

К. М. Ситнік<sup>1</sup>, Т. П. Осолодченко<sup>2</sup>, С. В. Колісник<sup>1</sup>, Є. І. Сюмка<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Національний фармацевтичний університет

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: sytnik.kostiantyn@gmail.com

<sup>2</sup> Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України

## Синтез та дослідження антимікробної активності N-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b] пірол-6-карбогідрозидів

**Мета роботи** – синтез 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбогідрозиду і ряду похідних N-ариліденів на його основі та дослідження антибактеріальної активності синтезованих сполук.

**Результати та їх обговорення.** Дією гідрозингідрату на вихідний естер **1** одержано 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбогідрозид **2**. При взаємодії останнього з арилкарбальдегідами (**3.1-3.8**) синтезовано ряд відповідних N-ариліденів. Будову одержаних сполук надійно підтверджено інструментальними методами. Дані мікробіологічного скринінгу показали високу біологічну дію синтезованих сполук відносно грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus* і грибів *Candida albicans*.

**Експериментальна частина.** Синтез вихідних та цільових сполук у класичних препаративних умовах, інструментальні методи встановлення будови органічних сполук, метод дифузії в агар у модифікації колодязів.

**Висновки.** Синтезовано 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбогідрозид і ряд похідних N-ариліденів на його основі. Доведено будову одержаних сполук. Досліджено антибактеріальну активність похідних 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (**1, 2**) та N-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбогідрозидів (**4.1-4.8**). Виявлені сполуки зі значним рівнем біологічної активності відносно грампозитивних бактерій: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та грибів *Candida albicans* і помірною антимікробною дією відносно грамнегативних бактерій *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

**Ключові слова:** тієно[3,4-b]пірол; гідрозиди кислот; антимікробна активність

**K. M. Sytnik, T. P. Osolodchenko, S. V. Kolisnyk, Ye. I. Syumka**

### Synthesis and the study of the antimicrobial activity of N-aryliden-2-oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carbohydrazides

**Aim.** To perform the synthesis of 2-oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carbohydrazide, its N-arylidene derivatives and study the antimicrobial activity of the compounds synthesized.

**Results and discussion.** 2-Oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carbohydrazide **2** was synthesized by the interaction of the starting ester **1** with hydrazine hydrate. The interaction of the former with arenecarbaldehydes (**3.1-3.8**) led to the corresponding N-arylidenes. The structure of the compounds obtained was proven by instrumental methods. The data of the antimicrobial activity screening confirmed the high activity of the compounds synthesized against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

**Experimental part.** The synthesis of the starting and target compounds was performed under common conditions. The instrumental methods of analysis of organic compounds, and well agar diffusion method were used.

**Conclusions.** 2-Oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carbohydrazide and series of its N-arylidene derivatives have been synthesized, and their structure has been unambiguously proven. The antimicrobial activity of 2-oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carboxylic acid derivatives (**1, 2**) and N-aryliden-2-oxo-3,3-diphenyl-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrrol-6-carbohydrazides (**4.1-4.8**) has been studied. Compounds possessing a high level of the antimicrobial activity against gram-positive bacteria – *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, as well as fungal species of *Candida albicans* have been found. The moderate activity of the compounds synthesized against gram-negative bacteria – *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* has been also proven.

**Key words:** thieno[3,4-b]pyrrol; carboxylic acids hydrazides; antimicrobial activity

**K. M. Сытнік, Т. П. Осолодченко, С. В. Колесник, Е. И. Сюмка**

### Синтез и исследование антимикробной активности N-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]піррол-6-карбогідрозидов

**Цель работы** – синтез 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]піррол-6-карбогідрозидів і ряду производных N-ариліденов на его основе и исследование антибактеріальной активности синтезированных соединений.

**Результаты и их обсуждение.** Действием гидразингидрата на исходный сложный эфир **1** получен 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]піррол-6-карбогідрозид **2**. При взаимодействии последнего с арилкарбальдегидами (**3.1-3.8**) синтезирован ряд соответствующих N-ариліденов. Структура полученных соединений достоверно доказана инструментальными методами. Данные микробиологического скрининга показали выраженное биологическое действие синтезированных соединений относительно грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и грибов *Candida albicans*.

