



You have downloaded a document from
RE-BUS
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Projektowanie i synteza nowych analogów tiosemikarbazonów jako potencjalnych farmaceutyków

Author: Marta Rejmund

Citation style: Rejmund, Marta. (2018). Projektowanie i synteza nowych analogów tiosemikarbazonów jako potencjalnych farmaceutyków. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersytet ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Uniwersytet Śląski
Wydział Matematyki Fizyki i Chemii
Instytut Chemii
Zakład Chemii Organicznej

Praca doktorska

mgr Marta Rejmund

**Projektowanie i synteza nowych analogów
tiosemikarbazonów jako potencjalnych
farmaceutyków**

Praca doktorska wykonana
w Zakładzie Chemii Organicznej
Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
pod kierunkiem
prof. dr hab. inż. Jarosława Polańskiego

Katowice 2018

Praca finansowana w ramach Projektu „Fundament Optymalnego Rozwoju: Staże z Technologii – FORSZT”, który współfinansowany był ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego CZŁOWIEK - NAJLEPSZA INWESTYCJA.



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



*Składam serdeczne podziękowania
Prof. dr hab. inż. Jarosławowi Polańskiemu
za pomoc w realizacji niniejszej pracy,
cenne rady i wskazanie ciekawego tematu,
a przede wszystkim za opiekę promotorską i cierpliwość.*

*Dziękuję wszystkim,
którzy przyczynili się do powstania niniejszej pracy.*

Pracę dedykuję Grzegorzowi.

Spis treści

1. CEL i ZAKRES PRACY	12
2. CZĘŚĆ LITERATUROWA.....	14
2.1. Wstęp.....	14
2.2. Rola żelaza w organizmie ludzkim	15
2.2.1. Homeostaza żelaza	15
2.2.2. Hemoglobina i transport tlenu.....	16
2.2.3. Enzymy zależne od żelaza.....	17
2.3. Budowa tiosemikarbazonów	18
2.4. Mechanizmy aktywności przeciwnowotworowej tiosemikarbazonów	21
2.4.1. Hamowanie reduktazy rybonukleotydowej.....	22
2.4.2. Stres oksydacyjny.....	23
2.4.3. Chelatacja żelaza	25
2.4.4. Inhibicja topoizomerazy II	26
2.4.5. Inne mechanizmy związane z apoptozą	27
2.5. Triapina	29
2.6. Projektowanie farmaceutyków	30
2.6.1. Reguła Lipinskiego	30
2.6.2. Zasady Vebera.....	31
2.6.3. Koncepcja struktur uprzywilejowanych.....	31
2.7. Zastosowanie motywu piperazyny w znanych farmaceutykach	35
2.7.1. Właściwości antyhistaminowe	37
2.7.2. Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze.....	38
2.7.3. Właściwości przeciwnowotworowe	39
2.7.4. Inne znane leki zawierające piperazynę	40
2.7.5. Piperazyny w środkach psychoaktywnych.....	41
3. BADANIA WŁASNE	43
3.1. Projektowanie nowych TSCs	43
3.2. Trzy podstawowe metody syntezy tiosemikarbazonów	43
3.3. Zastosowana metoda syntezy	44
3.4. Projektowanie tiosemikarbazonów zawierających piperazynę opartych na szkielecie Triapiny	52
3.4.1. Chelatujące właściwości zaprojektowanych analogów Triapiny	54
3.4.1.1. Stałe protonacji otrzymanych ligandów	54
3.4.1.2. Zdolność do chelatowania Cu (II) i Fe (III)	59
3.4.2. Porównanie aktywności przeciwnowotworowej i selektywności wybranych tiosemikarbazonów opartych na 3-aminopirydynokarbaldyde do Triapiny	61
3.4.2.1. Analiza cyklu komórkowego	64
3.5. Aktywność przeciwnowotworowa wybranych tiosemikarbazonów	66
3.6. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza wybranych tiosemikarbazonów.....	70
3.6.1. Aktywność przeciwbakteryjna	71
3.6.2. Aktywność przeciwgrzybicza	73
3.7. Analiza relacji struktura - aktywność (SAR)	74
4. PODSUMOWANIE	75

5. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	78
5.1. Pomiar instrumentalne.....	78
5.2. Stosowane odczynniki.....	79
5.3. Synteza tiosemikarbazydów	80
5.3.1. Otrzymywanie kwasu {[(hydrazynylo)karbotionylo]amino } octowego.....	81
5.3.2. Otrzymywanie (4-morfolino)tiokarbohydrazynu	81
5.3.3. Otrzymywanie (4-tiomorfolino)tiokarbohydrazynu.....	82
5.3.4. Otrzymywanie (4-cyjanopiperydino)-1-tiokarbohydrazynu.	82
5.3.5. Otrzymywanie (4-fenilo-1-piperydino)-1-tiokarbohydrazynu	83
5.3.6. Otrzymywanie tert-butylo-4-(hydrazynylokarbotionylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	83
5.3.7. Otrzymywanie (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbohydrazynu	84
5.3.8. Otrzymywanie (4-fenilo-1-piperazyno)tiokarbohydrazynu	85
5.3.9. Otrzymywanie [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbohydrazynu	85
5.3.10. Otrzymywanie [4-(2-pirymidynylo)-1-piperazyno]tiokarbohydrazynu.....	86
5.3.11. Otrzymywanie [4-(2-pirazynylo)-1-piperazyno]tiokarbohydrazynu	87
5.3.12. Otrzymywanie 4-(4-fluorofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	87
5.3.13. Otrzymywanie 4-(4-bromofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	88
5.3.14. Otrzymywanie 4-(4-chlorofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	88
5.3.15. Otrzymywanie 4-(4-cyjanofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	89
5.3.16. Otrzymywanie 4-(4-metoksyfenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	90
5.3.17. Otrzymywanie 4-(4-nitrofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	90
5.3.18. Otrzymywanie 4-(3,4-dichlorofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	91
5.3.19. Otrzymywanie 4-[4-(trifluorometylo)fenilo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	92
5.3.20. Otrzymywanie 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu..	92
5.3.21. Otrzymywanie 4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenilo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	93
5.3.22. Otrzymywanie 4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	94
5.3.23. Otrzymywanie 4-(difenylometrylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	94
5.4. Synteza tiosemikarbazonów	95
5.4.1. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	96
5.4.2. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	97
5.4.3. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenilopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	98
5.4.4. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenilo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	99
5.4.5. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu	100
5.4.6. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	101
5.4.7. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirydynylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	102
5.4.8. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(difenylometrylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	103
5.4.9. Otrzymywanie N^p -([2-(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo }karbotionylo)piperazyno-1-karboksylanu tert-butylo	104

5.4.10. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	105
5.4.11. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	106
5.4.12. Otrzymywanie kwasu [(N^p -{2-[(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo}karbonotionylo)amino] octowego	107
5.4.13. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenylopiperydyno-1-tiokarbohydrazynu.....	108
5.4.14. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	109
5.4.15. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	110
5.4.16. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-cyjanopiperidyno-1-tiokarbohydrazynu.....	111
5.4.17. Otrzymywanie N^p -[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirazynylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	112
5.4.18. Otrzymywanie N^p -[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	113
5.4.19. Otrzymywanie N^p -[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	114
5.4.20. Otrzymywanie N^p -[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	115
5.4.21. Otrzymywanie N^p -[(2-chinolinylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	116
5.4.22. Otrzymywanie N^p -[(2-chinolinylo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu. .	117
5.4.23. Otrzymywanie N^p -[(2-chinolinylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	118
5.4.24. Otrzymywanie N^p -[(2-chinolinylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	119
5.4.25. Otrzymywanie N^p -[(8-hydroksy-2-chinolinylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	120
5.4.26. Otrzymywanie N^p -[(8-hydroksy-2-chinolinylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	121
5.4.27. Otrzymywanie N^p -[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	122
5.4.28. Otrzymywanie N^p -[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	123
5.4.29. Otrzymywanie N^p -[di(2-pirydylo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu ..	124
5.4.30. Otrzymywanie N^p -[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	125
5.4.31. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	126
5.4.32. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	127
5.4.33. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	128
5.4.34. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiiperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	129
5.4.35. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	130

5.4.36. Otrzymywanie N^p -4-([2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo)piperazyno-1-karboksylanu tert-butylu	131
5.4.37. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cyjanopiperidyno-1-tiokarbohydrazynu	132
5.4.38. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	133
5.4.39. Otrzymywanie N^p -[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperidyno-1-tiokarbohydrazynu	134
5.4.40. Otrzymywanie kwasu N^p -([2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo) octowego	135
5.4.41. Otrzymywanie N^p -2-[(3,4,5-trihydroksy-6-hydroksymetyleno)tetrahydropiran-2-yloksy]benzylideno)morfolino-1-tiokarbohydrazynu	136
5.4.42. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	137
5.4.43. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	138
5.4.44. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu	139
5.4.45. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	140
5.4.46. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	141
5.4.47. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu	142
5.4.48. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu	143
5.4.49. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	144
5.4.50. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	145
5.4.51. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-bromofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	146
5.4.52. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	147
5.4.53. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	148
5.4.54. Otrzymywanie N^p -[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu	149
5.4.55. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	150
5.4.56. Otrzymywanie N^p -[(2,4-dihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	151
5.4.57. Otrzymywanie N^p -[(2,4,6-trihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	152
5.4.58. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	153
5.4.59. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	154

5.4.60. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu.....	155
5.4.61. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	156
5.4.62. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	157
5.4.63. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	158
5.4.64. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	159
5.4.65. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu.....	160
5.4.66. Otrzymywanie N^p -[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	161
5.4.67. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	162
5.4.68. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu	163
5.4.69. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	164
5.4.70. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	165
5.4.71. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	166
5.4.72. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-cykloheksylo-piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	167
5.4.73. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	168
5.4.74. Otrzymywanie N^p -[(2-nitrofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu	169
5.4.75. Otrzymywanie N^p -[(4-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	170
5.4.76. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	171
5.4.77. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	172
5.4.78. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	173
5.4.79. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	174
5.4.80. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu	175
5.4.81. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-cykloheksylo-piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	176
5.4.82. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	177
5.4.83. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	178
5.4.84. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	179
5.4.85. Otrzymywanie N^p -[(2-fluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu	180

5.4.86. Otrzymywanie N^3 -[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	181
5.4.87. Otrzymywanie N^1 -[(2,5-difluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu ..	182
5.4.88. Otrzymywanie N^3 -[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	183
5.4.89. Otrzymywanie N^1 -[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	184
5.4.90. Otrzymywanie N^1 -[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	185
5.4.91. Otrzymywanie N^3 -[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	186
5.4.92. Otrzymywanie N^1 -[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu	187
5.4.93. Otrzymywanie N^1 -[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	188
5.4.94. Otrzymywanie N^1 -[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	189
5.4.95. Otrzymywanie N^1 -(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	190
5.4.96. Otrzymywanie kwasu ({[2-(2-chlorotioksant-9-yleno)hydrazynylo]tiokarbonylo} amino) octowego	191
5.4.97. Otrzymywanie N^1 -(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-morfolino-1-tiokarbohydrazynu	192
5.4.98. Otrzymywanie N^1 -(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	193
5.4.99. Otrzymywanie N^1 -(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	194
5.4.100. Otrzymywanie N^1 -(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	195
5.4.101. Otrzymywanie N^1 -(3-pentylideno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	196
5.4.102. Otrzymywanie N^1 -(1,3-dihydroksypropan-2-yleno)-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu.....	197
6. LITERATURA	198
7. CURRICULUM VITAE.....	211

Stosowane skróty i akronimy

- amf B – (ang. *Amphotericin B*) – Amfoterycyna B
- AMP – (ang. *Aminopropylmorpholine*) – *N*-(3-aminopropyl)morfolina
- BZP – (ang. *Benzylpiperazine*) – benzylopiperazyna
- CAT – (ang. *Catalase*) – gen kodujący katalazę
- CD95 – (ang. *Cluster of Differentiation 95*) – receptor śmierci
- CLSI – (ang. *Clinical and Laboratory Standards Institute*) – Instytut Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych
- COSY – (ang. *Correlation Spectroscopy*) – spektroskopia korelacyjna
- CPX – (ang. *Ciclopiroxolamin*) – cyklopiroks
- DFO – (ang. *Deferoxamine*) – deferoksamina
- DMSO – (ang. *Dimethyl Sulfoxide*) – dimetylosulfotlenek
- EGFR – kinaza tyrozynowa EGFR
- EMCDDA (ang. *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*) – Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii
- EPR – (ang. *Electron Paramagnetic Resonance*) – spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego
- FTC – (ang. *Flucytosine*) – Flucytozyna
- GPX – (ang. *Glutathione Peroxidase*) – peroksydaza glutationowa
- H1 – receptor histaminowy H1
- HAMP – (ang. *Hepcidin Antimicrobial Peptide*) – gen kodujący hormon peptydowy – hepcydynę
- HBA – (ang. *Hydrogen Bond Acceptor*) – liczbę akceptorów wiązania wodorowego
- HBD – (ang. *Hydrogen Bond Donor*) – liczbę donorów wiązania wodorowego
- HMQC – (ang. *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*) – heterojądrowa korelacja z detekcją przejść wielokwantowych
- 5-HT1A – receptor serotoninowy 1A
- IC₅₀ – (ang. *The half maximal Inhibitory Concentration*) – połowa maksymalnego stężenia hamującego
- INH – (ang. *Isoniazid*) – Isoniazyd
- mCPP – (ang. *m-chlorophenylpiperazine*) – 1-(3-chlorofenylo)piperazyna
- MIC – (ang. *Minimum Inhibitory Concentration*) – minimalne stężenie hamujące
- ^{99m}Tc – metastabilny izomer izotopu ⁹⁹Tc

