франція) або RPMI-1640 (Biowest, Франція), що містили 10% фетальної бичачої сироватки (FBS, Biowest, Франція), відповідно до рекомендацій Американської колекції типових культур (ATCC), в умовах інкубації при 37 °C у зволоженій атмосфері з 5% CO<sub>2</sub>.

## 2.6 МТТ-тест для визначення життєздатності клітин

Дослідження проводилось на базі Центру молекулярного дизайну, досліджень лікарських засобів та біологічно-активних сполук Державного некомерційного товариства «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». Життєздатність клітинних ліній після інкубації з досліджуваними сполуками оцінювали за допомогою колориметричного МТТ-тесту, який належить до найбільш поширених і стандартизованих методів визначення цитотоксичної активності нових біологічно активних речовин *in vitro*.

Метод ґрунтується на здатності метаболічно активних клітин відновлювати жовтий тетразолієвий барвник 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразолію бромід до нерозчинних фіолетових кристалів формазану під дією мітохондріальних дегідрогеназ, що дозволяє кількісно оцінити рівень клітинної життєздатності після впливу тестованих сполук.

Для проведення дослідження використовували реагент Sigma-Aldrich 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразолію бромід (МТТ), який готували відповідно до інструкції виробника безпосередньо перед внесенням у клітинні культури. Використання цього реагенту забезпечувало високу чутливість методу та можливість відтворюваного визначення цитотоксичного ефекту досліджуваних речовин.

Клітини висівали у стерильні 96-лункові планшети з урахуванням особливостей росту кожної клітинної лінії: для адгезивних культур використовували по 6 000 клітин на лунку, тоді як для клітин, що ростуть у суспензії, — по 15 000 клітин на лунку. Кожну лунку заповнювали 100 мкл відповідного живильного середовища. Для культивування використовували середовища DMEM або RPMI-1640 виробництва Sigma-Aldrich, вибір яких здійснювали відповідно до біологічних потреб конкретної клітинної лінії та рекомендацій American Type Culture Collection.

Після висіву клітини попередньо адаптували до умов культивування, а далі інкубували протягом 72 годин при температурі 37 °C у стандартному CO<sub>2</sub>-інкубаторі з контрольованою атмосферою, що містила 5% CO<sub>2</sub> і підтримувала оптимальні умови для росту клітин. Досліджувані сполуки вносили у трьох концентраціях — 5, 10 та 50 мкМ, що дозволяло оцінити дозозалежний характер цитотоксичної дії. Для кожної концентрації проводили три технічні повтори, що забезпечувало надійність експериментальних результатів і знижувало вплив випадкових коливань.

Після завершення інкубаційного періоду живильне середовище обережно видаляли з лунок для уникнення механічного пошкодження клітинного моношару або втрати клітинної суспензії. Далі до кожної лунки додавали розчин

МТТ до кінцевої концентрації 0,5 мг/мл відповідно до рекомендацій виробника та інкубували клітини ще протягом 4 годин за тих самих температурних умов. За цей період життєздатні клітини відновлювали тетразолієвий реагент із формуванням нерозчинних внутрішньоклітинних кристалів формазану.

Після завершення реакції супернатант видаляли, а утворені кристали формазану розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО), що забезпечувало повне переведення продукту реакції в однорідний розчин для подальшого спектрофотометричного аналізу. Оптичну густина отриманих розчинів визначали із застосуванням мікропланшетного спектрофотометра BioTek ELx800 виробництва BioTek Instruments при довжині хвилі 490 нм, яка є оптимальною для реєстрації абсорбції формазану.

Отримані значення оптичної густини використовували для розрахунку відсотка виживання клітин порівняно з контрольними лунками, що не містили досліджуваних сполук. На основі побудови дозо-відповідних кривих визначали значення  $IC_{50}$ , тобто концентрацію сполуки, яка викликає зниження життєздатності клітин на 50% відносно контролю.

Розрахунок значень  $IC_{50}$  проводили із застосуванням програмного забезпечення GraphPad Prism (San Diego, United States), яке дозволяє здійснювати нелінійну регресію та статистичну обробку біомедичних даних із високою точністю. Отримані результати виражали у мікромольній концентрації (мкМ) та подавали у вигляді середнього значення  $\pm$  стандартне відхилення трьох незалежних експериментів, кожен із яких був виконаний у трикратній повторності [86].

Такий підхід забезпечував високу достовірність оцінки цитотоксичної активності синтезованих сполук, дозволяв виявити концентраційно залежні ефекти та виділити найбільш перспективні молекули для подальших поглиблених досліджень протипухлинного потенціалу.

## 2.7 Фармакокінетичне моделювання та токсикологічні властивості

Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук, а також їхні ключові фармакокінетичні параметри, пов'язані з процесами абсорбції, розподілу, метаболізму, елімінації та токсичності (ADMET), визначали за допомогою онлайн-платформи SwissADME, розробленої Swiss Institute of Bioinformatics [87]. Використання цього ресурсу дозволяє на ранніх етапах дослідження нових молекул оцінити їхню потенційну придатність як лікоподібних структур без необхідності проведення трудомістких експериментальних фармакокінетичних досліджень.

Під час аналізу для кожної сполуки розраховували базові фізико-хімічні параметри, зокрема молекулярну масу, кількість донорів і акцепторів водневих зв'язків, ліпофільність, полярну поверхню молекули, кількість ротованих зв'язків та інші дескриптори, що є важливими для попередньої оцінки лікоподібності молекули. Окрему увагу приділяли відповідності синтезованих структур основним емпіричним критеріям лікоподібності, зокрема правилам Ліпінського, Ghose, Veber, Egan та Muegge, що дозволяє прогнозувати ймовірність пероральної біодоступності та здатність молекули до ефективного проникнення через біологічні мембрани.

Крім фізико-хімічних дескрипторів, за допомогою платформи SwissADME оцінювали параметри всмоктування у шлунково-кишковому тракті, проникнення через гематоенцефалічний бар'єр, потенційну взаємодію з транспортними білками, зокрема P-glycoprotein, а також прогнозували можливу інгібувальну дію щодо основних ізоформ цитохрому P450, що має важливе значення для попереднього аналізу метаболічної стабільності та ризику міжлікарських взаємодій.

Оцінка фармакокінетичних характеристик дозволяла встановити, наскільки синтезовані похідні відповідають сучасним вимогам до перспективних біологічно активних молекул, а також виявити структурні особливості, які

можуть позитивно або негативно впливати на їхню потенційну біодоступність і фармакологічну ефективність.

Для попереднього аналізу безпечності синтезованих сполук додатково проводили **in silico** прогноз токсикологічного профілю з використанням онлайн-платформи ProTox-II [88], яка базується на алгоритмах машинного навчання та структурно-активнісних залежностях. Цей підхід дозволяє ще на ранньому етапі досліджень виявити потенційні ризики токсичної дії нових молекул і визначити доцільність їх подальшого фармакологічного вивчення.

За допомогою ProTox-II прогнозували показники органоспецифічної токсичності, зокрема потенційну гепатотоксичність, що має особливе значення з огляду на центральну роль печінки у біотрансформації ксенобіотиків. Окрім цього, аналізували основні токсикологічні кінцеві точки, включаючи канцерогенний потенціал, імунотоксичність, мутагенність та цитотоксичність.

Комплексне використання платформ SwissADME та ProTox-II забезпечувало можливість одночасної оцінки фармакокінетичного профілю та прогнозованої безпечності синтезованих сполук, що є важливим етапом сучасного раціонального дизайну біологічно активних молекул. Такий підхід дозволяє на доклінічному етапі відбирати найбільш перспективні структури для подальших біологічних досліджень, знижуючи ймовірність відбору сполук із несприятливими фармакокінетичними або токсикологічними характеристиками.

## 2.8 Молекулярний докінг та молекулярно-динамічні симуляції

### *Молекулярний докінг*

Молекулярно-докінгові дослідження проводили з метою поглибленого аналізу можливих механізмів взаємодії синтезованих сполук із потенційними біологічними мішенями, що можуть бути залучені до реалізації їхньої антимікробної активності. Застосування *in silico* підходів на цьому етапі дозволяє не лише оцінити афінність нових молекул до активних центрів ферментів, а й

встановити характер ключових міжмолекулярних взаємодій, що можуть визначати біологічну ефективність досліджуваних структур.

Як молекулярні мішені для докінгового аналізу було обрано фермент UDP-N-ацетиленолпірувілглюкозамін-редуктазу — MurB, структура якого представлена у Protein Data Bank під кодом 1HSK, а також АТФазний домен субодиниці В бактеріальної ДНК-гірази — DNA gyrase subunit B, для якого використовували кристалографічну структуру з кодом 3G7E [85, 89–104]. Вибір саме цих мішеней обумовлений їхньою ключовою роллю у життєво важливих процесах бактеріальної клітини: фермент MurB бере участь у біосинтезі пептидоглікану клітинної стінки бактерій, тоді як DNA gyrase subunit B забезпечує процеси реплікації бактеріальної ДНК через регуляцію топологічного стану генетичного матеріалу.

Перед початком основних молекулярно-докінгових розрахунків обов'язково проводили валідацію обраного протоколу, оскільки цей етап є необхідним для підтвердження надійності та відтворюваності використаної методики моделювання. Валідацію здійснювали шляхом повторного докінгу (**redocking**) ко-кристалізованих лігандів у відповідні активні центри досліджуваних білкових мішеней із подальшим порівнянням отриманого просторового розташування лігандів із їхнім експериментально встановленим положенням у кристалічній структурі білка.

Для ферменту MurB як контрольний ліганд використовували кофактор FAD, присутність якого в активному центрі є критично важливою для функціонування ферменту та забезпечує коректне відтворення просторової організації зв'язувального сайту. Для системи DNA gyrase subunit B у ролі референтного ліганда застосовували B46 — ко-кристалізовану молекулу, що специфічно взаємодіє з АТФазною кишенею ферменту.

Якість відтворення докінгової моделі оцінювали шляхом розрахунку середньоквадратичного відхилення координат атомів (**RMSD**) між експериментальною та повторно змодельованою позою ліганда. Отримані значення RMSD в обох випадках були меншими за 2 Å, що відповідає

загальноприйнятим критеріям достовірності докінгового протоколу та свідчить про високу точність реконструкції експериментально встановленої пози зв'язування. Такі результати підтверджують коректність вибору параметрів докінгу, геометрії грид-поля та використаних алгоритмів пошуку, а також обґрунтовують придатність обраної методики для подальшого дослідження синтезованих сполук [95,96].

Як референтні інгібітори для порівняльного аналізу використовували відомий інгібітор MurB — ((2S)-2-[2-[3-(4-трет-бутилфеноксифеніл)-5-[2-[2-(2-хлорофеніл)етиламіно]-2-оксо-етил]-4-оксо-тіазолідинон-3-іл]гексанову кислоту [97], а також В46 як контрольний ліганд для системи DNA gyrase subunit B [96]. Використання референтних структур дозволяло співставити енергію зв'язування та тип міжмолекулярних контактів нових сполук із відомими біологічно активними лігандами.

Тривимірні структури синтезованих лігандів попередньо будували й оптимізували в програмі Avogadro із застосуванням силового поля MMFF94. Геометричну оптимізацію проводили протягом 20 000 ітерацій, використовуючи фізіологічне значення рН 7,4 для моделювання ймовірного стану протонування молекул [98,99]. Такий підхід забезпечував отримання енергетично стабільних конформацій, придатних для докінгового аналізу.

Підготовку білкових структур здійснювали за допомогою AutoDock Tools. На цьому етапі видаляли ко-кристалізовані ліганди та молекули води, додавали полярні атоми Гідрогену та призначали заряди Коллмана відповідно до вимог програмного пакета. Водночас для структури MurB зберігали молекулу FAD як функціонально важливий кофактор, присутність якого є критичною для правильного відтворення конфігурації активного центру.

Підготовлені структури лігандів і білків конвертували у формат PDBQT із використанням програми Open Babel [98], після чого проводили молекулярний докінг у програмному середовищі AutoDock Vina [101,102]. Для підвищення точності пошуку застосовували параметр exhaustiveness = 64, що забезпечує

розширений перебір можливих конформацій лігандів у межах активного центру. Для кожної молекули генерували до 10 можливих поз зв'язування з енергетичним інтервалом не більше 4 ккал/моль.

Для ферменту MurB область докінгу охоплювала ключові амінокислотні залишки активного центру: Ser238, Arg188, Glu308, Tyr187, Lys228, Arg242, His271, Arg225, Tyr149 і Arg310, які безпосередньо залучені до взаємодії з субстратом і кофактором. Для DNA gyrase subunit B грід був орієнтований на АТФ-зв'язувальну кишеню та включав залишки Glu50, Asn46, Gly77 і Thr165. Розмір грід-поля становив  $55 \times 55 \times 55$  точок при кроці 0,375 Å, із координатами центру  $x = 37,528$ ;  $y = 16,222$ ;  $z = 24,583$  Å.

Візуалізацію отриманих комплексів білок–ліганд і аналіз типів міжмолекулярних взаємодій, включаючи водневі зв'язки,  $\pi$ – $\pi$ -стекинг, гідрофобні контакти та електростатичні взаємодії, проводили в програмі Discovery Studio [102]. Це дозволяло деталізувати характер зв'язування синтезованих сполук із досліджуваними біомішенями.

### *Молекулярно-динамічні симуляції*

Для додаткової перевірки стабільності утворених білок-лігандних комплексів після докінгу проводили молекулярно-динамічні симуляції, що дозволяють оцінити поведінку системи в умовах, максимально наближених до фізіологічного середовища, з урахуванням часової еволюції міжмолекулярних взаємодій.

Симуляції виконували із використанням програмного пакета GROMACS [103] на платформі SiBioLead із застосуванням параметрів силового поля AMBERSS9B [105]. Вибір цього силового поля забезпечував коректне моделювання як білкових структур, так і органічних лігандів у водному середовищі.

Підготовлені комплекси попередньо сольватували в прямокутній комірці водною моделлю, після чого систему нейтралізували додаванням іонів натрію та

хлориду до фізіологічної концентрації 0,15 М NaCl. Такий підхід дозволяв відтворити іонну силу середовища, характерну для біологічних умов.

Перед основною динамічною симуляцією проводили стадію енергетичної мінімізації та рівноважну адаптацію системи протягом 1000 пс для усунення можливих структурних напружень. Після цього виконували основну 100-нс молекулярно-динамічну симуляцію з використанням інтегратора leap-frog, при цьому загалом реєстрували 5000 кадрів траєкторії.

Отримані траєкторії аналізували за допомогою вбудованих інструментів GROMACS, а також із використанням Microsoft Excel для подальшої статистичної обробки даних. Аналіз включав оцінку стабільності комплексів, змін конформації білка, поведінки лігандів у зв'язувальному сайті та порівняння отриманих параметрів із відповідними референтними лігандами [105].

Такий комплексний *in silico* підхід дозволяв не лише оцінити первинну афінність синтезованих сполук до біологічних мішеней, а й перевірити стабільність утворених комплексів у часовому масштабі, що суттєво підвищує достовірність прогнозу потенційної біологічної активності.

### РОЗДІЛ 3

## СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ З 5-НІТРОФУРАНОВИМ ФРАГМЕНТОМ

Гібридизація 4-тіазолідинонових скафолдів із нітровмісними фармакофорами є раціональною стратегією в дизайні потенційних антимікробних агентів, що поєднує ефекти та механізми антимікробної дії. Розроблено кілька серій гібридів 4-тіазолідинону, які містять фармакофори 5-нітротіофену [106], 5-нітрофурану [107] та 5-нітротіазолу [108], як перспективні антимікробні агенти.

Багато синтезованих сполук продемонстрували підвищену антибактеріальну активність щодо резистентних штамів, таких як MRSA, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* та метронідазол-резистентний *Helicobacter pylori*. Дослідження молекулярного докінгу підтвердили сприятливі взаємодії найбільш активних сполук із ключовими бактеріальними мішенями, зокрема MurB та уреазою *H. pylori*. Крім того, гібриди нітротіазолу–тіазолідинону продемонстрували вищу активність порівняно зі стандартними антибіотиками при збереженні низької цитотоксичності [106–108].

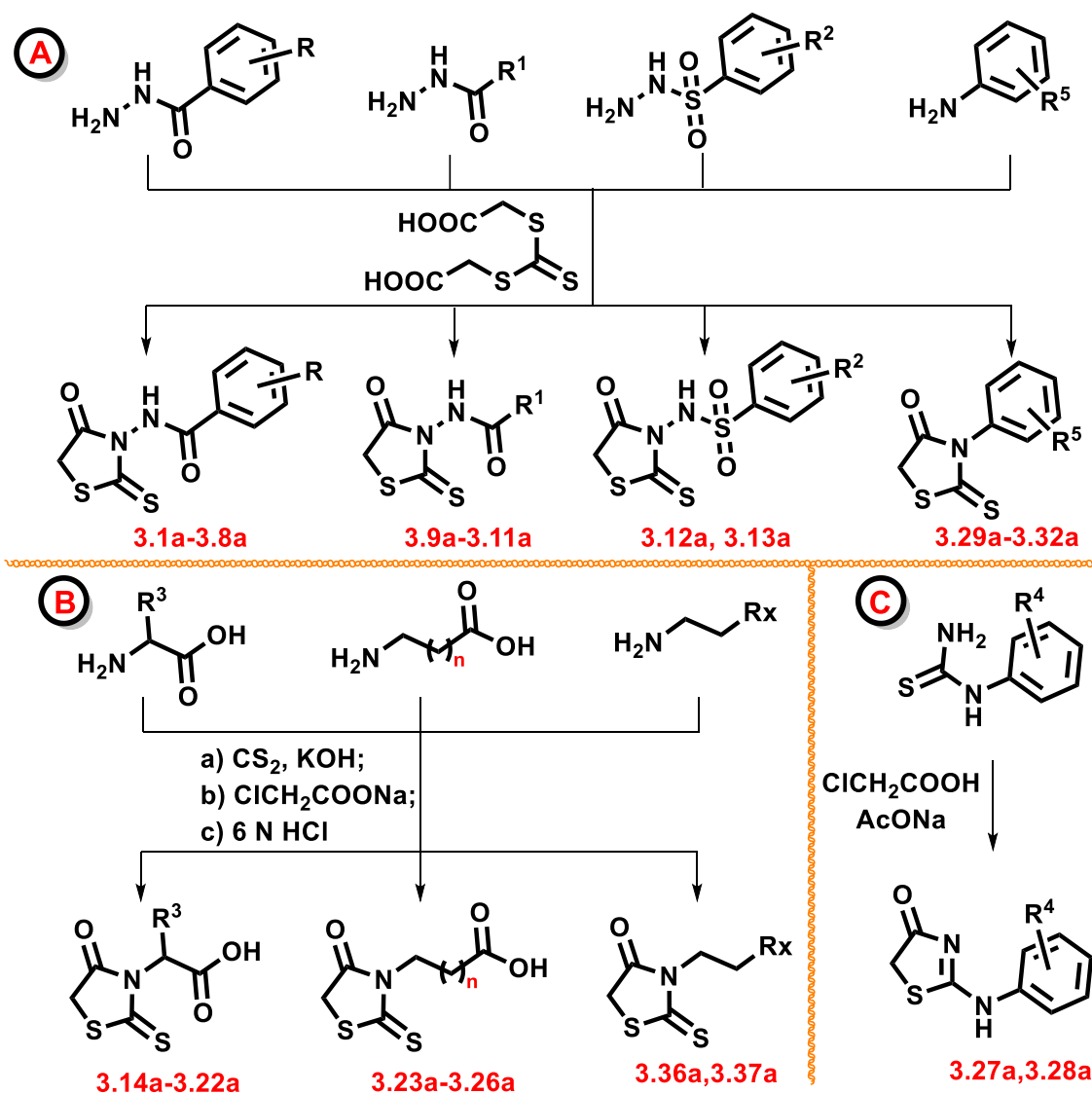
Більше того, гібридизація різноманітних біоактивних скафолдів із 4-тіазолідиноновим ядром є обґрунтованим підходом до створення нових антимікробних агентів. Було синтезовано серію структурно модифікованих гібридів, що містять такі фрагменти, як циклоалкільні [109–111], тіофенові [112], піразольні [113,114], пірольні [115], бензотіазольні [116,117], хінолонові [118], кумаринові [119] та хіноксалінові [120], які були ідентифіковані як сполуки з перспективним антимікробним потенціалом.

Усе вищезазначене свідчить про те, що гібриди, які містять 4-тіазолідиноновий фрагмент, особливо з нітровмісними фармакофорами, є перспективними об'єктами для дизайну нових антибактеріальних і протигрибкових сполук та підкреслює їхній потенціал у створенні агентів, активних проти лікарсько-резистентних штамів

### 3.1 Синтез та фізико-хімічні характеристики 3-заміщених (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідион-4-онів та заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідион-4-онів

На початковому етапі синтез передбачав одержання метилен-активних, структурно модифікованих 4-тіазолідионових скафолдів. Вихідні блоки 3.1a–3.13a та 3.29a–3.32a, що містять роданіновий фрагмент, синтезували з відповідних гідразидів/сульфонамідів/амінів із використанням тіокарбоніл-біс-тіоглікової кислоти як агента гетероциклізації (метод Гольмберга) [121] (Схема 3.1).

Схема 3.1

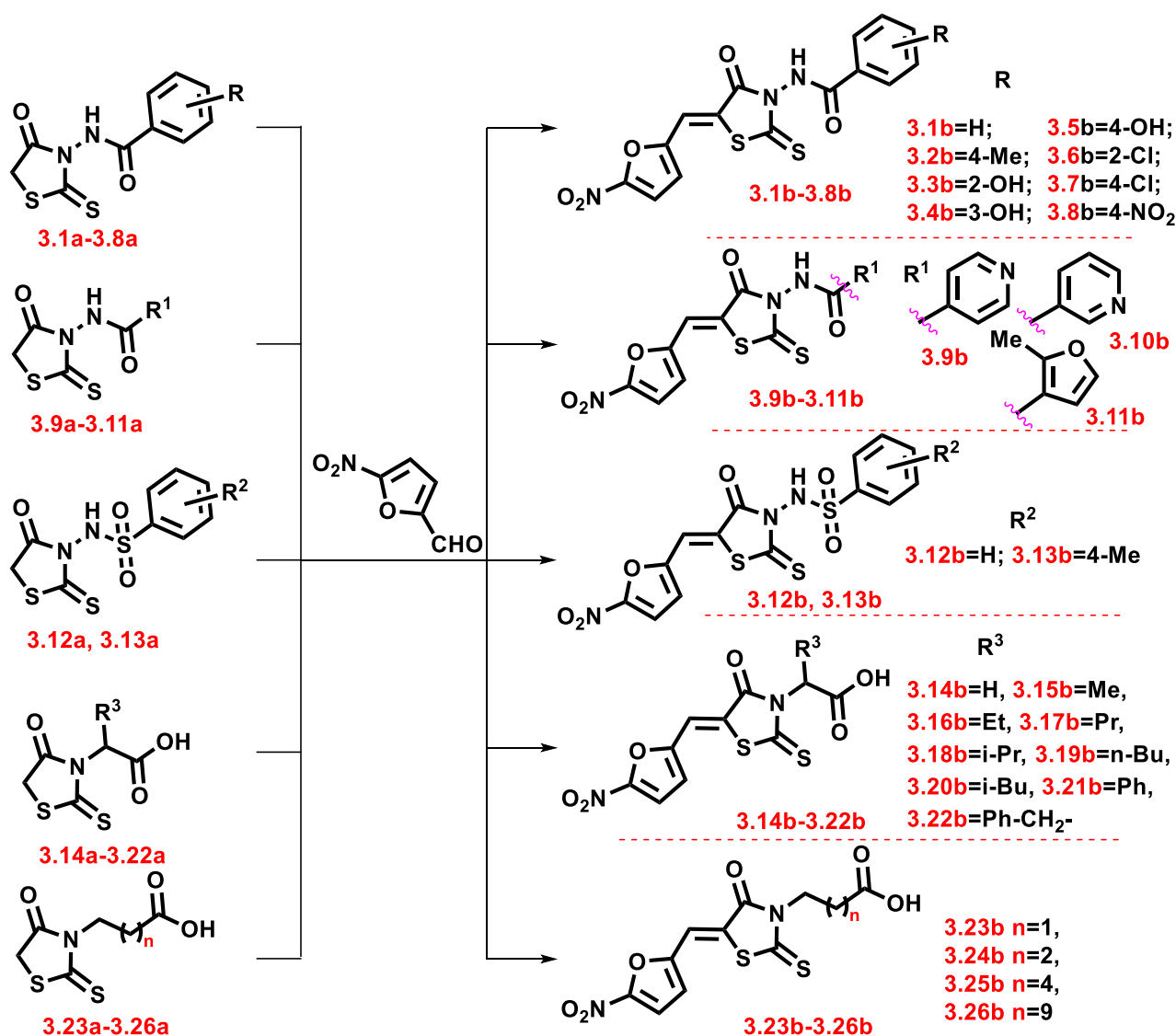


Натомість дитіокарбаматний підхід застосовували для одержання похідних 3.23a–3.26a, 3.36a та 3.37a [122].

Раніше описані протоколи синтезу були використані для синтезу вихідних блоків 3.27a та 3.28a, що містять 2-аміно-4-тіазолідиноновий фрагмент, а також для одержання тіазолідин-2,4-діону (3.33a) [123], 2-амінотіазол-4(5H)-ону (3.34a) [123] та 2-тіоксотіазолідин-4-ону (роданіну) (3.35a) [124].

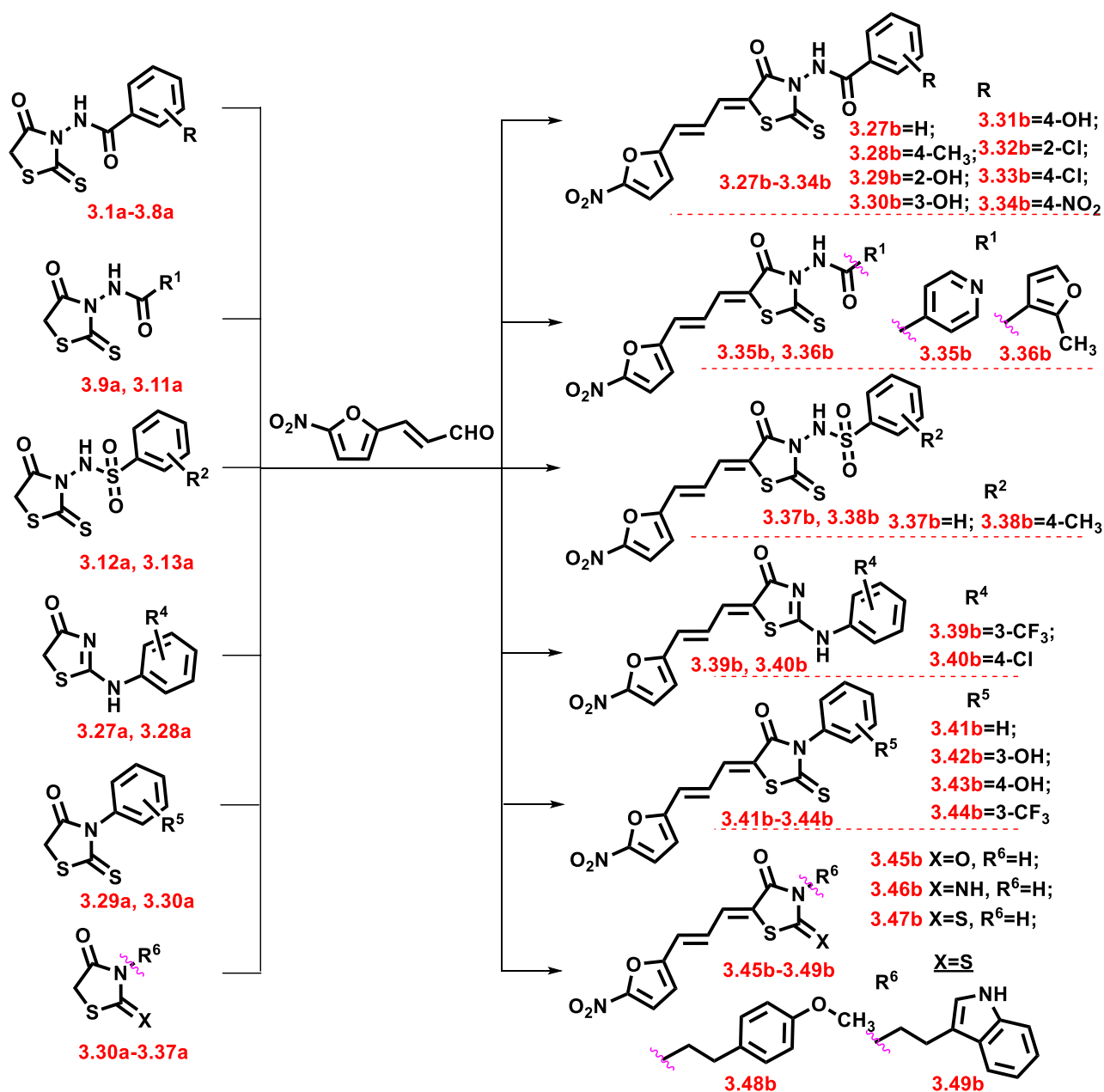
Для синтезу цільових гібридів 3.1b–3.49b застосовували конденсацію Кньювенагеля. Як компонент фармакофора, що містить 5-нітрофурановий фрагмент, використовували 5-нітрофуран-2-карбальдегід (Схема 3.2) та його біоізостер — (E)-3-(5-нітрофуран-2-іл)акриальдегід (Схема 3.3).

Схема 3.2



Реакцію проводили в середовищі льодяної оцтової кислоти за наявності безводного ацетату натрію. Відповідні 5-іліденпохідні 3.1b–3.49b були отримані з високими виходами та задовільною чистотою [125,149].