**Экспериментальная часть.** Синтез исходных и целевых соединений в классических препаративных условиях, инструментальные методы установления структуры органических соединений, метод диффузии в агар в модификации колодцев.

**Выводы.** Синтезированы 2-оксо-3,3-дифенил-2,3-дигидро-1*H*-тиено[3,4-*b*]пиррол-6-карбогидразид и ряд производных *N*-ариллиденов на его основе. Доказана структура полученных соединений. Исследована антибактериальная активность производных 2-оксо-3,3-дифенил-2,3-дигидро-1*H*-тиено[3,4-*b*]пиррол-6-карбоновой кислоты (**1**, **2**) и *N*-ариллиден-2-оксо-3,3-дифенил-2,3-дигидро-1*H*-тиено[3,4-*b*]пиррол-6-карбогидразидов (**4.1-4.8**). Обнаружены соединения со значительным уровнем биологической активности относительно грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и грибов *Candida albicans* и умеренным антимикробным действием относительно грамотрицательных бактерий *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

**Ключевые слова:** тиено[3,4-*b*]пиррол; гидразиды кислот; антимикробная активность

Традиційно актуальним у пошуку біологічно активних речовин є синтез та хімічна модифікація нових гетероциклічних систем. Одним із напрямків модифікації є синтез гідразидів кислот гетероциклічної природи та гідразонів на їх основі. Незважаючи на легкість синтезу гідразонів, зацікавленість до цього класу сполук не втрачає актуальності [1]. Гідразони знайшли застосування як вихідні сполуки в синтезі конденсованих азогетероциклів, так і як самостійні цільові продукти з різноманітним спектром біологічної дії. Як повідомляється, гідразони виявляють серед інших антимікробну, протитуберкульозну та протигрибкову дію [2]. Останнім часом активно досліджуються ацилгідразони відносно антимікробної активності, які містять гетероциклічний фрагмент [3-5]. У зв'язку з виникненням нових штамів мікроорганізмів, резистентних до ліків, які в даний час використовуються, існує постійна потреба в синтезі нових органічних сполук – потенційних антимікробних агентів.

Досліджені нами раніше оригінальні сполуки, що містять фрагмент тієно[3,4-*b*]піролу, виявили високий рівень антигіпоксичної [6, 7], психостимулюючої [8], анальгетичної активності [9] і при цьому є малотоксичними [10].

Враховуючи наведені факти, для комплексного дослідження нових органічних сполук – похідних тієно[3,4-*b*]піролу і встановлення взаємозв'язку хімічна будова-біологічна дія цікавим було дослідити антимікробну активність *N*-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбогидразидів. Незважаючи на наявність багатьох підходів щодо виявлення біологічної активності сполук, зокрема розрахункові методи *in silico*, експерименти *in vitro* та *in vivo* є фактичними показниками і необхідною складовою на шляху створення нових лікарських засобів на всіх етапах клінічних та доклінічних досліджень.

Для вирішення цієї задачі було синтезовано ряд *N*'-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбогидразидів. Синтез здійснювали шляхом взаємодії гідразиду 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти із заміщеними бензальдегідами у середовищі 2-пропанолу. Вибір альдегідів зумовлений наявністю в структурі різних замісників з