MW – (ang. *Molecular Weight*) – masa cząsteczkowa

NCCLS – (ang. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*) – Krajowy Komitet Norm Klinicznych

NMR – (ang. *Nuclear Magnetic Resonance*) – spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego

PMS – (ang. *phenazine methosulfate*) – metosiarczan fenazyny

PS – (ang. *Privileged Structures/Substructures*) – uprzywilejowane struktury/podstruktury

QSAR – (ang. *Quantitative Structure-Activity Relationship*) – metoda projektowania molekularnego, służąca znalezieniu nowych leków

ROS – (ang. *Reactive Oxygen Species*) – reaktywne formy tlenu

RR – (ang. *Ribonucleotide Reductase*) – reduktaza rybonukleotydomowa

SOD – (ang. *Superoxide Dismutase*) – dysmutaza ponadtlenkowa

Tf – (ang. *Transferrin*) – transferyna

TFMPP – (ang. *3-trifluoromethylphenylpiperazine*) – 1-[3-(trifluorometylo)fenylo]piperazyna

TfR1 – (ang. *Transferrin receptor 1*) – receptor transferyny 1

TLC – (ang. *Thin Layer Chromatography*) – chromatografia cienkowarstwowa

tPSA – (ang. *Topological Polar Surface Area*) – wielkość powierzchni polarnej cząsteczki

TSC – (ang. *Thiosemicarbazone*) – tiosemikarbazon

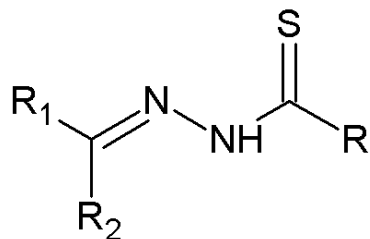
1. CEL i ZAKRES PRACY

Celem pracy było projektowanie i synteza nowych tiosemikarbazonów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych, przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych. Analiza aktywności poszczególnych zsyntezowanych związków pozwoliła określić relację między budową, a aktywnością otrzymanych związków.

W szczególności przeanalizowałam struktury oparte na 3-aminopirydino-2-karbaldehydzie, który jest podstawowym blokiem budulcowym wykorzystywanym w syntezie Triapiny. Ponieważ jednak w literaturze panuje przekonanie, że aktywność TSCs związana jest z ich lipofilowością zaprojektowałam nowe pochodne, charakteryzujące się obecnością rozbudowanych podstawników aromatycznych. Związki takie syntezowałam w poszukiwaniu cech charakterystycznych dla wysokiej aktywności przeciwnowotworowej.

Współczesne metody projektowania leków wciąż nie są wystarczająco efektywne. Jedną z przyczyn jest relatywnie niewielka dostępność danych dotyczących szerokiego spektrum właściwości biologicznych potencjalnych leków. Aktywność biologiczna tiosemikarbazonów jest szeroka. Związki obejmujące funkcję TSCs badane były w kontekście wielu potencjalnych aplikacji farmakologicznych. W tym kontekście otrzymane związki poddano także badaniu szerokiego spektrum aktywności biologicznej.

Otrzymano związki oparte na aldehydzie 5-bromosalicylowym, aldehydzie salicylowym, 2-chinolinokarbaldehydzie, 2-chlorotioksantonie, 2,5-difluorobenzaldehydzie, 2,6-difluorobenzaldehydzie, dihydroksyacetonie, 2,4-dihydroksybenzaldehydzie, 2-fluorobenzaldehydzie, glikozydzie aldehydu salicylowego, 4-hydroksybenzaldehydzie, 8-hydroksychinolino-2-karbaldehydzie, 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydzie, ketonie dipirydylowym, 2-nitrobenzaldehydzie, 4-nitrobenzaldehydzie, 3-pentanonie, 2-pirydynokarbaldehydzie, 2,4,6-trihydroksybenzaldehydzie.



R = Glicyna

Morfolina

Tio morfolina

1-fenylo piperazyna

4-fenylo piperidyna

4-cyjanopiperidyna

1-(2-pirydylo) piperazyna

4-cykloheksylo piperazyna

1-(2-pirazynylo) piperazyna

1-[2-pirydylo] piperazyna

1-(4-nitrofenylo) piperazyna

1-(4-fluorofenylo) piperazyna

1-(4-chlorofenylo) piperazyna

1-(4-bromofenylo) piperazyna

1-(4-cyjanofenylo) piperazyna

1-(difenylo metylo) piperazyna

1-(4-metoksyfenylo) piperazyna

1-(3,4-dichlorofenylo) piperazyna

1-piperazynokarboksylan tert-butylu

1-(4-trifluorometylofenylo) piperazyna

1-(5-trifluorometylo-2-pirydynylo) piperazyna

1-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo] piperazyna

1-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo] piperazyna

R₁ = 2-nitrobenzyliden

4-nitrobenzyliden

2-fluorobenzyliden

2-pirydylo metyliden

2-chinolino metyliden

2-hydroksybenzyliden

4-hydroksybenzyliden

2,5-difluorobenzyliden

2,6-difluorobenzyliden

2,4-dihydroksybenzyliden

2,4,6-trihydroksybenzyliden

2-(3-aminopirydylo) metyliden

8-hydroksychinolino metyliden

5-bromo-2-hydroksybenzyliden

4-hydroksy-3-metoksybenzyliden

2-[(3,4,5-trihydroksy-6-hydroksy metylo) tetrahydropiran-2-yloksy] benzyliden

R₂ = H

R₁, R₂ = 2-chlorotioksantyliden

1,3-dihydroksypropan-2-yliden

di(2-pirydylo) metyliden

3-pentyliden

2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

2.1. Wstęp

Tiosemikarbazony (TSCs) od dłuższego czasu badane są pod kątem ich właściwości biologicznych. Pierwsze doniesienia pochodzą z początków XX wieku, a raporty dotyczące ich zastosowań medycznych zaczęły pojawiać się już w latach 40-tych [1]. W 1946 roku Domagk wraz ze współpracownikami opisał właściwości przeciwbakteryjne TSC przeciwko *Mycobacterium tuberculosis* (prątka gruźlicy) [2]. Tiosemikarbazonem szeroko stosowanym w leczeniu gruźlicy w Afryce i Ameryce Południowej jest tiosemikarbazon p-acetamidobenzaldehydowy, dostępny komercyjnie jako tioacetazon [3].

Pierwsze informacje o aktywności przeciwnowotworowej TSCs dotyczyły tiosemikarbazonu 2-formylopirydynowego i jego aktywności wobec białaczki, a pochodziły z 1956 r. od Brockmana i współpracowników [4]. Natomiast w latach 60-tych odkryto właściwości przeciwwirusowe tej klasy związków i po wielu badaniach doprowadzono do komercjalizacji metisazonu (Marboran®) w leczeniu ospy [5]. W 1965 roku French i współpracownicy sformułowali hipotezy dotyczące działania α -(N)-heterocyklicznych tiosemikarbazonów – stwierdzili oni, że aktywne cząsteczki są skutecznymi chelatorami metali. Mają one charakter tridentny, a lepszą aktywność można uzyskać wprowadzając do struktur związków pierścienie aromatyczne [6]. Od czasu opisanego przez Domagka właściwości TSCs, badano inne biologiczne właściwości tych związków. Działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze tiosemikarbazonów łączono ze zdolnością chelatowania metali, które mikroorganizmy potrzebują do prawidłowego funkcjonowania i metabolizmu [7].

Obecnie obszary, w których badane są tiosemikarbazony to wielokierunkowe działanie przeciwnowotworowe [8], przeciwbakteryjne [9], przeciwutleniające [10], przeciwpierwotniakowe [11], przeciwdrgawkowe [12], przeciwzapalne [13] i przeciwwirusowe (również przeciwko HIV) [14] – we wszystkich tych przypadkach ich działanie związane jest z interakcją z jonami metali. Aktywność przeciwnowotworowa TSCs jest bardzo zróżnicowana i zależy od typologii komórek nowotworowych. Ta cecha jest interesująca, ponieważ wpływa na selektywność. Niemniej jednak, obecność jonu metalu w chelacie niemal zawsze zwiększa aktywność biologiczną lub przyczynia się do łagodzenia skutków ubocznych ich działania [6].

Niestety większość tiosemikarbazonów i ich kompleksów jest silnie hydrofobowa, a ich niska rozpuszczalność w wodzie powoduje zasadnicze ograniczenia w potencjalnych aplikacjach w farmacji, czy nawet badaniach biologicznych [15].

2.2. Rola żelaza w organizmie ludzkim

2.2.1. Homeostaza żelaza

Ludzki organizm do prawidłowego funkcjonowania potrzebuje odpowiedniej ilości makro- i mikroelementów. Jednym z niezbędnych mikroelementów jest żelazo (stanowi ok. 0.008% masy ludzkiego ciała), które podobnie jak inne śladowe składniki mineralne musi być dostarczone do organizmu wraz z pożywieniem (norma – 18 mg/dobę). Żelazo to występuje w dwóch formach: hemowej – w produktach pochodzenia zwierzęcego np. czerwonym mięsie czy wątrobie oraz niehemowej – w produktach pochodzenia roślinnego np. roślinach strączkowych, orzechach oraz w żółtkach jaj [16]. Żelazo jest potrzebne w przebiegu wielu bardzo złożonych procesów, które zachodzą w organizmie na poziomie molekularnym i są niezbędne dla życia ludzkiego np. produkcji krwinek czerwonych (proces zwany krwiopatią), ale jest także częścią hemoglobiny (pigment krwinek czerwonych) związanej z transportem tlenu z płuc, przez tętnice, do wszystkich komórek ciała [17]. Jest ono również kluczowym składnikiem wielu enzymów, natomiast część żelaza magazynowana jest w wątrobie, śledzionie, nerkach, surowicy krwi oraz w szpiku kostnym w postaci ferrytyny [16].

Stężenie żelaza w tkankach ciała musi być regulowane precyzyjnie, ponieważ nadmierna ilość żelaza prowadzi do uszkodzania komórek w wyniku powstawania wolnych rodników. Zaburzenia metabolizmu żelaza należą do najczęstszych problemów zdrowotnych ludzi i obejmują szerokie spektrum chorób o różnym przebiegu klinicznym, począwszy od anemii, przez przeciążenie żelazem, aż do chorób neurodegeneracyjnych. Molekularne znaczenie regulacji żelaza w organizmie jest decydujące w identyfikacji przyczyn leżących u podstaw każdej choroby oraz w zapewnieniu właściwej diagnostyki i leczenia [18].

Gdy organizm nie otrzymuje odpowiedniej ilości żelaza, nie wytwarza odpowiedniej ilości hemoglobiny koniecznej dla zaspokojenia zapotrzebowania organizmu na tlen, co skutkuje wystąpieniem stanu niedokrwistości (anemii). Najczęstszymi objawami są: zmęczenie, słabość, bladość dłoni i powiek. Leczenie polega na uzupełnianiu niedoboru odpowiednimi suplementami diety [16]. Niedobór żelaza może znacząco wpływać na metabolizm komórkowy, zmieniając ekspresję i/lub funkcje białek, które są kluczowe do regulacji metabolizmu i oddychania komórkowego [19]. Zdarza się również sytuacja

odwrotna – nadmiar żelaza w organizmie, czyli hemochromatoza, która może doprowadzić do marskości wątroby, cukrzycy, niewydolności serca, bólów brzucha i zapalenia stawów. Leczenie polega na usuwaniu nadmiaru żelaza (a dokładnie krwi) z organizmu [16]. Hemochromatoza jest również jedną z chorób związanych z nowotworami wywołanymi nadmiarem żelaza w organizmie. Trwałe uszkodzenia hepatocytów zmniejszają wytwarzanie genu HAMP (gen kodujący hormon peptydowy - hepcydynę), co sprzyja wchłanianiu żelaza i osadzaniu się go w wątrobie. U pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby również występuje zwiększona ilość Fe w wątrobie, co może skutkować nowotworami komórek wątroby [20].

Regulacja ilości żelaza odbywa się za pośrednictwem ferrytyny – białka, które uwalnia żelazo, gdy jest go niewiele we krwi oraz przechwytuje, gdy jest go nadmiar [16].

2.2.2. Hemoglobina i transport tlenu

Podstawową funkcją hemoglobiny jest transport tlenu. Ponieważ tlen nie jest dobrze rozpuszczalny w wodzie, która jest głównym składnikiem krwi, niezbędne jest użycie białka transportującego tlen, aby umożliwić jego „rozpuszczalność”. Żelazo jest centralnym atomem grupy hemowej – kompleksu metalicznego, który wiąże tlen cząsteczkowy w płucach i przenosi go do wszystkich innych komórek w organizmie, które potrzebują go do prawidłowego funkcjonowania np. komórek mięśniowych.