Схема 3.3



Отримані сполуки 3.1b, 3.3b, 3.4b, 3,8b-3.49b – порошки коричневого кольору, похідні 3.2b, 3.5b – оранжево-коричневі та 3.6b, 3.7b - кристалічні порошки оранжевого кольору нерозчинні у воді, етанолі, діетиловому етері, розчинні в ДМФА та оцтовій кислоті. Дані елементного аналізу та фізико-хімічні властивості синтезованих сполук 3.1b–3.49b наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Дані елементного аналізу та фізико-хімічні властивості синтезованих  
сполук 3.1b–3.49b**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C з розкладом/ без розкладу	Брутто- формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3.1b	79	238	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	48.00	2.42	11.19	48.20	2.60	11.30
3.2b	75	241	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	49.35	2.85	10.79	49.60	3.00	11.00
3.3b	79	226	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	46.03	2.32	10.74	46.20	2.50	10.90
3.4b	74	192	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub> :	46.03	2.32	10.74	46.30	2.60	10.80
3.5b	79	232	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	46.03	2.32	10.74	46.20	2.50	10.90
3.6b	81	238	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	43.96	1.97	10.25	44.10	2.10	10.40
3.7b	84	232	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	43.96	1.97	10.25	44.20	2.20	10.40
3.8b	79	246	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub> C <sub>2</sub>	42.86	1.92	13.33	43.10	2.10	13.50
3.9b	85	201	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	44.68	2.14	14.89	44.90	2.30	15.00
3.10b	89	160	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	44.68	2.14	14.89	44.80	2.30	15.10
3.11b	79	198	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	44.33	2.39	11.08	44.50	2.60	11.20
3.12b	83	218	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>3</sub>	40.87	2.21	10.21	41.10	2.40	10.40
3.13b	84	220	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>3</sub>	42.35	2.61	9.88	42.50	2.80	10.00
3.14b	81	221-223	C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	38.22	1.92	8.91	38.40	2.10	9.10
3.15b	80	188-189	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	40.24	2.46	8.53	40.40	2.70	8.70
3.16b	84	219	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	42.10	2.94	8.18	42.30	3.10	8.40
3.17b	82	218	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	43.82	3.39	7.86	44.00	3.60	8.10
3.18b	77	194-196	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	43.82	3.39	7.86	44.10	3.50	8.00
3.19b	84	184-186	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	45.40	3.81	7.56	45.60	4.00	7.80
3.20b	76	163-165	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	45.40	3.81	7.56	45.50	3.90	7.70
3.21b	81	220	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	49.23	2.58	7.18	49.40	2.70	7.30
3.22b	83	111-113	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	50.49	2.99	6.93	50.70	3.10	7.10
3.23b	87	207-209	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	40.24	2.46	8.53	40.24	2.46	8.53
3.24b	84	189-192	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	42.10	2.94	8.18	42.30	3.10	8.40
3.25b	85	160-162	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	45.40	3.81	7.56	45.60	4.00	7.80
3.26b	87	159-161	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	51.80	5.49	6.36	51.80	5.49	6.36
3.27b	83	222	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	50.87	2.76	10.47	51.00	2.90	10.70
3.28b	85	237	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	52.04	3.15	10.11	52.20	3.30	10.30
3.29b	83	212	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.92	2.66	10.07	49.10	2.80	10.30
3.30b	75	234	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.92	2.66	10.07	49.10	2.80	10.20
3.31b	86	>270	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.92	2.66	10.07	49.00	2.90	10.30
3.32b	89	240	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	46.85	2.31	9.64	47.00	2.50	9.90
3.33b	86	248	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	46.85	2.31	9.64	47.00	2.50	9.80
3.34b	83	245	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub> C <sub>2</sub>	45.74	2.26	12.55	45.90	2.40	12.70
3.35b	82	262	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	47.76	2.50	13.92	47.90	2.70	14.10
3.36b	79	234	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	47.40	2.74	10.37	47.60	2.90	10.50

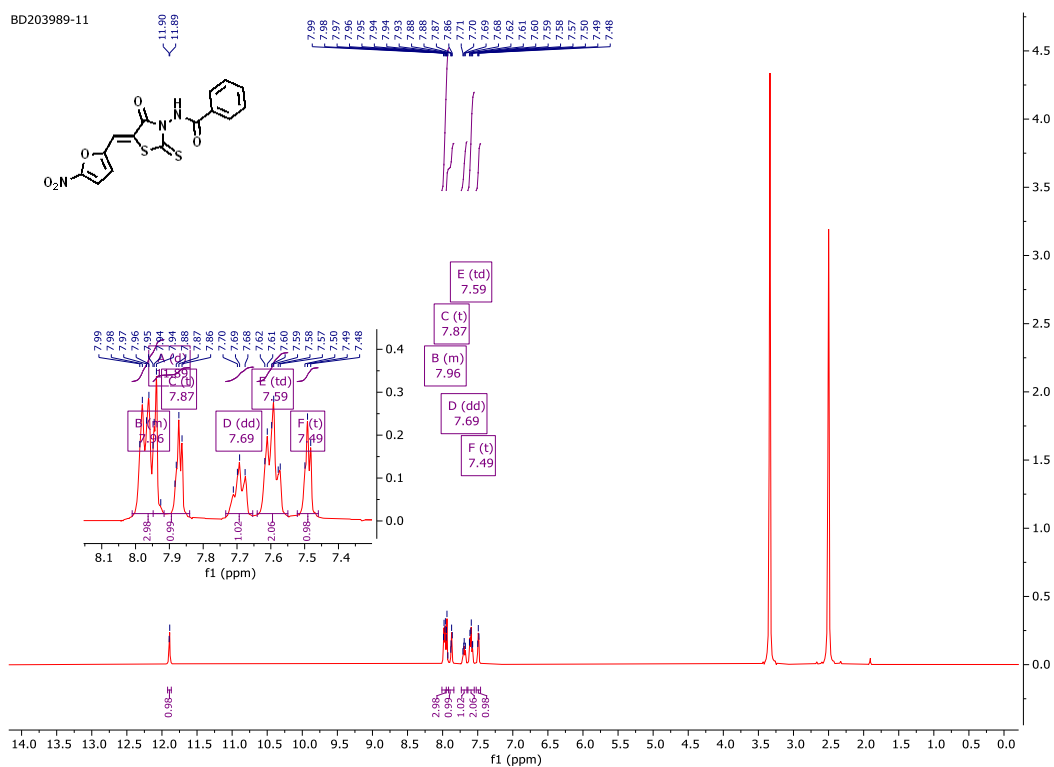
## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>3.37b</b>	87	233	$C_{16}H_{11}N_3O_6C_3$	43.93	2.53	9.61	44.10	2.70	9.80
<b>3.38b</b>	79	215	$C_{17}H_{13}N_3O_6C_3$	45.23	2.90	9.31	45.50	3.10	9.50
<b>3.39b</b>	83	238-240	$C_{17}H_{10}F_3N_3O_4C$	49.88	2.46	10.27	50.10	2.60	10.40
<b>3.40b</b>	87	217-219	$C_{16}H_{10}ClN_3O_4C$	51.14	2.68	11.18	51.30	2.80	11.30
<b>3.41b</b>	89	217	$C_{16}H_{10}N_2O_4C_2$	53.62	2.81	7.82	53.80	3.00	8.00
<b>3.42b</b>	83	202	$C_{16}H_{10}N_2O_5C_2$	51.33	2.69	7.48	51.50	2.90	7.60
<b>3.43b</b>	81	267	$C_{16}H_{10}N_2O_5C_2$	51.33	2.69	7.48	51.60	2.80	7.60
<b>3.44b</b>	83	267	$C_{17}H_9F_3N_2O_4C_2$	47.89	2.13	6.57	48.00	2.30	6.80
<b>3.45b</b>	78	> 270	$C_{10}H_6N_2O_4C_2$	42.55	2.14	9.92	42.70	2.30	10.10
<b>3.46b</b>	81	> 270	$C_{10}H_7N_3O_4C$	45.28	2.66	15.84	45.50	2.80	16.00
<b>3.47b</b>	85	> 270	$C_{10}H_6N_2O_5C$	45.12	2.27	10.52	45.30	2.40	10.70
<b>3.48b</b>	78	171-174	$C_{19}H_{16}N_2O_5C_2$	54.80	3.87	6.73	55.00	4.00	6.90
<b>3.49b</b>	82	253-255	$C_{20}H_{15}N_3O_4C_2$	56.46	3.55	9.88	56.60	3.70	10.00

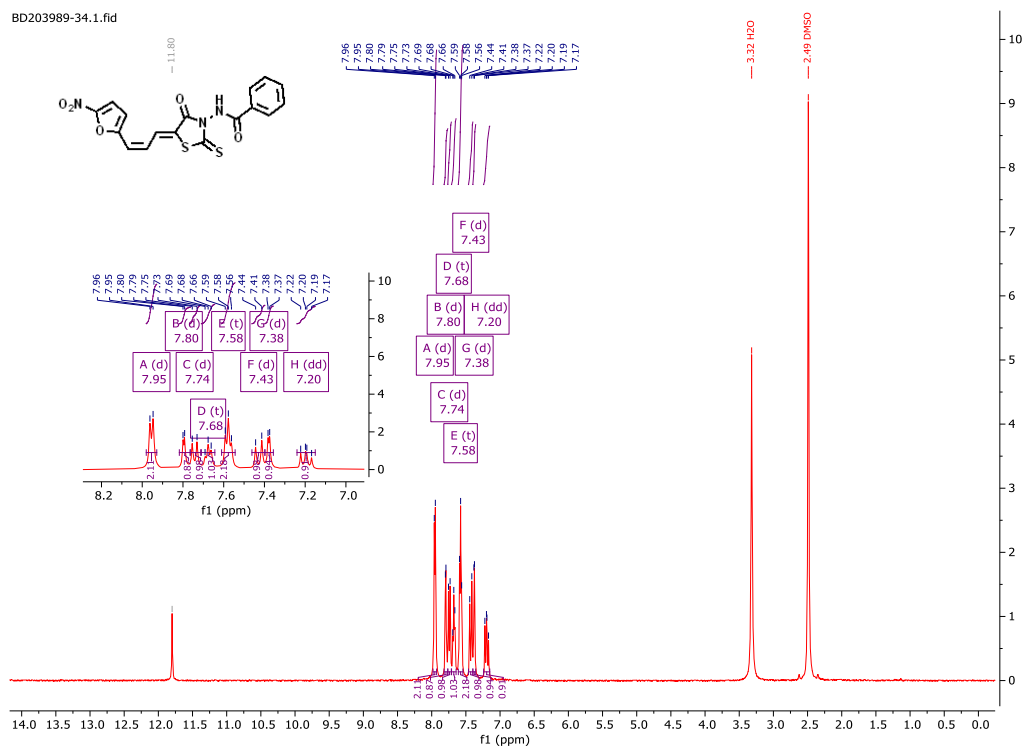
3.1.1 Спектральні характеристики 3-заміщених (*Z*)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів та заміщених 5-((*Z*)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів

Структуру синтезованих сполук 3.1b–3.49b підтверджено за допомогою спектрів  $^1H$  ЯМР,  $^{13}C$  ЯМР та LC–MS (Додаток Б).

У спектрах  $^1H$  ЯМР сполук 3.1b–3.26b протон іліденового фрагмента проявляється як синглет у слабкому полі (~7,90 м.ч.), дескринований сусідньою карбонільною групою, що є характерним для *Z*-ізомерів і узгоджується з раніше опублікованими даними [126]. Протони фуранового кільця резонують у вигляді пари дублетів при 7,45–7,50 (H-3) та 7,85–7,90 (H-4) м.ч. із відповідною константою спінової взаємодії ( $J_3 = 3,7$ – $4,1$  Гц) (Додаток Б, Рис. 3.1).

Рис. 3.1  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр сполуки 3.1b

У спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР сполук 3.27b–3.49b протони аліліденового фрагмента резонують як пара дублетів при  $\sim 7,45$  м.ч. та  $\sim 7,75$  м.ч. і як дублет дублетів при  $\sim 7,20$  м.ч. (Додаток Б, Рис. 3.2).

Рис. 3.2  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр сполуки 3.27b

Похідні 3.39b, 3.40b і 3.46b характеризуються прототропною аміно-іміно таутомерією, унаслідок чого їхні спектри  $^1\text{H}$  ЯМР ускладнюються подвоєнням або потроєнням сигналів, що належать таутомерним/ротамерним формам; це є типовим для даного підтипу 4-тіазолідинонів [127,128].

Синтезовані 2-тіоксо-похідні 3.1b–3.38b, 3.41b–3.44b та 3.47b–3.48b у спектрах  $^{13}\text{C}$  ЯМР характеризуються сигналом у ділянці  $\sim 190$ – $195$  м.ч., що відповідає групі  $\text{C}=\text{S}$ . (Додаток Б, Рис. 3.3).

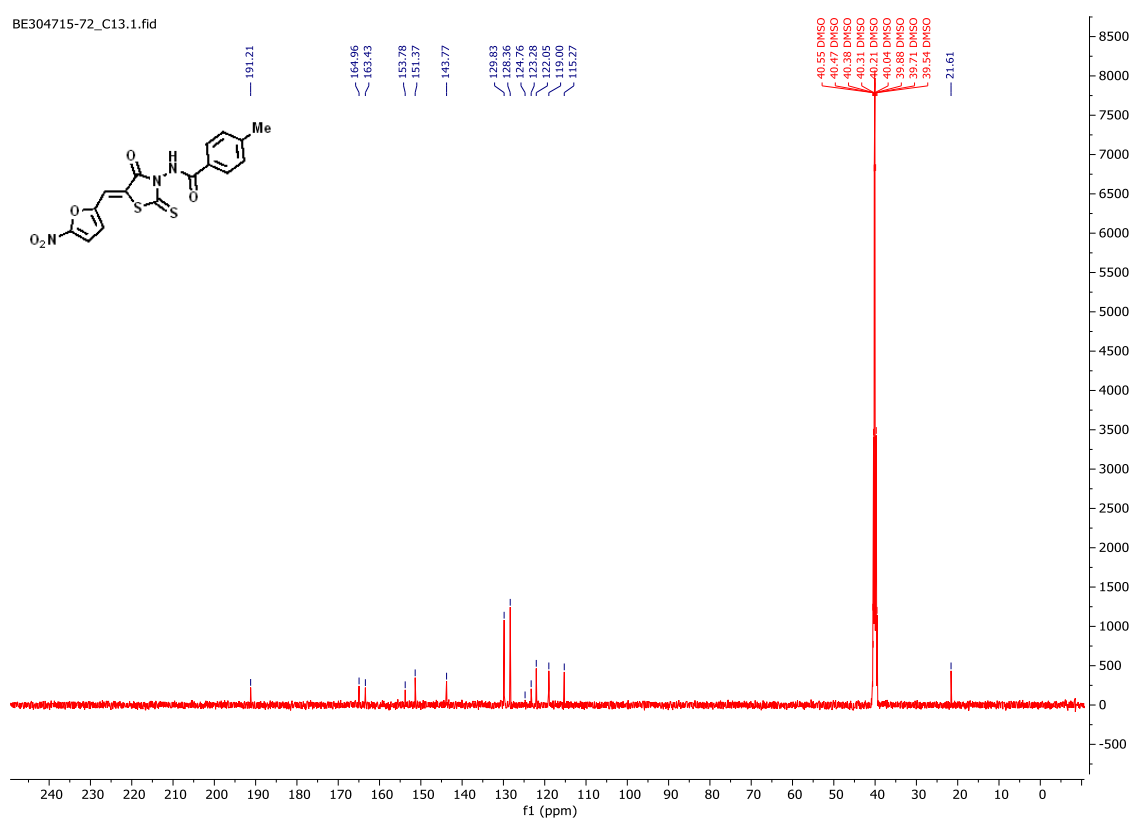


Рис. 3.3  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр сполуки 3.2b

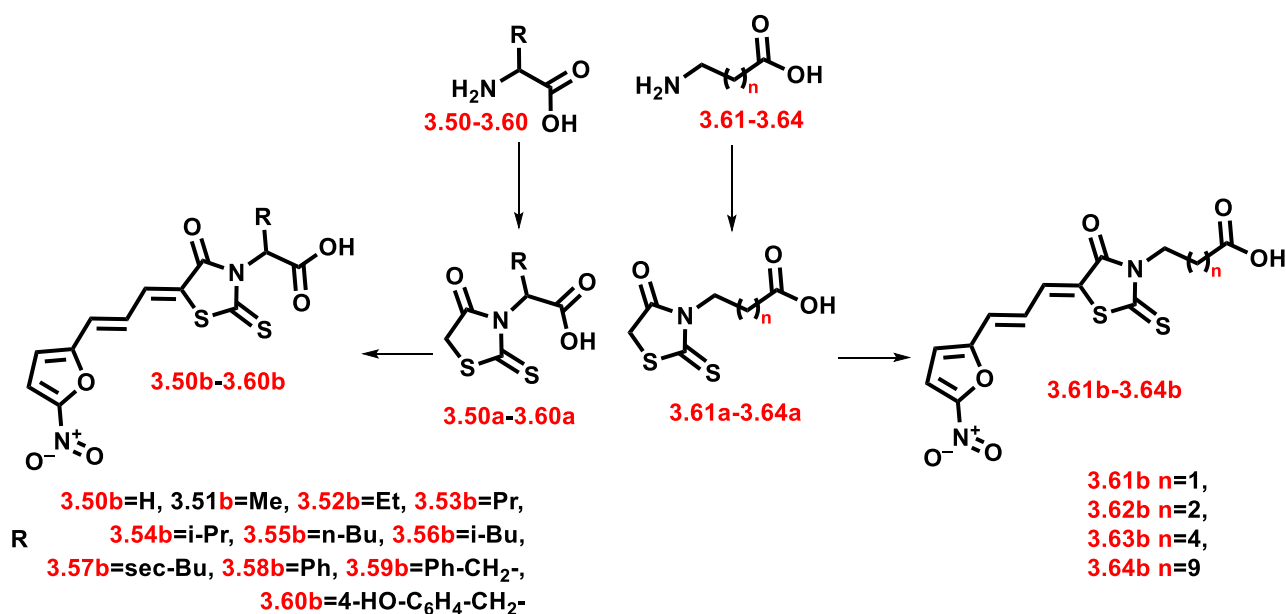
### 3.2 Синтез та фізико-хімічні характеристики роданінкарбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом

Дизайн представленого дослідження ґрунтувався на варіюванні замісника при атомі N-3 кільця 4-тіазолідинону шляхом введення фрагментів, що містять

карбоксылну групу. Як вихідні структурні блоки було використано набір комерційно доступних амінокислот 3.50-3.64.

На першому етапі амінокислоти 3.50-3.64 піддавали однореакторній (one-pot) реакції утворення дитіокарбамату з  $\text{CS}_2$  у лужному середовищі з подальшою циклізацією за участю хлорацетату натрію та обробкою концентрованою  $\text{HCl}$ , у результаті чого одержували похідні 3.50a-3.64a (Схема 3.4).

Схема 3.4



Надалі отримані роданін-3-карбонові кислоти 3.50a-3.64a перетворювали на відповідні 5-іліденпохідні 3.50b-3.64b шляхом конденсації Кньюенагеля з 3-(5-нітрофуран-2-іл)акриальдегідом у присутності безводного ацетату натрію як каталізатора в середовищі льодяної оцтової кислоти з виходами 80–88 % [129].

Отримані сполуки 3.51b-3.53b, 3.55b, 3.57b, 3.60b, 3.63b, 3.64b – порошки коричневого кольору, похідні 3.50b, 3.54b, 3.58b, 3.61b, 3.62b – оранжево-коричневі, 3.59b - кристалічний порошок оранжево-червоного кольору, 3.56b – порошок червоно-коричневого кольору. Синтезовані молекули нерозчинні у воді, етанолі, діетиловому етері, розчинні в ДМФА та оцтовій кислоті. Дані елементного аналізу та фізико-хімічні властивості синтезованих сполук 3.50b-3.64b наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Дані елементного аналізу та фізико-хімічні властивості синтезованих  
сполук 3.50b-3.64b**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C з розклад	Брутто- формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
<b>3.50b</b>	80	232	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	42.35	2.37	8.23	42.50	2.50	8.40
<b>3.51b</b>	87	>250	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	44.06	2.84	7.91	44.20	3.00	8.10
<b>3.52b</b>	86	223	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	45.65	3.28	7.60	45.80	3.50	7.80
<b>3.53b</b>	82	220	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	47.11	3.69	7.33	47.30	3.90	7.50
<b>3.54b</b>	85	213	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	47.11	3.69	7.33	47.30	3.90	7.50
<b>3.55b</b>	87	200	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.48	4.07	7.07	48.70	4.20	7.30
<b>3.56b</b>	81	111–114	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.48	4.07	7.07	48.60	4.20	7.20
<b>3.57b</b>	88	109–112	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.48	4.07	7.07	48.70	4.30	7.20
<b>3.58b</b>	85	213	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	51.92	2.90	6.73	52.10	3.10	6.90
<b>3.59b</b>	79	127–130	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	53.02	3.28	6.51	53.20	3.40	6.70
<b>3.60b</b>	83	>250	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> C <sub>2</sub>	51.12	3.16	6.27	51.30	3.30	6.40
<b>3.61b</b>	83	242	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	44.06	2.84	7.91	44.20	3.00	8.10
<b>3.62b</b>	83	205	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	45.65	3.28	7.60	45.80	3.40	7.80
<b>3.63b</b>	84	179	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	48.48	4.07	7.07	48.60	4.20	7.20
<b>3.64b</b>	88	153	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	54.06	5.62	6.00	54.20	5.80	6.20

### 3.2.1 Спектральні характеристики роданінкарбонових кислот з нітрофуранпропеніліденовим фрагментом

Структуру синтезованих похідних 3.50b-3.64b підтверджено за допомогою спектрів <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, LC-MS та ІЧ-спектроскопії (Додаток В).

У спектрах <sup>1</sup>H ЯМР синтезованих 5-іліденопохідних 3.50b-3.64b протони пропеніліденового фрагмента резонують як дублет у ділянці 7,56–7,66 м.ч., дублет дублетів при 7,09–7,15 м.ч., тоді як один із протонів перекривається із сигналом протона фуранового кільця, утворюючи мультиплет при 7,34–7,44 м.ч. Значення констант спін-спінової взаємодії для цих протонів у межах ~11–16 Гц підтверджують, що синтезовані сполуки 3.50b-3.64b існують зі стереохімією пропеніліденового фрагмента, що узгоджується з раніше опублікованими даними

для споріднених структур [130–132]. Інший протон фуранового кільця проявляється як дублет при 7,78–7,80 м.ч. з відповідною константою зв'язку ( $J = 3,9$  Гц). Аліфатичні та ароматичні протони фрагментів амінокислот резонують у відповідних ділянках спектра з характерними константами спінової взаємодії (Рис. 3.4).

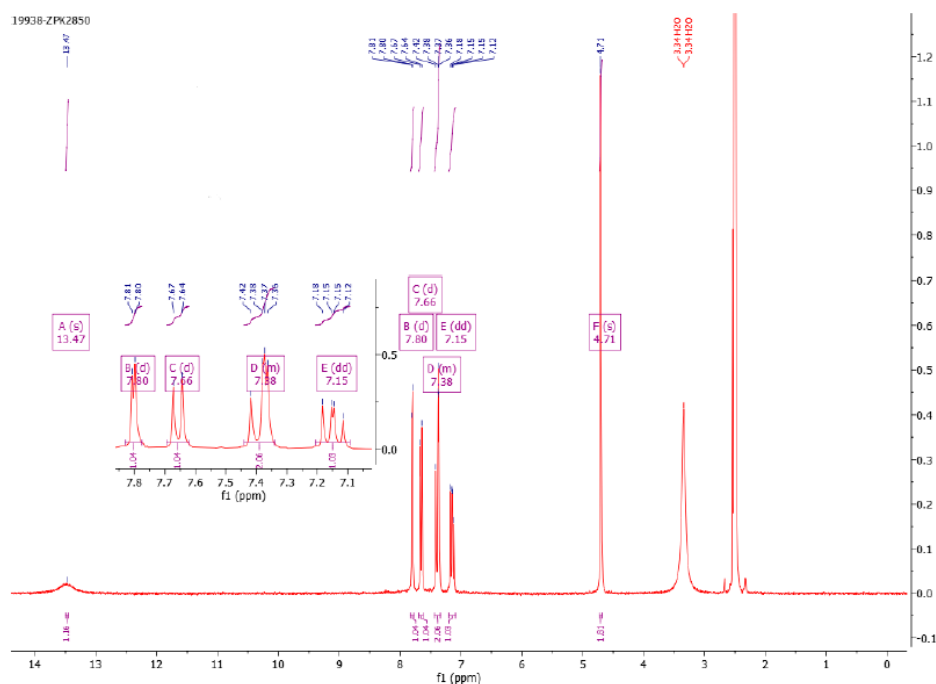


Рис. 3.4  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр сполуки 3.50b

У спектрах  $^{13}\text{C}$  ЯМР похідних роданіну характерні сигнали карбонільної ( $\text{C}=\text{O}$ ) та тіокарбонільної ( $\text{C}=\text{S}$ ) груп гетероциклічного ядра, а також карбоксильної групи спостерігаються відповідно в ділянках 163,0–169,0 та 191,9–193,0 м.ч. Аліфатичні й ароматичні атоми Карбону фрагментів амінокислот дають синглетні сигнали у відповідних ділянках (Рис. 3.5).

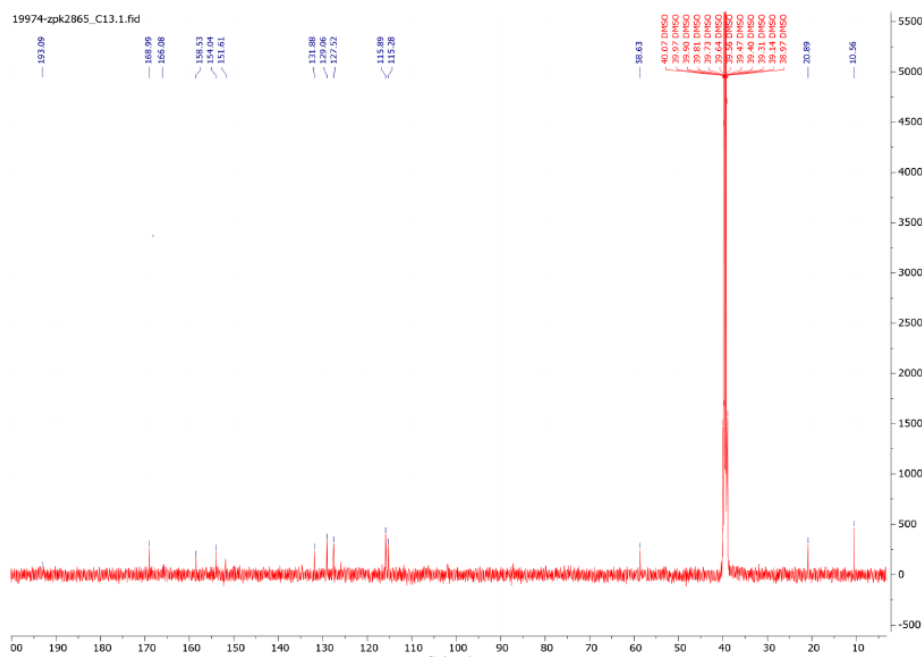


Рис. 3.5  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр сполуки 3.52b

В ІЧ-спектрах синтезованих похідних 3.50b-3.64b смуги поглинання при  $\sim 1700\text{--}1730$  та  $\sim 1680\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$  відповідають валентним коливанням груп  $\text{C}=\text{O}$ . Смуги при  $\sim 1570\text{--}1580$  та  $1559\text{ cm}^{-1}$  відповідають коливанням  $\text{C}=\text{C}$ . Смуги поглинання при  $\sim 1507\text{--}1515$  та  $\sim 1312\text{--}1346\text{ cm}^{-1}$  віднесені до валентних коливань зв'язку  $\text{N}\text{--}\text{O}$  (Рис. 3.6).

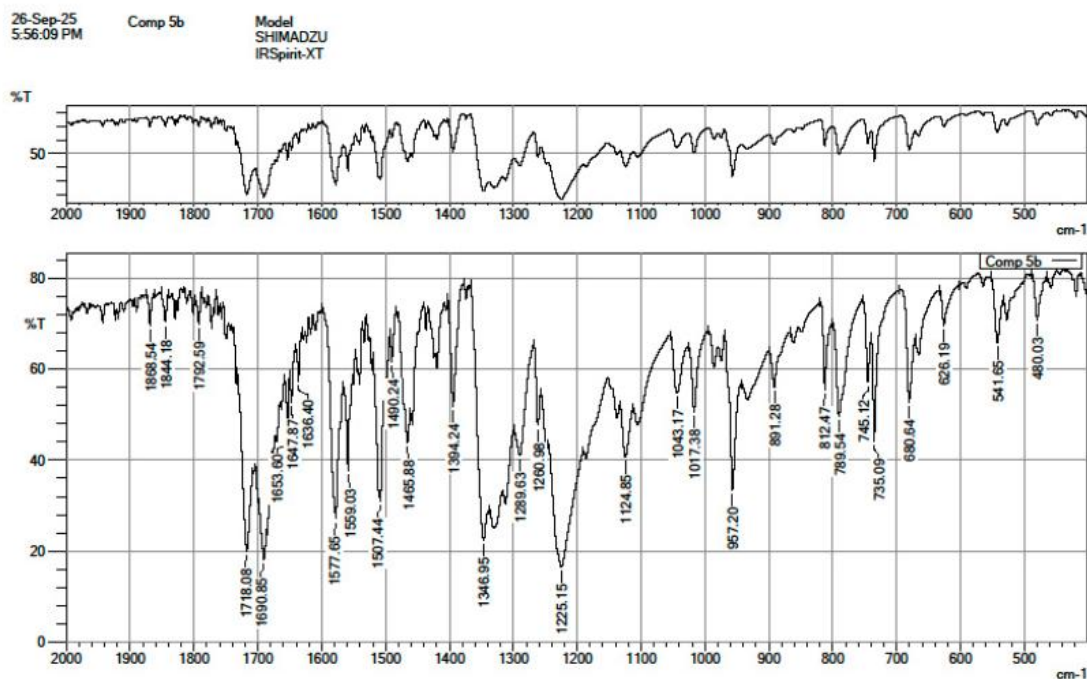


Рис. 3.6 ІЧ-спектр сполуки 3.54b

Молекулярні іонні піки, зареєстровані в режимі позитивної іонізації в мас-спектрах ( $m/z$ ), підтверджують утворення сполук 3.50b–3.64b (Рис.3.7).