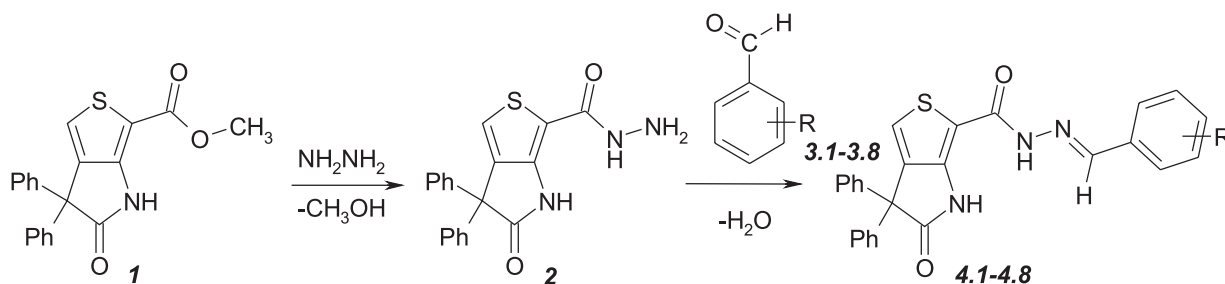
метою дослідження взаємозв'язку структура-дія. Особливу увагу звертали на метокси-заміщені альдегіди **3.2-3.5**, оскільки ванілін **3.2** і триметоксибензальдегід **3.4** є структурними фрагментами багатьох біологічно активних сполук, зокрема з антимікробною дією [11]. Також було доцільним порівняти активність вихідних сполук **1, 2** з цільовими *N*-ариліденами **4.1-4.8**.

Одержані сполуки – кристалічні речовини з чіткими температурами плавлення. Будову синтезованих сполук доводили методом <sup>1</sup>HЯМР-спектроскопії. Спектри характеризуються наявністю сигналів NH-протонів пірольного і гідразидного фрагментів близько 11,5 і 10,5 м. ч. відповідно, синглетний сигнал СН-азометинового угруповання близько 8,1 м. ч., синглетний сигнал протону у положенні 4 гетероциклічного фрагменту при 7,6 м. ч., мультиплетний сигнал 10 протонів двох фенольних радикалів у положенні 3 фрагменту тієно[3,4-*b*]піролу при 7,3 м. ч., сигнали протонів ариліденового залишку у ділянці ароматичних протонів спектра відповідної мультиплетності та інтенсивності, сигнали замісників у ариліденовому залишку.

Будову одержаних сполук було додатково підтверджено методом ІЧ-спектроскопії. ІЧ-спектри синтезованих сполук характеризуються наявністю смуг валентних коливань NH зв'язків близько 3200 см<sup>-1</sup>, валентних коливань СН ароматичних зв'язків при 3060 і 3030 см<sup>-1</sup> у спектрах сполук, що містять в ариліденовому фрагменті метоксигрупу і диметиламіногрупу 4,2-4,6, додатково з'являються смуги СН валентних коливань у межах 2930-2890 см<sup>-1</sup>, сильна смуга валентних коливань С=О груп близько 1715 см<sup>-1</sup> та інтенсивні смуги валентних коливань С=С ароматичних зв'язків у межах 1640-1490 см<sup>-1</sup> (схема).

### **Експериментальна хімічна частина**

Метилловий естер 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти **2** одержаний за літературною методикою [12]. Вихідні арилкарбальдегіди **3.1-3.8** були отримані з комерційних джерел і використовувались без додаткової очистки. Значення температур плавлення одержані на апараті Галленкампа, модель MFB-595 у відкритих капілярах. Спектри <sup>1</sup>H ЯМР були записані на спектрометрі Varian WXR (400 МГц) у



R=H (3.1, 4.1); R=3-OCH<sub>3</sub>, 4-OH (3.2, 4.2); R=4-OCH<sub>3</sub> (3.3, 4.3); R=3,4,5-(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (3.4, 4.4);  
R=2,5-(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 4-SCH<sub>3</sub> (3.5, 4.5); R=4-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (3.6, 4.6); R=4-Cl (3.7, 4.7); R=4-NO<sub>2</sub> (3.8, 4.8)

Схема

DMCO-D<sub>6</sub>, з використанням ТМС як внутрішнього стандарту. ІЧ-спектри записані на спектрометрі Bruker Tensor 27 FT – IR у межах 400-4000 см<sup>-1</sup> у таблетках KBr, концентрація речовин – 1 %. Хроматомас-спектри зареєстровані на вискоєфективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, обладнаному діодно-матричним і мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL, система розчинників MeCN–H<sub>2</sub>O–HCOOH, градієнтне елюювання, хімічна іонізація при атмосферному тиску (ХІАТ), одночасне сканування позитивних і негативних іонів у діапазоні 80-1000 m/z.