Gdy oddychamy, tlen z płuc przechodzi przez cienkościenne naczynia krwionośne i dostaje się do krwinek czerwonych, gdzie wiąże się z hemoglobina, przekształcając ją w oksyhemoglobinę. Krew następnie przechodzi przez ciało, aż dotrze do komórek i tkanek, które wymagają tlenu do utrzymania ich procesów życiowych. Komórki te są bogate w dwutlenek węgla, który jest produktem ubocznym tych procesów. CO_2 zastępuje słabo związany tlen i tworzy karbaminohemoglobinę, która przemieszcza się do krwioobiegu, a następnie z powrotem do płuc, skąd dwutlenek węgla jest usuwany i ponownie zastępowany przez tlen. O_2 i CO_2 wiążą się odwracalnie z hemoglobina, natomiast niektóre inne cząsteczki np. CO czy HCN są wystarczająco małe, aby zmieścić się w szczelinach białka, tworząc mocne wiązania z żelazem, co jest procesem nieodwracalnym, a jednocześnie zaburzającym oddychanie i mogącym skutkować śmiercią organizmu.

Hemoglobina składa się z czterech jednostek mioglobiny połączonych ze sobą (łańcuchów polipeptydowych), z których każda zawiera jedną grupę hemu i jeden łańcuch białkowy. Żelazo jest miejscem wiązania tlenu, a każde może wiązać tylko jedną cząsteczkę O_2 , zatem każda cząsteczka hemoglobiny jest zdolna do wiązania się w sumie z czterema

cząsteczkami tlenu, a jej struktura pozwala na pełne obsadzenie tlenem w płucach i stopniowe rozprowadzanie go do tkanek [17].

Hem składa się z płaskiego, organicznego pierścienia otaczającego atom żelaza. Organiczną częścią jest pierścień porfirykowy (pierścień tetrapiolowy) i jest podstawą wielu innych istotnych cząstek biologicznych tj. chlorofil czy cytochrom [21]. Pierścień zawiera dużą liczbę sprzężonych wiązań podwójnych, co pozwala cząsteczce absorbować światło w widzialnej części widma. Atom żelaza i dołączony łańcuch białkowy wpływają na długość fali absorpcji i nadają hemoglobinie charakterystyczny kolor. Oksygenowana hemoglobina (płynąca w tętnicach) jest jasnoczerwona, natomiast bez obecności tlenu (płynąca w żyłach) ma barwę ciemnoczerwoną [22]. Atom żelaza w hemie wiąże się z czterema atomami azotu w środku pierścienia porfirykowego, ale pozostawia dwa wolne miejsca wiązania, po jednym po obu stronach płaszczyzny hemu. Grupa hemu zlokalizowana jest w szczeliny cząsteczki mioglobiny i otoczona jest przez reszty niepolarne, z wyjątkiem dwóch polarnych histydyn [23]. Jedno z wolnych miejsc wiązania żelaza łączy się z jedną z tych histydyn, pozostawiając puste końcowe miejsce wiązania po drugiej stronie pierścienia dostępne do wiązania tlenu. Druga histydyna służy do kilku celów – zmienia kształt szczelin tak, aby małe cząsteczki mogły wejść w reakcję z atomem żelaza, a także przyczynia się do odwrócenia reakcji, aby tlen mógł zostać uwolniony, gdy jest to wymagane [17].

Nie tylko hemoglobina, lecz również inne białka zawierają grupy hemowe np. mioglobina, która pobiera tlen z hemoglobiny i dostarcza go do komórek mięśniowych, czy cytochromy, które biorą udział w transporcie elektronów wzdłuż łańcucha oddechowego (oddychanie komórkowe w mitochondriach). Również białka biorące udział w syntezie DNA i podziale komórkowym potrzebują żelaza do ich prawidłowego funkcjonowania. Ponadto Fe wykorzystywane jest do wytwarzania tkanek łącznych w ludzkim organizmie, niektórych neuroprzekazników w mózgu oraz jest niezbędne do prawidłowego utrzymania układu odpornościowego [16].

2.2.3. Enzymy zależne od żelaza

Ok. 70 % żelaza w organizmie związane jest z hemoglobiną w erytrocytach. Reszta związana jest z innymi białkami np. transferyną we krwi i ferrytyną w szpiku kostnym lub jest przechowywana w innych tkankach ciała. Transferyna to beta-globulina regulująca stężenie jonów żelaza w osoczu krwi i transportująca je do tkanek. Jedna cząsteczka transportuje dwa skompleksowane jony Fe^{3+} . Natomiast ferrytyna to białko, które uwalnia żelazo, gdy jest go niewiele we krwi oraz przechwytuje, gdy krew i tkanki mają zbyt wysokie

jego stężenie [17]. Ferrytyna ma kształt wydrążonej kulki i w swojej sferze przechowuje w mineralu krystalicznym jony w stanie utlenienia Fe^{3+} , natomiast gdy organizm potrzebuje żelaza, jest ono redukowane do stanu utlenienia Fe^{2+} , solwatowane i uwalniane do krwi [16]. Ferrytyna żyje kilka dni – ciągła degradacja i ponowna synteza daje nowe, łatwo dostępne w jej strukturze miejsca wychwytyjące żelazo [24].

Kiedy czerwone krwinki obumierają, ich żelazo jest uwalniane i przenoszone przez transferynę do szpiku kostnego i innych narządów tj. wątroba czy śledziona. W szpiku kostnym żelazo jest przechowywane i wykorzystywane do wytwarzania nowych krwinek czerwonych.

Żelazo jest również zaangażowane w konwersję cukru we krwi do energii. Metaboliczna energia ma kluczowe znaczenie dla sportowców, ponieważ pozwala mięśniom na optymalne działanie podczas ćwiczeń lub współzawodnictwa. Produkcja niektórych enzymów odgrywających istotną rolę przy produkcji nowych komórek, aminokwasów, hormonów czy neuroprzekaźników również zależy od żelaza.

Istnieją także zależne od obecności żelaza białka magazynujące tlen – np. mioglobina, która ma budowę podobną do hemoglobiny, ale zawiera jedną jednostkę hemu i jeden łańcuch globinowy. Enzymy zawierające żelazo – cytochromy, również mają jedną grupę hemową i jeden łańcuch globiny. Działają one jako nośniki elektronów w komórce, a ich struktury nie pozwalają na odwracalne łączenie się i transport tlenu. Ich rolą w metabolizmie utleniającym jest przenoszenie energii wewnątrz komórki, a konkretnie w mitochondriach. Inne kluczowe funkcje enzymów zawierających żelazo (np. cytochrom P450) obejmują syntezę hormonów steroidowych i kwasów żółciowych, detoksykację obcych substancji w wątrobie oraz kontrolę sygnałów niektórych neuroprzekaźników np. układ dopaminy i serotoniny w mózgu [17].

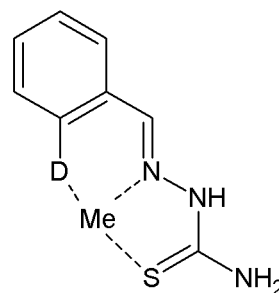
2.3. Budowa tiosemikarbazonów

Pochodne semikarbazonów i tiosemikarbazonów często opisywane są w literaturze jako ligandy. W tym kontekście ich wysoka aktywność łączy się z obecnością w ich strukturach atomów azotu i tlenu lub siarki [25]. Zwłaszcza tiosemikarbazony uznawane są za ważną grupę ligandów donorowych atomów siarki dla jonów metali przejściowych ze względu na ich mieszany twardo - miękki donorowy charakter i wszechstronne właściwości koordynacyjne. Kompleksy metali przejściowych z tiosemikarbazonami wzbudzają szczególne zainteresowanie ze względu na ich właściwości farmakologiczne, które często są znacznie wyższe niż wolnych ligandów. Obserwacja ta zachęca do szczegółowych badań chemii koordynacyjnej TSCs [26].

Chemia tiosemikarbazonów budzi zainteresowanie ze względu na ich różnorodne sposoby wiązania, obiecujące właściwości biologiczne, różnorodność strukturalną i zdolność do wykrywania jonów [27]. Aktywność tych związków jest silnie zależna od rodzaju pierścienia heteroatomowego i miejsca przyłączenia podstawników do pierścienia, a także postaci ugrupowania tiosemikarbazonu [28]. Zainteresowanie budzi w szczególności elastyczność i selektywność, które zależą od centralnego atomu metalu oraz strukturalnego podobieństwa do naturalnych substancji biologicznych. W tym kontekście istotną rolę odgrywa obecność grupy iminowej (-N=CH-), która często warunkuje aktywność biologiczną połączeń [29].

Chelatacja metali przez tiosemikarbazony odbywa się zwykle poprzez dysocjację kwaśnego protonu, powodując powstanie pięcioczłonowego pierścienia chelatowego. Badania nad tiosemikarbazonami *in vitro*, jak i *in vivo*, zaczęły się rozwijać wraz z odkryciem istotnych właściwości antybakteryjnych, przeciwwirusowych, przeciwmalarycznych, przeciwtrądowych, a przede wszystkim przeciwnowotworowych tych ligandów i niektórych ich kompleksów metali [25].

Gdy w strukturze tiosemikarbazonu obecne jest dodatkowe miejsce donorowe D (tj. -PR₂, -NH₂, -OH lub -SH [30]), połączone z karbonylowym atomem węgla za pomocą jednego lub dwóch atomów, zwykle następuje koordynacja tridentna przez układ *DNS* (**Rys. 1**).

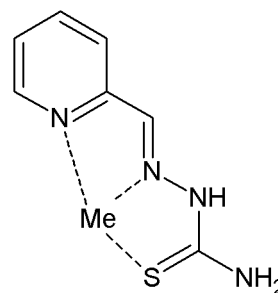


Rys. 1. Przykładowa struktura kompleksu *DNS*.

Takie systemy donorowe są w stanie tworzyć nowe właściwości stereochemiczne, elektrochemiczne i elektroniczne otrzymanych kompleksów [31]. Oprócz chelatacji przez tridentny układ *DNS*, tiosemikarbazony mogą także tworzyć mostek dla drugiego jonu metalu poprzez atom siarki [32]. Np. tiosemikarbazon aldehydu salicylowego, pomimo obecności tlenu fenolowego jako potencjalnego trzeciego donora, koordynuje się jako ligand dwukleszczowy *NS* – tworzący raczej nietypowy czterokleszczowy pierścień chelatu [33]. Ten rodzaj wiązania wykazują również inne tiosemikarbazony. Tworzenie takiego pierścienia chelatowego, pozostawia niewykorzystane, potencjalne miejsca donorowe, które z powodzeniem mogą zostać wykorzystane w syntezie interesujących kompleksów wielopierścieniowych [13,34]. Podczas gdy *N*-heterocykliczne tiosemikarbazony zwykle koordynują poprzez *NNS* donorowy układ (**Rys. 2**.) [35], niektóre tiosemikarbazony będące

heterocyklicznymi lub arylokarbonyłowymi pochodnymi koordynują z metalami Cu (I), Cu (II), Ru (II) i Pd (II) poprzez azometinowy atom azotu lub atom siarki [36,37].

Zaobserwowano, że w kompleksie dodatni ładunek metalu jest częściowo dzielony z donorowymi atomami obecnymi w ligandach,



Rys. 2. Przykładowa struktura kompleksu *NNS*.

co może powodować delokalizację π -elektronową na cały chelat. Zwiększa to lipofilowy charakter chelatu metalu i sprzyja jego przenikaniu przez warstwę lipidową błon komórkowych. Istnieją również inne czynniki, które zwiększają aktywność m.in. rozpuszczalność czy przewodność oraz długość wiązania pomiędzy metalem, a ligandem [38].

Z prowadzonych badań wynika, że najkorzystniejsze właściwości wykazują związki o najwyższej lipofilowości, a także te z tridentnymi miejscami wiążącymi *NNS* lub *NNO*. Ponieważ TSCs wykazujące wysoką aktywność, są także dobrymi chelatorami żelaza sądzi się powszechnie, że ich aktywność związana jest z ich zdolnością do wiązania wewnątrzkomórkowego żelaza [39]. Większa lipofilowość ułatwia dyfuzję poprzez bogatą w lipidy ścianę komórkową, zwiększając tym samym skuteczność tiosemikarbazonów. Modyfikacja struktury TSC np. przez wprowadzenie grupy fenolowej redukuje drastycznie lipofilowość związku, podobnie zastąpienie grupy hydroksylowej grupą aminową zmniejsza również aktywność [40]. W rzeczywistości niewiele wiadomo na temat mechanizmów transportu błonowego chelatorów żelaza w komórkach ssaków. Wykazano, że lipofilowość liganda odgrywa kluczową rolę w ich poborze i aktywności. Ligandy hydrofilowe, takie jak deferoksamina, wykazują powolną absorpcję w stosunku do chelatorów lipofilowych. Stwierdzono bezpośrednią korelację między zwiększoną lipofilowością, a większą skutecznością chelatacji żelaza i aktywnością antyproliferacyjną [41].

Tiosemikarbazony by mogły być dobrymi lekami cytotoksycznymi muszą spełniać dwa wymogi. Po pierwsze muszą być w stanie przekraczać dwuwarstwę lipidową. Nie wiadomo dotąd jak kompleksy wchłaniają się do komórek, czy przez prostą dyfuzję, przez membrany, czy istnieje inny aktywny system transportowy. Zdecydowana większość TSCs jest cząsteczkami o polarnej główce (część tiosemikarbazydowa) i aromatycznej części hydrofobowej. Jeśli jest to dyfuzja prosta, koordynacja orientuje ligandy lipofilowymi i aromatycznymi częściami na zewnątrz układu, w kierunku błon nadając mu cechy niezbędne do przejścia przez nie, ponadto po skompleksowaniu kwasowość liganda wzrasta wraz ze

stabilizacją ładunku ujemnego przez jon metalu. Po drugie w komórce TSCs muszą wykazywać cechy niezbędne do oddziaływania z niektórymi enzymami, szczególnie tymi istotnymi, które muszą zostać zniszczone. Jon metalu i ligand mogą działać osobno, przy czym pierwszy poprzez zmiany metalowej homeostazy wewnątrz komórki, a drugi poprzez interakcje z enzymami.