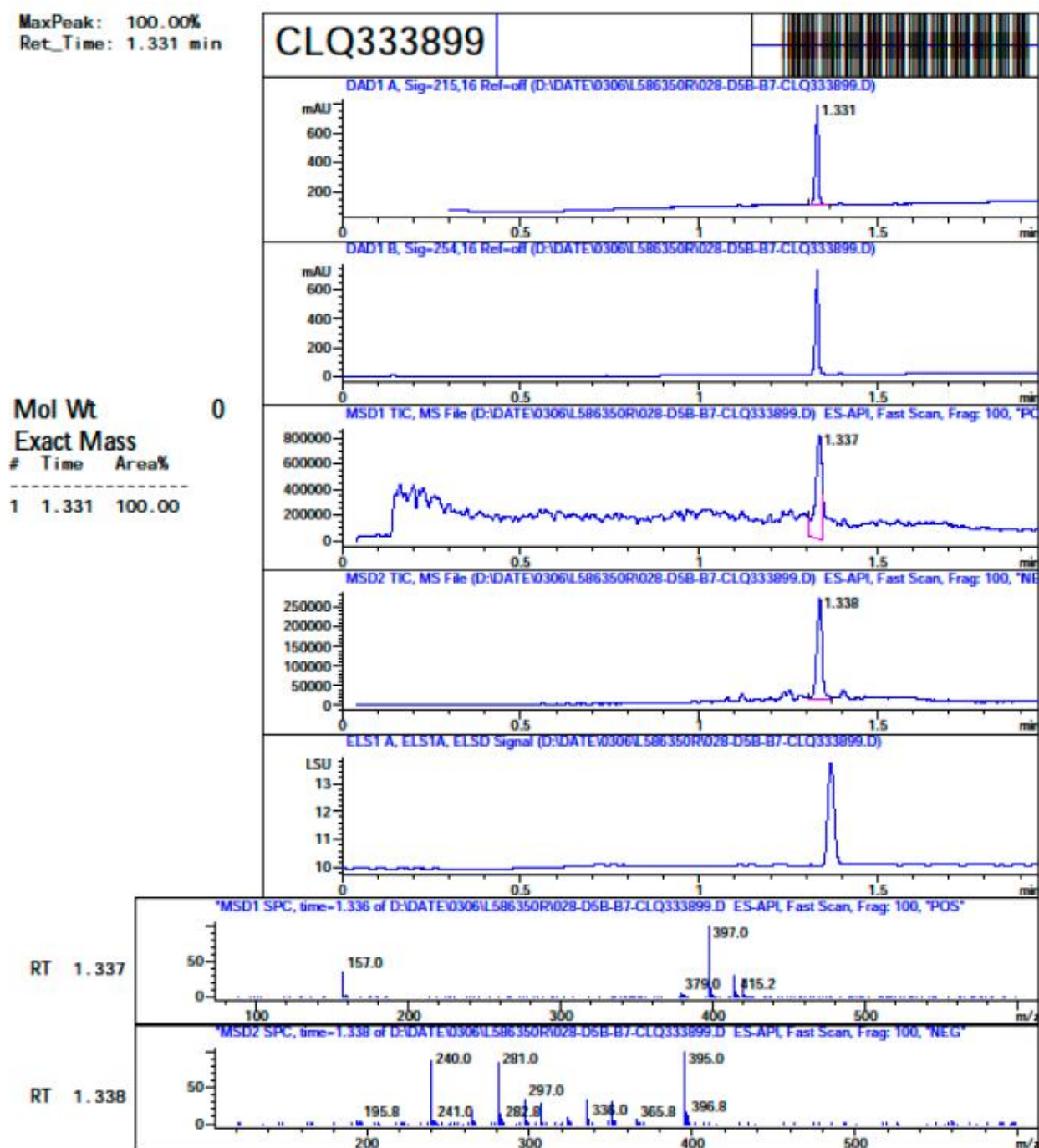


Рис. 3.7 LC-MS-спектр сполуки 3.55b

### 3.3 Дослідження протимікробної активності синтезованих молекул

Антимікробну активність синтезованих сполук було оцінено, і за результатами скринінгу всі похідні було поділено на чотири групи відповідно до рівня їхньої активності (Табл. 3.3).

Група 1 – найактивніші похідні — включає вісім гібридних молекул. Серед них сполуки 3.47b, 3.45b та 3.46b продемонстрували високий рівень активності щодо всіх протестованих штамів мікроорганізмів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, гриби та коринебактерії, з мінімальною інгібувальною концентрацією (MIC)  $< 0,18$  мкМ. Інші похідні — 3.37b, 3.24b, 3.25b, 3.19b, 3.20b — проявили високу активність переважно щодо клінічних та референтних штамів грампозитивних мікроорганізмів і грибів.

Група 2 – помірно активні гібриди — найбільша група, що включає тридцять три сполуки (3.1b, 3.3b–3.16b, 3.18b, 3.21b–3.23b, 3.27b–3.36b, 3.38b, 3.39b, 3.42b, 3.43b). Вони продемонстрували активність переважно щодо клінічних та референтних грампозитивних мікроорганізмів із значеннями MIC у діапазоні  $0,18$ – $7,63$  мкМ. Деякі сполуки цієї групи також виявили активність щодо грамнегативних мікроорганізмів і грибів (MIC  $< 7,63$  мкМ).

Група 3 – низькоактивні похідні — включає п'ять сполук (3.2b, 3.17b, 3.40b, 3.41b та 3.49b), які продемонстрували незначну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів із MIC  $> 7,63$  мкМ.

Група 4 – неактивні молекули — представлена трьома сполуками (3.26b, 3.44b та 3.48b), які не виявили антимікробної активності.

Таблиця 3.3

## Антимікробна активність (МІС, мкМ) найбільш активних сполук

Сполуки / штами	3.45b	3.46b	3.47b	3.19b	3.20b	3.24b	3.25b	3.37b	Ципрофлоксацин	Флуконазол
<i>S. aureus subsp. aureus, reference biofilm-forming strain ATCC 25923 (195)</i>	0.18	0.37	0.09	<14.29	<14.29	<14.29	<14.29	7.14	0.73	-
<i>S. aureus, clinical biofilm-forming strain #b2</i>	0.73	0.74	2.90	<14.29	<14.29	<14.29	<14.29	7.14	1.50	-
<i>Pseudomonas aeruginosa, reference strain ATCC 10145 (192)</i>	0.23	0.12	46.95	-	-	-	-	-	0.75	-
<i>Klebsiella pneumoniae, clinical strain (216)</i>	0.09	0.09	0.09	-	-	-	-	-	0.36	-
<i>Raoultella ornithinolytica DSM 7464 (176)</i>	0.80	0.74	1.47	-	-	-	-	-	1.50	-
<i>Candida albicans, reference strain ATCC 885-653 (120)</i>	11.73	-	11.70	-	-	<57.15	<57.15	-		14.90
<i>Candida albicans, clinical strain #85</i>	11.70	-	11.70	-	-	<57.15	<57.15	-		14.90

Більшість протестованих сполук продемонстрували антимікробну активність щодо пробіотичного штаму *Lactobacillus fermentum*. Крім того, десять похідних було протестовано на активність щодо *Corynebacterium diphtheriae*, і всі вони виявилися активними, причому гібрид 3.46b продемонстрував найвищу активність.

Також похідна 3.46b проявила антимікробну активність щодо патогенів групи ESKAPE — мультирезистентних штамів *Acinetobacter baumannii* та *E. coli*.

Сполука 3.47b затримувала спороутворення та пригнічувала дозрівання спор (почорніння) протягом 30 днів після інокуляції, демонструючи ефект, порівняний із контролем амфотерицину В (Рис. 3.8).

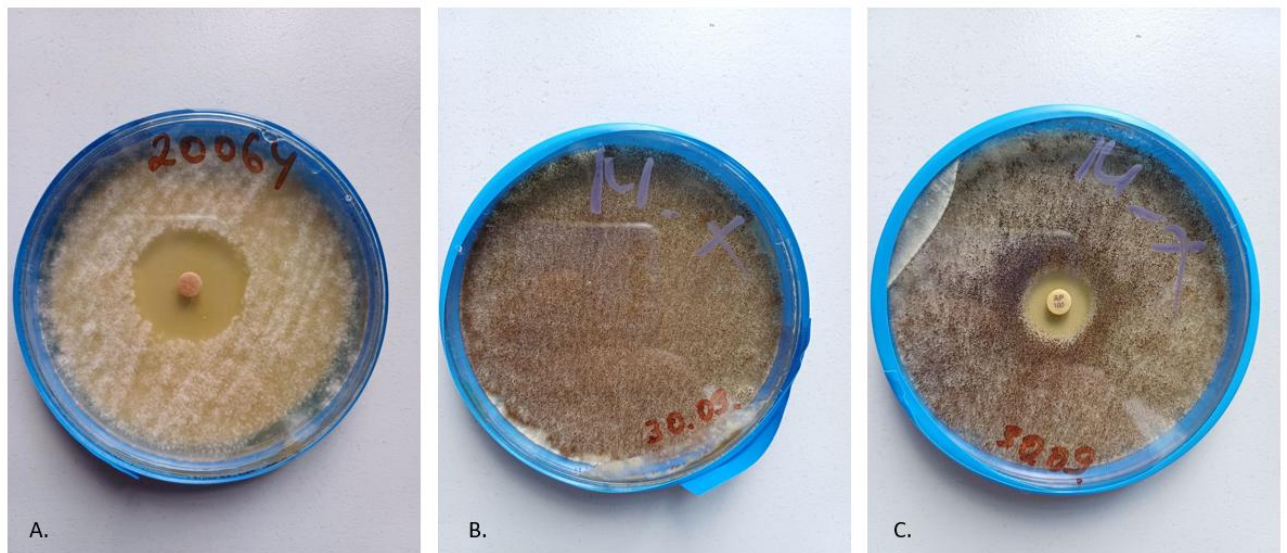


Рис.3.8 А. Протигрибкова активність сполуки 3.47b: зона інгібування в тесті дискової дифузії. В. Контрольна культура: ріст *Aspergillus niger* без протигрибкових агентів. С. Референтний контроль: диск, що містить амфотерицин В. Зображення зроблені на 10-й день

Наведене дослідження надає переконливі докази антимікробного потенціалу серії нових синтетичних сполук, зокрема тих, що належать до Групи 1, серед яких сполуки 3.47b, 3.45b та 3.46b продемонстрували найвищу та широкоспектральну активність. Примітно, що ці сполуки виявили значення МІС нижче 0,18 мкМ, перевершуючи багато традиційних антибіотиків, таких як

ципрофлоксацин і флуконазол, МІС яких щодо *S. aureus* та *C. albicans* зазвичай становлять 0,25–1 мкМ та 0,5–4 мкМ відповідно [133, 134].

Сполука 3.47b виявилася особливо ефективною не лише проти бактеріальних штамів, але й проти нитчастого гриба *Aspergillus niger*. Її здатність пригнічувати ріст і блокувати спороутворення протягом тривалого періоду суттєво перевищує активність, описану для амфотерицину В у подібних моделях [135]. Подібне тривале пригнічення споруляції *Aspergillus* спостерігалось рідко та зазвичай пов'язане з ехінокандинами, такими як каспофунгін, але не з полієнами або азолами [136].

Крім того, висока активність сполук 3.45b і 3.46b щодо *K. pneumoniae* та *C. diphtheriae* становить особливий інтерес. Карбапенем-резистентна *K. pneumoniae* входить до переліку найкритичніших загроз за класифікацією ВООЗ [137], і нові сполуки з низькими значеннями МІС (0,09 мкМ) мають суттєву перевагу над існуючими методами терапії. У порівнянні з нещодавніми дослідженнями синтетичних антимікробних пептидів або гібридних молекул, спрямованих проти мультирезистентних грамнегативних бактерій, досліджувані сполуки демонструють щонайменше співставну, а подекуди й вищу ефективність [138].

Загалом антимікробний профіль сполук був більш вираженим щодо грампозитивних бактерій, що узгоджується з відомими труднощами проникнення через зовнішню мембрану грамнегативних мікроорганізмів [139]. Водночас активність 3.45b і 3.47b щодо *K. pneumoniae* та *Raoultella ornithinolytica* свідчить про здатність окремих сполук долати цей бар'єр.

Варто зазначити, що більшість сполук проявили активність щодо *Lactobacillus fermentum*, поширеного пробіотичного виду. Хоча це підтверджує їхню широкоспектральну дію, водночас виникають застереження щодо безпеки для мікробіому. Подібні ефекти спостерігалися при застосуванні антибіотиків широкого спектра дії, зокрема кліндаміцину, який значно порушує популяції корисної мікрофлори [140]. Отже, подальші дослідження мають включати оцінку цитотоксичності та впливу на мікробіом.

Активність сполуки 3.46b щодо *C. diphtheriae* також заслуговує на увагу. Незважаючи на періодичні спалахи захворювання, останніми роками оцінка нових антимікробних засобів проти цього патогена проводилася обмежено [133]. Порівняно з еритроміцином або пеніциліном G (МІС зазвичай 0,125–0,5 мкМ), сполука 3.46b може розглядатися як потенційно більш потужна альтернатива, особливо для резистентних або атипових штамів [125,149].

### 3.3.1 Оцінка цитотоксичності нових антимікробних сполук

Дослідження цитотоксичності є необхідними для оцінки безпечності та селективності антимікробних агентів, оскільки сполуки можуть взаємодіяти як з інфікованими тканинами, так і з прилеглими нормальними еукаріотичними клітинами. Загальну цитотоксичність і тканинну чутливість ( $IC_{50}$ , Табл. 3.4) нових антимікробних сполук оцінювали на трьох не неопластичних клітинних лініях ссавців різного походження — ВаF3/wt (мишині про-B-клітини), HaCaT (кератиноцити епідермісу людини), Balb 3T3 (мишачі фібробласти) — та на двох пухлинних клітинних лініях (HCT-116 і MDA-MB-231) відповідно до [141].

Серед сполук Групи 1 найбільш активні антимікробні похідні 3.19b, 3.20b, 3.24b та 3.47b продемонстрували помірну цитотоксичність для досліджених клітинних ліній, зі значеннями  $IC_{50} > 18$  мкМ для непухлинних клітин (ВаF3/wt, HaCaT) та  $> 32,33$  мкМ для пухлинних клітин (CT-116, MDA-MB-231). Натомість сполуки 3.25b, 3.37b, 3.45b та 3.46b виявили виражену цитотоксичність, причому 45b і 46b продемонстрували найнижчі значення  $IC_{50}$  (2–4,15 мкМ) для непухлинних клітин.

Сполуки Групи 2 характеризувалися помірною антимікробною активністю та варіабельною цитотоксичністю. Похідні 3.1b, 3.27b і 3.33b виявили значно нижчі значення  $IC_{50}$  щодо пухлинної клітинної лінії MDA-MB-231 (0,67–13 мкМ) порівняно з непухлинними клітинами HaCaT та ВаF3/wt ( $IC_{50}$  4–10 мкМ), що свідчить про певну переважну цитотоксичність щодо ракових клітин. Однак ці

сполуки залишалися суттєво токсичними і для нормальних клітин, що обмежує їхню терапевтичну селективність.

Похідні Груп 3 і 4 загалом продемонстрували низьку антимікробну активність і відповідно нижчу цитотоксичність, за винятком сполук 3.40b і 3.49b (висока токсичність для непухлинних клітин) та 3.44b і 3.48b (селективна токсичність щодо МДА-МВ-231).

Профіль цитотоксичності досліджених антимікробних сполук демонструє значну варіабельність їхньої безпечності та селективності, що є критично важливим для потенційного терапевтичного застосування. Сполуки Групи 1, зокрема 3.19b, 3.20b, 3.24b та 3.47b, продемонстрували оптимальний баланс між антимікробною активністю та цитотоксичністю, що може свідчити про селективні механізми дії, спрямовані переважно на мікробні клітини зі збереженням життєздатності еукаріотичних клітин.

Таблиця 3.4

**Значення  $IC_{50}$  (мкМ, середнє  $\pm$  СД) досліджуваних сполук, визначені методом МТТ після 72 год інкубації**

Лінії/ сполуки	Псевдонормальні клітинні лінії			Пухлинні клітинні лінії	
	ВaF3/wt Мишачі Рго В-клітини	HaCaT Кератиноцити епідермісу людини	Valb 3T3 Мишачі фібробласти	HCT-116 Клітини карциноми товстої кишки людини	MDA-MB-231 Клітини трипл- негативного раку молочної залози людини
1	2	3	4	5	6
3.1b	38.91 $\pm$ 1.73	8.08 $\pm$ 1.10	Н/Д	45.21 $\pm$ 3.93	3.24 $\pm$ 0.07
3.2b	20.25 $\pm$ 10.47	> 50	Н/Д	40.64 $\pm$ 5.10	3.90 $\pm$ 0.14
3.3b	>50	> 50	Н/Д	49.40 $\pm$ 1.16	4.66 $\pm$ 0.04
3.4b	> 50	> 50	Н/Д	> 50	27.00 $\pm$ 1.05
3.5b	32.29 $\pm$ 10.58	49.92 $\pm$ 1.16	Н/Д	> 50	26.76 $\pm$ 1.41
3.6b	28.46 $\pm$ 11.33	> 50	Н/Д	27.58 $\pm$ 1.16	1.61 $\pm$ 0.70
3.7b	45.32 $\pm$ 0.73	> 50	Н/Д	26.02 $\pm$ 1.10	3.11 $\pm$ 0.17
3.8b	35.15 $\pm$ 9.62	> 50	Н/Д	27.17 $\pm$ 1.00	4.18 $\pm$ 0.46
3.9b	46.32 $\pm$ 3.35	> 50	Н/Д	33.79 $\pm$ 9.18	26.75 $\pm$ 1.67
3.10b	> 50	> 50	Н/Д	35.38 $\pm$ 4.77	20.20 $\pm$ 13.6
3.11b	21.04 $\pm$ 2.33	> 50	Н/Д	38.49 $\pm$ 5.38	4.27 $\pm$ 0.02
3.12b	39.92 $\pm$ 0.09	33.49 $\pm$ 5.25	Н/Д	30.27 $\pm$ 1.91	28.41 $\pm$ 0.45
3.13b	44.86 $\pm$ 0.05	36.64 $\pm$ 1.43	Н/Д	33.48 $\pm$ 1.92	25.10 $\pm$ 2.14
3.14b	> 50	> 50	Н/Д	Н/Д	>50

## Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4	5	6
3.15b	> 50	> 50	Н/Д	Н/Д	>50
3.16b	37.32	40.68±1.09	Н/Д	Н/Д	>50
3.17b	34.37±2.24	36.63±2.03	Н/Д	Н/Д	>50
3.18b	33.20±0.10	35.79±0.57	Н/Д	Н/Д	>50
3.19b	29.31±0.12	41.70±0.43	Н/Д	Н/Д	>50
3.20b	40.28±0.08	40.28±0.23	Н/Д	Н/Д	>50
3.21b	49.67±0.10	49.67±0.22	Н/Д	Н/Д	>50
3.22b	39.43±0.12	39.43±0.48	Н/Д	Н/Д	>50
3.23b	24.33±0.23	24.33±2.34	Н/Д	Н/Д	>50
3.24b	35.82±0.75	35.82±1.11	Н/Д	Н/Д	>50
3.25b	6.88±0.09	7.58±1.28	Н/Д	Н/Д	>50
3.26b	23.49±2.0	23.49±1.43	Н/Д	Н/Д	>50
3.27b	4.40 ± 0.07	10.56±1.21	Н/Д	22.36 ± 0.59	1.22 ± 0.21
3.28b	> 50	7.93± 3.43	Н/Д	11.31 ± 4.80	0.95±2.24
3.29b	4.03 ± 0.11	22.35±0.95	Н/Д	16.00 ± 6.67	2.49 ± 0.24
3.30b	3.97 ± 0.01	31.03±0.22	Н/Д	28.83 ± 2.45	3.80 ± 0.13
3.31b	4.01 ± 0.10	>50	Н/Д	29.93 ± 5.25	3.79 ± 0.32
3.32b	5.41	6.99±0.97	Н/Д	15.8 ± 2.32	3.28 ± 0.09
3.33b	4.49 ± 0.67	9.69±0.85	Н/Д	8.82 ± 6.46	0.67 ± 0.05
3.34b	4.33 ± 0.04	>50	Н/Д	12.06 ± 3.07	3.09 ± 0.19
3.35b	4.32 ± 0.18	>50	Н/Д	24.1 ± 1.11	3.58 ± 0.01
3.36b	23.96 ± 6.47	>50	Н/Д	32.17 ± 2.24	3.50 ± 0.15
3.37b	> 50	3.46 ±2.23	1.46±0.68	6.56 ± 1.95	3.72 ± 0.15
3.38b	35.15 ± 1.0	25.97 ±1.09	Н/Д	26.23 ± 1.17	4.59 ± 0.02
3.39b	41.28 ± 0.45	>50	Н/Д	40.8 ± 1.64	34.41 ± 2.41
3.40b	> 50	8.23±6.71	Н/Д	42.73 ± 4.64	36.56 ± 4.15
3.41b	13.64 ± 13.36	>50	Н/Д	34.74 ± 0.22	4.11 ± 0.08
3.42b	4.37 ± 0.09	8.89±0.63	Н/Д	33.6 ± 0.48	2.87 ± 1.57
3.42b	4.37 ± 0.09	8.89±0.63	Н/Д	33.6 ± 0.48	2.87 ± 1.57
3.43b	3.75 ± 0.55	7.73±1.17	Н/Д	28.08 ± 1.85	3.78 ± 0.02
3.44b	40.58 ± 6.7	>50	Н/Д	31.3 ± 1.96	3.59 ± 0.05
3.45b	4.15 ± 0.01	2.46±1.20	1.23±1.21	25.16 ± 3.33	4.31 ± 0.12
3.46b	2.84 ± 0.86	2.03±1.22	0.94±2.10	13.81 ± 4.52	3.59 ± 0.06
3.47b	36.93 ± 3.1	18.29±0.98	4.97±4.21	32.51 ± 5.36	32.33 ± 1.48
3.48b	> 50	32.39±0.87	Н/Д	24.23 ± 0.75	4.45 ± 0.18
3.49b	4.08 ± 0.2	3.43±0.26	Н/Д	43.64 ± 0.15	26.79 ± 0.92

Примітка. Н/Д – не досліджувалось.

На основі отриманих даних було розраховано *in vitro* терапевтичний індекс (ТІ) для найбільш активних антимікробних сполук 3.45b, 3.46b та 3.47b (Табл. 3.5) як співвідношення між напівмаксимальною інгібувальною концентрацією сполуки та концентрацією, за якої спостерігався антимікробний ефект (ТІ = IC<sub>50</sub>/MIC) [142]. Вищі значення ТІ свідчать про те, що похідна є ефективною щодо бактерій у низьких концентраціях і водночас чинить незначну або відсутню токсичну дію на клітини ссавців.

Сполука 3.47b продемонструвала найвищі значення ТІ (203–410 для ВаF3/wt і НаСаТ; 55 для Ва1b ЗТЗ), що вказує на її селективність щодо *S. aureus*

(референтний біоплівкоутворюючий штам ATCC 25923) та *Klebsiella pneumoniae*, клінічний штам (216).

Сполуки 3.45b і 3.46b характеризувалися нижчими значеннями ТІ (7–46), причому найвужчий діапазон спостерігався для фібробластів Valb 3Т3 (ТІ < 13,67), що може свідчити про потенційний ризик порушення процесів тканинної репарації.

Отримані результати дозволяють розглядати 3.47b як пріоритетного кандидата з широким терапевтичним діапазоном для подальшого доклінічного розвитку.

Таблиця 3.5

## Терапевтичні індекси для найбільш активних сполук 3.45b, 3.46b та 3.47b

Штами / клітинні лінії / сполуки	Vaf3/wt Мишачі Про В-клітини			HaCaT Кератиноцити епідермісу людини			Valb 3Т3 Мишачі фібробласти		
	3.45b	3.46b	3.47b	3.45b	3.46b	3.47b	3.45b	3.46b	3.47b
<i>S. aureus subsp. aureus, reference biofilm-forming strain ATCC 25923 (195)</i>	23.06	7.68	410.33	12.67	5.49	203.22	6.83	2.54	55.22
<i>S. aureus, clinical biofilm-forming strain #b2</i>	5.68	3.83	12.73	3.37	2.74	6.31	1.68	1.27	1.71
<i>Pseudomonas aeruginosa, reference strain ATCC 10145 (192)</i>	18.04	23.67	0.79	10.70	16.91	0.39	5.35	7.80	0.11
<i>Klebsiella pneumoniae, clinical strain (216)</i>	46.11	31.56	410.33	27.33	22.56	203.22	13.67	10.44	55.22
<i>Raoultella ornithinolytica DSM 7464 (176)</i>	23.06	3.84	25.12	13.67	2.74	12.44	6.83	1.27	3.38

### 3.3.2 SAR-аналіз антимікробної активності синтезованих гібридних молекул

Попередній SAR-аналіз антимікробної активності синтезованих гібридних молекул було проведено та узагальнено на рисунку 3.9.

Обидва фрагменти — (5-нітрофуран-2-іл)метилен і (5-нітрофуран-2-іл)аліліден — сприяли високому рівню активності та можуть бути використані як перспективні структурні блоки для подальшого дизайну нових гібридів.

Похідні карбонових кислот 3.19b, 3.20b, 3.24b і 3.25b, що містять (5-нітрофуран-2-іл)метиленовий фрагмент, належали до найбільш активних сполук. Однак незначні зміни в структурі замісників або довжині ланцюга призводили до зниження або навіть повної втрати активності. Наявність заміщеного бензамідного фрагмента в положенні 3 ядра 4-тіазолідинону також сприяла високому рівню активності (сполуки 3.1b, 3.3b–3.8b).

Гібриди 3.45b–3.47b, які не мають замісників у положенні 3 та містять різні гетероатоми в положенні 2, входили до числа найбільш активних сполук із (5-нітрофуран-2-іл)аліліденовим фрагментом. Крім того, високий рівень активності продемонструвала похідна 3.37b, що містить бензолсульфонамідний фрагмент.

Подібно до гібридів із (5-нітрофуран-2-іл)метиленовим заміщенням, введення заміщеного бензамідного фрагмента в положенні 3 сприяло підвищенню активності також і для (5-нітрофуран-2-іл)аліліденових аналогів (3.28b, 3.32b–3.34b).

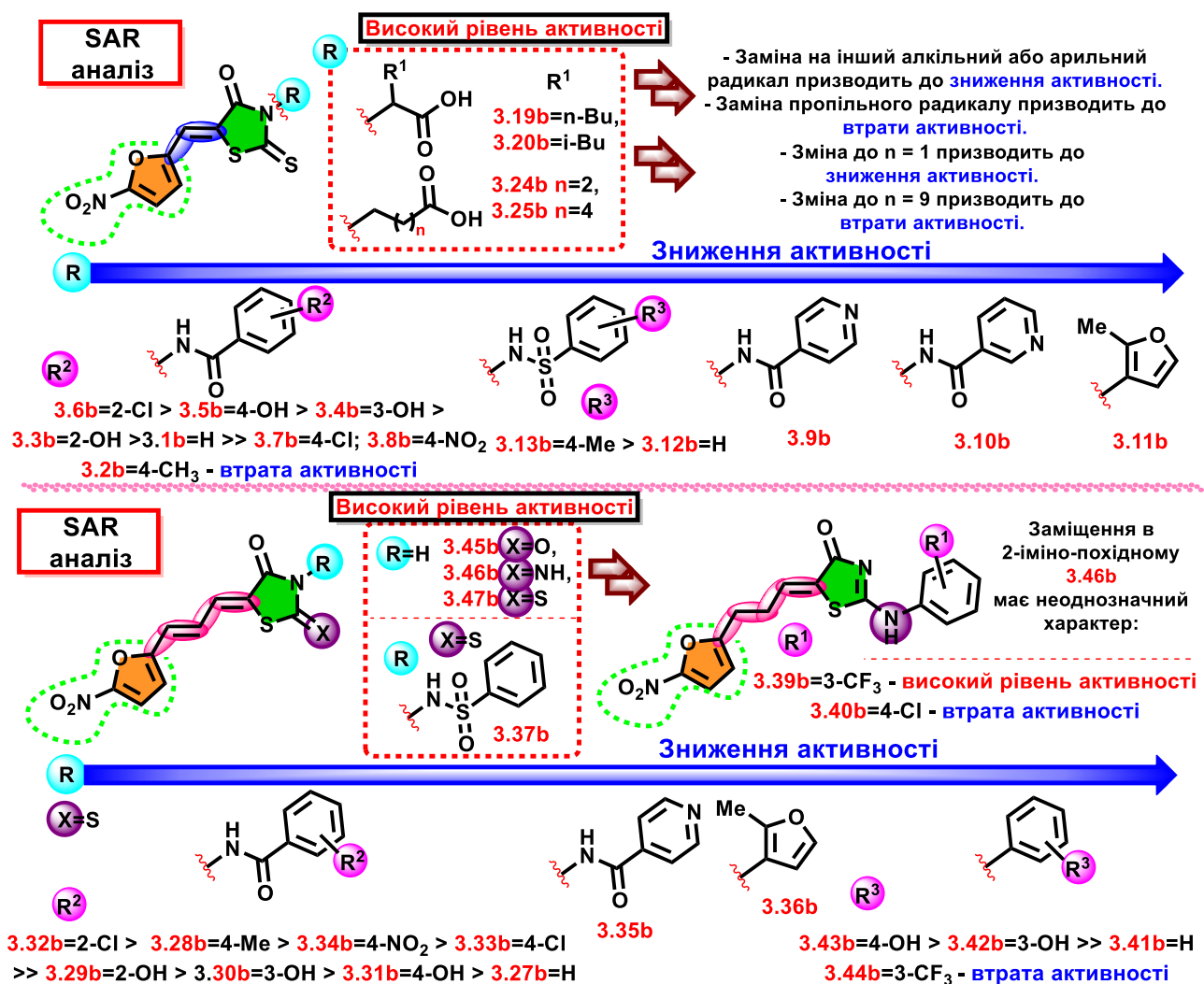


Рис. 3.9 Зв'язок «структура – антимікробна активність» для синтезованих гібридів

### Експериментальна частина

*Синтез 3-заміщених (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилден)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-онів та заміщених 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-онів 3.1b–3.49b*

Суміш відповідних похідних 3.1a–3.37a (10 ммоль), 5-нітрофуран-2-карбальдегіду або (E)-3-(5-нітрофуран-2-іл)акриальдегіду (12,5 ммоль) та безводного ацетату натрію (10 ммоль) у льодяній оцтовій кислоті (10 мл) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 3 год (контроль перебігу реакції здійснювали методом ТШХ) (Рис. 3.10, 3.11).