Гідразид **2** одержували із раніше синтезованого естеру **1** обробкою останнього гідразингідратом за стандартною методикою [13].

**Гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (2)**. Вихід – 77 %. Т. пл. – 227 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,04 (1H, с, NH); 9,05 (1H, с, NHNH<sub>2</sub>); 4,42 (2H, с, NHNH<sub>2</sub>); 7,38 (1H, с, 4-H); 7,25 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3257 (ν N-H); 3093, 3058 (ν C-H); 1722 (ν C=O); 1619, 1528, 1492 (ν C=C).

Загальна методика синтезу N-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбогідразидів (4.1-4.8).

0,5 г (0,00143 Моль) Гідразиду 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти розчиняли у 100 мл 2-пропанолу при нагріванні. До одержаного розчину додавали 0,001575 Моль відповідного арилкарбальдегіду. Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником впродовж 1 години і залишали на ніч. Осад, що утворювався, відфільтровували, сушили та перекристалізували з 2-пропанолу.

**N-бензиліденгідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.1)**. Вихід – 76 %. Т. пл. – 218 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,66 (1H, с, NH); 10,56 (1H, с, NH); 8,37 (1H, с, CH=); 7,60 (1H, с, 4-H); 7,30 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,83 (2H, д, J = 7,5 2',6'-H); 7,58 (3H, м, J = 7,5 3', 4',5'-H). ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3179 (ν N-H); 3059 (ν C-H); 1715 (ν C=O); 1648, 1602, 1491 (ν C=C).

**N-(3'-метокси-4'-гідроксибензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно**

**[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.2)**. Вихід – 74 %. Т. пл. – 160 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,60 (1H, с, NH); 10,47 (1H, с, NH); 8,41 (1H, с, CH=); 7,58 (1H, с, 4-H); 7,29 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,37-7,34 (2H, м, 2',6'-H); 6,88 (1H, с, 5'-H); 9,55 (1H, с, OH); 3,83 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3269, 3179 (ν N-H); 3060, 2937 (ν C-H); 1719 (ν C=O); 1636, 1603, 1491 (ν C=C).

**N-(4'-метокси-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.3)**. Вихід – 51 %. Т. пл. – 197 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,69 (1H, с, NH); 10,45 (1H, с, NH); 7,96 (1H, с, CH=); 7,58 (1H, с, 4-H); 7,30 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,66 (2H, д, J = 7,5 2',6'-H); 7,11 (2H, д, J = 7,5 3',5'-H); 3,81 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3182 (ν N-H); 3059, 2933, 2835 (ν C-H); 1715 (ν C=O); 1645, 1604, 1491 (ν C=C).

**N-(3',4',5'-триметокси-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.4)**. Вихід – 64 %. Т. пл. – 255 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,71 (1H, с, NH); 10,45 (1H, с, NH); 7,92 (1H, с, CH=); 7,60 (1H, с, 4-H); 7,29 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,07 (2H, с, 2',6'-H); 3,86 (6H, с, 2OCH<sub>3</sub>); 3,74 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3190 (ν N-H); 3059, 2936, 2835 (ν C-H); 1714 (ν C=O); 1647, 1603, 1491 (ν C=C); Мас-спектр (ХІАТ), m/z: 528[M(<sup>32</sup>S)+H]<sup>+</sup>, 530[M(<sup>34</sup>S)+H]<sup>+</sup>.

**N-(2',5'-диметокси-4'-метилсульфаніл-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.5)**. Вихід – 72 %. Т. пл. > 300 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,62 (1H, с, NH); 10,43 (1H, с, NH); 8,31 (1H, с, CH=); 7,58 (2H, м, 4,6'-H); 7,29 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6,74 (1H, с, 3'-H); 3,90 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 3,87 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 2,46 (3H, с, SCH<sub>3</sub>); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3146 (ν N-H); 3078, 2912 (ν C-H); 1734 (ν C=O); 1643, 1602, 1493 (ν C=C); Мас-спектр (ХІАТ), m/z: 544[M(<sup>32</sup>S)+H]<sup>+</sup>, 546[M(<sup>34</sup>S)+H]<sup>+</sup>.