Tiosemikarbazony wykazują wysoką selektywność, przy czym niektóre linie komórkowe nowotworów są bardzo wrażliwe, a inne zupełnie niewrażliwe na ten sam związek, co może to być dowodem przeciwko hipotezie o dyfuzji prostej [42].

Ferrari i współpracownicy w celu sprawdzenia roli podstawników w ligandzie zsyntezowali kompleksy miedzi (II) z *N*-podstawionymi pirydoksalowymi tiosemikarbazonami, mianowicie *N1,N1*-dimetylopirydoksalowym tiosemikarbazonem (K1), *N1,N2*-dimetylopirydoksalowym tiosemikarbazonem (K2) i *N1*-etylopirydoksalowym tiosemikarbazonem (K3). Aktywność biologiczną badano *in vitro* na liniach komórkowych ludzkiej białaczki monoblastycznej U937, białaczki limfoblastycznej CEM i przewlekłej białaczki szpikowej K562. Kompleks K1 wykazał słabą inhibicję proliferacji wobec wszystkich trzech linii komórkowych, nie indukował apoptozy i nie hamował aktywności telomerazy. Kompleks K2 nie był skuteczny w niskim stężeniu, natomiast w wysokich dawkach był toksyczny, a K3 hamował wzrost komórek linii CEM silniej niż K1, ale nie wykazywał żadnego innego efektu biologicznego. Te wyniki wykazały, że tiosemikarbazony działają w bardzo selektywny sposób w stosunku do różnych badanych linii komórkowych [43].

2.4. Mechanizmy aktywności przeciwnowotworowej tiosemikarbazonów

Nowotwory są bardzo złożonymi chorobami, które obejmują narządy i tkanki ludzkiego ciała. Ewolucja raka obejmuje liczne zjawiska molekularne i jest wyjątkowa w przypadku każdego, indywidualnego pacjenta. Każdy nowotwór ma niepowtarzalne cechy, etiologię, biologię guza, sposoby progresji i przewidywaną odpowiedź na leczenie. Jednak wszystkie nowotwory mają podobne mechanizmy, które kontrolują wzrost, rozwój, przerzuty i ich przeżycie [44].

Obecnie nie jest znany jeden powszechny mechanizm działania tiosemikarbazonów. Cytotoksyczne mechanizmy działania tych chelatorów obejmują:

- zahamowanie działania reduktazy rybonukleotydowej – enzymu zawierającego żelazo, uczestniczącego w etapie ograniczającym szybkość syntezy DNA;
- tworzenie kompleksów żelaza o działaniu redoks-aktywnym, które wytwarzają reaktywne formy tlenu (ROS);
- ograniczenie ilości żelaza poprzez chelatację;
- zahamowanie działania topoizomerazy II [45].

2.4.1. Hamowanie reduktazy rybonukleotydowej

Inhibitory reduktazy rybonukleotydowej (RR) badane są od ponad 30 lat zarówno w laboratorium jak i klinicznie. Pierwszym z nich był hydroksymocznik badany w przypadku nowotworów głowy i szyi oraz nowotworu szyjki macicy. Z biegiem lat wiele grup badało stosowanie inhibitorów RR jako chemioterapeutyków samodzielnie lub jako dodatek do powszechnie znanych cząsteczek uszkadzających DNA, zwłaszcza w nowotworach hematologicznych [46].

Reduktaza rybonukleotydoma składa się z dwóch podjednostek białkowych. Podjednostka R1 jest homodimerem ulegającym ekspresji w cytoplazmie i zawiera miejsca wiążące rybonukleotydy oraz allosteryczne miejsca efektorowe. Podjednostka R2 jest heterodimerem składającym się z RNR2 i RNR4, która po aktywacji migruje z jądra do cytoplazmy. R2 zawiera kompleks niehemowego żelaza z wolnym rodnikiem tyrozylowym i ma zasadnicze znaczenie dla jej aktywności katalitycznej [47].

Aktywność reduktazy rybonukleotydomowej jest niezbędna do syntezy DNA przez komórki i przemieszczania się przez fazę S cyklu komórkowego, natomiast przedłużone narażenie na chelatory żelaza skutkuje zatrzymaniem G1 / S [48]. Niedawno odkryto alternatywną formę podjednostki R2, która służy do dostarczania deoksyrybonukleotydów do naprawy DNA w odpowiedzi na jego uszkodzenia. Choć ta alternatywna forma jest wyrażona na poziomie podstawowym w różnych typach komórek, jej ekspresja jest znacznie zwiększona przez białko p53 i nazywa się p53R2 [49]. Stwierdzono, że p53R2 zawiera centralny rodnik tyrozynowy stabilizowany przez żelazo. P53 jest krytycznym regulatorem cyklu komórkowego, który normalnie działa, aby stymulować naprawę DNA, powodować zatrzymanie cyklu komórkowego w G1 / S lub wywoływać apoptozę [50].

Sartorelli i współpracownicy zauważyli, że tiosemikarbazony hamowały inkorporację 3H tymidyny do DNA i po raz pierwszy zaproponowali inhibicję RR jako prawdopodobny

mechanizm ich aktywności przeciwnowotworowej [51]. Jednak badania prowadzone przez Thelander'a i współpracowników udowodniły, że po wyeksponowaniu RR na działanie tiosemikarbazonów degradacji ulegał wolny rodnik tyrozylowy enzymu. Taki jednak mechanizm wymaga obecności tlenu i wyklucza rolę TSCs jako specyficznego chelatora żelaza [52].

Hipoteza hamowania RR przez TSC pokazuje jedną ze ścieżek potencjalnego mechanizmu działania. Celów działania TSC jest jednak zdecydowanie więcej. Na przykład TSC działają jak silne środki chelatujące jony metali i mogą pozbawiać komórki istotnych jonów [42].

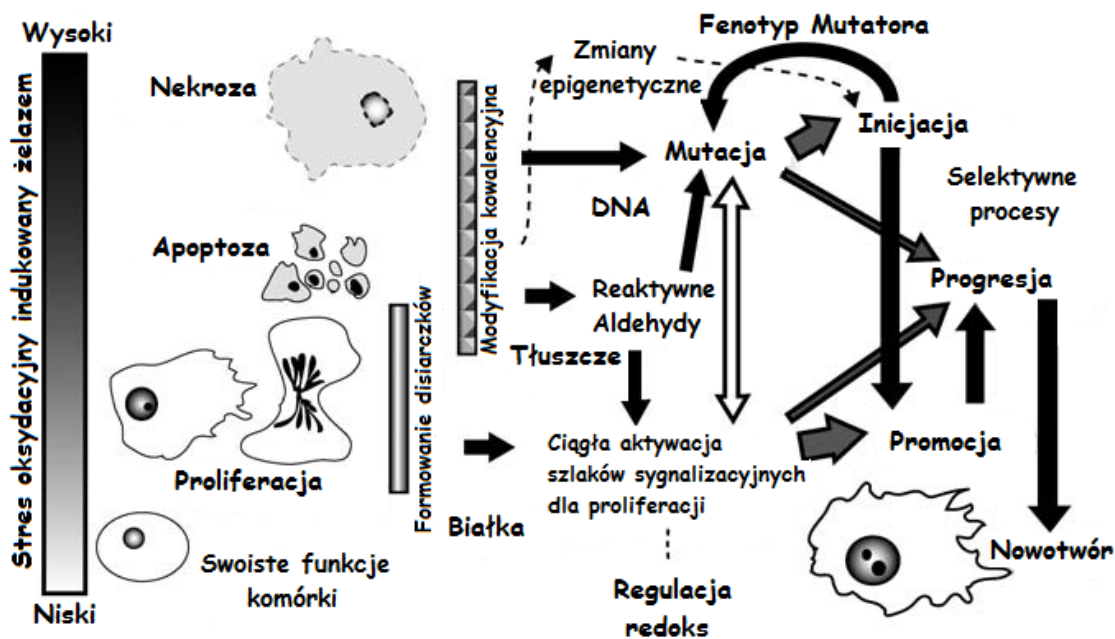
2.4.2. Stres oksydacyjny

W wyniku metabolizmu tlenowego w organizmie stale wytwarzane są niewielkie ilości reaktywnych form tlenu (ROS), w tym rodniki hydroksylowe, aniony nadadtlenkowe, tlen singlowy czy nadtlenek wodoru [53]. Przeciwutleniacze komórkowe detoksykują te cząsteczki, jednak gdy równowaga ta jest zakłócona, powstaje zjawisko stresu oksydacyjnego. Długo utrzymujący się taki stan prowadzi do uszkodzeń krytycznych biocząstek, począwszy od zmian sygnału i ekspresji genów do mitogenezy, transformacji i mutagenezy, aż do śmierci komórek [54]. Działanie wielu enzymatycznych i nieenzymatycznych przeciwutleniaczy ma za zadanie zapobiegać zaburzeniom związanym z potencjalnymi redoks uszkodzeniami DNA. Podstawowe mechanizmy polegają na usuwaniu ROS bezpośrednio przez dysmutazę nadadtlenkową (SOD), peroksydazę glutationowa (GPX), katalazę (CAT) i reduktazę tioredoksyny. Wtórne procesy obronne wywoływane są przez wolne rodniki. Wiele związków należy do wtórnego systemu, są to m.in. kwas askorbinowy (witamina C), tokoferol (witamina E), glutation (GSH), β -karoten, witamina A, NADPH i moczan [55].

Ważnym problemem jest poznanie potencjalnych genów docelowych procesu nowotworzenia wywołanego reakcją Fentona, odkrytą w 1894 roku. Henry John Horstman Fenton odkrył, że siarczan żelaza i nadadtlenek wodoru utleniają kwas winowy, powodując powstanie fioletowego zabarwienie po dodaniu ługu. Odkrył w ten sposób reakcję, nazwaną później reakcją Fentona. W reakcji tej wytwarzane są rodniki hydroksylowe – najbardziej reaktywne cząsteczki chemiczne w systemach biologicznych [56].



Znaczenie stresu oksydacyjnego przedstawiono na **Rysunku 3** [57].



Rys. 3. Schemat znaczenia stresu oksydacyjnego [57].

Pierwsze hipotezy sugerowały, że nie ma genów docelowych i szlaków sygnałowych mutacji wywołanych stresem oksydacyjnym, a genom uszkodzony jest w sposób przypadkowy, jednakże współczesne badania zaprzeczają tej teorii i udowadniają istnienie „delikatnych miejsc” w genomie, które są najbardziej podatne na stres oksydacyjny [58].

Warto zauważyć, że mutacja i trwała aktywacja nowych szlaków sygnału proliferacji są kooperatywne [59]. Wybrane mutacje onkogenów generują nowe szlaki sygnału dla ciągłej proliferacji komórek. W konsekwencji zwiększona proliferacja zwiększa szybkość mutacji. Inną hipotezą jest „fenotyp mutatora”, ich geny są najsilniejsze i pierwsze do namnażania [60]. Chociaż nie ma żadnych przekonujących danych dotyczących wpływu stresu oksydacyjnego i zmian epigenetycznych, uważa się, że takie interakcje powinny istnieć, biorąc pod uwagę ściśle powiązania stresu oksydacyjnego i rakotwórczości z częstym udziałem epigenetycznych mechanizmów zamykających geny supresorowe guza podczas procesu nowotworzenia [61].

Działanie kompleksów metali jako generatorów ROS znane jest od dawna. Większość tiosemikarbazonowych kompleksów zawiera jony metali biorące udział w reakcjach redoks, które potencjalnie mogą aktywować cząsteczki tlenu i generować rodniki hydroksylowe [62]. W tiosemikarbazonach, takich jak Triapina lub tiosemikabazony di(2-pirydylo)ketonu, zaobserwowano nie tylko indukcję komórkowego pozbawiania Fe, ale także ich aktywność redoks w komórkach [63]. Zaproponowano, że tworzą się redoks-aktywne kompleksy Fe (II),

które wytwarzają cytotoksyczne wolne rodniki. Zredukowana postać tych kompleksów żelaza może reagować z tlenem obecnym w komórce. Powstałe kompleksy żelazowe mogą następnie oddziaływać z komórkowymi czynnikami redukującymi. Powoduje to katalityczne wytwarzanie reaktywnych form tlenu, takich jak rodniki hydroksylowe. W ten sposób odbywa się cykl redoks pomiędzy stanami utleniania dwuwartościowego i trójwartościowego żelaza [64].

Ishii i współpracownicy wykazali, że ROS mają dodatkową rolę w progresji nowotworów. Wykazali, że utlenialne uszkodzenia jądrowego DNA mogą prowadzić do mutagenyzy i zaobserwowali przemianę fibroblastów w transformowane komórki zdolne do generowania nowotworów [65].

2.4.3. Chelatacja żelaza

Samo żelazo może ułatwić rozwój nowotworu, służąc jako składnik odżywczy. Fe jest niezbędne do wzrostu i proliferacji komórek, jest składnikiem białek, które katalizują kluczowe reakcje, w tym wykrywanie tlenu, metabolizm energetyczny, oddychanie i syntezę DNA [66].