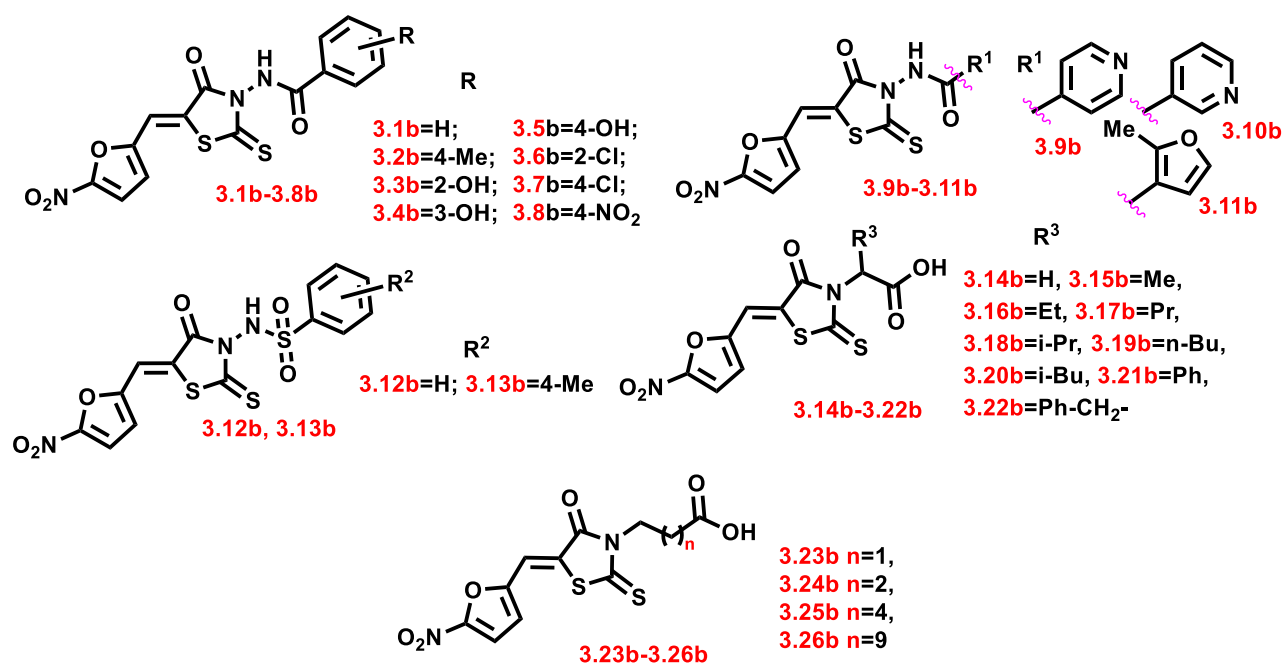


Рис. 3.10 3-заміщені (Z)-5-((5-нітрофуран-2-іл)метилден)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-они

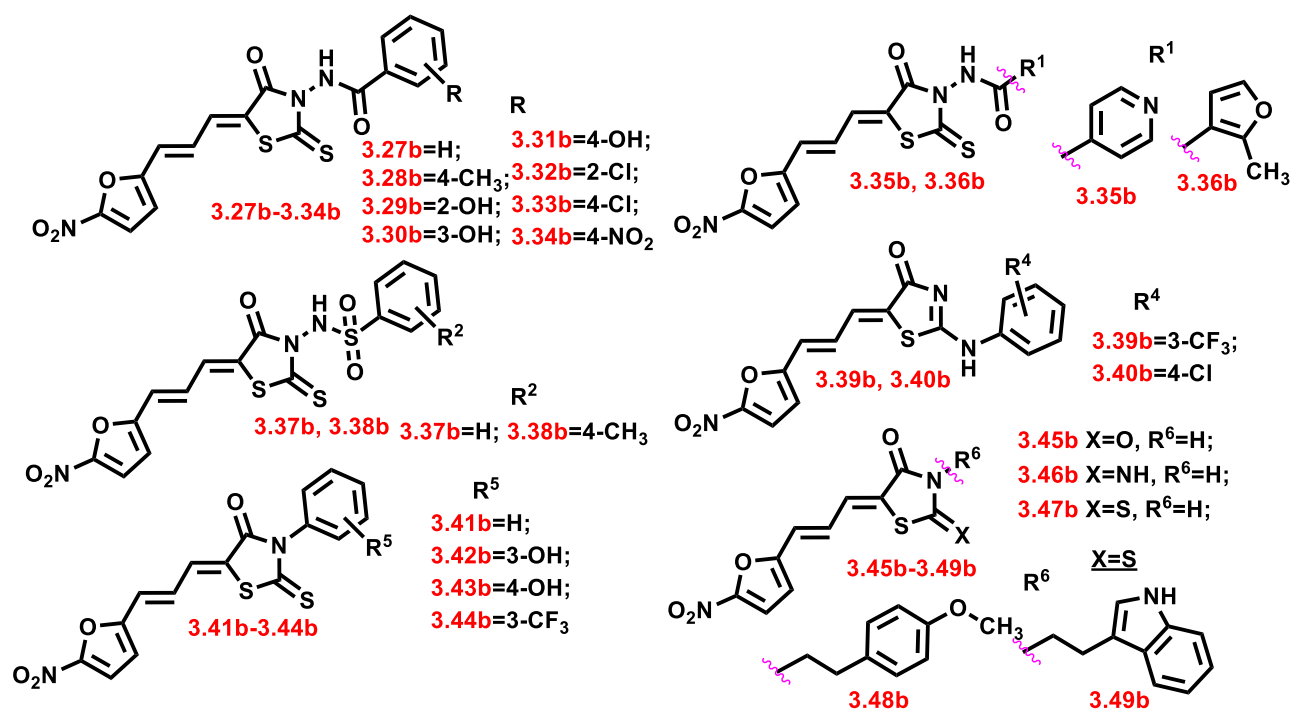
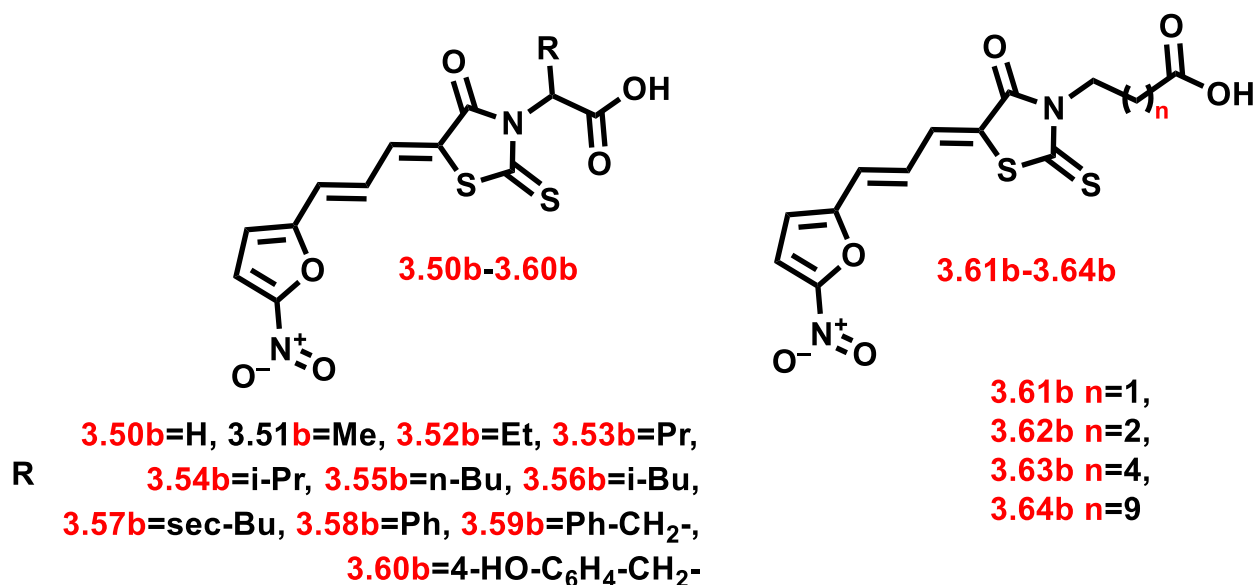


Рис. 3.11 Заміщені 5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-тіазолідинон-4-они

Після завершення реакції суміш охолоджували до кімнатної температури. Утворені тверді продукти 3.1b–3.49b відфільтровували, промивали метанолом

(5–10 мл), діетиловим етером та перекристалізували 3.1b–3.3b, 3.6b, 3.7b, 3.12b–3.18b, 3.23b–3.30b, 3.36b–3.38b, 3.41b–3.44b, 3.48b – з оцтової кислоти, 3.4b, 3.5b, 3.8b–3.11b, 3.19b–3.22b, 3.45b, 3.46b, 3.47b – з сумішки оцтова кислота-вода, 3.31b–3.35b, 3.49b – з сумішки оцтова кислота-ДМФА, 3.39b – з ізопропанолу, 3.40b – з бутанолу.

*Синтез 5-ілідензаміщених роданін-3-карбонових кислот 3.50b–3.64b*



Синтез відповідних роданін-3-карбонових кислот здійснювали згідно з методиками, описаними в літературі: для сполук 3.50a, 3.54a, 3.56a, 3.57a — у [143]; 3.51a–3.53a, 3.55a — у [144]; 3.58a — у [145]; 3.59a — у [146]; 3.60a — у [147]; 3.61a–3.64a — у [148].

Суміш відповідних роданін-3-карбонових кислот 3.50a–3.64a (10 ммоль), (*E*)-3-(5-нітрофуран-2-іл)акриальдегіду (12,5 ммоль) та безводного ацетату натрію (10 ммоль) у льодяній оцтовій кислоті (10 мл) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 3 год (контроль перебігу реакції здійснювали методом ТШХ).

Очищення сполук здійснювали перекристалізацією: 3.50b–3.55b, 3.58b, 3.60b–3.64b — з льодяної оцтової кислоти; 3.56b, 3.57b, 3.59b — із суміші льодяна оцтова кислота – вода (1:1).

### Висновки до розділу 3

1. Синтезовано серію нових гібридних молекул на основі 4-тіазолідинового скафолду, що містять 5-нітрофурановий фармакофор, та проведено комплексну оцінку їхньої антимікробної й протигрибкової активності. Використаний підхід молекулярної гібридизації дозволив поєднати у межах однієї молекули два біологічно активні структурні фрагменти, що сприяло формуванню нових перспективних гетероциклічних систем із вираженим антимікробним потенціалом.
2. У результаті проведеного фармакологічного скринінгу встановлено, що вісім синтезованих гібридів характеризуються підвищеною антимікробною активністю. Серед них три сполуки (3.45b, 3.46b та 3.47b) продемонстрували найвищий рівень біологічної дії та широкий спектр активності щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, коринебактерій та грибів. Для зазначених сполук встановлено дуже низькі значення мінімальної інгібувальної концентрації (MIC < 0,18 мкМ), що свідчить про їхню високу ефективність як потенційних антимікробних агентів.
3. Найвищу антимікробну активність щодо клінічно значущих патогенів *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae* продемонстрували сполуки 3.45b, 3.46b і 3.47b, для яких значення MIC становили менше 0,09 мкМ. Крім того, сполука 3.46b виявилася найбільш активною щодо *Corynebacterium diphtheriae* серед десяти протестованих похідних. Особливої уваги заслуговує сполука 3.47b, яка проявила виражену протигрибкову активність щодо *Aspergillus niger* та здатність тривалий час пригнічувати процес дозрівання і формування спор, що може свідчити про специфічний механізм протигрибкової дії.
4. Отримані результати фармакологічного скринінгу свідчать про перспективність використання гібридних молекул даного типу як потенційних антимікробних агентів, зокрема для боротьби з резистентними штамми мікроорганізмів. Серед синтезованих сполук найбільш перспективними для

подальших досліджень визначено похідні 3.19b, 3.20b, 3.24b та 3.47b, які поєднують високу антимікробну активність із відносно низькою цитотоксичністю.

5. Встановлено, що сполуки 3.19b, 3.20b, 3.24b та 3.47b характеризуються оптимальним співвідношенням антимікробної активності та цитотоксичності. Отримані результати можуть свідчити про селективні механізми дії цих молекул, спрямовані переважно на мікробні клітини при збереженні життєздатності еукаріотичних клітин. Такий фармакологічний профіль робить ці структури перспективними кандидатами для подальшого фармакологічного та доклінічного дослідження.

6. Проведений аналіз залежності «структура–активність» (SAR) дозволив визначити ключові структурні фрагменти, що сприяють підвищенню антимікробної активності синтезованих гібридів. Отримані результати створюють наукове підґрунтя для подальшого раціонального дизайну нових гетероциклічних молекул, які містять фармакофорні фрагменти 4-тіазолідинону та 5-нітрофурану та характеризуються високим рівнем антимікробної активності.

*Результати досліджень за розділом наведено в таких публікаціях:*

1. Podolak M., Horishny V., Dudchak R., Gornowicz A., Czarnomysy R., Mural D., Holota S., Bielawski K., Lesyk R., Bielawska A. Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of New 5-((5-Nitrofuranyl)allylidene)-2-thioxo-4-thiazolidinones. *Pharmaceuticals*. 2025. Vol. 18. P. 1598. DOI:10.3390/ph18111598.
2. Horishny V., Mural D., Kovalenko I., Finiuk N., Ivasechko I., Konechnyi Y., Tymchuk I., Nedzelskyi S., Kozak Y., Rumynska T., Niemczuk K., Szymańska-Czerwińska M., Georgiyants V., Stoika R., Lesyk R., Holota S. Synthesis and Evaluation of Novel 4-Thiazolidinone-5-Nitrofuranyl Hybrids as Promising Antimicrobial Agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2026. P. 118545. DOI:10.1016/j.bmc.2026.118545.

3. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Horishny V., Yushyn I., Georgiyants V., Lesyk R. Design of Novel Nitrofuran-Thiazolidinone Hybrid Molecules as Potential Biologically Active Compounds. *International Conference "Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations 2025"*. Lithuania, Kaunas, 22 March 2024, P. 105.

## РОЗДІЛ 4

### СИНТЕЗ ТА ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НЕКОНДЕНСОВАНИХ ТА КОНДЕНСОВАНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА ЇХ СТРУКТУРНИХ АНАЛОГІВ

4.1 Одержання досліджуваних молекул на основі неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів

Похідні 4-тіазолідинону та їх структурні аналоги продемонстрували виражену антимікробну активність, зокрема ефективність щодо мультирезистентних штамів бактерій, порівнянну зі стандартними антибіотиками (Рис. 4.1) [150–157]. Крім того, було ідентифіковано низку антимікробних агентів на основі тіазольного/тіазолідинонового каркасу з перспективним фармакологічним потенціалом [158, 159].

З огляду на це було обрано для ресинтезу та дослідження протимікробної активності 32 сполуки, що представляють шість різних серій неконденсованих та конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів (5-енамін(гідрозин)-4-тіазолідинони, 4-тіазолідинон-піразоли, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинони, 5-ен-4-тіазолідинони, тіопірано[2,3-d]тіазоли та ізатин-оксадіазоли). Вибір ґрунтувався на попередніх аналізах співвідношення структури та активності (SAR), які показали, що ці похідні мають сприятливі фармакофорні властивості та покращені лікоподібні характеристики порівняно з іншими відомими сполуками на основі тіазолідинонів.

Крім того, попередні дослідження повідомляли про їхній виражений антимікробний, протигрибковий, протипаразитарний та протираковий потенціал у поєднанні з низькою цитотоксичністю, що свідчить про те, що ці 32 похідні є найперспективнішими кандидатами для подальшого комплексного дослідження (Рис. 4.1) [151-157, 160, 161].

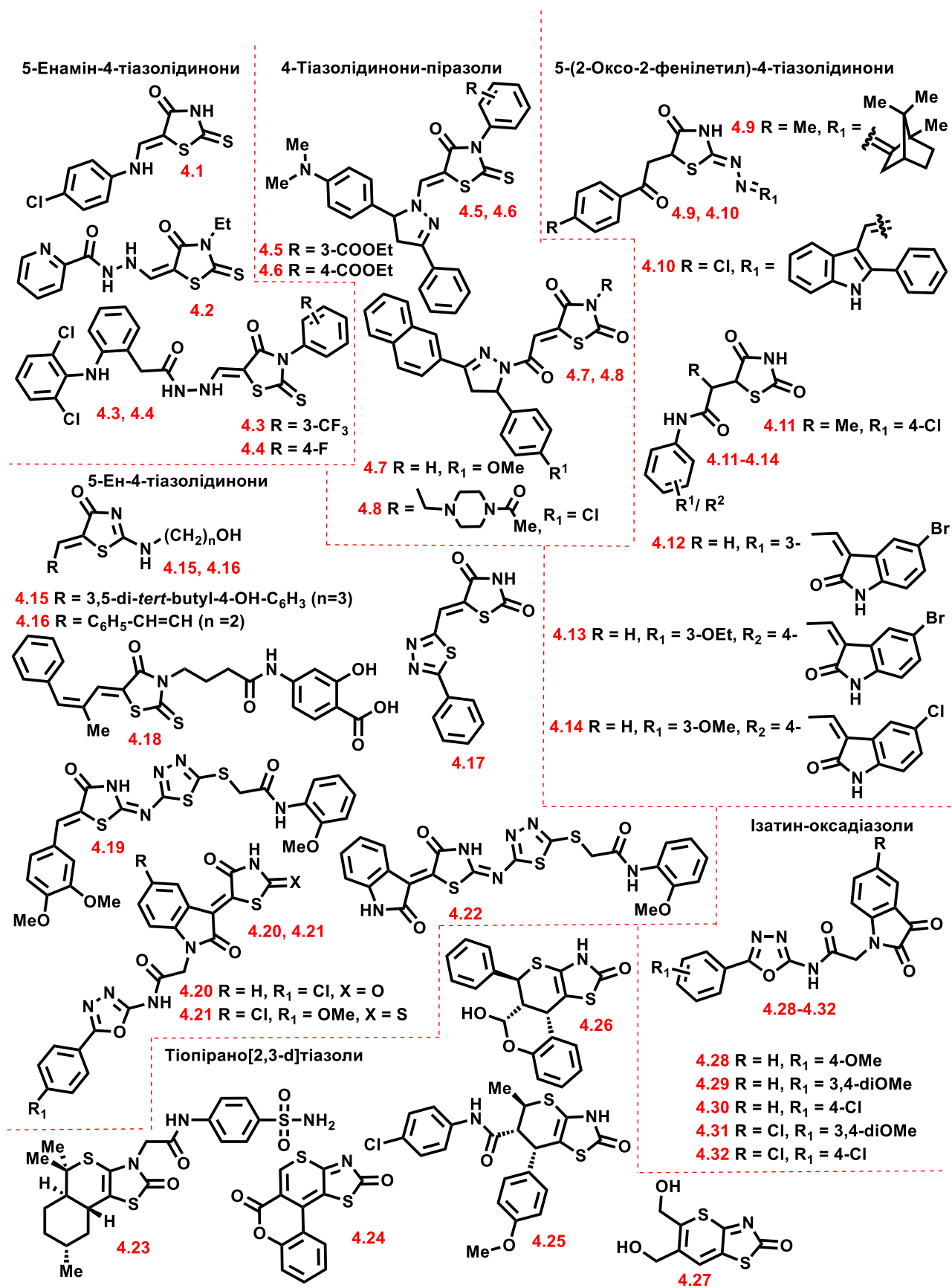


Рис. 4.1 Структури ресинтезованих молекул 4.1-4.32 на основі похідних тіазолідину та структурних аналогів як потенційні антимікробні агенти

#### 4.1.2 Протимікробна активність неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів

Усі 32 ресинтезовані молекули 4.1-4.32 було відібрано для антимікробного та протигрибкового скринінгу на підставі їхніх структурних характеристик і попередніх даних щодо активності.

Сполуки зі значенням MBC у діапазоні 200–25 мкМ класифікували як такі, що мають середній рівень активності, тоді як сполуки з MBC < 25 мкМ відносили до високого рівня активності (Додаток Г).

5-Енамін(гідразинів)-4-тіазолідинони продемонстрували середню активність щодо метицилін-чутливого *S. aureus* (MIC = 50–100 мкМ). Сполука 4.3 проявила активність проти *E. faecalis* (MIC = 50 мкМ). Крім того, сполука 4.1 продемонструвала помірну активність щодо *S. aureus* (MIC = 50 мкМ).

Серед тіазолідинон-піразольних гібридів сполука 4.6 виявила найкращу активність щодо стафілококів (MIC = 6,25 мкМ як для метицилін-резистентного, так і для метицилін-чутливого *S. aureus*; MIC = 12,5 мкМ для *S. epidermidis*). Сполука 4.7 проявила активність щодо стафілококів (MIC = 12,5 мкМ) та *E. faecalis* (MIC = 12,5 мкМ).

Серед похідних 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинону (4.9–4.14) сполуки 4.10 і 4.12 продемонстрували значну активність щодо метицилін-чутливого *S. aureus* (MIC = 6,25 та 12,5 мкМ відповідно) і *S. epidermidis* (MIC = 6,25 та 13,3 мкМ відповідно). Обидві також проявили середню активність щодо ентерококів (MIC = 50 мкМ). Сполука 4.13 продемонструвала високу активність щодо *S. epidermidis* (MIC = 12,5 мкМ), тоді як сполука 4.14 — середню активність щодо метицилін-резистентного *S. aureus* (MIC = 25 мкМ).

Серед похідних 5-ен-4-тіазолідинонів (4.15–4.21) сполуки 4.21, 4.19 і 4.16 показали високу активність щодо *S. epidermidis* (MIC = 1,56 мкМ для 21; MIC = 12,5 мкМ для 4.16 і 4.19). Сполука 4.18 продемонструвала високий рівень активності щодо *E. faecalis* (MIC = 20 мкМ) та середню активність щодо *S. aureus* (MBC = 50 мкМ). Сполука 4.22 проявила високу активність щодо *S. epidermidis*

(MIC = 12,5 мкМ) і метицилін-чутливого *S. aureus* (MIC = 25 мкМ). Усі 5-ен-4-тіазолідинони продемонстрували середню активність щодо метицилін-чутливого *S. aureus* (MIC = 25–100 мкМ).

Серед ізатин-оксадіазольних гібридів (4.28–4.32) сполука 4.29 продемонструвала високу активність щодо ентерококів, включаючи ванкоміцин-резистентний *E. faecium* (MIC = 3,13 мкМ). Сполуки 4.28 і 4.30 проявили середню активність щодо всіх грампозитивних бактерій, включаючи метицилін-резистентний *S. aureus* (MIC = 25–50 мкМ). Сполуки 4.31 і 4.32 продемонстрували середню активність щодо ентерококів (MIC = 25–100 мкМ).

Похідні тіопіранотіазолу (4.23–4.27) не виявили значної антимікробної активності, за винятком сполуки 4.27, яка проявила протигрибкову активність щодо *C. albicans* (MIC = 100 мкМ).

Жодна з досліджених сполук не продемонструвала суттєвої антимікробної активності щодо грамнегативних бактерій.

У результаті було ідентифіковано 10 сполук-хітів (4.6, 4.7, 4.10, 4.12, 4.13, 4.16, 4.19, 4.21, 4.22 і 4.29), серед яких найбільш активними виявилися сполуки 4.21 та 4.29.

Порівнюючи значення MIC і MBC, сполука вважається більш бактерицидною, якщо її MIC є близькою до MBC [159, 162]. За цим критерієм найменш бактерицидними є 5-ен-4-тіазолідинони (4.21, 4.19), похідні 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинону (4.10, 4.12, 4.13) та тіазолідинон-піразольний гібрид (4.7). Серед них сполука 4.21, ймовірно, має більш бактериостатичний характер дії, тоді як сполука 4.29 демонструє потенціал як більш бактерицидний агент.

Варто зазначити, що в більшості випадків досліджувані сполуки проявили нижчу антимікробну та протигрибкову активність порівняно з референтними препаратами — ципрофлоксацином, ванкоміцином і флуконазолом. Винятком стала сполука 4.29, яка продемонструвала значно вищу активність, ніж ванкоміцин, щодо *Enterococcus faecium* 419/ANA та *Enterococcus faecalis* ССМ 4224.

Загальний аналіз результатів антимікробного скринінгу виділяє сполуку 4.21 (клас 5-ен-4-тіазолідинонів) та сполуку 4.29 (клас ізатин-оксадіазольних гібридів). Аналіз результатів підкреслює ефективність підходу гібридного фармакофора, який поєднує в одній молекулі фармакологічно привабливі фрагменти — оксадіазол, ізатин і тіазолідинон — що забезпечує підвищену антимікробну активність. Слід зазначити, що такі гібридні молекули демонструють значно вищу ефективність порівняно з окремими субструктурними компонентами.

Також встановлено, що конденсовані похідні тіазолідинону (тіопірано[2,3-*d*]тіазоли) характеризуються помітно нижчим рівнем активності порівняно з неконденсованими аналогами.

Хоча точний механізм дії цих сполук потребує подальшого з'ясування, відомо, що похідні ізатину здатні інтеркалювати в ДНК і потенційно інгібувати ДНК-полімеразу III, блокуючи бактеріальну реплікацію — що є однією з ключових причин їхньої антимікробної активності [162]. Відповідно до літературних даних, ізатин-орієнтовані гібриди становлять перспективну платформу для створення нових антимікробних агентів широкого спектра дії, включаючи активність щодо резистентних штамів, таких як MRSA [160-162].

#### 4.1.3 Молекулярні фармакокінетичні та токсикологічні властивості сполук 4.21 та 4.29

Прогнозування за допомогою SwissADME для двох найбільш активних сполук — 4.21 та 4.29 — продемонструвало їхню відповідність правилу п'яти Ліпінського (Табл. 4.1). Сполука 4.29 повністю відповідає всім критеріям без жодних порушень, тоді як сполука 4.21 має одне порушення через молекулярну масу понад 500 г/моль.

Обидві сполуки характеризуються оптимальною ліпофільністю з прогнозованими значеннями LogP 2,80 (сполука 4.21) та 1,59 (сполука 4.29). Прогнозовані значення TPSA ( $\text{\AA}^2$ ) для сполук 4.21 і 4.29 становлять 123,86–

184,05, що свідчить про помірний потенціал абсорбції, хоча сполуки з TPSA понад  $140 \text{ \AA}^2$  зазвичай вважаються менш придатними для перорального застосування.

Щодо гастроінтестинальної (GI) абсорбції, для сполуки 4.21 прогнозується низький рівень всмоктування, тоді як сполука 4.29 характеризується високою GI-абсорбцією. Обидві сполуки мають слабку проникність через гематоенцефалічний бар'єр (BBB) та середні значення шкірної проникності, із прогнозованими  $\log K_p$   $-7,38$  та  $-7,68$  см/с для 4.21 і 4.29 відповідно. Сполука 4.29 прогнозується як субстрат Р-глікопротеїну, на відміну від сполуки 4.21 (Табл. 4.1.).

Таблиця 4.1

**Параметри лікоподібності та токсичності сполук 4.21 і 4.29,  
розраховані за допомогою SwissADME та ProTox II**

<b>Сполука / Критерій</b>	<b>4.21</b>	<b>4.29</b>
1	2	3
Формула	$C_{22}H_{14}ClN_5O_5S_2$	$C_{20}H_{16}N_4O_6$
Молекулярна маса (г/моль)	527.96	408.36
Кількість обертальних зв'язків NRB	6	7
Кількість важких атомів ННА	7	8
Кількість донорів водневого зв'язку МНД	2	1
TPSA ( $\text{\AA}^2$ )	184.05	123.86
LogP (cLogP)	2.80	1.59
Порушення правила п'яти Ліпінського	1	0
Значення шкірної проникності $\log K_p$ , см/с.	-7.38	-7.68
Гастроінтестинальна абсорбція GI	Низька	Висока
Проникність через гематоенцефалічний бар'єр BBB	Ні	Ні
<b><i>Інгібіторна взаємодія</i></b>		
Субстрат Р-глікопротеїну (P-gp).	Ні	Так

## Продовження таблиці 4.1

1	2	3
CYP1A2 інгібітор	Ні	Ні
CYP2C19 інгібітор	Ні	Ні
CYP2C9 інгібітор	Так	Так
CYP2D6 інгібітор	Ні	Ні
CYP3A4 інгібітор	Так	Так
LD <sub>50</sub> (мг/кг)	1000	1000
Клас токсичності	4	4
Гепатотоксичність	Активна	Активна
Канцерогенність	Неактивна	Неактивна
Імунотоксичність	Активна	Неактивна
Мутагенність	Неактивна	Неактивна
Цитотоксичність	Неактивна	Неактивна

Обидві сполуки були також оцінені щодо потенційної взаємодії з ферментами цитохрому P450 (CYP). Жодна зі сполук не інгібує CYP1A2, CYP2C19 і CYP2D6. Водночас обидві сполуки є інгібіторами CYP2C9 та CYP3A4.

Органну токсичність (гепатотоксичність) та токсикологічні кінцеві точки (канцерогенність, імунотоксичність, мутагенність і цитотоксичність) для сполук 4.21 і 4.29 було спрогнозовано за допомогою ProTox II (Табл. 4.1.).

Отримані результати свідчать, що обидві сполуки є неактивними щодо канцерогенності, мутагенності та цитотоксичності. Водночас сполука 4.21 демонструє прогнозовану гепатотоксичність та імунотоксичність, тоді як для сполуки 4.29 передбачена гепатотоксичність, але відсутня імунотоксичність.

Хоча прогнози ProTox II надають корисну початкову інформацію, потенційні наслідки виявленої гепатотоксичності та імунотоксичності потребують подальшого дослідження. Ці ефекти можуть мати дозозалежний характер і, ймовірно, можуть бути мінімізовані шляхом структурної оптимізації сполук для зменшення позамішеневої токсичності при збереженні біологічної активності.

#### 4.1.4 Молекулярний докінг неконденсованих/конденсованих 4-тіазолідинонів та їх структурних аналогів

##### *Загальна кореляція між докінгом і біологічною активністю*

Молекулярний докінг синтезованих похідних 4-тіазолідинону 4.1-4.32 щодо MurB і GyrB продемонстрував кореляцію між афінністю зв'язування та антибактеріальною активністю. Високоактивні сполуки (MIC 6,25–12,5 мкМ; 4.7, 4.10, 4.12, 4.13, 4.21, 4.29) характеризувалися нижчими значеннями енергії зв'язування за AutoDock Vina, тоді як слабоактивні або неактивні сполуки (MIC  $\geq$  100 мкМ; 4.1, 4.2, 4.11, 4.15, 4.27) мали вищі значення енергії зв'язування.

##### *MurB як потенційна мішень.*

Більшість найактивніших сполук утворювали стабільні комплекси в активному центрі MurB, що свідчить про те, що їхня антибактеріальна активність принаймні частково пов'язана з інгібуванням MurB (Табл. 4.2).