**N-(4'-N,N-диметиламіно-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.6)**. Вихід – 93 %. Т. пл. – 287 °С; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,50 (1H, с, NH); 10,44 (1H, с, NH); 8,37 (1H, с, CH=); 7,58 (1H, с, 4-H); 7,29 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>);



7,50 (2H, д,  $J = 7,5$  2',6'-H); 6,82 (2H, д,  $J = 7,5$  3',5'-H); 3,02 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3281 (ν N-H); 3060, 2890 (ν C-H); 1719 (ν C=O); 1647, 1602, 1479 (ν C=C).

**N-(4'-хлор-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.7).** Вихід – 51 %. Т. пл. – 243 °C; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 11,74 (1H, с, NH); 10,50 (1H, с, NH); 8,04 (1H, с, CH=); 7,60 (1H, с, 4,-H); 7,29 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,78 (2H, д,  $J = 8,1$  2',6'-H); 7,42 (2H, д,  $J = 8,1$  3',5'-H); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3185 (ν N-H); 3060 (ν C-H); 1709 (ν C=O); 1646, 1602, 1480 (ν C=C); Мас-спектр (ХІАТ), m/z: 472[M(<sup>35</sup>Cl)+H]<sup>+</sup>, 474[M(<sup>37</sup>Cl)+H]<sup>+</sup>.

**N-(4'-нітро-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1H-тієно[3,4-b]пірол-6-карбонової кислоти (4.8).** Вихід – 65 %. Т. пл. > 300 °C; Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (хімічний зсув, м. ч.): 12,00 (1H, с, NH); 10,60 (1H, с, NH); 8,17 (1H, с, CH=); 7,64 (1H, с, 4,-H); 7,44-7,06 (10H, м, 2C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 8,27 (2H, д,  $J = 8,5$  Hz, 3',5'-H); 8,02 (2H, д,  $J = 8,5$  Hz, 2',6'-H); ІЧ-спектр, см<sup>-1</sup>: 3180 (ν N-H); 3078, 3030 (ν C-H); 1715 (ν C=O); 1645, 1603, 1491 (ν C=C); 1521, 1363 (ν NO<sub>2</sub>); Мас-спектр (ХІАТ), m/z: 483[M(<sup>32</sup>S)+H]<sup>+</sup>, 485[M(<sup>34</sup>S)+H]<sup>+</sup>, 327, 281.

#### Експериментальна мікробіологічна частина

Мікробіологічний експеримент проводився на базі Державної установи «Інституту мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України». Згідно з рекомендаціями ВООЗ [14] та МОЗ України [15, 16] як тест-мікроорганізми використовували

ли еталонні штами із типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Антимікробну активність синтезованих речовин вивчали в умовах *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації колодязів [15].

Приготування суспензії мікроорганізмів проводили на приборі Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі – 540 нм) згідно з інструкцією № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій» [16, 17]. Синхронізацію культур проводили при температурі 4 °C. Мікробне навантаження складало 10<sup>7</sup> мікробних клітин на 1 мл середовища та встановлювалась за стандартом McFarland [18]. Для дослідів брали 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона, а для *Candida albicans* – агар Сабуро-декстрозний «Himedia Laboratores Pvt. Ltd. India».

Дослідження проводили на двох шарах щільного поживного середовища. У лунки у чашках Петрі поміщали досліджувані речовини з урахуванням їх об'єму (0,25-0,3 мл). Чашки підсушували впродовж 30-40 хвилин при кімнатній температурі та витримували в термостаті впродовж 18-24 годин при температурі 37 °C.

Рівень антимікробної активності речовин реєстрували за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з внесеним препаратом у порівнянні з контролем.