Żelazo jest kofaktorem kilku kluczowych enzymów w oddychaniu komórkowym i metabolizmie, w tym enzymach cyklu kwasu cytrynowego oraz w reduktazie rybonukleotydowej, która katalizuje redukcję rybonukleotydów do detoksyrybonukleotydów, co stanowi etap ograniczający szybkość syntezy DNA. Żelazo jest również potrzebne do biosyntezy makromolekuł, niezbędnych do wzrostu i podziału komórek. Ze względu na szybki wzrost komórek i proliferację, komórki nowotworowe wykazują zwiększone zapotrzebowanie na żelazo w porównaniu do normalnych niezłośliwych komórek. Wyeliminowanie żelaza poprzez chelatację zostało zbadane jako możliwy cel terapeutyczny w różnych nowotworach. Zdolność żelaza do przejścia między dwoma formami utlenienia Fe^{2+} i Fe^{3+} pozwala mu uczestniczyć w wielu różnych procesach komórkowych [67].

Od dawna wiadomo, że w komórce nowotworowej występują różnice w metabolizmie żelaza w porównaniu z normalną komórką. Komórki złośliwe wykazują znacznie zwiększone zapotrzebowanie na żelazo w wyniku szybkiego podziału ich komórek, ponieważ zwiększonym wymaganiom syntezy DNA towarzyszy zwiększona ekspresja RR zależnej od żelaza oraz komórki te mają wyraźne zmiany szlaków przekazywania sygnałów, umożliwiające niekontrolowaną proliferację. Wytwarza to zwiększone zapotrzebowanie na żelazo. Aby sprostać temu komórki nowotworowe zwiększają pobór żelaza z mikrośrodowiska [68]. Odbywa się to przede wszystkim poprzez zwiększenie poziomu

receptora transferyny 1 (TfR1) na powierzchni komórkowej, który odpowiada za pobieranie Fe z białka transportującego żelazo – transferyny (Tf). Ta zwiększona ekspresja TfR1 koreluje również z oceną stopnia zaawansowania guza i jego stadium. Zaobserwowano również zmiany w białkach transportowych w komórkach nowotworowych, w tym ferrytynie i ferroportynie 1. Wszystkie te zmiany w metabolizmie żelaza nadają komórkom nowotworowym fenotyp "wysokiego poziomu wewnątrzkomórkowego Fe". Komórki nowotworowe mogą mieć również alternatywne drogi pobierania żelaza – co może mieć kluczowe znaczenie w osiągnięciu zwiększonego poziomu wewnątrzkomórkowego żelaza [41].

Ponieważ wykazano, że wyczerpanie żelaza skutkuje zahamowaniem wzrostu guza, zainteresowanie chelatacją Fe w leczeniu nowotworów ciągle rośnie. Opracowuje się coraz to nowsze chelatory i testuje jako potencjalną terapię wspomagającą [67]. Wyniki *in vitro* są obiecujące dla działania antyproliferacyjnego w leczeniu białaczki szpikowej, chłoniaka nieziarnistego, ale testuje się je również w terapii guzów litych w tym nerwiaka, raka gruczołu krokowego, raka piersi oraz raka jelita grubego [69]. W wielu badaniach *in vitro* oraz w badaniach klinicznych wykazano, że chelatory są skutecznymi środkami antyproliferacyjnymi. Najbardziej znanym chelatorem jest deferoksamina (DFO) [70]. Jednak jej krótki okres półtrwania i mała skuteczność przy przechodzeniu przez błony ograniczają jej aktywność antyproliferacyjną. Prawdopodobnym mechanizmem, za pomocą którego chelatory i inne czynniki (np. stres oksydacyjny) powodują śmierć komórek nowotworowych może być apoptoza. Jednakże dokładne mechanizmy związane z apoptozą, w której pośredniczy chelator, pozostają niejasne [71].

Potencjalnie proces usuwania metalu z jego normalnej ścieżki metabolicznej może być bardzo toksyczny dla organizmu. Zatem kompleksy takich metali mogą służyć jako skuteczne czynniki cytotoksyczne. Jak wynika z powyższego, związki o strukturze tiosemikarbazonu mogą charakteryzować się podwójnym efektem terapeutycznym: pozbawiają komórki żelaza i uwalniają toksyczne dla nowotworów metale [72].

2.4.4. Inhibicja topoizomerazy II

Jednym z mechanizmów działania przeciwnowotworowego tiosemikarbazonów jest stabilizowanie rozszczepialnych kompleksów utworzonych przez topoizomerazę II i DNA prowadzących do apoptozy. Topoizomeraza jest enzymem jądrowym, który dostosowuje stan topologiczny DNA przez zerwanie i ponowne zamknięcie nici DNA – odpowiada za stopień skręcenia podwójnej helisy. Istnieją dwie główne kategorie topoizomerazy, topoizomeraza I i topoizomeraza II [73].

Planarność wielu kompleksów sugeruje możliwość interkalacji DNA. Jako możliwy cel działania proponowano topoizomerazę II. Topoizomeraza II jest to białko jądrowe komórek eukariotycznych, które reguluje topologiczną strukturę DNA przez przejściowe zerwanie i łączenie dwuniciowego DNA w sposób zależny od ATP. Dekatenuje lub rozłącza ono spirale DNA przechodząc przez jedną helisę, aby zapobiec nadzwijaniu podczas replikacji DNA [74]. Ponieważ do syntezy DNA i podziału komórkowego potrzebna jest topoizomeraza II, szybko proliferujące komórki, takie jak guzy, zazwyczaj posiadają wysoki poziom tego enzymu, co czyni go interesującym celem terapeutycznym w komórkach nowotworowych. Tiosemikarbazony hamują aktywność topoizomerazy II działając poprzez stabilizację formowanych przez nią produktów [73,75]. Kompleksy tiosemikarbazonów z miedzią wykazują znacznie wyższą aktywność hamowania wzrostu guza niż nieskompleksowane ligandy i mają niższe wartości IC_{50} wobec komórek nowotworowych niż inne zgłoszone inhibitory topoizomerazy II [76].

Środki przeciwnowotworowe hamują działanie topoizomerazy II przez stabilizowanie pośrednich form kompleksów enzym - DNA. Efekt stabilizacji wynika głównie z alkilowania reszt tiolowych kompleksów topoizomeraza II – DNA. Denaturujące właściwości białek tego kompleksu powodują jednoniciowe i dwuniciowe przerwy w DNA, które prowadzą do apoptozy. To właśnie przez ten proces komórkowy inhibitory topoizomerazy II działają przeciwnowotworowo [73].

2.4.5. Inne mechanizmy związane z apoptozą

Tiosemikarbazony indukują apoptozę niezależnie od obecności szlaku białka p53 i dlatego są idealne do leczenia glejaków [77]. Białko p53, jest ważnym supresorem nowotworowym zaangażowanym w różne mechanizmy, które zapobiegają rozwojowi nowotworu. P53 działa jak molekularny opiekun cyklu komórkowego i indukuje zatrzymanie fazy G1 / S po rozpoczęciu uszkodzenia DNA i powoduje odpowiedź naprawczą, która zapobiega rozprzestrzenianiu się mutacji [78]. Brak ekspresji p53 w niektórych nowotworach zapobiega naprawie, wspomaga progresję komórek nowotworowych i sprzyja oporowi na chemioterapeutyki [79]. Rozwój środków wykazujących aktywność przeciwko nowotworom z lub bez p53 jest niezbędny, szczególnie biorąc pod uwagę wysoką częstość występowania mutacji p53 w zaawansowanym raku [80].

Badania prowadzone przez Kolesar i współpracowników wykazały, że po podaniu Triapiny, w komórkach tworzą się kompleksy Cu-Triapina i Fe-Triapina. Autorzy zauważyli, że wychwyt żelaza jest blokowany, prawdopodobnie przez tworzenie ROS przez kompleksy,

które następnie uszkodzają receptor transferyny lub samą transferynę. Badania EPR ukazało również obecność żelaza hemowego, co może sugerować, że ROS mogą prowadzić do apoptozy [81].

W 2006 roku Adsule i współpracownicy przedstawili aktywność chinolino-2-karbaldehydowych tiosemikarbazonów i ich kompleksów z miedzią (II) jako inhibitorów proteasomów w liniach komórkowych raka prostaty PC-3 i LNCaP. Zaobserwowali oni, że kompleks Cu-TSC jest najsilniejszym inhibitorem spośród badanych związków, a obserwowana apoptoza jest wywołana przez zahamowanie szlaku proteosom-ubikwityna, a nie przez stres oksydacyjny. Jest to kolejny możliwy mechanizm działania pochodnych tiosemikarbazonów prowadzących do apoptozy [82].

Kompleksy TSCs mogą prowadzić do apoptozy komórek również poprzez obniżenie poziomu Bcl-2 (białka regulujące uwalnianie cytochromu z mitochondriów), zmianę potencjału błonowego mitochondriów i obniżenie aktywności kaspazy-3 (enzym trawiący białka jądrowe i cytoplazmatyczne, odpowiedzialny za hydrolizę białek cytoszkieletu oraz błon otaczających jądro komórkowe oraz przeprowadzający aktywną proteolizę enzymu degradującego DNA), niezależnie od funkcji p53 [42].

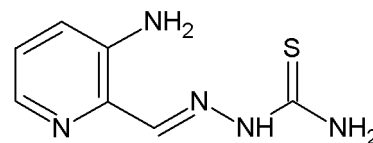
Enzymy kaspazy są częstymi czynnikami wywołującymi apoptozę. Opisano dwie kaskady aktywujące kaspazę, które regulują apoptozę – jedna zostaje zainicjowana przez receptory śmierci (np. CD95), a druga jest wywołana zmianami integralności mitochondrialnej. Angażowanie receptorów śmierci przez ich ligandy (np. CD95L) prowadzi do powstania kompleksów wywołujących śmierć. Aktywowane receptory śmierci aktywują kaspazę-8, która inicjuje kaspazy egzekucyjne, w tym kaspazę-3. W apoptozie zależnej od mitochondriów, uwalnianie holocytochromu c (h-cytokiny) do cytozolu powoduje powstanie apoptosomów zawierających h-cytazy, białka Apaf-1 i prokaspazę-9. W apoptosomie prokaspaza-9 zostaje aktywowana i wywołuje kaspazy egzekucyjne, które inicjują zdarzenia końcowe zachodzące na siebie z tymi indukowanymi przez szlak receptora śmierci. Głównymi modulatorami mitochondrialnego szlaku apoptozy są geny z rodziny Bcl-2 / Bax. Grupa białek Bcl-2 znajduje się w zewnętrznej membranie mitochondrialnej i odgrywa rolę w jej stabilności. W przeciwieństwie do tego, białka Bax są cząsteczkami cytozolowymi, które po odebraniu sygnału apoptotycznego migrują do wiązania z mitochondriom, aż do porów przenikania przepuszczalności. Nierównowaga Bcl-2 i Bax powoduje utratę selektywnej przepuszczalności jonów, co skutkuje uwalnianiem h-cytazy, która inicjuje kaskadę kaspaz odpowiedzialnych za apoptozę. Jeśli chelatory powodują śmierć komórek

nowotworowych poprzez wykorzystanie szlaku apoptozy, wówczas indukowanie apoptozy staje się istotnym celem terapii [83,84].

Podobnie jak w przypadku wszystkich chelatatorów Fe, tiosemikarbazony mogą w pewnym stopniu wiązać Zn (II) i Cu (II). Ponieważ wyczerpywanie się innych metali, takich jak Zn (II), może również modulować apoptozę, nie można wykluczyć, że zaobserwowaną apoptozę mogą powodować chelatory wiążące więcej niż jeden typ jonu metalu. Zdolność chelatatora do wiązania się z komórkowym Fe prowadzi do apoptozy [85].

2.5. Triapina

Triapina (3-AP; 3-aminopirydyno-2-karbaldehydowy tiosemikarbazon - **Rys. 4.**) jest stosunkowo nowym, silnym inhibitorem reduktazy rybonukleotydomy [86]. W ostatnich latach trwają intensywne badania tego związku jako



Rys. 4. Struktura Triapiny.

potencjalnego leku przeciwnowotworowego. Dostarczenie Triapiny do nowotworowych linii komórkowych powoduje redukcję jednego lub więcej trifosforanów deoksyrybonukleotydowych, co skutkuje zatrzymaniem lub spowolnieniem syntezy DNA i proliferacji komórkowej. Triapinę przebadano na 60 różnych liniach komórkowych i wykazano aktywność IC_{50} (stężenie wymagane do zahamowania wzrostu guza o 50%) na poziomie 1.6 μM [87]. Mechanizm, w którym Triapina hamuje RR jest podobny do mechanizmu działania hydroksymocznika – środka wykazującego kliniczną aktywność przeciwnowotworową wobec guzów litych jak i nowotworów hematologicznych [88]. Obydwa środki hamują podjednostkę R2 w reduktazie rybonukleotydomy poprzez wygaszenie wolnego rodnika tyrozynowego. Triapina jest jednak 100-1000 razy silniejsza niż hydroksymocznik w testach hamowania wzrostu komórek guza, zwłaszcza, gdy jej kompleks z żelazem jest w stanie utlenionym. Dwie wybrane linie komórek nowotworowych odpornych na hydroksymocznik miały dużą wrażliwość na Triapinę w porównaniu do macierzystych linii komórkowych, co sugeruje, że Triapina może pokonać oporność nowotworów na hydroksymocznik, związaną z nadekspresją podjednostki R2 [86,87].