*Таблиця 4.2*

#### **Енергії зв'язування синтезованих молекул 4.1-4.32, отримані за допомогою AutoDock Vina для досліджуваних сполук у комплексі з MurB**

<b>Сполуки</b>	<b>Енергія зв'язування</b>	<b>Сполуки</b>	<b>Енергія зв'язування</b>	<b>Сполуки</b>	<b>Енергія зв'язування</b>
4.1	-6.066	4.12	-8.474	4.23	-7.995
4.2	-6.942	4.13	-8.073	4.24	-7.671
4.3	-8.084	4.14	-8.035	4.25	-7.036
4.4	-8.386	4.15	-6.82	4.26	-7.937
4.5	-7.956	4.16	-6.529	4.27	-5.279
4.6	-7.806	4.17	-7.101	4.28	-8.964

## Продовження таблиці 4.2

4.7	-9.309	4.18	-7.056	4.29	-9.314
4.8	-9.804	4.19	-8.247	4.30	-9.125
4.9	-8.112	4.20	-9.774	4.31	-9.133
4.10	-9.56	4.21	-9.224	4.32	-8.804
4.11	-6.898	4.22	-8.623	Референтний ліганд	-8.956

Сполука 4.21 взаємодіє через  $\pi$ - $\pi$ -стекинг, галоген- $\pi$  (edge-on), катіон- $\pi$  та ван-дер-ваальсові взаємодії з ключовими амінокислотними залишками (Phe274, Arg225, Val239, Gly273), а також утворює водневі зв'язки, що стабілізують її зв'язування.

Сполука 4.29 також демонструє високу афінність до MurB (Рис. 4.2).

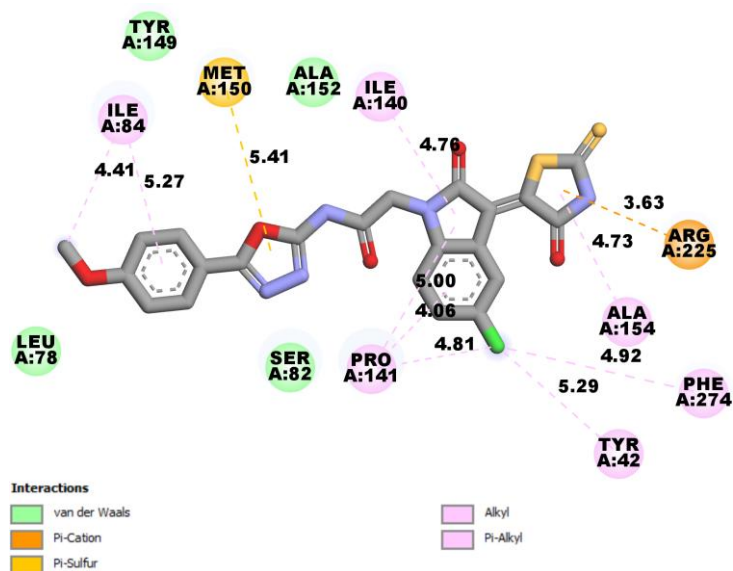
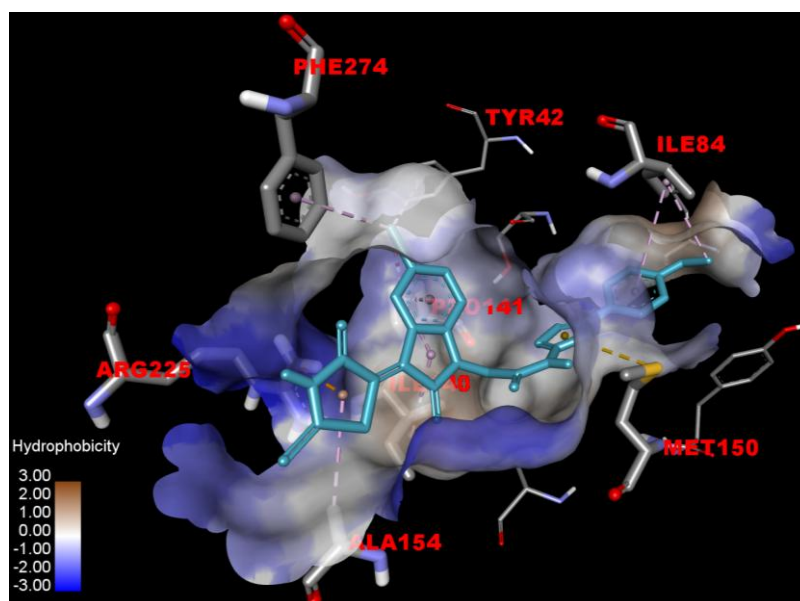


Рис. 4.2 Прогнозована просторова орієнтація зв'язування (суан) та двовимірна схема взаємодії сполуки 4.21 (сірий колір) в активному центрі MurG (поверхня забарвлена відповідно до гідрофобності: синій — полярні ділянки, коричневий — гідрофобні). Ключові амінокислотні залишки активного сайту (Arg225, Phe274 тощо) представлені у вигляді «стрижневої» (stick) моделі

### *GyrB як вторинна мішень*

Докінг до GyrB (АТФазний домен) продемонстрував слабшу кореляцію з антибактеріальною активністю порівняно з MurG (Табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Енергії зв'язування синтезованих молекул 4.1-4.32, отримані за допомогою AutoDock Vina для досліджуваних сполук у комплексі з GyrB

Сполуки	Енергія зв'язування	Сполуки	Енергія зв'язування	Сполуки	Енергія зв'язування
4.1	-7.105	4.12	-9.399	4.23	-8.226
4.2	-7.704	4.13	-9.680	4.24	-8.226
4.3	-8.847	4.14	-9.686	4.25	-9.138
4.4	-9.585	4.15	-6.924	4.26	-8.479
4.5	-5.677	4.16	-7.728	4.27	-6.215
4.6	-5.499	4.17	-8.006	4.28	-9.218
4.7	-7.193	4.18	-8.731	4.29	-10.18
4.8	-7.052	4.19	-8.079	4.30	-10.06
4.9	-9.145	4.20	-8.692	4.31	-9.467
4.10	-9.071	4.21	-8.727	4.32	-9.969
4.11	-7.876	4.22	-8.291	<b>B46</b>	<b>-9.976</b>

Сполука 4.29 зв'язується з АТФ-зв'язувальною кишенею, формуючи сприятливі взаємодії (водневі зв'язки з Gly77 і Thr165,  $\pi$ -аніонні та  $\pi$ -алкільні контакти), що узгоджується з можливим механізмом АТФ-конкурентного інгібування.

Сполука 4.29 демонструє помірні взаємодії з активним центром (Рис. 4.3).

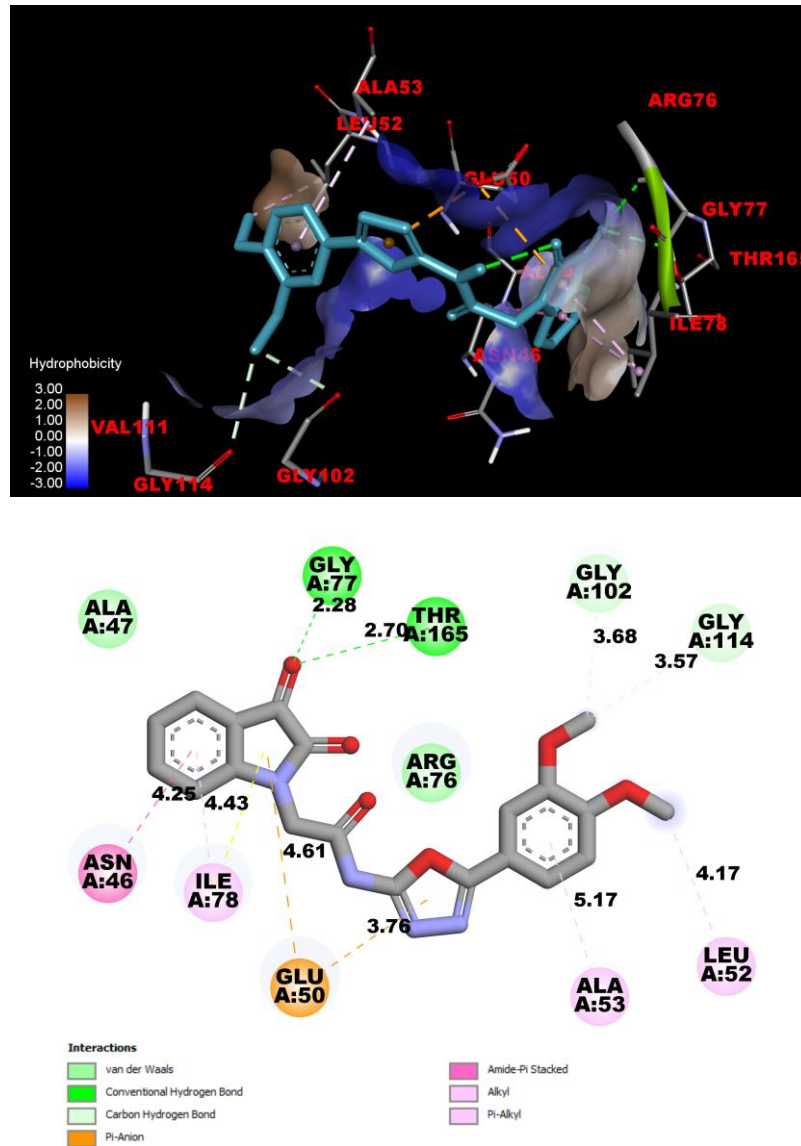


Рис. 4.3 Прогнозована орієнтація зв'язування сполуки 4.29 в АТФ-зв'язувальному сайті субодиноці GyrB. а) Тривимірна (3D) візуалізація докінг-комплексу. б) Двовимірна (2D) карта взаємодій із зазначенням водневих зв'язків,  $\pi$ -аніонних та  $\pi$ -алкільних контактів, що стабілізують сполуку 4.29 у нуклеотид-зв'язувальній кишені GyrB

### Молекулярна динаміка

*Комплекси з MurB.* Траєкторії RMSD досягали рівноваги протягом 5–10 нс. Сполука 4.29 продемонструвала найнижчі значення RMSD ( $\sim 0,10$ – $0,15$  нм), що свідчить про стабільне зв'язування; для сполуки 4.21 та референтного ліганду спостерігалися вищі значення ( $\sim 0,25$ – $0,35$  нм) (Рис. 4.4).

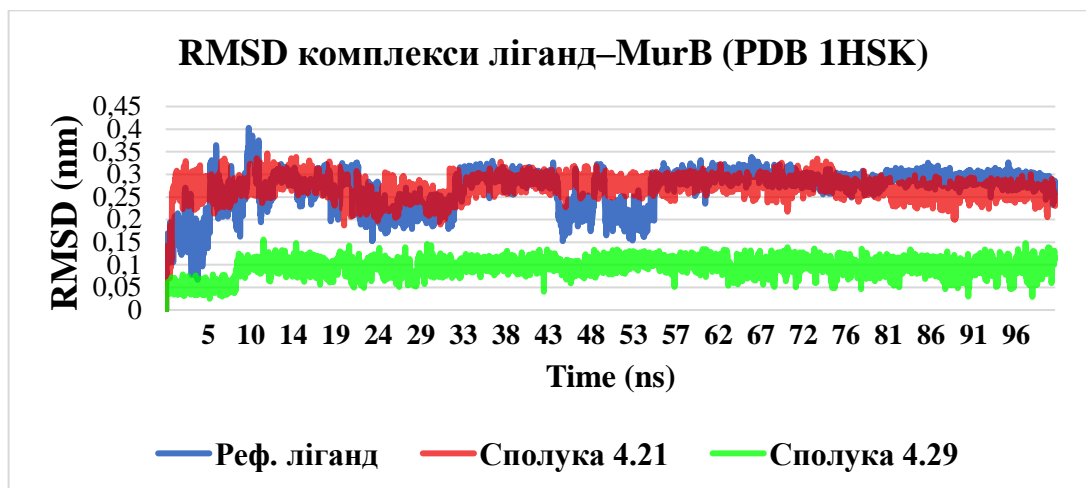


Рис. 4.4 Динаміка RMSD лігандів (референтного, сполуки 4.21 та сполуки 4.29) у комплексі з MurB (PDB ID: 1HSK) протягом 100-нс молекулярно-динамічного моделювання

Значення RMSF вказують на мінімальні флуктуації залишків активного центру ( $<0,2$  нм) (Рис. 4.5). Аналіз водневих зв'язків показав, що сполука 4.29 підтримувала 2–4 Н-зв'язки протягом моделювання, тоді як сполука 4.21 формувала меншу кількість і більш транзиторні зв'язки. Радіус гірації залишався стабільним ( $\sim 2,05$ – $2,15$  нм) для всіх комплексів.

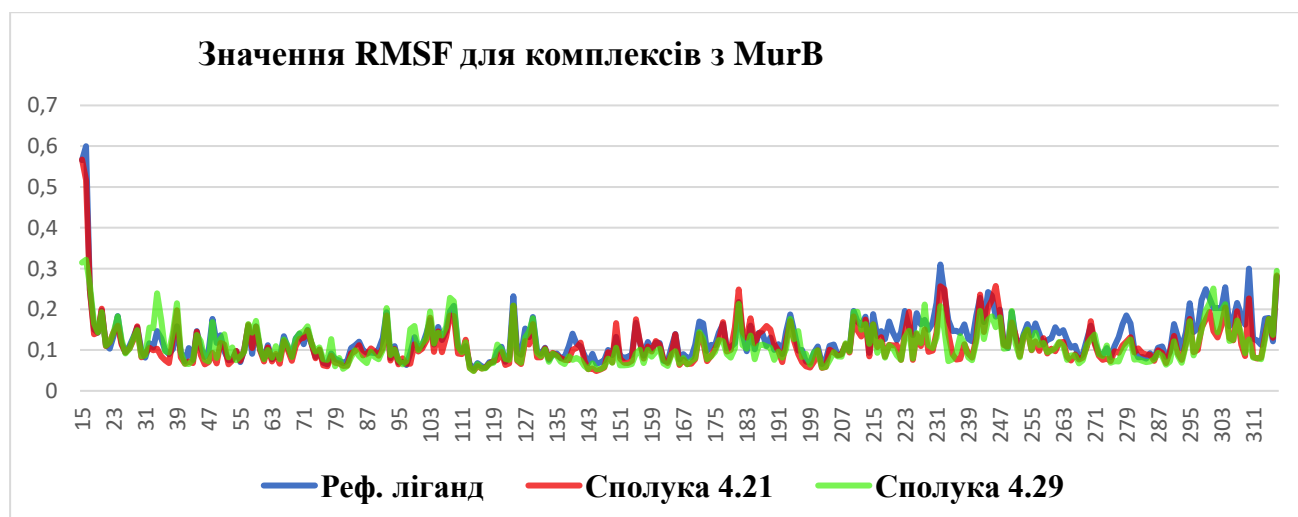


Рис. 4.5 Значення RMSF залишків MurB у комплексах із референтним лігандом (за даними літератури), сполукою 4.21 та сполукою 4.29 протягом 100-нс молекулярно-динамічного моделювання

### Комплекси з GyrB

Профілі RMSD свідчать, що В46 є найбільш стабільним комплексом ( $\sim 0,10$ – $0,15$  нм), сполука 29 демонструє помірну стабільність ( $\sim 0,20$ – $0,30$  нм), тоді як сполука 21 є найменш стабільною ( $\sim 0,25$ – $0,35$  нм) (Рис. 4.6).

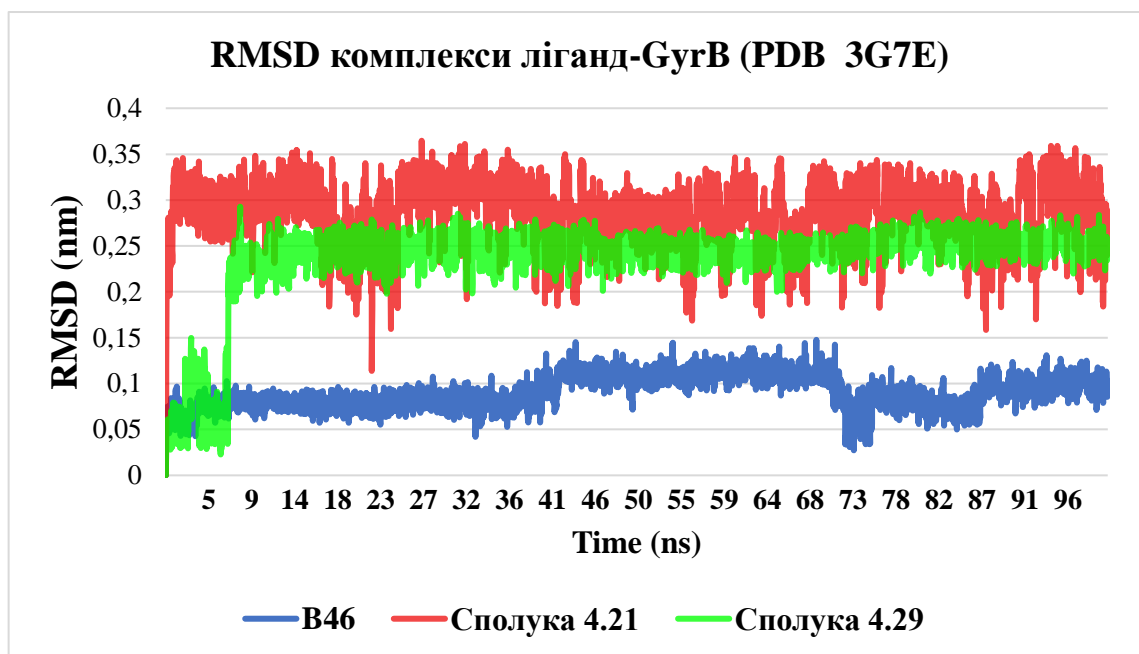


Рис. 4.6 Динаміка RMSD лігандів (В46, сполуки 4.21 та сполуки 4.29) у комплексі з GyrB (PDB ID: 3G7E) протягом 100-нс молекулярно-динамічного моделювання.

Аналіз RMSF показав дещо вищу гнучкість для комплексу зі сполукою 4.21, тоді як сполука 4.29 за характером флуктуацій подібна до В46 (Рис. 4.7). Заповненість водневих зв'язків для сполук 4.21 і 4.29 була нижчою порівняно з В46. Радіус гірації залишався сталим ( $\sim 1,64$ – $1,68$  нм), що свідчить про збереження стабільної глобальної конформації білка.

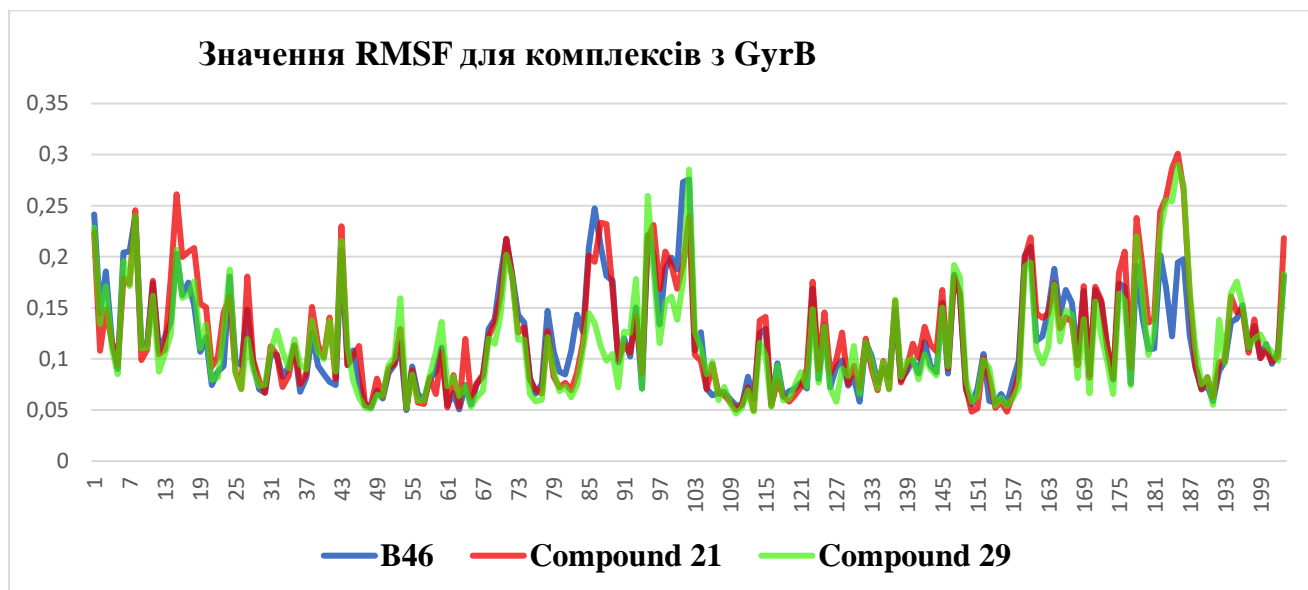


Рис. 4.7 Значення RMSF залишків GyrB (PDB 3G7E) у комплексах із B46, сполукою 4.21 та сполукою 4.29 протягом 100-нс молекулярно-динамічного моделювання

#### Експериментальна частина

Ресинтез, підтвердження структури та очистка серії сполук: 5-енамін(гідразин)-4-тіазолідинони 4.1-4.4, 4-тіазолідинон-піразоли 4.5-4.8, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинони 4.9-4.14, 5-ен-4-тіазолідинони 4.15-4.22, тіопірано[2,3-d]тіазоли 4.23-4.27 та ізатин-оксадіазоли 4.28-4.32 був здійснено на основі наступних літературних джерел [122, 164–170].

#### Висновки до розділу 4

1. Синтезовано шість різних серій неконденсованих і конденсованих похідних 4-тіазолідинону та їх структурних аналогів з метою подальшого дослідження їхнього антимікробного потенціалу. До досліджуваних класів належать 5-енамін(гідразин)-4-тіазолідинони, 4-тіазолідинон-піразоли, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинони, 5-ен-4-тіазолідинони, тіопірано[2,3-d]тіазоли та ізатин-оксадіазольні гібриди. Отримані сполуки характеризуються різноманітністю гетероциклічних скафолдів та фармакофорних фрагментів, що

дозволило провести комплексне дослідження впливу структурних особливостей на рівень антимікробної активності та визначити найбільш перспективні напрямки структурної модифікації похідних 4-тіазолідинону.

2. Інтеграція результатів експериментального фармакологічного тестування з даними комп'ютерного моделювання продемонструвала ефективність використання стратегії гібридного фармакофора у створенні нових біологічно активних молекул. Поєднання різних гетероциклічних фрагментів у межах однієї молекули дозволяє підвищити антимікробний потенціал синтезованих сполук та оптимізувати їхні фармакокінетичні характеристики. Результати молекулярного докінгу та молекулярно-динамічних симуляцій показали, що однією з ключових потенційних мішеней для синтезованих похідних 4-тіазолідинону є фермент MurB, який бере участь у біосинтезі клітинної стінки бактерій. Це дозволяє припустити, що антимікробна активність досліджуваних сполук може бути пов'язана з інгібуванням цього ферменту та порушенням синтезу пептидоглікану бактеріальної клітинної стінки.

3. Встановлено, що індол-тіазолідинон 4.21 та ізатин-оксадіазол 4.29 демонструють високу прогнозовану афінність зв'язування з активним центром ферменту MurB. Отримані результати комп'ютерного моделювання добре узгоджуються з експериментальними даними щодо антимікробної активності цих сполук *in vitro*. Така кореляція між розрахованими параметрами зв'язування та біологічною активністю підтверджує перспективність використання методів молекулярного докінгу та молекулярної динаміки для попереднього відбору потенційних антимікробних агентів серед похідних 4-тіазолідинону.

4. Показано, що ізатин-оксадіазольна сполука 4.29 здатна також взаємодіяти з ферментом GyrB, який є важливим компонентом бактеріальної ДНК-гірази та бере участь у процесах реплікації ДНК. Наявність такої взаємодії може свідчити про можливу подвійну мішень дії цієї молекули. Водночас результати молекулярно-динамічних досліджень показали, що комплекси цієї сполуки з ферментом MurB є більш стабільними, що узгоджується з її високою активністю щодо фторхінолон-резистентного *Staphylococcus epidermidis*. Крім

того, сполука 4.29 характеризується сприятливими фармакокінетичними параметрами, зокрема високою прогнозованою системною абсорбцією, відповідністю основним критеріям лікоподібності та відносно низькою токсичністю. Це дозволяє розглядати дану структуру як перспективний скафолд для подальшої оптимізації нових антимікробних агентів.

5. Отримані результати дослідження свідчать про перспективність використання похідних 4-тіазолідинону та їх гібридних аналогів як основи для створення нових антимікробних сполук. Подальші дослідження повинні бути спрямовані на оптимізацію структурного скафолду найбільш активних молекул, детальне вивчення механізмів їхньої біологічної дії, а також на оцінку ефективності та безпечності *in vivo*. Особливу увагу доцільно приділити підвищенню терапевтичного індексу синтезованих сполук та мінімізації можливих позамішеневих ефектів. Отримані результати підкреслюють важливу роль раціонального молекулярного дизайну та сучасних методів комп'ютерного моделювання у створенні нових антибактеріальних і протипухлинних агентів.

*Результати досліджень за розділом наведено в таких публікаціях:*

1. Mural D., Khylyuk D., Lozynskyi A., Georgiyants V., Roman O., Kryshchyshyn-Dylevych A., Gurska S., Polishchuk P., Dzubak P., Hajduch M., Bogdanova K., Resova K., Kolar, M., Lesyk R. Thiazolidinone-Based Compounds as Dual-Purpose Therapeutics: Antimicrobial Efficacy, Cytotoxicity and Pharmacokinetic Potential. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. Vol. 5(57). P. 88-101. DOI:10.15587/2519-4852.2025.342467.

2. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Georgiyants V., Lesyk R. Synthesis of Indoline-Thiazolidinone Hybrids as Potential Biologically Active Compounds. *Modern Chemistry of Medicines*: матеріали Міжнар. Internet-конфер., м. Харків, 18 трав. 2023 р. – Харків : НФаУ, 2023. С. 54.

## ВИСНОВКИ

1. У дисертаційній роботі реалізовано комплексний підхід молекулярного дизайну, органічного синтезу та біологічного тестування нових гетероциклічних сполук на основі похідних 4-тіазолідинону. Обґрунтовано доцільність використання 4-тіазолідинонового ядра як універсального фармакофорного скафолду для створення нових біологічно активних молекул із потенційною антимікробною дією.

2. У результаті проведених досліджень синтезовано серії гібридних молекул і структурних аналогів, зокрема похідні 4-тіазолідинону, що містять нітрофурановий фрагмент, а також сполуки класів 5-енамін(гідразин)-4-тіазолідинонів, 4-тіазолідинон-піразолів, 5-(2-оксо-2-фенілетил)тіазолідинонів, 5-ен-4-тіазолідинонів, тіопірано[2,3-d]тіазолів та ізатин-оксадіазольних гібридів. Отримані результати демонструють ефективність використаних синтетичних підходів та підтверджують перспективність застосування гетероциклічних систем на основі 4-тіазолідинону для створення нових потенційних антимікробних агентів.

3. Проведений фармакологічний скринінг синтезованих сполук показав, що значна частина досліджених похідних проявляє виражену антимікробну та протигрибкову активність щодо широкого спектра мікроорганізмів. Серед гібридних молекул, що містять 4-тіазолідиноновий та нітрофурановий фрагменти, ідентифіковано низку сполук із високою біологічною активністю. Зокрема, (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-он, (Z)-2-аміно-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазол-4(5H)-он та (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон продемонстрували широкий спектр антимікробної дії щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, коринебактерій та грибів при дуже низьких значеннях мінімальної інгібувальної концентрації (MIC < 0,18 мкМ).

4. Найвищу антимікробну активність щодо клінічно значущих патогенів *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae* продемонстрували сполуки (Z)-5-

((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)-2-тіоксо-тіазолідинон-4-он, (Z)-2-аміно-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазол-4(5H)-он та (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, для яких значення МІС становили менше 0,09 мкМ. Крім того, встановлено, що (Z)-2-аміно-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазол-4(5H)-он проявляє високу активність щодо *Corynebacterium diphtheriae*. Особливу увагу привертає (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон, який продемонстрував виражену протигрибкову активність щодо *Aspergillus niger* та здатність тривало пригнічувати процеси спороутворення, що може свідчити про новий механізм протигрибкової дії.

5. У результаті дослідження цитотоксичності встановлено, що деякі синтезовані сполуки характеризуються оптимальним співвідношенням антимікробної активності та безпечності для клітин ссавців. Зокрема, (Z)-2-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)гексанова кислота, (Z)-4-метил-2-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)пентанова кислота, (Z)-4-(5-((5-нітрофуран-2-іл)метилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-3-іл)бутанова кислота та (Z)-5-((Z)-3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)тіазолідино-2,4-діон продемонстрували помірну або низьку цитотоксичність при збереженні високої антимікробної активності. Отримані результати можуть свідчити про селективну дію цих сполук переважно на мікробні клітини та дозволяють розглядати їх як перспективні кандидати для подальших фармакологічних досліджень.

6. Проведений аналіз залежності «структура–активність» (SAR) дозволив встановити ключові структурні фактори, що впливають на рівень антимікробної активності синтезованих молекул. Показано, що поєднання 4-тіазолідинонового ядра з нітрофурановим фармакофором суттєво підвищує антимікробний потенціал сполук. Водночас модифікація замісників у різних положеннях гетероциклічного ядра дозволяє регулювати як рівень біологічної активності, так і цитотоксичність синтезованих похідних. Отримані результати створюють

наукове підґрунтя для подальшого раціонального дизайну нових гетероциклічних сполук на основі фармакофора 4-тіазолідинону.

7. Інтеграція результатів експериментального біологічного тестування з методами комп'ютерного моделювання підтвердила ефективність використання стратегії гібридного фармакофора для створення нових антимікробних агентів. Проведені дослідження молекулярного докінгу та молекулярної динаміки показали, що однією з потенційних біологічних мішеней синтезованих сполук є бактеріальний фермент MurB, який бере участь у біосинтезі клітинної стінки бактерій.

8. Встановлено, що індол-тіазолідинон (*Z*)-2-(5-хлоро-2-оксо-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідинон-5-іліден)індолін-1-іл)-N-(5-(4-метоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)ацетамід та ізатин-оксадіазольна сполука N-(5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2-(2,3-діоксоіндолін-1-іл)ацетамід демонструють високу прогнозовану афінність зв'язування з активним центром ферменту MurB, що узгоджується з їх антимікробною активністю *in vitro*. Для ізатин-оксадіазольної сполуки також встановлено можливість взаємодії з ферментом GyrB, що може свідчити про наявність подвійної мішені дії.