#### Таблиця

Антимікробна активність сполук **1, 2, 4.1-4.8**

Сполука	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм					
	грампозитивні бактерії		грамнегативні бактерії			гриби
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<b>1</b>	23	23	18	19	21	19
<b>2</b>	27	27	21	24	25	22
<b>4.1</b>	19	20	16	17	17	18
<b>4.2</b>	19	20	16	17	17	17
<b>4.3</b>	20	21	16	18	17	18
<b>4.4</b>	20	21	17	18	18	19
<b>4.5</b>	25	24	18	19	20	21
<b>4.6</b>	24	24	18	19	20	20
<b>4.7</b>	23	24	17	18	19	20
<b>4.8</b>	20	22	17	19	19	19
<b>Synthomycine</b>	14	17	17	17	17	0
<b>Metronidazole</b>	14	0	14	0	16	14
<b>Control</b>	0	0	0	0	0	0

Примітка: представлені дані є середніми значеннями результатів трьох кратних визначень антимікробної активності препаратів відносно кожної культури мікроорганізму.

## Результати та їх обговорення

Результати дослідження антибактеріальних властивостей похідних 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти, а саме її метилового естеру **1**, гідразиду **2** та *N*'-ариліденів **4.1-4.8**, синтезованих на його основі проти різних типів мікроорганізмів (грампозитивних та грамнегативних) і грибів *Candida albicans*, представлені у таблиці.

Похідні 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти (**1**, **2**) та цільові *N*'-арилідени (**4.1-4.8**) проявили широкий спектр антимікробної активності. Усі досліджувані мікроорганізми виявили чутливість до синтезованих сполук **1**, **2**, **4.1-4.8**. Так, зони затримки росту *Proteus vulgaris* у даному експерименті були на рівні референс-препарату Synthomycine. Зони затримки росту *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* у середньому виявилися на 2 мм більшими, ніж у препарату порівняння. Стосовно грампозитивних бактерій та грибів *Candida albicans* сполуки **1**, **2**, **4.1-4.8** проявили найвищу активність. Зони затримки росту *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* були у середньому на 8 мм і 7 мм відповідно більшими, ніж для Synthomycine. Як препарат порівняння для *Candida albicans* було обрано Metronidazole. Зони затримки росту грибів мали у середньому на 7 мм більшу площу у порівнянні з референс-препаратом. Таким чином, досліджувані сполуки проявили у цілому більшу активність, ніж препарати порівняння Synthomycine і Metronidazole. Введення метоксигруп до структури цільових *N*'-ариліденів виправдало наші очікування і привело до збільшення мікробіологічної актив-

ності. Так, *N*-(2',5'-диметокси-4'-метилсульфаніл-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти **4.5** виявився найактивнішим у ряді *N*-ариліденів і більш активним за вихідний естер **1**. Найбільшу активність серед досліджених сполук за даними мікробіологічного скринінгу виявив гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти **2**.

## Висновки

Синтезовано 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбогідрозид і ряд похідних *N*-ариліденів на його основі. Доведено будову одержаних сполук. Досліджено антибактеріальну активність похідних 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти (**1**, **2**) та *N*-ариліден-2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбогідрозидів (**4.1-4.8**). Виявлені сполуки зі значним рівнем біологічної активності відносно грампозитивних бактерій: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та грибів *Candida albicans* і помірною антимікробною дією відносно грамнегативних бактерій *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. За даними мікробіологічного скринінгу найбільш активними виявились сполуки: гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти **2** та *N*-(2',5'-диметокси-4'-метилсульфаніл-бензиліден) гідразид 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти **4.5**, що свідчить про доцільність подальших мікробіологічних досліджень серед похідних цього ряду.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Перелік використаних джерел інформації