Zwiększona aktywność Triapiny w porównaniu z hydroksymocznikiem jest konsekwencją jej zdolności do chelatowania żelaza, co jest niezbędne do regeneracji wolnych rodników tyrozynowych w podjednostce R2, które inicjują redukcję rybonukleotydów. Wykazano również, że kompleks Triapina-Fe powoduje uszkodzenia DNA in vitro poprzez cykliczny mechanizm redoks w stężeniach klinicznie istotnych [89].

Badania kliniczne wykazały również, że wraz z moczem pacjenci wydalali 1-3% dziennej dawki, czyli Triapina prawie w całości jest metabolizowana w organizmie. Jest możliwe, że podczas metabolizmu Triapiny żelazo jest odzyskiwane, co świadczy o tym, że wyższe stężenie Triapiny w osoczu może wpływać na działanie enzymów zawierających żelazo, a także białek np. na hemoglobinę i zakłócać transport tlenu [90].

Triapina posiada także właściwości fluorescencyjne ($\lambda = 360$ nm), co pozwala na monitorowanie wychwytu i wewnątrzkomórkowego rozmieszczenia jej w żywych ludzkich komórkach nowotworowych za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej [91].

Obecnie wydaje się, że Triapina nie niesie wielkich nadziei jako pojedynczy lek, ale może odgrywać zasadniczą rolę w połączeniu z innymi chemioterapeutykami, szczególnie w nowotworach hematologicznych jako czynnik nasilający działanie przeciwnowotworowe [92].

2.6. Projektowanie farmaceutyków

2.6.1. Reguła Lipinskiego

Większość dopuszczonych do obiegu leków cechuje się podobnymi właściwościami molekularnymi. Zebrał i opisał je Chris Lipinski tworząc tzw. regułę Lipinskiego, zwaną również regułą "pięciu", która podaje wartości istotnych dla farmakokinetyki leku właściwości molekularnych. Właściwościami tymi są: logP - współczynnik podziału pomiędzy dwie niemieszające się wzajemnie fazy, który nie powinien przekroczyć wartości 5, MW (ang. *Molecular Weight*)- masa cząsteczkowa, która nie powinna być większa od 500, HBD (ang. *Hydrogen Bond Donor*) - liczbę donorów wiązania wodorowego, która nie powinna przekroczyć wartości 5 oraz HBA (ang. *Hydrogen Bond Acceptor*) - liczbę akceptorów wiązania wodorowego, która nie powinna być większa od 10. Zakłada się, że gdy cząsteczka nie spełnia jednej z podanych reguł, nie wykazuje cech potencjalnego leku, natomiast przekroczenie dwóch z podanych wartości drastycznie zmniejsza jej szanse na zastosowanie jako farmaceutyku [93].

logP < 5
MW < 500
HDB < 5
HDA < 10

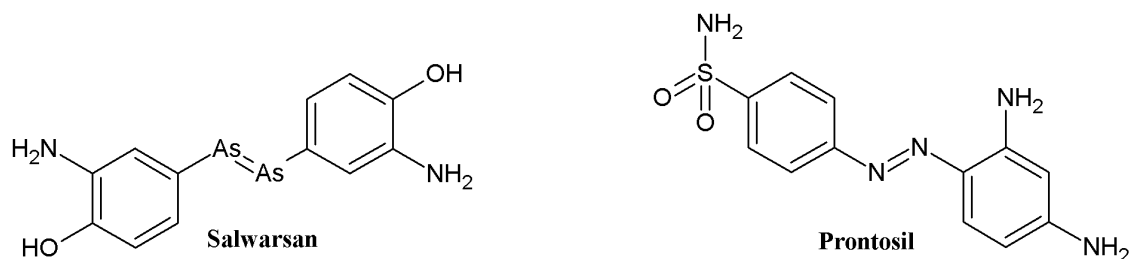
2.6.2. Zasady Vebera

Badania prowadzone przez Daniela F. Vebera sugerują, że to nie masa molowa, a liczba wiązań rotowalnych i wielkość powierzchni polarnej cząsteczki tPSA (ang. *Topological Polar Surface Area*) są głównymi czynnikami wpływającymi na wchłanianie leków. Wpływ wiązań rotowalnych wyjaśnia efekt entropowy odpowiedniego ułożenia się leku, tak, by wykazywał on odpowiednio dużą powierzchnię hydrofobową przy przejściu przez błony komórkowe. Liczba wiązań rotowalnych koreluje z masą cząsteczkową, dlatego zasady Lipinskiego sprawdzają się w większości przypadków, jednak określenie ścisłych zasad określających zachowanie każdej cząsteczki w żywym organizmie jest niemożliwe [94].

<p style="text-align: center;">MW < 770 HBA + HBD < 12 liczba wiązań ulegających rotacji < 10 tPSA < 140</p>
--

2.6.3. Koncepcja struktur uprzywilejowanych

Koncepcja uprzywilejowanych struktur/podstruktur (PS - ang. *Privileged Structures/Substructures*) mówi o tym, że pewne cechy strukturalne częściej niż inne wywołują efekty biologiczne [95]. Koncepcja PS opiera się na badaniu interakcji białko-ligand i poszukiwaniu pojedynczych trzonów molekularnych zdolnych do dostarczania ligandów do różnych receptorów [96]. Na jej podstawie, podczas projektowania nowych leków można wykorzystać strukturalne motywy, które statystycznie częściej generują aktywność biologiczną [95]. Przykładem mogą być podstruktury w pionierskich chemoterapeutykach - zaprojektowanym przez Ehrlich'a Salwarsanie lub Prontosilu Domagk'a (**Rys. 5.**). Oba leki mają struktury podobne do barwników azowych, jednak mogło to wynikać z dostępności barwników w chemii XIX wieku i na początku XX wieku. Wykazywały one powinowactwo do tkanek (barwiły je), co sugerowało, że "reagują" z komórkami. Przyniesione przykłady wskazują, że zidentyfikowane podstruktury uprzywilejowane w dużym stopniu zależą od badanej przestrzeni chemicznej, wiedzy chemicznej naukowców i dostępności odczynników [97].



Rys. 5. Struktury Salwarsanu i Prontosilu.

Opracowanych jest wiele różnych metod projektowania molekularnego, służących znalezieniu nowych leków. Spośród nich metoda QSAR (ang. *Quantitative Structure-Activity Relationship*) polega na znalezieniu i analizie ilościowej zależności pomiędzy strukturą chemiczną cząsteczki, a jej aktywnością biologiczną. Analiza QSAR ma na celu modelowanie i prognozowanie pewnej wartości aktywności, czyli minimalnej ilości określonej substancji wywołującej określoną odpowiedź biologiczną dla nowego związku. W ten sposób można określić, które cechy ligandów mają najistotniejszy wpływ na aktywność. Modelowanie QSAR jest skuteczniejsze, gdy przenikanie przez membranę jest efektem limitującym wartość aktywności. Metoda Hanscha daje prosty model matematyczny, wyprowadzając równanie QSAR, należy sprowadzić parametry fizykochemiczne charakteryzujące ligandy do postaci liczbowej, tworząc tzw. deskryptory. Opisują one własności elektronowe, termodynamiczne, strukturalne, konformacyjne i pól molekularnych. Własności elektronowe obejmują moment dipolowy, polaryzowalność, ładunek całkowity, energię orbitali HOMO i LUMO, stałą Hammeta (jest to miara zdolności podstawnika do zwiększania lub zmniejszania gęstości elektronowej w pierścieniu aromatycznym), efekt rezonansowy i indukcyjny. Inne praktycznie wykorzystywane właściwości to lipofilowość i refrakcja molowa (która wiąże współczynnik załamania światła z objętością cząsteczki). Własności strukturalne obejmują pole powierzchni, objętość, liczbę wiązań rotujących, parametry Tafta (określają efekt steryczny dla podstawników), hydrofobowość podstawnika i wiązania wodorowe, a pozostałe własności to m.in. energie różnych konformacji cząsteczki, potencjał elektrostatyczny i van der Waalsa.

Projektując lek, wybieramy właściwości które podlegają optymalizacji. Często wprowadzamy elementy strukturalne, które są typowe dla znanych leków. Pomimo, iż niektóre właściwości, które determinują aktywność leku wydają się dosyć oczywiste, np. toksyczność, biodostępność lub dostępność syntetyczna, wybór właściwości lub ich modelowanie jest dość skomplikowanym procesem. W metodach, które są bardziej pragmatyczne, ocenia się podobieństwo zaprojektowanych struktur do prawdziwych leków [98, 99].

Lekopodobieństwo (ang. *drug likeness*) jest koncepcją wywodzącą się z założenia, że związki lecznicze odróżniają się od innych cząsteczek swoimi właściwościami fizycznymi. Zdecydowanie niezbędne dla biodostępności leku właściwości molekularne uwzględniające absorpcję (ang. *Absorption*), dystrybucję (ang. *Distribution*), metabolizm (ang. *Metabolism*), wydalanie (ang. *Excretion*) i toksyczność (ang. *Toxicity*) - ADMET są szacowane na podstawie struktur molekularnych, jeszcze przed zracjonalizowaniem syntezy cząsteczek. Można to postrzegać jako wstępny, bezwzględny warunek powodzenia leku w badaniach klinicznych. Deskryptory molekularne można łatwo obliczyć na podstawie wzorów cząsteczkowych, np. liczba donorów wiązań wodorowych (HBD) lub ich akceptorów (HBA). w praktyce nawet te, które odnoszą się do właściwości molekularnych, można oszacować dla wirtualnych cząsteczek, np. $\log P$ [100,101].

Koncepcja struktur uprzywilejowanych zyskała uznanie przy opracowywaniu nowych leków, jednak analiza dostępnych danych pokazuje, że faktyczne właściwości syntezowanych związków w przemyśle farmaceutycznym mogą różnić się od tych przewidywanych. Jednym z powodów może być fakt, że wzrost lipofilowości zwiększa prawdopodobieństwo zmniejszenia selektywności leku, zmniejszając jednocześnie prawdopodobieństwo sukcesu [102]. Metoda badania podobieństwa leku zainspirowało szereg pokrewnych koncepcji m.in. podobieństwa wiodącego czy podobieństwa do celów molekularnych leków [100].

Zasada podobieństwa mówi, że podobne strukturalnie związki wykazują podobną aktywność biologiczną. Chociaż twierdzenie takie wydaje się uzasadnione, paradoks podobieństwa pokazuje, że nawet niewielkie zmiany w strukturze chemicznej mogą spowodować istotne zmiany w aktywności biologicznej [103]. Pomimo tego paradoksu metoda badania podobieństwa jest wykorzystywana, nie tylko w projektowaniu molekularnym, ale także bardziej ogólnie - w chemii, gdzie analogia odgrywa rolę, szczególnie, gdy nie rozumiemy jeszcze w pełni określonego procesu lub efektu. Dlatego podobieństwo molekularne wciąż leży u podstaw sztuki projektowania molekularnego [100].

Koncepcja PS opisuje strategię, w której można zidentyfikować fragmenty strukturalne, które są wspólne dla szeregu ligandów wiążących się z poszczególnym receptorem lub z określoną rodziną receptorów. Liczne fragmenty molekularne zostały opisane w czasopiśmie naukowych jako uprzywilejowane, np. benzazepinon, difenylometan, benzylopiperydyna, bifenylo-tetrazol, indol, bifenyl, spiroindolina, sulfonamid [104], spiroindanylo-piperidyna [105], 1,4-dihydropirydyna [106], 2,6-dichloro-9-tiacyklo [3.3.1] nonan [107], benzopiran [108], pirydazyny [109], indole i chinoliny [110].

Pojedyncza podjednostka strukturalna może być obecna w wielu różnych cząsteczkach, w tym również w produktach naturalnych, które wykazują bardzo różne typy aktywności farmakologicznej. Od czasu powstania do chwili obecnej, koncepcja PS i jej definicje ewoluowały, aby opisać nie tylko te struktury, które ułatwiają wiązanie ligandu do poszczególnego receptora lub określonej rodziny receptorów. Tak dzieje się np. w przypadku dwóch heterocyklicznych motywów, mianowicie chinoliny i akrydyny, które są szczególnie częste w związkach aktywnych przeciwko różnym patologiom [111]. Tego rodzaju uprzywilejowane fragmenty cząsteczek można uznać za motywy lekopodobne. Z drugiej strony występujące szczególnie często elementy uprzywilejowane, zostały również zidentyfikowane jako tak zwane małe elementy wspólne, tj. niektóre łączniki, które często pojawiają się w lekach. Struktury uprzywilejowane z powodzeniem stosowano w projektowaniu celu syntez i bibliotek ligandów o powinowactwie do określonych celów molekularnych [100].

Oprócz zalet teoretycznych koncepcji PS jest też ważny aspekt praktyczny. Każdy nowy lek musi spełniać surowe wymagania regulatorów farmaceutycznych. Aby spełnić takie standardy i wprowadzić nowy lek na rynek, wygodnie jest wybrać strukturę znanego leku lub dowolnego związku, który już spełnił niektóre wymagania jako punkt wyjściowy. Taka metoda projektowania leków jest pewną odmianą metody PS i nosi nazwę projektowania w oparciu o znane analogi (ang. *analogue based design*). Innym uwarunkowaniem projektowania leków jest czynnik ekonomiczny oraz kwestie odpowiedzialności prawnej. Wykorzystanie struktur znanych już farmaceutyków w opracowywaniu nowych leków może znacznie obniżyć koszty innowacji farmaceutycznych i dlatego są one atrakcyjne dla przemysłu, obniżają w/w ryzyko [112]. Omawiane metody w jakiś sposób zainspirowały odkrywanie nowych, odmiennych metod projektowania jako źródła strukturalnie wyróżniających się związków o pożądanym działaniu farmakologicznym, np. koncepcja Scaffold - Hopping. W przeciwieństwie do motywów uprzywilejowanych, głównym celem tej techniki jest znalezienie strukturalnie nowych związków przez modyfikację centralnej struktury rdzenia cząsteczki, ale zachowując grupy wiążące się z tym samym celem molekularnym [113].