9. Ізатин-оксадіазольна сполука N-(5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2-(2,3-діоксоіндолін-1-іл)ацетамід характеризується сприятливими фармакокінетичними властивостями, включаючи високу прогнозовану системну абсорбцію, відповідність критеріям лікоподібності та відносно низьку токсичність. Сукупність отриманих результатів дозволяє розглядати цю структуру як перспективний скафолд для подальшої оптимізації нових антимікробних агентів.

10. Отримані результати загалом підтверджують доцільність використання підходів раціонального молекулярного дизайну та комбінування фармакофорних фрагментів для створення нових потенційних протимікробних препаратів. Поєднання різних біологічно активних гетероциклічних структур дозволяє отримувати молекули з високим рівнем антимікробної активності, у тому числі щодо резистентних штамів мікроорганізмів, що відкриває перспективи для

подальшого розвитку нових лікарських засобів для лікування інфекційних захворювань.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Estimating the Global Cancer Incidence and Mortality in 2018: GLOBOCAN Sources and Methods / J. Ferlay et al. *Int. J. Cancer*. 2019. Vol. 144. P. 1941–1953. DOI: 10.1002/ijc.31937.
2. Global Tuberculosis Report 2019 / B. Annabel et al. Geneva: *World Health Organization*. 2019.
3. Determination of Lipophilicity of Allyl Thiosemicarbazide, N1-Thiocarbamylamidrazone Derivatives, and Their Cyclic Products by RP-HPLC, RP-TLC, and Theoretical Methods: Effects of Selected Compounds on the CNS of Mice / L. Strzemecka et al. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2015. Vol. 38. P. 1452–1465. DOI: 10.1080/10826076.2015.1050502.
4. 4-Thiadiazole: The Biological Activities / H. Ibraheem et al. *Syst. Rev. Pharm.* 2018. Vol. 9. P. 36–40. DOI: 10.5530/srp.2018.1.7.
5. Novel Metabolic Enzyme Inhibitors Designed through the Molecular Hybridization of Thiazole and Pyrazoline Scaffolds / B. Sever et al. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 2021. Vol. 354. P. 2100294. DOI: 10.1002/ardp.202100294.
6. Determination of the Inhibition Profiles of Pyrazolyl–Thiazole Derivatives against Aldose Reductase and  $\alpha$ -Glycosidase and Molecular Docking Studies / Y. Demir et al. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 2020. Vol. 353. P. 2000118. DOI: 10.1002/ardp.202000118.
7. Design, Synthesis, *in vitro* and *in silico* Investigation of Aldose Reductase Inhibitory Effects of New Thiazole-Based Compounds / B. Sever et al. *Bioorg. Chem.* 2020. Vol. 102. P. 104110. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104110.
8. Application of Density Functional Theory Concepts to the Study of the Chemical Reactivity of Thiadiazoles / M. D. Glossman. *J. Mol. Struct. THEOCHEM*. 1995. Vol. 330. P. 385–388. DOI: 10.1016/0166-1280(94)03865-I.
9. A Review on Biological Activities: 1,3,4-Thiadiazole and Its Derivatives / K. Hemanth et al. *Rasayan J. Chem.* 2022. Vol. 15. DOI: 10.31788/RJC.2022.1526443.

10. Metal Complexes of Schiff Base: Preparation, Characterization and Antibacterial Activity / E. Yousif et al. *Arab. J. Chem.* 2017. Vol. 10. P. S1639–S1644. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.06.006.
11. 2-Amino-1,3,4-Thiadiazole as a Potential Scaffold for Promising Antimicrobial Agents / G. Serban et al. *Drug Des. Devel. Ther.* 2018. Vol. 12. P. 1545–1566. DOI: 10.2147/DDDT.S155958.
12. Comparative Study of the Synthetic Approaches and Biological Activities of the Bioisosteres of 1,3,4-Oxadiazoles and 1,3,4-Thiadiazoles over the Past Decade / R. M. El-Masry et al. *Molecules.* 2022. Vol. 27. P. 2709. DOI: 10.3390/molecules27092709.
13. One Pot Single Step Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Bis(1,3,4-Thiadiazole) Derivatives as Potential Cytotoxic Agents / S. Gomha et al. *Molecules.* 2016. Vol. 21. P. 1532. DOI: 10.3390/molecules21111532.
14. Synthesis of Benzimidazole Based Thiadiazole and Carbohydrazone Conjugates as Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$  Inhibitors with Anti-Depressant Activity / I. Khan et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016. Vol. 26. P. 4020–4024. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.06.084.
15. Molecular Modeling, Synthesis and Pharmacological Evaluation of 1,3,4-Thiadiazoles as Anti-Inflammatory and Analgesic Agents / M. H. Shkair et al. *Med. Chem. (Los. Angeles).* 2016. Vol. 12. P. 90–100.
16. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Substituted 1,3,4-Thiadiazole and 2,6-Di Aryl Substituted Imidazo[2,1-b][1,3,4]Thiadiazole Derivatives / B. Chandrakantha et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2014. Vol. 71. P. 316–323. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.10.056.
17. Review of the Synthesis and Biological Activity of Thiazoles / S. H. Ali, A. R. Sayed. *Synth. Commun.* 2021. Vol. 51. P. 670–700. DOI: 10.1080/00397911.2020.1854787.
18. A Review on Biological and Medicinal Significance of Thiazoles / P. M. Jadhav et al. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2021. Vol. 196. P. 879–895. DOI: 10.1080/10426507.2021.1945601.

19. Synthesis and Evaluation of Novel 1,3,4-Thiadiazole–Fluoroquinolone Hybrids as Antibacterial, Anti-Tuberculosis, and Anticancer Agents / K. G. Karayel et al. *Turkish J. Chem.* 2018. Vol. 42. DOI: 10.3906/kim-1710-35.
20. Synthesis and Biological Activities of Benzothiazole Derivatives Bearing a 1,3,4-Thiadiazole Moiety / X. Tang et al. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2019. Vol. 194. P. 241–248. DOI: 10.1080/10426507.2018.1539992.
21. New 1,3,4-Thiadiazoles Based on Thiophene-2-Carboxylic Acid: Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activities / H. Muğlu et al. *J. Mol. Struct.* 2020. Vol. 1203. P. 127470. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.127470.
22. Synthesis and Antimicrobial Activity of Pyrimidinyl 1,3,4-Oxadiazoles, 1,3,4-Thiadiazoles and 1,2,4-Triazoles / M. Madhu Sekhar et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. Vol. 145. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.12.067.
23. Design, Synthesis, SAR and Molecular Modeling Studies of Novel Imidazo[2,1-b][1,3,4]Thiadiazole Derivatives as Highly Potent Antimicrobial Agents / H. Tahtaci et al. *Mol. Inform.* 2018. Vol. 37. P. 1700083. DOI: 10.1002/minf.201700083.
24. Design, Synthesis, and Molecular Docking Study of Novel Heterocycles Incorporating 1,3,4-Thiadiazole Moiety as Potential Antimicrobial and Anticancer Agents / M. El-Naggar et al. *Molecules.* 2019. Vol. 24. P. 1066. DOI: 10.3390/molecules24061066.
25. Design, Synthesis, and Antibacterial Activity of Novel 8-Methoxyquinoline-2-Carboxamide Compounds Containing 1,3,4-Thiadiazole Moiety / T. Qu et al. *Z. Naturforsch. C.* 2018. Vol. 73. P. 117–122. DOI: 10.1515/znc-2017-0063.
26. Novel Imidazo[2,1-b][1,3,4]Thiadiazole (ITD) Hybrid Compounds: Design, Synthesis, Efficient Antibacterial Activity and Antioxidant Effects / E. Taflan et al. *Bioorg. Chem.* 2019. Vol. 89. P. 102998. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.102998.
27. Synthesis, Characterization, Anti-Tuberculosis Activity and Computational Studies on Novel Schiff Bases of 1,3,4-Thiadiazole Derivatives / S. Karakuş et al. *J. Res. Pharm.* 2020. Vol. 24. P. 793–800. DOI: 10.35333/jrp.2020.232.

28. New Indole and Indazole Derivatives as Potential Antimycobacterial Agents / V. T. Angelova et al. *Med. Chem. Res.* 2019. Vol. 28. P. 485–497. DOI: 10.1007/s00044-019-02293-w.
29. Development of New Antimycobacterial Sulfonyl Hydrazones and 4-Methyl-1,2,3-Thiadiazole-Based Hydrazone Derivatives / V. T. Angelova et al. *Antibiotics.* 2022. Vol. 11. P. 562. DOI: 10.3390/antibiotics11050562.
30. Novel Fatty Acid-Thiadiazole Derivatives as Potential Antimycobacterial Agents / J. K. Mali et al. *Chem. Biol. Drug Des.* 2020. Vol. 95. P. 174–181. DOI: 10.1111/cbdd.13634.
31. Synthesis and Biological Evaluation of 12 Novel (–)-Camphene-Based 1,3,4-Thiadiazoles against *Mycobacterium tuberculosis* / G. F. Costacurta et al. *Future Microbiol.* 2020. Vol. 15. P. 723–738. DOI: 10.2217/fmb-2019-0258.
32. Pyridine and Nitro-Phenyl Linked 1,3,4-Thiadiazoles as MDR-TB Inhibitors / H. Patel et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. Vol. 167. P. 1–9. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.01.073.
33. 4-Thiazolidinones / F. C. Brown. *Chem. Rev.* 1961. Vol. 61. P. 463–521. DOI: 10.1021/cr60213a002.
34. Chemistry and Biological Activity of Thiazolidinones / S. P. Singh et al. *Chem. Rev.* 1981. Vol. 81. P. 175–203. DOI: 10.1021/cr00042a003.
35. New Drugs at FDA: CDER’s New Molecular Entities and New Therapeutic Biological Products / U.S. Food and Drug Administration. Available online: <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/default.htm>.
36. Pathogens Resistant to Antibacterial Agents / L. F. Chen et al. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2009. Vol. 23. P. 817–845. DOI: 10.1016/j.idc.2009.06.002.
37. Theoretical Calculations and Experimental Verification of the Antibacterial Potential of Some Monocyclic  $\beta$ -Lactams Containing Two Synergetic Buried Antibacterial Pharmacophore Sites / A. Parvez et al. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2010. Vol. 185. P. 1500–1510. DOI: 10.1080/10426500903095556.

38. Benzylidene Rhodanines as Novel Inhibitors of UDP-N-Acetylmuramate/L-Alanine Ligase / M. M. Sim et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002. Vol. 12. P. 697–699. DOI: 10.1016/S0960-894X(01)00832-0.
39. Synthesis and Study of Antimicrobial Activity of Azolidine Derivatives with 2-(2-Chlorobenzyloxy)-5-Nitrophenyl Fragment in Molecules / R. Lesyk et al. *Pharm. J.* 2003. Vol. 2. P. 52–56.
40. Synthesis of New Chalcone Derivatives Containing a Rhodanine-3-Acetic Acid Moiety with Potential Anti-Bacterial Activity / Z.-H. Chen et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2010. Vol. 45. P. 5739–5743. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.09.031.
41. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of L-Phenylalanine-Derived C5-Substituted Rhodanine and Chalcone Derivatives Containing Thiobarbituric Acid or 2-Thioxo-4-Thiazolidinone / X. Jin et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2012. Vol. 56. P. 203–209. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.08.026.
42. Chemical Proteomics-Based Drug Design: Target and Antitarget Fishing with a Catechol–Rhodanine Privileged Scaffold for NAD(P)(H) Binding Proteins / X. Ge et al. *J. Med. Chem.* 2008. Vol. 51. P. 4571–4580. DOI: 10.1021/jm8002284.
43. Rhodanine-3-Acetic Acid Derivatives as Inhibitors of Fungal Protein Mannosyl Transferase 1 (PMT1) / M. G. Orchard et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004. Vol. 14. P. 3975–3978. DOI: 10.1016/j.bmcl.2004.05.050.
44. Novel Small-Molecule Inhibitors of Anthrax Lethal Factor Identified by High-Throughput Screening / I. A. Schepetkin et al. *J. Med. Chem.* 2006. Vol. 49. P. 5232–5244. DOI: 10.1021/jm0605132.
45. Identification of Inhibitors for UDP-Galactopyranose Mutase / M. Soltero-Higgin et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2004. Vol. 126. P. 10532–10533. DOI: 10.1021/ja048017v.
46. Synthesis and Antimicrobial Activity of 3-(4'-Hydroxy-3'-Methylphenyl)-5-[(Substituted)Phenyl]-4,5-Dihydro-1H-1-Pyrazolyl-4-Pyridylmethanone Derivatives / M. S. Yar et al. *Acta Pol. Pharm.* 2006. Vol. 63. P. 491–496.

47. Synthesis of Various Isoniazidothiazolidinones and Their Imidoxy Derivatives of Potential Biological Interest / R. Sharma et al. *Arkivoc*. 2006. Vol. 2006. P. 1–12. DOI: 10.3998/ark.5550190.0007.101.
48. Synthesis of Some New 2-(3-Pyridyl)-4,5-Disubstituted Thiazoles as Potent Antimicrobial Agents / S. Bondock et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2013. Vol. 62. P. 270–279. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.12.050.
49. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of 5-(4-(4-Substituted)Aminobenzylidene)Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives / S. Rajput et al. *Asian J. Res. Chem.* 2011. Vol. 4. P. 40–43.
50. 4-Thiazolidinones: The Advances Continue / A. C. Tripathi et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2014. Vol. 72. P. 52–77. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.11.017.
51. Synthesis and Antimicrobial Activity of 1-(4-Aryl-2-Thiazolyl)-3-(2-Thienyl)-5-Aryl-2-Pyrazoline Derivatives / A. Özdemir et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2007. Vol. 42. P. 403–409. DOI: 10.1016/j.ejmech.2006.10.001.
52. New 4-Thiazolidinones of Nicotinic Acid with 2-Amino-6-Methylbenzothiazole and Their Biological Activity / N. B. Patel. *Sci. Pharm.* 2010. Vol. 78. P. 753–765. DOI: 10.3797/scipharm.1009-15.
53. Síntese e Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Novas 4-Tiazolidinonas Obtidas a Partir de Formilpiridina Tiossemicarbazonas / G. L. Verçoza et al. *Quim. Nova*. 2009. Vol. 32. P. 1405–1410. DOI: 10.1590/S0100-40422009000600008.
54. Synthesis and Antimicrobial Activity of Pyridines Bearing Thiazoline Moieties / H. Y. Hassan et al. *Chem. Pharm. Bull.* 1998. Vol. 46. P. 863–866. DOI: 10.1248/cpb.46.863.
55. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Thiazolidinone Derivatives with the Use of  $\gamma$ -Ferrite Catalyst / S. P. Shrivastava et al. *E-J. Chem.* 2012. Vol. 9. P. 825–831. DOI: 10.1155/2012/251450.
56. Synthesis of New Pyridine-Based 4-Thiazolidinones Incorporated Benzothiazoles and Evaluation of Their Antimicrobial Activity / N. B. Patel. *J. Sci. Islam. Repub. Iran*. 2010. Vol. 21. P. 121–129.

57. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Novel Spirothiazolidin-Based Derivatives / S. Vodela et al. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 2014. Vol. 3. P. 800–810.
58. Antimycobacterial Activity of 5-Arylidene Aromatic Derivatives of Hydantoin / E. Szymańska, K. Kieć-Kononowicz. *Farmaco.* 2002. Vol. 57. P. 355–362. DOI: 10.1016/S0014-827X(01)01194-6.
59. Synthesis and Antimycobacterial Activity of a Novel Series of Isonicotinylhydrazide Derivatives / S. Jaju et al. *Arch. Pharm. (Weinheim).* 2009. Vol. 342. P. 723–731. DOI: 10.1002/ardp.200900001.
60. Synthesis and Anti-Tuberculosis Activity of Some N-Pyridyl-N'-Thiazolylhydrazine Derivatives / G. Turan-Zitouni et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2010. Vol. 45. P. 2085–2088. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.01.017.
61. Design and Synthesis of Some Substituted Thiazolo[3,2-a]Pyrimidine Derivatives of Potential Biological Activities / S. G. Abdel Moty et al. *Saudi Pharm. J.* 2016. Vol. 24. P. 119–132. DOI: 10.1016/j.jsps.2013.12.016.
62. Synthesis of Some Furo-Thiazolidine Derivatives Starting from Aldimines / N. Öcal et al. *J. Heterocycl. Chem.* 2003. Vol. 40. P. 721–724. DOI: 10.1002/jhet.5570400427.
63. Synthesis, Partition Coefficients and Antibacterial Activity of 3'-Phenyl(Substituted)-6'-Aryl-2'(1H)-Cis-3',3'a-Dihydrospiro[3H-Indole-3,5'-Pyrazolo(3',4'-d)Thiazolo-2(1H)-Ones] / S. K. Sahu et al. *Acta Pol. Pharm.* 2007. Vol. 64. P. 121–126.
64. New Series of Thiazole Derivatives: Synthesis, Structural Elucidation, Antimicrobial Activity, Molecular Modeling and MOE Docking / I. Althagafi et al. *Molecules.* 2019. Vol. 24. P. 1741. DOI: 10.3390/molecules24091741.
65. Facile Synthesis of Novel Fluorine-Containing Pyrazole-Based Thiazole Derivatives and Evaluation of Antimicrobial Activity / N. C. Desai et al. *J. Fluor. Chem.* 2012. Vol. 142. P. 67–78. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2012.06.021.

66. Derivatives of Pyridine and Thiazole Hybrid: Synthesis, DFT, Biological Evaluation via Antimicrobial and DNA Cleavage Activity / S. Eryılmaz et al. *Bioorg. Chem.* 2020. Vol. 95. P. 103476. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103476.
67. Synthesis of Some 2-[(Benzazole-2-Yl)Thioacetylamino]Thiazole Derivatives and Their Antimicrobial Activity and Toxicity / G. Turan-Zitouni et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2004. Vol. 39. P. 267–272. DOI: 10.1016/j.ejmech.2003.11.001.
68. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Thiazole-Substituted Pyrazole Derivatives / N. D. Gaikwad et al. *J. Heterocycl. Chem.* 2013. Vol. 50. P. 519–527. DOI: 10.1002/jhet.1513.
69. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Hydrazone-Bridged Thiazole-Pyrrole Derivatives / L. Yurttaş et al. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2013. Vol. 28. P. 830–835. DOI: 10.3109/14756366.2012.688043.
70. Dihydropteroate Synthase (Sulfonamides) and Dihydrofolate Reductase Inhibitors / C. Capasso, C. T. Supuran. In: *Bacterial Resistance to Antibiotics – From Molecules to Man*. Wiley, 2019. P. 163–172.
71. Sulfonamide Derivatives as Multi-Target Agents for Complex Diseases / S. Apaydın, M. Török. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2019. Vol. 29. P. 2042–2050. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.06.041.
72. Antimicrobial Sulfonamide Drugs / A. Tacic et al. *Adv. Technol.* 2017. Vol. 6. P. 58–71. DOI: 10.5937/savteh1701058t.
73. Isavuconazole: A New Broad-Spectrum Triazole Antifungal Agent / M. H. Miceli, C. A. Kauffman. *Clin. Infect. Dis.* 2015. Vol. 61. P. 1558–1565. DOI: 10.1093/cid/civ571.
74. Isavuconazole: Mechanism of Action, Clinical Efficacy, and Resistance / M. Ellsworth, L. Ostrosky-Zeichner. *J. Fungi.* 2020. Vol. 6. P. 324. DOI: 10.3390/jof6040324.
75. Novel Triazole Antifungal Drugs: Focus on Isavuconazole, Ravuconazole and Albaconazole / A. C. Pasqualotto et al. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2010. Vol. 11. P. 164–174.

76. Potential of Ravuconazole and Its Prodrugs as the New Oral Therapeutics for Onychomycosis / H. Yamaguchi. *Med. Mycol. J.* 2016. Vol. 57. P. E93–E110. DOI: 10.3314/mmj.16-00006.
77. A Phase I/II Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Dose-Ranging Study Evaluating the Efficacy, Safety and Pharmacokinetics of Ravuconazole in the Treatment of Onychomycosis / A. Gupta et al. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2005. Vol. 19. P. 437–443. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2005.01212.x.
78. Antifungal Activities of Posaconazole, Ravuconazole, and Voriconazole Compared to Those of Itraconazole and Amphotericin B against 239 Clinical Isolates of *Aspergillus* spp. and Other Filamentous Fungi: Report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program / M. A. Pfaller et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. Vol. 46. P. 1032–1037. DOI: 10.1128/AAC.46.4.1032-1037.2002.
79. Modes of Action of the New Arylguanidine Abafungin beyond Interference with Ergosterol Biosynthesis and *in vitro* Activity against Medically Important Fungi / C. Borelli et al. *Chemotherapy.* 2008. Vol. 54. P. 245–259. DOI: 10.1159/000142334.
80. Novel Fungicidal Benzylsulfanyl-Phenylguanidines / K. Thevissen et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011. Vol. 21. P. 3686–3692. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.04.075.
81. Bioactive Thiazole and Benzothiazole Derivatives / A. Rouf, C. Tanyeli. *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 97. P. 911–927. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.10.058.
82. Thiadiazole and Thiazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents / Zh. Khamitova et al. *Mini Rev. Med. Chem.* 2024. Vol. 24. P. 531–545. DOI: 10.2174/1389557523666230713115947.
83. Microtitre Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and Its Application in the *In vitro* Antibacterial Screening of Phytochemicals / S. D. Sarker et al. *Methods.* 2007. Vol. 42. P. 321–324. DOI: 10.1016/j.ymeth.2007.01.006.

84. Methods for *In vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A Review / M. Balouiri et al. *J. Pharm. Anal.* 2016. Vol. 6. P. 71–79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
85. EUCAST: Clinical Breakpoints and Dosing of Antibiotics / *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2024.
86. Development of Novel Pyridine-Thiazole Hybrid Molecules as Potential Anticancer Agents / I. Ivasechko et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27. P. 6219. DOI: 10.3390/molecules27196219.
87. SwissADME Online Server of the Swiss Institute of Bioinformatics / *Swiss Institute of Bioinformatics*. Available at: <http://www.swissadme.ch/index.php>.
88. ProTox-II: A Webserver for the Prediction of Toxicity of Chemicals / P. Banerjee et al. *Nucleic Acids Res.* 2018. Vol. 46. P. W257–W263. DOI: 10.1093/nar/gky318.
89. 4-Thiazolidinones: Novel Inhibitors of the Bacterial Enzyme MurB / C. J. Andres et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000. Vol. 10. P. 715–717. DOI: 10.1016/S0960-894X(00)00073-1.
90. Design, Synthesis, Antimicrobial Evaluation and Molecular Modeling Study of 1,2,4-Triazole-Based 4-Thiazolidinones / S. Ahmed et al. *Molecules*. 2016. Vol. 21. P. 568. DOI: 10.3390/molecules21050568.
91. 4-Thiazolidinone Derivatives as Potent Antimicrobial Agents: Microwave-Assisted Synthesis, Biological Evaluation and Docking Studies / E. Pitta et al. *MedChemComm*. 2015. Vol. 6. P. 319–326. DOI: 10.1039/C4MD00399C.
92. Discovery of Substituted Oxadiazoles as a Novel Scaffold for DNA Gyrase Inhibitors / Ž. Jakopin et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2017. Vol. 130. P. 171–184. DOI: 10.1016/J.EJMECH.2017.02.046.
93. Indole/Isatin-Containing Hybrids as Potential Antibacterial Agents / F. Song et al. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 2020. Vol. 353. P. 2000143. DOI: 10.1002/ardp.202000143.
94. Discovery of Novel Oxindolin Derivatives as Atypical Dual Inhibitors for DNA Gyrase and FabH / Y. S. Yang et al. *Bioorg. Chem.* 2019. Vol. 93. P. 103309. DOI: 10.1016/J.BIOORG.2019.103309.

95. A Structural Variation for MurB: X-Ray Crystal Structure of *Staphylococcus aureus* UDP-N-Acetylenolpyruvylglucosamine Reductase (MurB) / T. E. Benson et al. *Biochemistry*. 2001. Vol. 40. P. 2340–2350. DOI: 10.1021/bi002162d.
96. Discovery of Pyrazolthiazoles as Novel and Potent Inhibitors of Bacterial Gyrase / S. M. Ronkin et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. Vol. 20. P. 2828–2831. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.03.052.
97. Discovery of the First Antibacterial Small Molecule Inhibitors of MurB / J. J. Bronson et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003. Vol. 13. P. 873–875. DOI: 10.1016/S0960-894X(02)01076-4.
98. Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform / M. D. Hanwell. *J. Cheminform.* 2012. Vol. 4.
99. MMFF VII. Characterization of MMFF94, MMFF94s, and Other Widely Available Force Fields for Conformational Energies and for Intermolecular-Interaction Energies and Geometries / T. A. Halgren. *J. Comput. Chem.* 1999. Vol. 20. P. 730–748. DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199905)20:7<730::AID-JCC8>3.0.CO;2-T.
100. Using AutoDock for Ligand-Receptor Docking / G. M. Morris et al. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2008. Vol. 24. P. 8–14. DOI: 10.1002/0471250953.bi0814s24.
101. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings / J. Eberhardt et al. *J. Chem. Inf. Model.* 2021. Vol. 61. P. 3891–3898. DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00203.
102. Speed vs Accuracy: Effect on Ligand Pose Accuracy of Varying Box Size and Exhaustiveness in AutoDock Vina / R. Agarwal, J. C. Smith. *Mol. Inform.* 2023. Vol. 42. P. 2200188. DOI: 10.1002/minf.202200188.
103. GROMACS: Fast, Flexible, and Free / D. Van der Spoel et al. *J. Comput. Chem.* 2005. Vol. 26. P. 1701–1718. DOI: 10.1002/jcc.20291.
104. Development and Testing of a General AMBER Force Field / J. Wang et al. *J. Comput. Chem.* 2004. Vol. 25. P. 1157–1174. DOI: 10.1002/jcc.20035.

105. SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: An Environment for Comparative Protein Modeling / N. Guex, M. C. Peitsch. *Electrophoresis*. 1997. Vol. 18. P. 2714–2723. DOI: 10.1002/elps.1150181505.
106. Synthesis and Docking Study of Novel 4-Thiazolidinone Derivatives as Anti-Gram-Positive and Anti-*H. pylori* Agents / A. Khomami et al. *Mini Rev. Med. Chem.* 2018. Vol. 19. P. 239–249. DOI: 10.2174/1389557518666181017142630.
107. Synthesis of New 2-(5-(5-Nitrofuran-2-Yl)-1,3,4-Thiadiazol-2-Ylimino)Thiazolidin-4-One Derivatives as Anti-MRSA and Anti-*H. pylori* Agents / A. Tabei et al. *BMC Chem.* 2022. Vol. 16. DOI: 10.1186/s13065-022-00829-7.
108. Nitrothiazole-Thiazolidinone Hybrids: Synthesis and *In vitro* Antimicrobial Evaluation / D. Hart et al. *Chem. Biodivers.* 2022. Vol. 19. DOI: 10.1002/cbdv.202200729.
109. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of New Halogenated 1,3-Thiazolidin-4-Ones / S. G. Hammad et al. *Bioorg. Chem.* 2020. Vol. 95. P. 103517. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103517.
110. 5-[4-(Tert-Butyl)Cyclohexylidene]-2-Thioxothiazolidin-4-One / S. Holota et al. *Molbank.* 2021. Vol. 2021. DOI: 10.3390/M1281.
111. 2-(Cyclopropylamino)-5-(4-Methoxybenzylidene)Thiazol-4(5H)-One / I. Sydorenko et al. *Molbank.* 2022. Vol. 2022. DOI: 10.3390/M1478.
112. Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Study of Thiophene-, Piperazine-, and Thiazolidinone-Based Hybrids as Potential Antimicrobial Agents / N. C. Desai et al. *J. Heterocycl. Chem.* 2022. Vol. 59. P. 75–87. DOI: 10.1002/jhet.4366.
113. Antibacterial Evaluation and Molecular Docking Studies of Pyrazole–Thiosemicarbazones and Their Pyrazole–Thiazolidinone Conjugates / O. Ebenezer et al. *Mol. Divers.* 2021. Vol. 25. P. 191–204. DOI: 10.1007/s11030-020-10046-w.

114. A New 4-Thiazolidinone Derivative (Les-6490) as a Gut Microbiota Modulator: Antimicrobial and Prebiotic Perspectives / Y. Konechnyi et al. *Antibiotics*. 2024. Vol. 13. P. 291. DOI: 10.3390/antibiotics13040291.
115. Pyrrole-Thiazolidinone Hybrids as a New Structural Class of Broad-Spectrum Anti-Infectives / S. Ahmed et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2023. Vol. 260. P. 115757. DOI: 10.1016/j.ejmech.2023.115757.
116. Discovery of Benzoxazole-Thiazolidinone Hybrids as Promising Antibacterial Agents against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* Species / V. S. K. Cheerala et al. *RSC Med. Chem.* 2023. Vol. 14. P. 1712–1721. DOI: 10.1039/d3md00290j.
117. Non-Acidic Bifunctional Benzothiazole-Based Thiazolidinones with Antimicrobial and Aldose Reductase Inhibitory Activity as a Promising Therapeutic Strategy for Sepsis / A. Kousaxidis et al. *Med. Chem. Res.* 2021. Vol. 30. P. 1837–1848. DOI: 10.1007/s00044-021-02778-7.
118. Novel Structural Hybrids of Quinoline and Thiazole Moieties: Synthesis and Evaluation of Antibacterial and Antifungal Activities with Molecular Modeling Studies / S. I. Eissa et al. *Bioorg. Chem.* 2021. Vol. 110. P. 104803. DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.104803.
119. Discovery of Unique Thiazolidinone-Conjugated Coumarins as Novel Broad Spectrum Antibacterial Agents / X. C. Yang et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2022. Vol. 232. P. 114192. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114192.
120. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Thiazolidinone-Containing Quinoxaline-1,4-Di-N-Oxides as Antimycobacterial and Antifungal Agents / H. Zhang et al. *Front. Chem.* 2020. Vol. 8. DOI: 10.3389/fchem.2020.00598.
121. Multi-Targeting Anticancer Activity of a New 4-Thiazolidinone Derivative with Anti-HER2 Antibodies in Human AGS Gastric Cancer Cells / A. Gornowicz et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. P. 6791. DOI: 10.3390/ijms24076791.