1. Pat. (US) 2018/0072675 A1 Antimicrobial pyridinohydrazone and hydrazomethylpyridine-based agents / D. M. Neumann, B. S. Jursic. PCT/US16/24175
2. Microwave assisted synthesis and antimicrobial activity of 2-quinoxalinone-3-hydrazone derivatives / O. O. Ajani, C. A. Obafemi, O. C. Nwinyi, D. A. Akinpelu // Bioorg. & Med. Chem. – 2010. – Vol. 18. – P. 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.10.064>
3. 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities / U. Salgin-Goksen, N. Gokhan-Kelekci, O. Goktas et al. // Bioorg. & Med. Chem. – 2007. – Vol. 15. – P. 5738–5751. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.06.006>
4. Sridhar, S. K. Synthesis and antibacterial screening of hydrazones, Schiff and Mannich bases of isatin derivatives / S. K. Sridhar, M. Saravanan, A. Ramesh // Eur. J. Med. Chem. – 2001. – Vol. 36. – P. 615–625. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(01\)01255-7](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(01)01255-7)
5. Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety / Yu. Ozkay, Ya Tunali, H. Karaca, I. Isikdag // Eur. J. of Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 3293–3298. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.04.012>
6. The study of the antihypoxic activity of new derivatives of benzoic acid / I. V. Kireyev, S. V. Kolisnyk, N. M. Tryschuk, K. M. Sytnik // Вісник фармації. – 2016. – № 2 (86). – С. 51–53. <https://doi.org/10.24959/nphj.16.2089>
7. Пат. України на корисну модель № 117518 МПК 2017.01 [2-(1*H*-імідазол-4-іл)-етил]амід 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти, який проявляє антигіпоксичну дію / Колісник С. В., Трищук Н. М., Ситнік К. М., Кіреєв І. В. // Бюл. № 12.
8. Evaluation of psycho-stimulant activity in a number of derivatives of benzyl acid in "open field" test / N. M. Tryshchuk, I. V. Kireyev, S. V. Kolisnyk, K. M. Sytnik // Sci. and Education Studies. – 2016. – № 1 (17), January-June. – P. 746–753.
9. The effect of benzoic acid derivatives on the pain threshold using the "hot plate" test / N. M. Tryschuk, I. V. Kireyev, S. V. Kolisnyk, K. M. Sytnik // Вісник фармації. – 2017. – № 2 (90). – С. 63–66. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2167>
10. Determination of toxicity of new benzoic acid derivatives / N. M. Tryschuk, I. V. Kireyev, S. V. Kolisnyk, K. M. Sytnik // Вісник фармації. – 2016. – № 4 (88). – С. 59–61. <https://doi.org/10.24959/nphj.16.2122>
11. Gomathi, G. A hydrazone Schiff base single crystal (E)-Methyl *N*'-(3,4,5-trimethoxybenzylidene) hydrazine carboxylate: Physicochemical, in vitro investigation of antimicrobial activities and molecular docking with DNA gyrase protein / G. Gomathi, R. Gopalakrishnan // Materials Sci. and Engineering. – 2016 – С. 64. – P. 133–138.
12. Использование ацидохромной циклоконденсации в синтезе производных 2-оксо-3,3-дифеніл-2,3-дигідро-1*H*-тієно[3,4-*b*]пірол-6-карбонової кислоти / К. М. Сьтнік, Л. А. Шемчук, М. Е. Кончаковская, В. П. Черных // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2007. – Т. 5, вип. 1 (17). – С. 21–26.

13. Вейганд-Хильгетаг. Методы эксперимента в органической химии. – М.: Химия, 1968. – 944 с.
14. Coyle, M. B. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology / M. B. Coyle. – Washington: American Society for Microbiology, 2005. – 236 p.
15. Well diffusion for antifungal susceptibility testing / S. Magaldi, S. Mata-Essayag, C. De Capriles et al. // Int. J. Infect. Dis. – 2004. – № 8. – P. 39–45. doi: 10.1016/j.ijid.2003.03.002.
16. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформаційний лист МОЗ України № 05.4.1/1670. – К., 2000. – 4 с.
17. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. МОЗ України / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов; ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.
18. McFarland, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines / Joseph McFarland // J. Am. Med. Assoc. – 1907. – № 49. – P. 1176–1178. doi: 10.1001/jama.1907.25320140022001f.