Identyfikacja części cząsteczki jako uprzywilejowanej wymaga jej fragmentacji, a ponieważ fragmenty mogą przyczyniać się addytywnie do efektów chemicznych lub biologicznych, stanowią one teoretyczną podstawę wielu metod.

Fragmentacja cząsteczki nie jest oczywista i jednoznaczna. Chociaż fragmenty można wycinać, zachowując pierścienie i trzon molekularny, można również zdefiniować fragment

jako konkretny łańcuch lub nawet atom węgla. Sposób ten wynika ze stosowania reguł łamania i dlatego możemy rozumieć fragmenty jako dowolne zespoły atomowe [114].

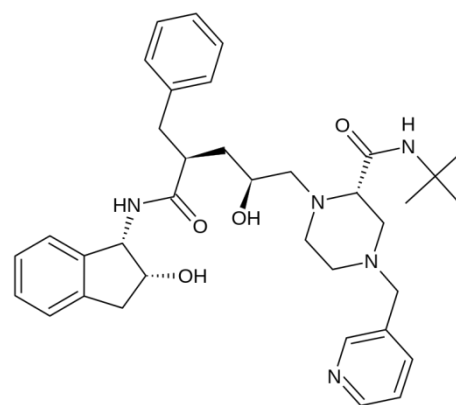
Koncepcja PS ewoluowała od pragmatycznej tendencji do upraszczania złożoności projektowania leków poprzez fragmentację. Rozdzielanie cząsteczek na fragmenty jest dobrze znaną procedurą w chemii, np. organicznej, gdzie rozpatruje się reaktywność molekularną w kategoriach grup funkcyjnych, szczególnie małych częściach cząsteczek o określonej reaktywności, podczas gdy analiza retrosyntetyczna dzieli cząsteczki na syntony, które są użyteczne w syntezie docelowych związków. Podobnie metody Hammetta, Hanscha lub Free-Wilsons można rozumieć jako fragmentaryczne podejście do reaktywności molekularnej lub aktywności biologicznej [100].

2.7. Zastosowanie motywu piperazyny w znanych farmaceutykach

Heterocykle zawierające azot w znacznym stopniu przyciągnęły uwagę badaczy w ciągu ostatnich kilku dekad, ze względu na ich wysokie wartości terapeutyczne. Niezależnie od tego, czy są one naturalne czy syntetyczne, dzięki ich interesującym właściwościom oraz analogiom strukturalnym z układami naturalnymi bardzo często uczestniczą one w wielu procesach biologicznych. Wiele z nich znalazło zastosowanie jako leki fitochemiczne, np. chinina, eliptycyna, teofilina, emetyna, papaweryna, prokaina, kodeina i morfina. Związki heterocykliczne zawierające azot, znajdujące się w naturalnych produktach, odgrywają znaczną rolę w części procesów biochemicznych w żywych komórkach, a także występują w większości enzymów jako główne składniki, wchodzą także w skład większości koenzymów i niektórych ważnych witamin [115].

Piperazyna jest słabą zasadą z pKa 4.19, dobrze rozpuszczalną w wodzie i glikolu etylenowym, ale nierozpuszczalną w eterze dietylowym.

Polarne atomy azotu w pierścieniu piperazyny nadają bioaktywność cząsteczkom i zwiększają korzystne ich oddziaływanie z innymi makrocząsteczkami. Piperazyna i podstawione piperazyny są ważnymi farmakoforami, które można znaleźć w wielu lekach dostępnych na rynku, takich jak np. Indynawir (Crixivan) (**Rys. 6.**), który jest silnym i selektywnym inhibitorem proteazy ludzkiego niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) szeroko stosowanym w terapii przeciwretrowirusowej w celu zahamowania działania wirusa HIV [116].



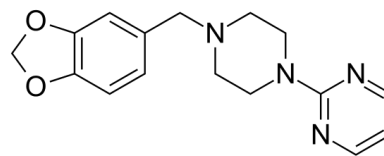
Rys. 6. Struktura Indynawiru.

Na początku 1900 r. piperazyny stosowano w leczeniu dny moczanowej. Pierwsze udane zastosowanie w leczeniu zakażeń wywołało szerokie zastosowanie jej jako środka przeciwpasożytniczego u ludzi i zwierząt. Przez ponad 50 lat lek stosowany był w leczeniu zakażeń spowodowanych przez glistę ludzką i owsiki ludzkie, a niektóre jego związki zostały zbadane pod kątem leczenia choroby promiennej i dławicy piersiowej [115].

Piperazyna jest związkiem heterocyklicznym stosowanym jako główny składnik środków przeciwpasożytniczych, który zmieniając przepuszczalność błony komórkowej powoduje jej hiperpolaryzację. Pierścień piperazynowy i pochodne piperazyny są ważnymi cyklicznymi składnikami w branży przemysłowej, stosowane jako surowce do utwardzania żywic epoksydowych, inhibitory korozji, środki owadobójcze, akceleratory do gumy, katalizatory uretanowe i przeciwutleniacze [117].

Piperazyna jest tanim i łatwo dostępnym środkiem o bardzo szerokim indeksie terapeutycznym. Wykazuje ona niespecyficzną aktywność zwiotczającą niezawierającą naczyń krwionośnych mięśnie gładkie, spowodowaną jej zdolnością do bezpośredniego rozluźniania mięśni gładkich. Sugerowano, że piperazyna może mieć działanie podobne do chinidyny, a zatem może mieć właściwości przeciwartmyczne i w badaniach prowadzonych przez Quaguluchi'ego i współpracowników udowodniono, że cytrynian piperazyny wykazuje działanie antyarytmiczne, ponieważ zmniejsza częstość akcji serca szczura, poprzez znaczne wydłużanie czasu trwania odstępów P-R, Q-T i S-T. Te zmiany EKG były identyczne z cechami leków antyarytmicznych klasy trzeciej zgodnie z klasyfikacją leków antyarytmicznych Vaughana Williama [118].

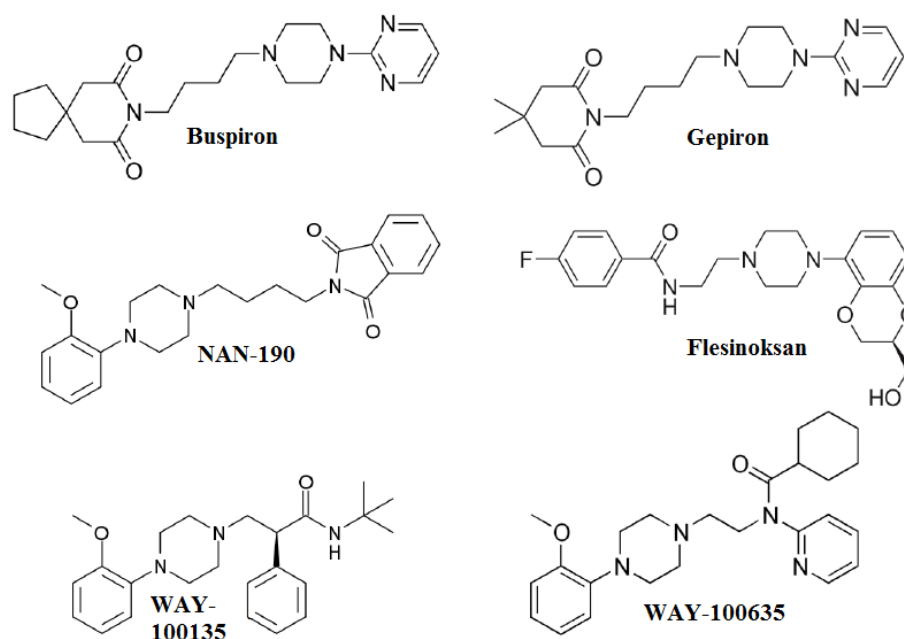
Szkielet piperazynowy został uznany za obiecujący heterocykl do projektowania czynników wpływających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). Wiele badań sugeruje, że pochodne piperazyny mają dobrą aktywność przeciwdrgawkową i antydepresyjną u zwierząt laboratoryjnych. Ugrupowanie piperonylopiperazyny zastosowano do opracowania silnych środków aktywnych dla OUN, na przykład Pirybedyl (**Rys. 7.**), jest skutecznym lekiem i wykazuje szeroki zakres aktywności OUN, m.in. przeciwko Parkinsonowi, a także przeciwko drgawkom i depresji [119].



Rys. 7. Struktura Pirybedylu.

Arylopiperazyny stanowią jedną z najważniejszych klas ligandów receptorów serotoninowych 5-HT1A. Najczęściej badanymi środkami są Buspiron, Gepiron, NAN-190, Flesinoksan, WAY-100135 i WAY-100635 (**Rys. 8.**). WAY-100635 (*N*-(2-(4-(2-metoksyfenylo)-1-piperazynylo)etylo)-*N*-(2-pirydylo)-cykloheksanokarboksyamid) został opisany w literaturze jako jeden z pierwszych silnych i selektywnych antagonistów serotoniny

5-HT_{1A}. Ugrupowanie piperazyny zostało umiejscowione tak, aby miało wysokie powinowactwo do receptorów 5-HT_{1A} i stanowi dobry punkt wyjściowy do opracowywania potencjalnych znaczników promieniotwórczych. Aromatyczny układ pierścieniowy i zasadowy atom azotu zawarty w piperazynie czyni go podstawowym szkieletem rozpoznawczym dla miejsc wiązania receptora 5-HT_{1A}.

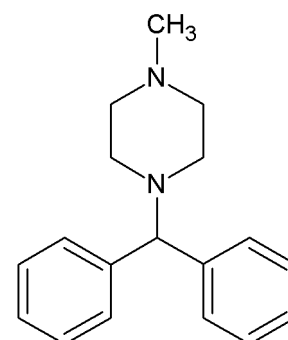


Rys. 8. Struktury leków wykazujących silne powinowactwo do receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}.

Niraj Singh wraz ze współpracownikami zsyntetyzowali bis-pochodną kwasu pentetynowego, stosując długołańcuchową arylopiperazynę, która zapewnia tworzenie stabilnego termodynamicznie i kinetycznie obojętnego kompleksu z radiofarmaceutyką - ^{99m}Tc. Ta istotna strategia znakowania ^{99m}Tc może być skuteczną metodą przygotowania kompleksów ^{99m}Tc z dwiema cząsteczkami tworzącymi dwuwartościowe ligandy, do obrazowania receptorów 5-HT_{1A} [120].

2.7.1. Właściwości antyhistaminowe

Cyklizyna (1-benzhydrylo-4-metylopiperazyna) przedstawiona na **Rysunku 9** jest pochodną piperazyny, która znalazła zastosowanie jako lek antyhistaminowy o aktywności antymuskarynowej. Stosuje się go jako środek przeciwwymiotny w leczeniu nudności i wymiotów spowodowanych chorobą



Rys. 9. Struktura Cyklizyny.

lokomocyjną, operacjami, radioterapią oraz niektórymi lekami. Cyklizynę stosuje się do objawowego leczenia zawrotów głowy spowodowanych chorobą Meniere'a i innymi zaburzeniami przedsionkowymi. Wykazuje ona także takie właściwości farmakologiczne, jak działanie przeciwzapalne i przeciwalergiczne, aktywność przeciwplytkową i tłumienie wybuchu tlenowego fagocytów [121].

Histamina jest ważnym mediatorem chemicznym, który może wywoływać stan zapalny, rozszerzanie naczyń krwionośnych, zwiększoną przepuszczalność naczyń, zmniejszenie oporu obwodowego, skurcz mięśni gładkich dróg oddechowych i swędzenie receptorów nerwowych. Wprowadzenie do struktury Cyklizyny grup metylowych i izopropylowych w pierścieniach fenyłowych z wysoką dawką elektronów, a także zastąpienie grupy metylowej grupą etylową i 3,4-dichlorofenilo-piperazynową w nowo syntetyzowanych lekach, daje zauważalne efekty w zmniejszaniu ostrego stanu zapalnego. Te efekty nowych leków mogą być związane ze zmniejszeniem przepuszczalności naczyń lub bardziej antagonistycznym działaniem na receptory histaminowe H1 [122].

2.7.2. Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze

W poszukiwaniu skutecznych środków przeciwdrobnoustrojowych badano różne związki heterocykliczne, a wśród nich pochodne piperazyny, które wykazały szerokie spektrum aktywności farmakologicznych, takich jak działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwgruźlicze, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwmalaryczne, czy przeciwutleniające.