122. Synthesis of 5-Enamine-4-Thiazolidinone Derivatives with Trypanocidal and Anticancer Activity / S. Holota et al. *Bioorg. Chem.* 2019. Vol. 86. P. 126–136. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.01.045.
123. Method of Obtaining Pseudothiohydantoin and Thiazolidinedione-2,4 / N. M. Turkevych et al. *Khim. Zh.* 1962. No. 56. P. 73455.
124. Rhodanine / *Org. Synth.* 1947. Vol. 27. P. 73. DOI: 10.15227/orgsyn.027.0073.
125. Synthesis and Evaluation of Novel 4-Thiazolidinone-5-Nitrofuran Hybrids as Promising Antimicrobial Agents / V. Horishny et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2026. P. 118545. DOI: 10.1016/j.bmc.2026.118545.
126. Recent Developments with Rhodanine as a Scaffold for Drug Discovery / D. Kaminsky et al. *Expert Opin. Drug Discov.* 2017. Vol. 12. P. 1233–1252. DOI: 10.1080/17460441.2017.1388370.
127. Facile One-Pot Synthesis of 5-Aryl/Heterylidene-2-(2-Hydroxyethyl- and 3-Hydroxypropylamino)-Thiazol-4-Ones via Catalytic Aminolysis / S. Golota et al. *Synth. Commun.* 2017. Vol. 47. P. 1071–1076. DOI: 10.1080/00397911.2017.1309669.
128. 5-Ene-2-Arylaminothiazol-4(5H)-Ones Induce Apoptosis in Breast Cancer Cells / R. Dudchak et al. *Cells.* 2025. Vol. 14. P. 861. DOI: 10.3390/cells14120861.
129. Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of New 5-((5-Nitrofuran-2-yl)allylidene)-2-thioxo-4-thiazolidinones / M. Podolak et al. *Pharmaceuticals.* 2025. Vol. 18. P. 1598. DOI: 10.3390/ph18111598.
130. The Synthesis and SAR of Rhodanines as Novel Class C  $\beta$ -Lactamase Inhibitors / E. B. Grant et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000. Vol. 10. P. 2179–2182. DOI: 10.1016/S0960-894X(00)00444-3.
131. New Potent 5-Nitrofuryl Derivatives as Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* Growth. 3D-QSAR (CoMFA) Studies / G. Aguirre et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2006. Vol. 41. P. 457–466. DOI: 10.1016/j.ejmech.2005.11.008.

132. Novel Furfurylidene N-Acylhydrazones Derived from Natural Safrrole: Discovery of LASSBio-1215, a New Potent Antiplatelet Prototype / A. P. C. Rodrigues et al. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2012. Vol. 27. P. 101–109. DOI: 10.3109/14756366.2011.578575.
133. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species from 1997–2016 / M. A. Pfaller et al. *Open Forum Infect. Dis.* 2019. Vol. 6. P. S79–S94. DOI: 10.1093/ofid/ofy358.
134. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd ed. / *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Wayne, PA: *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2007.
135. EUCAST Technical Note on Isavuconazole Breakpoints for *Aspergillus*, Itraconazole Breakpoints for *Candida* and Updates for the Antifungal Susceptibility Testing Method Documents / M. C. Arendrup et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016. Vol. 22. P. 571.e1–571.e4. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.01.017.
136. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019 / J. P. Latgé, G. Chamilos. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020. Vol. 33. DOI: 10.1128/CMR.00140-18.
137. Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-Resistant Bacterial Infections / *World Health Organization*. Geneva: *World Health Organization*, 2017.
138. Development and Challenges of Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications / C. H. Chen, T. K. Lu. *Antibiotics*. 2020. Vol. 9. DOI: 10.3390/antibiotics9010024.
139. The Bacterial Cell Envelope / T. J. Silhavy et al. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. Vol. 2. DOI: 10.1101/cshperspect.a000414.
140. Long-Term Ecological Impacts of Antibiotic Administration on the Human Intestinal Microbiota / C. Jernberg et al. *ISME J.* 2007. Vol. 1. P. 56–66. DOI: 10.1038/ismej.2007.3.

141. Evaluation of Biocompatibility and Cytotoxicity Using Keratinocyte and Fibroblast Cultures / C. Wiegand, U. C. Hipler. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2009. Vol. 22. P. 74–82. DOI: 10.1159/000178866.
142. *In vitro* and *In vivo* Characterization of Novel Cathelicidin-Based Peptides with Antimicrobial Activity against *Pseudomonas aeruginosa* / J. Moreno-Morales et al. *Antibiotics.* 2025. Vol. 14. P. 838. DOI: 10.3390/antibiotics14080838.
143. Synthesis of a Rhodanine-Based Compound Library Targeting Bcl-XL and Mcl-1 / P. H. Bernardo et al. *Pure Appl. Chem.* 2011. Vol. 83. P. 723–731. DOI: 10.1351/PAC-CON-10-10-29.
144. *In silico* Driven Design and Synthesis of Rhodanine Derivatives as Novel Antibacterials Targeting the Enoyl Reductase InhA / L. Slepikas et al. *J. Med. Chem.* 2016. Vol. 59. P. 10917–10928. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01620.
145. Synthesis and Evaluation of Aryl Thioxothiazolidinone Inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2) / M. G. Bursavich et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007. Vol. 17. P. 1185–1188. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.12.027.
146. Discovery of Novel Glitazones Incorporated with Phenylalanine and Tyrosine: Synthesis, Antidiabetic Activity and Structure–Activity Relationships / B. R. Prashantha Kumar et al. *Bioorg. Chem.* 2012. Vol. 45. P. 12–28. DOI: 10.1016/j.bioorg.2012.08.002.
147. Efficient Conversion of N-Terminal of L-Tyrosine, DL-Phenylalanine, and Glycine to Substituted 2-Thioxo-Thiazolidine-4-Ones: A Stereospecific Synthesis / B. R. Prashantha Kumar et al. *Synth. Commun.* 2012. Vol. 42. P. 3089–3096. DOI: 10.1080/00397911.2011.576322.
148. Antibacterial Properties of 5-Substituted Derivatives of Rhodanine-3-Carboxyalkyl Acids / W. Tejchman et al. *Med. Chem. Res.* 2017. Vol. 26. P. 1316–1324. DOI: 10.1007/s00044-017-1852-7.
149. D. Mural, A. Lozynskiy, Yu. Konechniy, V. Horishny, I. Yushyn, V. Georgiyants, R. Lesyk. Design of Novel Nitrofuran-Thiazolidinone Hybrid Molecules as Potential Biologically Active Compounds. International

- Conference «Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations 2025», Lithuania, Kaunas, 22 March 2024, P. 105.
150. Potent Broad-Spectrum Antimicrobials Based on Indene-Fused Thiazolidinone and Thiazolopyrimidine Scaffolds: Design, Synthesis, and Molecular Insights / S. A. Aloudah et al. *J. Heterocycl. Chem.* 2025. Vol. 62. P. 1776–1790. DOI: 10.1002/jhet.70099.
151. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel 2-Thiazolylimino-5-Arylidene-4-Thiazolidinones / P. Vicini et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2006. Vol. 14. P. 3859–3864. DOI: 10.1016/j.bmc.2006.01.043.
152. 5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl) Alkancarboxylic Acids as Antimicrobial Agents: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies / V. Horishny et al. *Molecules.* 2020. Vol. 25. P. 1964. DOI: 10.3390/molecules25081964.
153. Mechanism of Antibacterial and Antibiofilm of Thiazolidinone Derivative TD-H2-A against *Staphylococcus aureus* / B. Du et al. *Sci. Rep.* 2025. Vol. 15. P. 10380. DOI: 10.1038/s41598-025-94571-4.
154. Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Novel Thiopyrano[2,3-d]thiazoles Based on Aroylacrylic Acids / A. Lozynskyi et al. *Mol. Divers.* 2017. Vol. 21. P. 427–436. DOI: 10.1007/s11030-017-9737-8.
155. Condensed Thiazoles, I: Synthesis of 5,7-Disubstituted Thiazolo[4,5-d]pyrimidines as Possible Anti-HIV, Anticancer, and Antimicrobial Agents / N. S. Habib et al. *Monatsh. Chem.* 1996. Vol. 127. P. 1203–1207. DOI: 10.1007/BF00844696.
156. New Synthesis of 2-Substituted Imidazo[2,1-b]thiazoles and Their Antimicrobial Activities / A. A. Mahfouz, F. M. Elhabashy. *Arch. Pharm. Res.* 1990. Vol. 13. P. 9–13. DOI: 10.1007/BF02857826.
157. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Novel 5-Methyl-7-phenyl-3H-thiazolo[4,5-b]pyridin-2-ones / A. Lozynskyi et al. *Sci. Pharm.* 2021. Vol. 89. P. 52. DOI: 10.3390/scipharm89040052.

158. Design, Synthesis, Antimicrobial Evaluation, and *In silico* Insights of Novel Thiazole-Based Benzyldiene Thiazolidinones as Gyrase Inhibitors / S. Alqarni et al. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2025. Vol. 39. P. e70367. DOI: 10.1002/jbt.70367.
159. Pharmacology, Part 1: Introduction to Pharmacology and Pharmacodynamics / G. M. Currie. *J. Nucl. Med. Technol.* 2018. Vol. 46. P. 81–86. DOI: 10.2967/jnmt.117.199588.
160. Thiazolidinone-Based Compounds as Dual-Purpose Therapeutics: Antimicrobial Efficacy, Cytotoxicity and Pharmacokinetic Potential / D. Mural et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2025. Vol. 5(57). P. 88–101. DOI: 10.15587/2519-4852.2025.342467.
161. D. Mural, A. Lozynskyi, Yu. Konechnyi, V. Georgiyants, R. Lesyk. Synthesis of Indoline-Thiazolidinone Hybrids as Potential Biologically Active Compounds. Modern Chemistry of Medicines: матеріали Міжнар. Інтернет-конфер., Харків, 18 травня 2023 р., P. 54.
162. Antibacterial Efficacy and Minimum Inhibitory Concentrations of Medicinal Plants against Wound Pathogens / S. R. Rekha et al. *Biomed. Pharmacol. J.* 2018. Vol. 11. P. 237–246. DOI: 10.13005/bpj/1368.
163. Isatin-Derived Azoles as New Potential Antimicrobial Agents: Design, Synthesis and Biological Evaluation / V. K. R. Tanganchu et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2021. Vol. 41. P. 128030. DOI: 10.1016/j.bmcl.2021.128030.
164. Synthesis and Biological Activity Evaluation of New Thiazolidinone-Diclofenac Hybrid Molecules / Y. Shepeta et al. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2020. Vol. 195. P. 836–841. DOI: 10.1080/10426507.2020.1759060.
165. Thiazolidinone/Thiazole Based Hybrids – New Class of Antitrypanosomal Agents / A. Kryshchyshyn et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. Vol. 174. P. 292–308. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.04.052.
166. Hydrogen Sulfide Releasing 2-Mercaptoacrylic Acid-Based Derivative Possesses Cytoprotective Activity in a Small Intestine of Rats with Medication-

- Induced Enteropathy / Y. Sklyarova et al. *Sci. Pharm.* 2017. Vol. 85. P. 35. DOI: 10.3390/scipharm85040035.
167. Synthesis of Fused Thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles via Hetero-Diels–Alder Reaction Related Tandem and Domino Processes / N. Zelisko et al. *Tetrahedron*. 2015. Vol. 71. P. 9501–9508. DOI: 10.1016/j.tet.2015.10.019.
168. Isothiochromenothiazoles – A Class of Fused Thiazolidinone Derivatives with Established Anticancer Activity That Inhibits Growth of *Trypanosoma brucei brucei* / A. Kryshchyn et al. *Sci. Pharm.* 2018. Vol. 86. P. 47. DOI: 10.3390/scipharm86040047.
169. Synthesis and Anticancer Activity of New Thiopyrano[2,3-d]thiazoles Based on Cinnamic Acid Amides / A. Lozynskyi et al. *Sci. Pharm.* 2014. Vol. 82. P. 723. DOI: 10.3797/scipharm.1408-05.
170. Synthesis of Indoline-Thiazolidinone Hybrids with Antibacterial and Antifungal Activities / Y. T. Konechnyi et al. *Biopolym. Cell.* 2020. Vol. 36. P. 381–391. DOI: 10.7124/bc.000A3A.

**ДОДАТКИ**

## Додаток А

## Список публікацій здобувача

1. Khamitova Zh., Berillo D., Lozynskyi A., Konechnyi Y., Mural D., Georgiyants V., Lesyk R. Thiadiazole and Thiazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents. *Mini Rev. Med. Chem.* 2024. Vol. 24. P. 531–545. DOI: 10.2174/1389557523666230713115947. **(Scopus, Q2)**. (Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Mural D., Khylyuk D., Lozynskyi A., Georgiyants V., Roman O., Kryshchyshyn-Dylevych A., Gurska S., Polishchuk P., Dzubak P., Hajduch M., Bogdanova K., Resova K., Kolar, M., Lesyk R. Thiazolidinone-Based Compounds as Dual-Purpose Therapeutics: Antimicrobial Efficacy, Cytotoxicity and Pharmacokinetic Potential. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2025. Vol. 5(57). P. 88-101. DOI:10.15587/2519-4852.2025.342467. **(Scopus, Q3)**. (Особистий внесок здобувача – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті; Khylyuk D. – дослідження; Lozynskyi A. - дослідження, написання — підготовка оригінального рукопису, візуалізація, методологія; Georgiyants V. – дослідження; Roman O. - дослідження; Kryshchyshyn-Dylevych A. – дослідження, Gurska S. - дослідження, Polishchuk P. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Dzubak P. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Hajduch M. - методологія, валідація, формальний аналіз, дослідження, візуалізація, написання — підготовка оригінального рукопису, Bogdanova K. - дослідження, Resova K. - дослідження, Kolar, M. - дослідження, Lesyk R. - концептуалізація, методологія, ресурси, валідація, дослідження, написання — підготовка оригінального рукопису, наукове керівництво).

3. Podolak M., Horishny V., Dudchak R., Gornowicz A., Czarnomysy R., Mural D., Holota S., Bielawski K., Lesyk R., Bielawska A. Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of New 5-((5-Nitrofuran-2-yl)allylidene)-2-thioxo-4-thiazolidinones. *Pharmaceuticals*. 2025. Vol. 18. P. 1598. DOI:10.3390/ph18111598. **(Scopus, Q1)**.  
Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
4. Horishny V., Mural D., Kovalenko I., Finiuk N., Ivasechko I., Konechnyi Y., Tymchuk I., Nedzelskyi S., Kozak Y., Rumynska T., Niemczuk K., Szymańska-Czerwińska M. Georgiyants V., Stoika R., Lesyk R., Holota S. Synthesis and Evaluation of Novel 4-Thiazolidinone-5-Nitrofuran Hybrids as Promising Antimicrobial Agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2026. P. 118545. DOI:10.1016/j.bmc.2026.118545. **(Scopus, Q2)**. (Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
5. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Horishny V., Yushyn I., Georgiyants V., Lesyk R. Design of Novel Nitrofuran-Thiazolidinone Hybrid Molecules as Potential Biologically Active Compounds. *International Conference “Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations 2025”*. Lithuania, Kaunas, 22 March 2024. P. 105.
6. Mural D., Lozynskyi A., Konechnyi Yu., Georgiyants V., Lesyk R. Synthesis of Indoline-Thiazolidinone Hybrids as Potential Biologically Active Compounds. *Modern Chemistry of Medicines: матеріали Міжнар. Internet-конфер., м. Харків, 18 трав. 2023 р.* – Харків : НФаУ, 2023. С. 54.

Продовж. дод. А

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Міжнародна конференція «Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Exрectations 2025» (Каунас, 22 березня 2024 р., форма участі – публікація тез);
2. Міжнародна Internet конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 18 травня 2023 р., форма участі – публікація тез).

## Додаток Б

## Таблиця Б.1

## Спектральні характеристики синтезованих сполук 3.1b–3.49b

Сполука	Спектри $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц)	LC-МС, $m/z$
1	2	3
3.1b	$^1\text{H}$ ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 11.89 (с, 1H, NH), 8.01 – 7.92 (м, 3H, аром.+CH=), 7.87 (д, $J = 3.7$ Гц, 1H, аром.), 7.69 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H, аром.), 7.63-7.57 (м, 2H, аром.), 7.49 (д, $J = 3.8$ Гц, 1H, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 190.8 (C=C), 165.1 (C=O), 163.3 (C=O), 153.8, 151.3, 133.5, 131.1, 129.3, 128.3, 123.2, 122.1, 119.0, 115.2.	376 (98.8 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.2b	$^1\text{H}$ ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 11.77 (с, 1H, NH), 7.92 (д, $J = 3.9$ Гц, 1H, аром.), 7.89 – 7.83 (м, 3H, аром.+CH=), 7.47 (д, $J = 3.8$ Гц, 1H, аром.), 7.38 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H, аром.), 2.40 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 191.2 (C=C), 164.9 (C=O), 163.4 (C=O), 153.7, 151.3, 143.7, 129.8, 128.3, 124.7, 123.2, 122.0, 119.0, 115.2, 21.6 (CH <sub>3</sub> ).	390 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.3b	$^1\text{H}$ ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 11.42 (с, 1H, NH), 11.14 (с, 1H, OH), 7.94 – 7.83 (м, 3H, аром.+CH=), 7.53 – 7.44 (м, 2H, аром.), 7.04 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H, аром.), 6.99 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 189.8 (C=C), 164.9 (C=O), 163.3 (C=O), 158.0, 151.3, 142.2, 135.1, 130.8, 123.3, 122.0, 120.0, 118.8, 117.6, 115.8, 115.2.	392 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.4b	$^1\text{H}$ ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 11.77 (с, 1H, NH), 9.91 (с, 1H, OH), 7.93 (с, 1H, CH=), 7.86 (д, $J = 3.9$ Гц, 1H, аром.), 7.48 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, аром.), 7.41 – 7.31 (м, 3H, аром.), 7.06 (с, 1H, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 191.1 (C=C), 165.1 (C=O), 163.3 (C=O), 158.0, 153.8, 151.3, 132.4, 130.4, 123.1, 122.1, 120.4, 119.0, 118.7, 115.2, 115.0.	392 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.5b	$^1\text{H}$ ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 11.55 (с, 1H, NH), 10.34 (с, 1H, OH), 7.91 (с, 1H, CH=), 7.87-7.81 (м, 3H, аром.), 7.47 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, аром.), 6.90 (д, $J=8.0$ Гц, 2H). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 191.3 (C=C), 164.5 (C=O), 163.5 (C=O), 162.1, 153.7, 151.3, 130.5, 123.2, 121.9, 121.5, 118.8, 115.8, 115.2.	392 (99.2 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
3.6b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.95 (с, 1H, NH), 7.93 (с, 1H, CH=), 7.86 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.67 (д, <i>J</i> = 7.6 Гц, 1H, аром.), 7.63 – 7.56 (м, 2H, аром.), 7.52 (т, <i>J</i> = 7.7 Гц, 1H, аром.), 7.49 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.8 (C=C), 164.8 (C=O), 163.0 (C=O), 153.8, 151.3, 142.1, 132.9, 131.3, 130.7, 130.1, 127.8, 123.3, 122.0, 118.9, 115.2.	409 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.7b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.01 (с, 1H, NH), 7.97 (д, <i>J</i> = 8.0 Гц, 2H, аром.), 7.94 (с, 1H, CH=), 7.87 (д, <i>J</i> = 4.1, 1H, аром.), 7.69 (д, <i>J</i> = 8.0 Гц, 2H, аром.), 7.49 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 191.0 (C=C), 164.2 (C=O), 163.3 (C=O), 153.7, 151.4, 148.6, 138.4, 130.2, 129.5, 122.1, 119.1, 116.4, 115.2.	410 (98.9 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.8b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.31 (с, 1H, NH), 8.43 (д, <i>J</i> = 8.4 Гц, 2H, аром.), 8.19 (д, <i>J</i> = 8.4 Гц, 2H, аром.), 7.94 (с, 1H, CH=), 7.86 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.49 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.8 (C=C), 163.8 (C=O), 163.1 (C=O), 153.7, 151.2, 150.5, 136.5, 129.9, 124.5, 123.0, 122.1, 119.2, 115.2.	421 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.9b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.28 (с, 1H, NH), 8.85 (с, 2H, аром.), 7.94 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.86 (с, 3H, аром.+CH=), 7.48 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.8 (C=C), 163.9 (C=O), 163.1 (C=O), 153.8, 151.3, 151.2, 138.1, 123.1, 122.1, 121.9, 119.2, 115.2.	377 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.10b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.16 (с, 1H, NH), 9.11 (с, 1H, аром.), 8.85 (д, <i>J</i> = 5.0 Гц, 1H, аром.), 8.31 (д, <i>J</i> = 8.4 Гц, 1H, аром.), 7.94 (с, 1H, CH=), 7.87 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.64 (т, <i>J</i> = 6.6 Гц, 1H, аром.), 7.48 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.9 (C=C), 163.9 (C=O), 163.2 (C=O), 153.9, 153.8, 151.3, 149.1, 136.2, 127.0, 124.5, 123.2, 122.1, 119.1, 115.2.	377 (97.4 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.11b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.39 (с, 1H, NH), 7.91 (с, 1H, CH=), 7.85 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.66 (д, <i>J</i> = 2.1 Гц, 1H, аром.), 7.47 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 6.98 (д, <i>J</i> = 1.9 Гц, 1H, аром.), 2.52 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.9 (C=C), 163.9 (C=O), 163.2 (C=O), 153.9, 151.3, 149.1, 136.2, 127.0, 124.5, 123.2, 122.1, 119.1, 115.2, 71.1 (CH <sub>3</sub> ).	380 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

1	2	3
3.12b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.67 (с, 1H, NH), 7.89 – 7.82 (м, 3H, аром.), 7.80 (с, 1H, CH=), 7.71 (т, <i>J</i> = 7.4 Гц, 1H, аром.), 7.60 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, аром.), 7.42 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.4 (C=C), 163.3 (C=O), 153.6, 151.4, 140.9, 134.1, 129.6, 127.8, 123.1, 121.8, 118.5, 115.2.	412 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.13b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.55 (с, 1H, NH), 7.83 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.80 (с, 1H, CH=), 7.73 (д, <i>J</i> = 8.0, 2H, аром.), 7.42-7.38 (м, 3H, аром.), 2.40 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.4 (C=C), 163.3 (C=O), 153.6, 151.3, 144.5, 138.0, 130.0, 127.9, 123.1, 121.8, 118.5, 115.2, 21.5 (CH <sub>3</sub> ).	426 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.14b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.37 (шс, 1H, COOH), 7.86 – 7.80 (м, 2H, аром.+CH=), 7.43 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 4.73 (с, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.9 (C=C), 167.5 (C=O), 166.3 (C=O), 153.6, 151.4, 126.0, 121.6, 117.8, 115.3, 45.5.	315 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.15b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.09 (с, 1H, COOH), 7.84 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 7.76 (с, 1H, CH=), 7.43 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 5.60 (q, 1H, <i>J</i> = 7.2 Гц), 1.55 (д, <i>J</i> = 7.2 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.6 (C=C), 169.8 (C=O), 166.1 (C=O), 153.6, 151.5, 125.7, 121.4, 117.4, 115.3, 53.4 (CH), 13.8 (CH <sub>3</sub> ).	329 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.16b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.31 (с, 1H, COOH), 7.85 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.78 (с, 1H, CH=), 7.45 (д, <i>J</i> = 3.8 Гц, 1H, аром.), 5.50 (дд, <i>J</i> = 10.3, 5.5 Гц, 1H, CH), 2.19 (дхерт, <i>J</i> = 14.2, 7.0 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 0.85 (т, <i>J</i> = 7.4 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.3 (C=C), 169.3 (C=O), 166.4 (C=O), 153.6, 151.4, 125.2, 121.6, 117.8, 115.3, 59.2 (CH), 21.4 (CH <sub>2</sub> ), 11.0 (CH <sub>3</sub> ).	343 (98.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.17b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.32 (с, 1H, COOH), 7.84 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.77 (с, 1H, CH=), 7.44 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 5.55 (д, <i>J</i> = 9.9 Гц, 1H, CH), 2.15 (р, <i>J</i> = 8.2 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.27 (дq, <i>J</i> = 18.4, 8.1 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 0.87 (т, <i>J</i> = 7.1 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.2 (C=C), 169.4 (C=O), 166.4 (C=O), 153.6, 151.4, 125.2, 121.6, 117.8, 115.3, 57.71 (CH), 30.0 (CH <sub>2</sub> ), 19.5 (CH <sub>2</sub> ), 14.0 (CH <sub>3</sub> ).	357 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
3.18b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.25 (шс, 1H, COOH), 7.84 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.) 7.81 (с, 1H, CH=), 7.45 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 5.17 (д, <i>J</i> = 7.8 Гц, 1H, CH), 2.74 – 2.69 (м, 1H, CH), 1.19 (д, <i>J</i> = 6.8 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 0.75 (д, <i>J</i> = 7.2 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.2 (C=C), 168.8 (C=O), 166.5 (C=O), 153.6, 151.4, 124.8, 121.7, 118.2, 115.3, 62.7 (CH), 27.7 (CH), 22.0 (CH <sub>3</sub> ), 19.4 (CH <sub>3</sub> ).	357 (98.4 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.19b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.34 (шс, 1H, COOH), 7.84 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.77 (с, 1H, CH=), 7.44 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 5.54 (шс, 1H, CH), 2.17 (q, <i>J</i> = 7.4 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.30 – 1.18 (м, 4H, 2* CH <sub>2</sub> ), 0.86 – 0.79 (м, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.6 (C=C), 169.4 (C=O), 166.4 (C=O), 153.5, 151.4, 121.6, 117.8, 115.3, 108.7, 57.8 (CH), 28.2 (CH <sub>2</sub> ), 27.6 (CH <sub>2</sub> ), 22.2 (CH <sub>2</sub> ), 14.1 (CH <sub>3</sub> ).	371 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> ).
3.20b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.31 (шс, 1H, COOH), 7.85 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.78 (с, 1H, CH=), 7.44 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 5.57 (шс, 1H, CH), 2.54 (д, <i>J</i> = 1.7 Гц, 1H, CH), 2.16 (с, 1H, CH <sub>2</sub> ), 1.50 (с, 1H, CH <sub>2</sub> ), 0.89 (дд, <i>J</i> = 23.7, 6.4 Гц, 6H, 2*CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.3 (C=C), 169.6 (C=O), 166.5 (C=O), 153.6, 151.4, 121.6, 117.9, 115.3, 105.9, 56.5 (CH), 36.88 (CH), 25.29 (CH <sub>2</sub> ), 23.2 (CH <sub>3</sub> ), 22.4 (CH <sub>3</sub> ).	371 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.21b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.39 (шс, 1H), 7.86 – 7.78 (м, 2H, аром.+CH=), 7.50 (д, <i>J</i> = 6.9 Гц, 2H, аром.), 7.44 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 7.40 – 7.31 (м, 3H, аром.), 6.81 (с, 1H, CH). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.7 (C=C), 167.9 (C=O), 166.1 (C=O), 153.6, 151.4, 133.5, 130.0, 128.8, 128.6, 125.0, 121.7, 118.3, 115.3, 60.7 (CH).	391 (98.2 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.22b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.79 (шс, 1H, COOH), 7.82 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 7.74 (с, 1H, CH=), 7.42 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, аром.), 7.22 – 7.12 (м, 5H, аром.), 5.88 (шс, 1H, CH), 3.50 (шс, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.4 (C=C), 168.9 (C=C), 166.3 (C=C), 153.6, 151.2, 136.8, 129.4, 128.7, 127.2, 124.7, 121.7, 117.9, 115.2, 58.7 (CH), 33.5 (CH <sub>2</sub> ).	405 (96.4 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
3.23b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.52 (шс, 1H, COOH), 7.83 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.73 (с, 1H, CH=), 7.41 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 4.22 (т, <i>J</i> = 7.7 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 2.64 (т, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.0 (C=C), 172.1 (C=O), 166.6 (C=O), 153.5, 151.6, 126.9, 121.1, 116.8, 115.3, 40.6 (CH <sub>2</sub> ), 31.2 (CH <sub>2</sub> ).	329 (96.5 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.24b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.11 (с, 1H, COOH), 7.83 (д, <i>J</i> = 3.8 Гц, 1H, аром.), 7.71 (с, 1H, CH=), 7.41 (д, <i>J</i> = 3.7 Гц, 1H, аром.), 4.07 (т, <i>J</i> = 7.0 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 2.31 (т, <i>J</i> = 7.0 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.89 (р, <i>J</i> = 7.3 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 199.1 (C=C), 178.9 (C=O), 171.7 (C=O), 158.1, 156.4, 131.8, 125.7, 121.2, 120.1, 49.0 (CH <sub>2</sub> ), 36.1 (CH <sub>2</sub> ), 27.1 (CH <sub>2</sub> ).	343 (97.9 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.25b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.99 (с, 1H, COOH), 7.83 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 7.72 (с, 1H, CH=), 7.40 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 3.99 (т, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 2.19 (т, <i>J</i> = 7.3 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.63 (р, <i>J</i> = 7.7 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.51 (р, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.30 (р, <i>J</i> = 7.9 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.1 (C=C), 174.7 (C=O), 166.9 (C=O), 151.6, 126.9, 121.1, 116.7, 115.4, 44.7 (CH <sub>2</sub> ), 33.8 (CH <sub>2</sub> ), 26.5 (CH <sub>2</sub> ), 26.1 (CH <sub>2</sub> ), 24.4 (CH <sub>2</sub> ).	371 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.26b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.94 (с, 1H, COOH), 7.83 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.71 (с, 1H, CH=), 7.41 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 4.00 (т, <i>J</i> = 7.6 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 2.17 (т, <i>J</i> = 7.3 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.63 (т, <i>J</i> = 7.6 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.46 (q, <i>J</i> = 6.9 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.28 (с, 4H, 2*CH <sub>2</sub> ), 1.24 (с, 8H, 4*CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.1 (C=C), 174.9 (C=O), 166.9 (C=O), 153.5, 151.6, 126.9, 121.0, 116.7, 115.3, 44.8 (CH <sub>2</sub> ), 34.1 (CH <sub>2</sub> ), 29.3 (CH <sub>2</sub> ), 29.2 (CH <sub>2</sub> ), 29.1 (CH <sub>2</sub> ), 29.0 (CH <sub>2</sub> ), 28.9 (CH <sub>2</sub> ), 26.7 (CH <sub>2</sub> ), 26.5 (CH <sub>2</sub> ), 24.9 (CH <sub>2</sub> ).	441 (96.1 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.27b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.80 (с, 1H, NH), 7.95 (д, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, аром.), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.74 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.68 (т, <i>J</i> = 7.5 Гц, 1H, аром.), 7.58 (т, <i>J</i> = 7.6 Гц, 2H, аром.), 7.43 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 7.20 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.2 (C=C), 165.0 (C=O), 163.2 (C=O), 154.5, 152.4, 133.6, 133.4, 131.2, 130.1, 129.3, 128.3, 127.5, 124.3, 116.6, 115.7.	402 (95.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
---	---	---