## References

1. Neumann, D. M., Jursic, B. S. (2018). *Pat (US) 2018/0072675 A1 PCT/US16/24175. Antimicrobial pyridinohydrazide and hydrazomethylpyridine-based agents*. U.S. Patent and Trademark Office.
2. Ajani, O. O., Obafemi, C. A., Nwinyi, O. C., & Akinpelu, D. A. (2010). Microwave assisted synthesis and antimicrobial activity of 2-quinoxalinone-3-hydrazone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(1), 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.10.064>
3. Salgin-Gökşen, U., Gökhan-Kelekçi, N., Göktaş, Ö., Köysal, Y., Kılıç, E., Işık, Ş., ... Özal, M. (2007). 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(17), 5738–5751. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.06.006>
4. Sridhar, S. K., Saravanan, M., & Ramesh, A. (2001). Synthesis and antibacterial screening of hydrazones, Schiff and Mannich bases of isatin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 36(7-8), 615–625. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(01\)01255-7](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(01)01255-7)
5. Özkay, Y., Tunali, Y., Karaca, H., & Işıkdağ, İ. (2010). Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(8), 3293–3298. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.04.012>
6. Kireev, I. V., Kolisnyk, S. V., Tryshchuk, N. M., & Sytnik, K. M. (2016). The study of the antihypoxic activity of new derivatives of benzilic acid. *Visnik farmacii*, 2(86), 51–53. <https://doi.org/10.24959/nphj.16.2089>
7. Kolisnik, S. V., Trischuk, N. M., Sytnik, K. M., Kireev, I. V. (2017). *Patent Ukraini na korisnu model № 117518. [2-(1H-Imidazol-4-il)-ethyl]amid 2-oxo-3,3-diphenil-2,3-dihydro-1H-thieno[3,4-b]pyrol-6-karbonovoyi kisloti, yakiy proyavlyaye antigipoksichnu diyu.*
8. Tryshchuk, N. M., Kireyev, I. V., Kolisnyk, S. V., Sytnik, K. M. (2016) Evaluation of psycho-stimulant activity in a number of derivatives of benzyl acid in «open field» test. *Science and Education Studies*, 1 (17), 746–753.
9. Tryshchuk, N. M., Kireyev, I. V., Kolisnyk, S. V., & Sytnik, K. M. (2017). The effect of benzilic acid derivatives on the pain threshold using the “hot plate” test. *Visnik farmacii*, 2(90), 63–66. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2167>
10. Tryshchuk, N. M., Kireyev, I. V., Kolisnyk, S. V., & Sytnik, K. M. (2016). Determination of toxicity of new benzilic acid derivatives. *Visnik farmacii*, 4(88), 59–61. <https://doi.org/10.24959/nphj.16.2122>
11. Gomathi, G., Gopalakrishnan, R. (2016) A hydrazone Schiff base single crystal (E)-Methyl N'-(3,4,5-trimethoxybenzylidene) hydrazine carboxylate: Physicochemical, in vitro investigation of antimicrobial activities and molecular docking with DNA gyrase protein. *Materials Science and Engineering, C* 64, 133–138.
12. Sytnik, K. M., Shemchuk, L. A., Konchakovskaia, M. E., Chernykh, V. P. (2007). *Žurnal organičnoi ta farmacevtičnoi himiï*, 5, (1 (17)), 21–26.
13. Veygand-Hilgetag. (1968). *Metody eksperimeta v organicheskoj himii*. Moscow, Himiya, 944.
14. Coyle, M.B. (2005) *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology. Washington, 236.
15. Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles, C., Perez, C., Colella, M., Olaizola, C., & Ontiveros, Y. (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002>
16. Bakteriologichnyi kontrol pozhyvnykh seredovishch. (2000). *Informatsiyni lyst MOZ Ukrainy № 05. 4. 1 / 1670*, Kyiv, 4.
17. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., Shyrobokov, V. P. (2004). *Vyvchennia spetsyfychnoi aktyvnosti protymikrobnnykh likarskykh zasobiv*. Kyiv, 38.
18. McFarland, J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Jama: The Journal of the American Medical Association*, 1907(14), 1176–1178. <https://doi.org/10.1001/jama.1907.25320140022001f>

Надійшла до редакції 24.06.2018 р.