3.28b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.69 (с, 1H, NH), 7.86 (д, <i>J</i> = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.74 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H), 7.46 – 7.34 (м, 4H, аром.+CH=), 7.19 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.6 Гц, 1H, CH=), 2.39 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.3 (C=C), 164.8 (C=O), 163.2 (C=O), 154.4, 152.4, 143.6, 133.5, 130.0, 129.8, 128.3, 128.3, 127.4, 124.3, 116.5, 115.7, 21.5 (CH <sub>3</sub> ).	416 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.29b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.40 (с, 1H, NH), 11.13 (с, 1H, OH), 7.88 (д, <i>J</i> = 7.9 Гц, 1H, аром.), 7.80 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.73 (д, <i>J</i> = 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.49 (т, <i>J</i> = 7.7 Гц, 1H, аром.), 7.42 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.19 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.06 – 6.95 (м, 2H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.1 (C=C), 165.1 (C=O), 163.1 (C=O), 158.2, 154.5, 152.4, 142.3, 135.1, 133.2, 130.6, 129.9, 127.5, 124.5, 120.0, 117.6, 116.5, 115.7.	418 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.30b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.69 (с, 1H, NH), 9.89 (с, 1H, OH), 7.80 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.74 (д, <i>J</i> = 11.6 Гц, 1H, CH=), 7.47 – 7.40 (м, 2H, аром.), 7.38-7.35 (м, 2H, аром.), 7.34 – 7.30 (м, 1H, аром.), 7.20 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.05 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.7 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.9 (C=C), 165.0 (C=O), 163.2 (C=O), 158.0, 155.7, 154.4, 144.3, 133.6, 132.5, 130.4, 127.5, 124.2, 118.7, 116.6, 115.7, 115.0, 113.7.	418 (95.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.31b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.48 (с, 1H, NH), 10.33 (с, 1H, OH), 7.83-7.77 (м, 3H, аром.), 7.73 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.42 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 7.19 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.8 Гц, 1H, CH=), 6.89 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 2H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.4 (C=C), 164.5 (C=O), 163.3 (C=O), 162.1, 154.5, 152.4, 133.4, 130.5, 129.9, 127.5, 124.4, 121.7, 116.5, 115.8, 115.7.	418 (97.8 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.32b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.87 (с, 1H, NH), 7.83 (д, <i>J</i> = 7.9, 1H, аром.), 7.80 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.70 (д, <i>J</i> = 11.6 Гц, 1H, CH=), 7.53-7.48 (м, 1H, аром.), 7.42 (д, <i>J</i> = 14.6 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.19 (дд, <i>J</i> = 14.7, 11.5 Гц, 1H, CH=), 7.06 – 6.95 (м, 2H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 189.9 (C=C), 164.7 (C=O), 162.9 (C=O), 154.5, 152.4, 133.5, 133.0, 132.9, 131.2, 130.7, 130.1, 130.0, 127.8, 127.4, 124.3,	436 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
---	---	---

	116.6, 115.7.	
3.33b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.92 (с, 1H, NH), 7.97 (д, <i>J</i> = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.74 (д, <i>J</i> = 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.67 (д, <i>J</i> = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.43 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.19 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.1 (C=C), 164.1 (C=O), 163.1 (C=O), 154.4, 152.4, 138.3, 133.7, 130.2, 130.1, 129.8, 129.5, 127.4, 124.2, 116.6, 115.7.	436 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.34b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.23 (с, 1H, NH), 8.42 (д, <i>J</i> = 8.6, 2H, аром.), 8.18 (дд, <i>J</i> = 8.8 Гц, 2H, аром.), 7.82 – 7.73 (м, 2H, аром.), 7.43 (д, <i>J</i> = 15.0 Гц, 1H, CH=), 7.39 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, аром.), 7.20 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.6 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.0 (C=C), 163.7 (C=O), 163.0 (C=O), 154.4, 152.4, 150.4, 136.5, 133.8, 130.2, 129.8, 127.4, 124.5, 124.1, 116.6, 115.7.	447 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.35b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.21 (с, 1H, NH), 8.86 (д, <i>J</i> = 5.4 Гц, 2H, аром.), 7.85 (д, <i>J</i> = 4.8 Гц, 2H, аром.), 7.82 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.77 (д, <i>J</i> = 12.1 Гц, 1H, CH=), 7.45 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.40 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.21 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 189.9 (C=C), 163.9 (C=O), 162.9 (C=O), 154.4, 152.4, 151.2, 138.2, 133.8, 130.2, 127.4, 124.1, 121.9, 116.6, 115.7.	403 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.36b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.32 (с, 1H, NH), 7.79 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.73 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.66 (д, <i>J</i> = 2.4 Гц, 1H, аром.), 7.40 (д, <i>J</i> = 15.0 Гц, 1H, CH=), 7.37 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.20 (дд, <i>J</i> = 14.9, 11.5 Гц, 1H, CH=), 6.96 (д, <i>J</i> = 2.4 Гц, 1H, аром.), 2.51 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.4 (C=C), 163.3 (C=O), 161.3 (C=O), 159.0, 154.5, 152.4, 142.1, 133.4, 130.0, 127.4, 124.3, 116.5, 115.7, 112.8, 109.2, 13.8 (CH <sub>3</sub> ).	406 (97.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.37b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.58 (с, 1H, NH), 7.87 – 7.82 (м, 2H, аром.), 7.78 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.73 – 7.66 (м, 1H, аром.), 7.65 – 7.55 (м, 3H, аром.+CH=), 7.40 – 7.34 (м, 2H, аром.+CH=), 7.12 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.8 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 189.6 (C=C), 163.2 (C=O), 154.5, 152.4, 141.1, 134.0, 133.2, 129.8, 129.6, 127.8, 127.4, 123.9, 116.5, 115.7.	438 (97.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
---	---	---

3.38b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.46 (с, 1H, NH), 7.78 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.72 (д, <i>J</i> = 7.9 Гц, 2H, аром.), 7.62 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.38 (д, <i>J</i> = 7.9 Гц, 2H, аром.), 7.37 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.36 (д, <i>J</i> = 15.1 Гц, 1H, CH=), 7.11 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=), 2.40 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 189.6 (C=C), 163.20 (C=O), 154.4, 152.3, 144.4, 138.2, 133.2, 130.0, 129.8, 127.8, 127.4, 123.9, 116.4, 115.7, 21.5 (CH <sub>3</sub> ).	452 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.39b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.54, 11.86 (2*шс, 1H, NH), 7.93 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.77 -7.73 (м, 1H, аром.), 7.62 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.56 – 7.45 (м, 1H, аром.), 7.38 (д, <i>J</i> = 11.4 Гц, 1H, CH=), 7.33 (шс, 2H, аром.), 7.26 - 7.19 (м, 1H, аром.), 7.15 -7.04 (м, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 190.7 (C=C), 164.7 (C=O), 161.7, 155.2, 151.9, 131.2, 130.9, 128.9, 128.6, 126.7, 126.1, 125.7, 125.3, 121.7, 118.2, 115.8, 114.	410 (97.6 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.40b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 11.68 (шс, 1H, NH); 7.78-7.72 м, 7.49 д ( <i>J</i> = 8.0 Гц), 7.44 д ( <i>J</i> = 8.8 Гц), 7.36 д ( <i>J</i> = 11.6 Гц), 7.28-7.23 м, 7.21 д ( <i>J</i> = 15.6 Гц), 7.16 д ( <i>J</i> = 15.4 Гц), 7.07 – 6.95 м, (6H аром.+3H CH). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 186.6 (C=C), 165.9 (C=O), 155.1, 147.6, 129.8, 129.5, 129.0, 128.9, 128.3, 126.5, 123.6, 122.6, 115.8, 114.6.	376 (99.6 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.41b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 7.80 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.64 – 7.53 (м, 2H, аром.+CH=), 7.57 – 7.45 (м, 2H, аром.), 7.42-7.35 (м, 4H), 7.17 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.7 Гц, 1H). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.5 (C=C), 166.6 (C=O), 154.7, 152.3, 135.6, 135.3, 131.1, 129.9, 129.7, 129.1, 128.9, 128.1, 116.0, 115.8.	359 (99.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.42b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 9.83 (с, 1H, OH), 7.79 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.57 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.38-7.29 (м, 3H, CH+=аром.), 7.15 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.8 Гц, 1H, CH=), 6.92 – 6.86 (м, 1H, аром.), 6.79 – 6.73 (м, 2H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.3 (C=C), 166.5 (C=O), 158.4, 154.7, 152.2, 136.4, 130.9, 130.4, 128.9, 128.7, 128.1, 119.4, 116.4, 116.1, 116.0, 115.8.	375 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.43b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 7.78 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, аром.), 7.56 (д, <i>J</i> = 12.2 Гц, 1H, CH=), 7.43-7.35 (м, 2H, аром.+CH=), 7.18-7.12 (м, 3H, аром.+CH=), 6.87 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 2H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.8 (C=C), 166.7 (C=O), 158.6, 154.7, 152.2, 130.9,	375 (96.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
---	---	---

	130.1, 128.8, 128.7, 128.1, 126.4, 116.2, 116.0, 115.8.	
3.44b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 7.93-7.89 (м, 2H, аром.), 7.83-7.76 (м, 3H, аром.+CH=), 7.62 (д, <i>J</i> = 11.6 Гц, 1H, CH=), 7.44 – 7.34 (м, 2H, аром.), 7.20 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.5 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 193.6 (C=C), 166.5 (C=O), 154.6, 152.3, 136.4, 133.7, 131.3, 130.6, 130.2, 130.1 (q, <i>J</i> <sub>C-F</sub> =224.0 Гц), 128.8, 128.1, 126.8, 125.5, 122.7, 116.1, 115.8.	427 (98.8 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.45b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.76 (с, 1H, NH), 7.78 (д, <i>J</i> = 4.1, аром.), 7.39 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.34 – 7.26 (м, 2H, аром.+CH=), 7.09 – 6.97 (м, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 195.1 (C=C), 169.0 (C=O), 154.7, 152.2, 131.3, 130.0, 128.4, 128.3, 115.8, 115.7.	283 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.46b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 9.41 (с, 1H, NH), 9.16 (с, 1H, NH), 7.72 (шс, 1H, аром.), 7.25 (д, <i>J</i> = 11.3 Гц, 1H, CH=), 7.16 (шс., 1H, аром.), 7.09 (д, <i>J</i> = 14.5 Гц, 1H, CH=), 6.99 – 6.88 (м, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 179.9 (C=O), 174.8 (C=N), 155.2, 151.9, 136.4, 130.5, 127.2, 125.5, 115.9, 114.6.	266 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.47b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 12.55 (с, 1H, NH), 7.76 (д, <i>J</i> = 3.8 Гц, 1H, аром.), 7.51 (д, <i>J</i> = 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.29 – 7.21 (м, 2H, CH=+аром.), 6.94 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 167.4 (C=O), 166.9 (C=O), 154.6, 152.1, 130.4, 129.2, 128.1, 127.6, 115.7, 115.4.	267 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.48b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 7.79 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, аром.), 7.54 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.39 – 7.31 (м, 2H, аром.+CH=), 7.15 – 7.04 (м, 3H, аром.+CH=), 6.89 – 6.81 (м, 2H, аром.), 4.15 (дд, <i>J</i> = 8.8, 6.7 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.71 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.86 (т, <i>J</i> = 7.7 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 192.7 (C=C), 166.3 (C=O), 158.5, 154.6, 152.3, 131.3, 130.1, 129.8, 129.0, 128.1, 127.9, 116.0, 115.7, 114.4, 55.4 (CH <sub>3</sub> ), 46.0 (CH <sub>2</sub> ), 31.7 (CH <sub>2</sub> ).	417 (97.3 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.49b	<sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 10.88 (с, 1H, NH), 7.80 – 7.74 (м, 1H, аром.), 7.61 (д, <i>J</i> = 8.0 Гц, 1H, аром.), 7.53 (д, <i>J</i> = 11.9 Гц, 1H, CH=), 7.36 – 7.29 (м, 3H, аром.), 7.22 – 7.18 (м, 1H, CH=), 7.10 – 7.04 (м, 2H, аром.), 6.99 (д, <i>J</i> = 8.7 Гц, 1H, аром.), 4.22 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.02 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 192.9 (C=C), 166.5 (C=C), 154.6, 152.2, 136.7, 131.3, 128.9, 128.2, 128.1, 127.5, 123.6, 121.5, 118.9, 118.5,	426 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. Б.1

1	2	3
	116.0, 115.8, 111.9, 110.4, 45.3 (CH <sub>2</sub> ), 22.8 (CH <sub>2</sub> ).	

## Спектральні характеристики синтезованих сполук 3.50b–3.64b

Сполука	Спектри $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц); ІЧ (KBr), $\text{cm}^{-1}$	LC-МС, $m/z$
1	2	3
3.50b	$^1\text{H}$ ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 13.47 (шс, 1H, COOH), 7.80 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, фуран), 7.66 (д, $J = 11.7$ Гц, 1H, CH=), 7.44 – 7.34 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.15 (дд, $J = 15.1$ , 11.7 Гц, 1H, CH=), 4.72 (с, 2H, CH <sub>2</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 192.3 (C=C), 167.2 (C=O), 165.5 (C=O), 154.0 (фуран), 151.8 (фуран), 131.9 (CH=), 129.0 (CH=), 127.6 (C-5), 126.7 (фуран), 115.8 (CH=), 115.2 (фуран), 44.9 (CH <sub>2</sub> ). ІЧ (KBr): 1733 & 1700 (C=O), 1577 & 1559 (C=C), 1514 & 1312 (N-O) $\text{cm}^{-1}$ .	341.0 (98.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.51b	$^1\text{H}$ ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 13.23 (шс, 1H, COOH), 7.80 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, фуран), 7.59 (д, $J = 11.7$ Гц, 1H, CH=), 7.43 – 7.33 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.15 (дд, $J = 15.2$ , 11.8 Гц, 1H, CH=), 5.62 – 5.54 (м, 1H, CH), 1.52 (д, $J = 7.2$ Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 191.9 (C=C), 169.4 (C=O), 165.5 (C=O), 154.0 (фуран), 151.8 (фуран), 131.5 (CH=), 128.9 (CH=), 127.5 (C-5), 126.3 (фуран), 115.8 (CH=), 115.2 (фуран), 52.8 (CH), 13.32 (CH <sub>3</sub> ). ІЧ (KBr): 1743 & 1696 (C=O), 1580 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) $\text{cm}^{-1}$ .	355.0 (97.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.52b	). $^1\text{H}$ ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 13.29 (шс, 1H, COOH), 7.80 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, фуран), 7.60 (д, $J = 11.7$ Гц, 1H, CH=), 7.43 – 7.34 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.14 (дд, $J = 15.1$ , 11.7 Гц, 1H, CH=), 5.46 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H, CH), 2.17 (дк, $J = 12.2$ , 6.9, 6.4 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 0.83 (т, $J = 7.4$ Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 193.1 (C=C), 168.9 (C=O), 166.1 (C=O), 154.0 (фуран), 151.6 (фуран), 131.8 (CH=), 129.1 (CH=), 127.5 (C-5), 126.7 (фуран), 115.9 (CH=), 115.3 (фуран), 58.6 (CH), 20.9 (CH <sub>2</sub> ), 10.6 (CH <sub>3</sub> ). ІЧ (KBr): 1718 & 1705 (C=O), 1586 & 1559 (C=C), 1515 & 1339 (N-O) $\text{cm}^{-1}$ .	369.0 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.53b	$^1\text{H}$ ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 13.29 (шс, 1H, COOH), 7.79 (д, $J = 4.0$ Гц, 1H, фуран), 7.60 (д, $J = 11.8$ Гц, 1H, CH=), 7.43 – 7.34 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.17 (дд, $J = 15.0$ , 11.7 Гц, 1H, CH=), 5.53 (с, 1H, CH), 2.12 (к, $J = 9.2$ , 7.9 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.23 (дк, $J = 15.2$ , 7.3 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 0.87 (т, $J = 7.3$ Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 МГц, ДМСО- $d_6$ , $\delta$ ): 191.9 (C=C), 169.0 (C=O), 165.1 (C=O), 154.0 (фуран),	383.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. В.1

1	2	3
	151.8 (фуран), 131.9 (CH=), 129.0 (CH=), 127.5 (фуран), 127.6 (C-5), 115.9 (CH=), 115.2 (фуран), 57.0 (CH), 29.5 (CH <sub>2</sub> ), 18.9 (CH <sub>2</sub> ), 13.5 (CH <sub>3</sub> ). ИЧ (KBr): 1718 & 1702 (C=O), 1573 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	
3.54b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.18 (с, 1H, COOH), 7.80 (д, J = 4.0 Гц, 1H, фуран), 7.63 (д, J = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.44 – 7.34 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.15 (дд, J = 15.0, 11.7 Гц, 1H, CH=), 5.17 – 5.11 (м, 1H, CH), 2.75 – 2.67 (м, 1H, CH), 1.18 (д, J = 6.5 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 0.73 (д, J = 6.9 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 188.9 (C=C), 168.5 (C=O), 165.8 (C=O), 154.0 (фуран), 151.9 (фуран), 132.3 (CH=), 129.3 (CH=), 127.5 (C-5), 125.5 (фуран), 115.9 (CH=), 115.3 (фуран), 62.1 (CH), 27.1 (CH), 21.6 (CH <sub>3</sub> ), 18.8 (CH <sub>3</sub> ). ИЧ (KBr): 1718 & 1702 (C=O), 1573 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	383.0 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.55b	). <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.22 (шс, 1H, COOH), 7.79 (д, J = 4.0 Гц, 1H, фуран), 7.59 (д, J = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.42 – 7.32 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.16 (дд, J = 15.0, 11.8 Гц, 1H, CH=), 5.51 (с, 1H, CH), 2.15 (q, J = 7.5 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> ), 1.27-1.14 (м, 2H, 2*CH <sub>2</sub> ), 0.82 (т, J = 6.6 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 192.9 (C=C), 169.0 (C=O), 165.7 (C=O), 154.0 (фуран), 151.8 (фуран), 131.9 (CH=), 129.0 (CH=), 127.4 (C-5), 125.9 (фуран), 115.9 (CH=), 115.2 (фуран), 57.2 (CH), 27.75 (CH <sub>2</sub> ), 27.14 (CH <sub>2</sub> ), 21.75 (CH <sub>2</sub> ), 13.68 (CH <sub>3</sub> ). ИЧ (KBr): 1718 & 1700 (C=O), 1579 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	397.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.56b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.32 (шс, 1H, COOH), 7.79 (д, J = 4.1 Гц, 1H, фуран), 7.59 (д, J = 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.42 – 7.33 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.13 (дд, J = 15.0, 11.6 Гц, 1H, CH=), 5.54 (с, 1H, CH), 2.15 (с, 1H, CH), 1.99 (ддд, J = 14.4, 9.2, 4.7 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 1.47 (дд, J = 13.4, 7.0 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 0.91 (д, J = 6.5 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 0.86 (д, J = 6.6 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 192.6 (C=C), 169.2 (C=O), 165.8 (C=O), 154.0 (фуран), 151.8 (фуран), 131.9 (CH=), 129.0 (CH=), 127.5 (C-5), 125.2 (фуран), 115.9 (CH=), 115.2 (фуран), 55.8 (CH), 36.33 (CH), 24.75 (CH <sub>2</sub> ), 22.78 (CH <sub>3</sub> ), 21.88 (CH <sub>3</sub> ). ИЧ (KBr): 1714 & 1700 (C=O), 1581 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	397.0 (98.7 %, [M+H] <sup>+</sup> )

Продовж. табл. В.1

1	2	3
---	---	---

3.57b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.24 (шс, 1H, COOH), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.2 Гц, 1H, фуран), 7.62 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.44 – 7.34 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.16 (дд, <i>J</i> = 15.1, 11.7 Гц, 1H, CH=), 5.18 (д, <i>J</i> = 7.4 Гц, 1H, CH), 2.50 (м, 1H, CH), 1.23 (м, 1H, CH <sub>2</sub> ) 1.14 (д, <i>J</i> = 6.5 Гц, 3H), 0.93 (м, 1H, CH <sub>2</sub> ), 0.79 (т, <i>J</i> = 7.3 Гц, 3H). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 192.8 (C=C), 168.1 (C=O), 163.3 (C=O), 154.0 (фуран), 151.1 (фуран), 132.3 (CH=), 129.2 (CH=), 127.4 (C-5), 123.3 (фуран), 115.9 (CH=), 115.2 (фуран), 64.5 (CH), 61.5 (CH), 24.8 (CH <sub>2</sub> ), 17.4 (CH <sub>3</sub> ), 10.8 (CH <sub>3</sub> ). ИЧ (KBr): 1718 & 1700 (C=O), 1577 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	397.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.58b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.56 (шс, 1H, COOH), 7.79 (д, <i>J</i> = 3.8 Гц, 1H, фуран), 7.63 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.58 – 7.44 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.40-7.32 (м, 5H, аром+CH=), 7.24 – 7.08 (м, 1H, аром), 6.77 (с, 1H, CH). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 192.1 (C=C), 167.5 (C=O), 165.4 (C=O), 153.9 (фуран), 151.9 (фуран), 133.2 (аром), 132.4 (CH=), 129.5 (аром), 129.0 (CH=), 128.3 (аром), 128.0 (аром), 127.5 (C-5), 125.6 (фуран), 116.0 (CH=), 115.2 (фуран), 60.1 (CH). ИЧ (KBr): 1718 & 1696 (C=O), 1577 & 1559 (C=C), 1507 & 1346 (N-O) см <sup>-1</sup> .	417.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.59b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.48 (шс, 1H, COOH), 7.79 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, фуран), 7.55 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.40-7.32 (м, 2H, фуран+ CH=+аром), 7.28-7.16 (м, 3H, CH=+аром), 7.14-7.02 (м, 3H, аром) 5.85 (с, 1H, CH), 3.48 (с, 2H, CH <sub>2</sub> ). <sup>13</sup> C ЯМР (100 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 194.2 (C=C), 176.0 (C=O), 169.1 (C=O), 154.6 (фуран), 151.4 (фуран), 133.4 (аром), 132.9 (CH=), 129.2 (CH=), 128.8 (аром), 128.1 (аром), 126.6 (C-5), 126.0 (фуран), 116.5 (аром), 115.9 (CH=), 115.0 (фуран), 53.1 (CH), 33.0 (CH <sub>2</sub> ). ИЧ (KBr): 1715 & 1700 (C=O), 1577 & 1559 (C=C), 1507 & 1339 (N-O) см <sup>-1</sup> .	431.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.60b	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ): 13.35 (шс, 1H, COOH), 9.21 (с, 1H, OH), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.1 Гц, 1H, фуран), 7.56 (д, <i>J</i> = 11.9 Гц, 1H, CH=), 7.41 – 7.32 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.09 (дд, <i>J</i> = 15.0, 11.8 Гц, 1H, CH=), 6.90 (д, <i>J</i> = 7.9 Гц, 2H, аром.), 6.57 (д, <i>J</i> = 7.9 Гц, 2H, аром.), 5.75 (с,	447.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )

1	2	3
	<p><sup>1</sup>H, CH), 3.35 (с, 2H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 192.9 (C=C), 176.0 (C=O), 168.7 (C=O), 155.9 (аром), 154.0 (фуран), 151.8 (фуран), 131.9 (CH=), 129.8 (CH=), 129.1 (аром), 128.8 (аром), 127.5 (C-5), 126.3 (фуран), 115.8 (аром), 115.2 (CH=), 115.0 (фуран), 58.4 (CH), 32.2 (CH<sub>2</sub>). ИЧ (KBr): 1735 &amp; 1700 (C=O), 1584 &amp; 1559 (C=C), 1507 &amp; 1339 (N-O) см<sup>-1</sup>.</p>	
3.61b	<p><sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 12.50 (с, 1H, COOH), 7.79 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, фуран), 7.57 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.40 – 7.32 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.11 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.8 Гц, 1H, CH=), 4.19 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.61 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 192.4 (C=C), 171.7 (C=O), 165.9 (C=O), 154.1 (фуран), 151.8 (фуран), 130.9 (CH=), 128.5 (CH=), 127.7 (C-5), 127.5 (фуран), 115.6 (CH=), 115.3 (фуран), 40.4 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>). ИЧ (KBr): 1700 &amp; 1685 (C=O), 1577 &amp; 1559 (C=C), 1507 &amp; 1331 (N-O) см<sup>-1</sup>.</p>	355.0 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.62b	<p>). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 12.11 (с, 1H, COOH), 7.80 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, фуран), 7.56 (д, <i>J</i> = 11.7 Гц, 1H, CH=), 7.40 – 7.32 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.11 (дд, <i>J</i> = 15.2, 11.8 Гц, 1H, CH=), 4.04 (т, <i>J</i> = 6.9 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.29 (т, <i>J</i> = 7.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.87 (дд, <i>J</i> = 15.8, 8.8 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 192.7 (C=C), 173.6 (C=O), 166.3 (C=O), 154.1 (фуран), 151.7 (фуран), 130.6 (CH=), 128.3 (CH=), 127.7 (C-5), 126.6 (фуран), 115.5 (CH=), 115.3 (фуран), 43.6 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 21.9 (CH<sub>2</sub>). ИЧ (KBr): 1716 &amp; 1696 (C=O), 1577 &amp; 1559 (C=C), 1507 &amp; 1338 (N-O) см<sup>-1</sup>.</p>	369.0 (100.0 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.63b	<p><sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 11.98 (с, 1H, COOH), 7.78 (д, <i>J</i> = 3.9 Гц, 1H, фуран), 7.56 (д, <i>J</i> = 11.8 Гц, 1H, CH=), 7.41 – 7.35 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.09 (дд, <i>J</i> = 15.4, 11.8 Гц, 1H, CH=), 3.97 (т, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.20 (т, <i>J</i> = 7.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.62 (р, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.52 (р, <i>J</i> = 7.5 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.29 (р, <i>J</i> = 7.8 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 192.9 (C=C), 174.7 (C=O), 166.6 (C=O), 154.6 (фуран), 152.3 (фуран), 131.3 (CH=), 128.9 (CH=), 128.2 (C-5), 128.0 (фуран), 116.1 (CH=), 115.7 (фуран), 44.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 26.5 (CH<sub>2</sub>), 26.1 (CH<sub>2</sub>), 24.5 (CH<sub>2</sub>). ИЧ (KBr): 1700 &amp; 1685 (C=O), 1577 &amp; 1559 (C=C), 1507 &amp; 1339 (N-O) см<sup>-1</sup>.</p>	397.0 (96.8 %, [M+H] <sup>+</sup> )
3.64b	<p><sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 11.96 (шс, 1H, COOH),</p>	467.0 (100.0

1	2	3
	<p>7.79 (д, <math>J = 4.0</math> Гц, 1H, фуран), 7.57 (д, <math>J = 11.8</math> Гц, 1H, CH=), 7.40 – 7.32 (м, 2H, фуран+ CH=), 7.10 (дд, <math>J = 15.1, 11.7</math> Гц, 1H, CH=), 3.97 (т, <math>J = 7.5</math> Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.18 (т, <math>J = 7.3</math> Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.59 (д, <math>J = 9.4</math> Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.47 (д, <math>J = 7.2</math> Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.25 (д, <math>J = 13.7</math> Гц, 10H, 6*CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-<i>d</i><sub>6</sub>, δ): 192.5 (C=C), 174.4 (C=O), 166.1 (C=O), 154.1 (фуран), 151.7 (фуран), 130.8 (CH=), 128.4 (CH=), 127.7 (C-5), 127.5 (фуран), 115.6 (CH=), 115.3 (фуран), 44.1 (CH<sub>2</sub>), 33.6 (CH<sub>2</sub>), 28.8 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 26.1 (CH<sub>2</sub>), 26.0 (CH<sub>2</sub>), 24.4 (CH<sub>2</sub>). ИЧ (KBr): 1703 &amp; 1696 (C=O), 1577 &amp; 1559 (C=C), 1507 &amp; 1348 (N-O) см<sup>-1</sup>.</p>	<p>%, [M+H]<sup>+</sup>)</p>



Продовж. табл. Г.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	16	23	24	24	26
	4.12	>200	125	100	12.5	>200	13.3	>200	50	>200	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.13	n/a	n/a	50	25	>200	12.5	n/a	n/a	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.14	>200	25	>200	50	>200	25	n/a	n/a	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
5-Ен-4-тіазолідинони	4.15	-	-	>200	50	200	100	>200	100	>200	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.16	50	50	100	25	50	12.5	>200	25	>200	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.17	>200	>200	>200	50	>200	>200	n/a	n/a	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.18	50	200	25	25	>200	200	>200	>200	50	20	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.19	>200	50	>200	50	>200	12.5	>200	>200	>200	100	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.20	n/a	n/a	200	100	50	25	200	100	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.21	n/a	n/a	>200	25	>200	1.56	>200	100	>200	100	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.22	>200	>200	50	25	12.5	12.5	n/a	n/a	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Тіопірано[2,3- <i>d</i> ]тіазоли	4.23	>200	>200	100	50	>200	200	>200	>200	>200	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.24	n/a	n/a	>200	50	>200	25	>200	50	>200	100	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.25	>200	>200	>200	25	>200	>200	n/a	n/a	n/a	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.26	n/a	n/a	>200	50	>200	50	>200	200	>200	100	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.27	n/a	n/a	>200	200	>200	25	>200	>200	>200	100	>200	>200	>200	>200	100	100
Ізатин-оксадіазоли	4.28	100	50	25	25	50	50	100	100	25	25	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.29	>200	>200	100	100	100	100	3.13	3.13	3.13	3.13	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.30	50	50	25	25	50	25	50	50	50	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.31	n/a	n/a	>200	>200	n/a	n/a	>200	100	50	50	>200	>200	>200	>200	>200	>200
	4.32	n/a	n/a	>200	>200	n/a	n/a	100	50	25	25	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ципрофлоксацин (мг/л)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.004	0.004	0.25	0.25	-	-
Ванкоміцин (мг/л)		0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	>32	>32	4	4					-	-
Флуконазол (мг/л)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125	-
DMSO		>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200

Примітка. «-» — не досліджували; «n/a» — неактивна