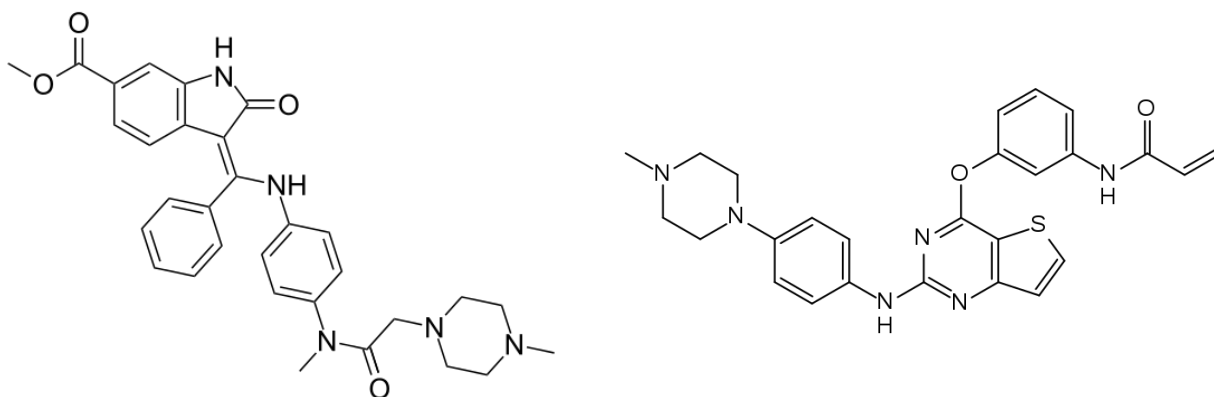
Leczenie zakażeń drobnoustrojami, w tym bakteriami, grzybami i prątkami gruźlicy, staje się trudne z powodu wiecznego problemu oporności drobnoustrojów na antybiotyki, dlatego stale poszukuje się nowych generacji środków przeciwinfekcyjnych. W ostatnich latach chemicy zajmujący się lekami odnieśli wielki sukces w przekształcaniu rusztowań wcześniej znanych antybiotyków, zarówno naturalnych, jak i syntetycznych, w których jądro heterocykliczne stanowi część farmakoforu niezbędnego dla określonej aktywności farmakologicznej. Piperazyna jest medycznie ważnym heterocyklicznym jądrem, które składa się z sześciocząłowego pierścienia zawierającego dwa atomy azotu w przeciwnych położeniach w pierścieniu. Jądro piperazyny zostało sklasyfikowane jako struktura uprzywilejowana i często występuje w biologicznie aktywnych związkach w wielu różnych obszarach terapeutycznych [123].

Dimery cyprofloksacyny zawierające piperazynę opisane są jako silne środki przeciwbakteryjne przeciwko szczepom opornym, środki przeciwmalaryczne i potencjalne środki przeciwpsychotyczne.

Sulfonamidy należą do najpowszechniej stosowanych środków przeciwbakteryjnych ze względu na ich niską toksyczność i doskonałą aktywność przeciwko chorobom bakteryjnym. Pochodne *N*-sulfonamidu 1-[bis(4-fluorofenylo)metylo]piperazyny wykazywały silne działanie przeciwbakteryjne przeciwko szczepom *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* i *Salmonella typhi*. Większość leków chinolinowych, takich jak norfloksacyna i cyprofloksacyna z rdzeniem piperazyny, wykazuje szerokie spektrum działania na drogi oddechowe, układ moczowy, przewód pokarmowy, zakażenia skóry i tkanek miękkich wywołane przez bakterie Gram-ujemne lub Gram-dodatnie. Różne cyjanopochodne piperazyny znane są ze swoich zastosowań w syntezie półproduktów farmaceutycznych, analogów peptydów i leków przeciwbakteryjnych. Pochodne cyjanowe *N*-alkilowych i *N*-arylowych podstawionych piperazyn wykazują silną aktywność przeciwko *Pseudomonas aeruginosa* [124].

2.7.3. Właściwości przeciwnowotworowe

Kompleksowy przegląd literatury pokazuje, że związki zawierające piperazynę mają wysoki potencjał przeciwnowotworowy. Niektóre opisane inhibitory kinazy EGFR zawierają piperazynę np. Nintedanib czy Olmutinib (**Rys. 10.**). Niestety, zgłaszana jest oporność przeciwko tym związkom, dlatego naukowcy opracowują coraz to nowsze związki o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych.

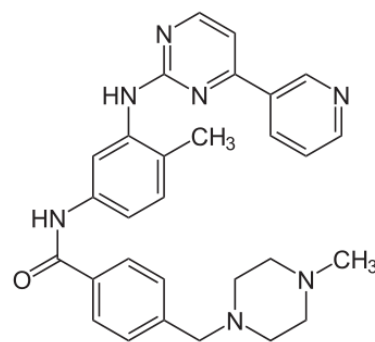


Rys. 10. Struktura Nintedanibu i Olmutinibu.

Okazuje się, że pochodne piperazyn, takie jak piperazyno-benzotiazole i-piperazyno-1-karbotiohydrazyny hamują wzrost linii komórkowych raka okrężnicy HCT-116. Stwierdzono, że adamantany podstawione piperazyną hamują rozwój raka jelita

grubego i trzustki, a piperazynowe metanony hamują wzrost linii komórkowej ludzkiego gruczolakoraka piersi MCF-7 i mysiej embrionalnej linii komórkowej fibroblastów NIH3T3. Kilka pochodnych piperazyny zostało opatentowanych pod kątem ich zastosowania jako środków do chemioterapii raka płuc [125].

Lekiem, który znalazł zastosowanie jako środek przeciwnowotworowy jest Imatynib (*N*-(4-metylo-3-[[4-(pirydyn-3-ylo)pirymidyn-2-ylo]amino]fenylo)-4-



Rys. 11. Struktura Imantynibu.

[[4-metylopiperazyn-1-ylo)metylo]benzamid (**Rys. 11.**), który wykazuje silną aktywność przeciwbiałaczkową. [126].

2.7.4. Inne znane leki zawierające piperazynę

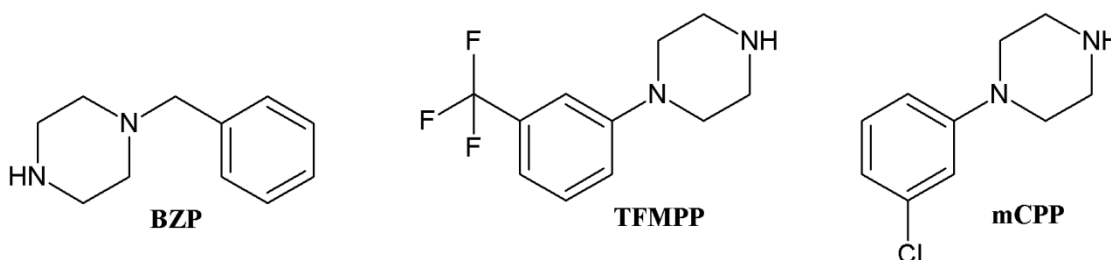
- Amoksapina - lek przeciwdepresyjnym stosowany w leczeniu nie tylko depresji, ale także niepokoju lub pobudzenia związanego z depresją.
- Trimetazydyna - środek przeciw niedokrwieniu, wolny od efektów hemodynamicznych, zmniejsza wewnątrzkomórkową kwasicę i zaburzenia elektrolitowe.
- Bifeprunoksem - lek przeciwpsychotycznym.
- Ropizina - lek przeciwdrgawkowy.
- Prazosin - lek przeciwnadciśnieniowy, selektywny antagonist receptorów α -adrenergicznych stosowanych w leczeniu nadciśnienia i łagodnego rozrostu gruczołu krokowego.
- Flunaryzyna - bloker kanału wapniowego, skutecznym w profilaktyce migreny, okluzji obwodowej w chorobie naczyniowej.
- Oxatomide - lek przeciwhistaminowy.
- Ranolazyna - nowy środek przeciw dusznicy bolesnej, zatwierdzonym do leczenia przewlekłej stabilnej dławicy piersiowej w stosowaniu jako terapia skojarzona, gdy dławica piersiowa nie jest odpowiednio kontrolowana innymi farmaceutykami.
- Cyprofloksacyna - farmaceutyk użyteczny w leczeniu wielu infekcji bakteryjnych.

Przedstawiono tylko kilka z wielu przykładów, w których rdzeń piperazynowy był stosowany jako rusztowanie do generowania aktywnych biologicznie cząsteczek. Wydaje się zatem, że rdzeń piperazynowy działa jako uprzywilejowany element strukturalny do budowy

bioaktywnych cząsteczek. Piperazyny są niezwykle zmienne ze względu na różne rodzaje podstawień w swojej podstawowej strukturze, które mogą wpływać na ich biologiczną aktywność. Właściwości farmakologiczne, jak również zastosowania terapeutyczne piperazyny zależą od sposobu podstawienia pierścienia piperazynowego [115].

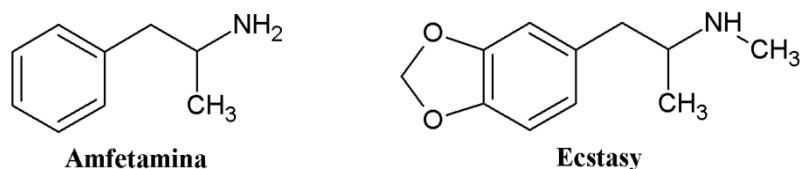
2.7.5. Piperazyny w środkach psychoaktywnych

Na europejskim rynku narkotykowym stale pojawiają się nowe środki psychoaktywne, a od kilku lat są to również piperazyny. Kluczowymi członkami tej grupy, które zostały wykorzystywane do celów innych niż medyczne, są to przede wszystkim: BZP (Benzylopiperazyna, A2, Frenzy, Nemesis), TFMPP (1-[3-(trifluorometylo)fenylo]piperazyna), mCPP (meta-chlorofenylopiperazyna, 1-(3-chlorofenylo)piperazyna) przedstawione na **Rysunku 12**. Te piperazyny są zwykle mieszane z kofeiną i szeregiem różnych witamin i spoiw, aby przygotować "imprezowe" tabletki. Pomimo tego, że często są sprzedawane jako "naturalne" lub "ziołowe", te chemikalia są czysto syntetyczne.



Rys. 12. Struktury piperazyn stosowanych w dopalaczach.

Piperazyny są środkami psychoaktywnymi i ich stosowanie nie jest pozbawione ryzyka. Dzięki efektom pobudzającym porównywalnym z działaniem amfetaminy, ale o niższej sile i zróżnicowanym globalnym zasięgu, sprzedawano je jako domniemaną legalną alternatywę dla ekstazy (**Rys. 13**). Środki obejmujące w swojej strukturze piperazynę sprzedawane jako tabletki "imprezowe", mogą być jakąś alternatywą dla groźnych dopalaczy w poszukiwaniu bezpieczniejszych i czystszych alternatyw dla nielegalnych narkotyków, które nie niosą ze sobą ryzyka powikłań. Pigułki zawierają zazwyczaj mieszankę stymulującej benzylopiperazyny (BZP - **Rys. 12**) i inne słabsze związki chemiczne z rodziny piperazyn. Stają się coraz bardziej popularne jako legalna alternatywa dla aktywnego składnika ekstazy, MDMA, głównie dlatego, że użytkownicy twierdzą, że działają.



Rys. 13. Struktury popularnych narkotyków.

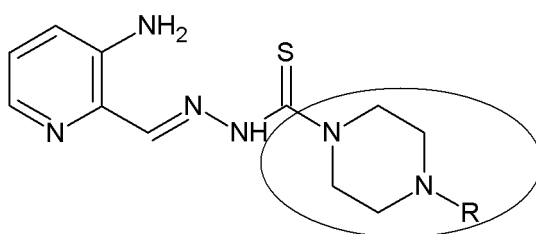
BZP został pierwotnie zsyntetyzowany w 1944 r. z rośliny pieprzu jako potencjalny środek przeciw pasożytniczy do stosowania u zwierząt hodowlanych. W latach siedemdziesiątych został przebadany jako potencjalny lek przeciwdepresyjny, ale odrzucono go, gdy badania potwierdziły, że BZP ma działanie podobne do amfetaminy i powoduje uzależnienie. BZP jest często reklamowany jako "suplement diety", aby uniknąć zastrzeżenia przepisów dotyczących leków, mimo że BZP nie ma wartości odżywczej. Niektórzy detaliści twierdzą, że BZP jest "naturalnym" produktem, opisując go jako "ekstrakt z pieprzu" lub "zioło". W rzeczywistości środek ten jest całkowicie syntetyczny i nie stwierdzono, aby występował naturalnie.

W związku z faktem, że na rynku narkotykowym zaczęły pojawiać się nowe substancje, wcześniej nieznanymi mieszaninami substancji oraz substancjami zawierającymi wysokie stężenia wcześniej znanych leków, systemy wczesnego ostrzegania zostały ustanowione pod auspicjami Europejskiego Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (ang. *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*, EMCDDA), aby odpowiednio reagować na nowe związki i zjawiska na rynku narkotyków i oceniać związane z nimi ryzyko [117].

3. BADANIA WŁASNE

3.1. Projektowanie nowych TSCs

W niniejszej pracy podstawę projektowania wyznaczają metody podobieństwa liganda. W szczególności wykorzystałam techniki struktur uprzywilejowanych (PS). Jako PS potraktowałam m.in. piperazynę (**Rys. 14.**). Jej wprowadzenie do struktury nowych leków może być także korzystne ze względów omawianych w rozdziałach **2.7 - 2.7.4** części literaturowej. Główne miejsca modyfikacji przedstawiłam na rysunku poniżej. Taki schemat projektowania umożliwił praktyczną realizację pracy, która poza częścią chemiczną obejmować także musiała wiele badań biologicznych. Czas realizacji często uniemożliwiał synchronizację badań syntetycznych i biologicznych.

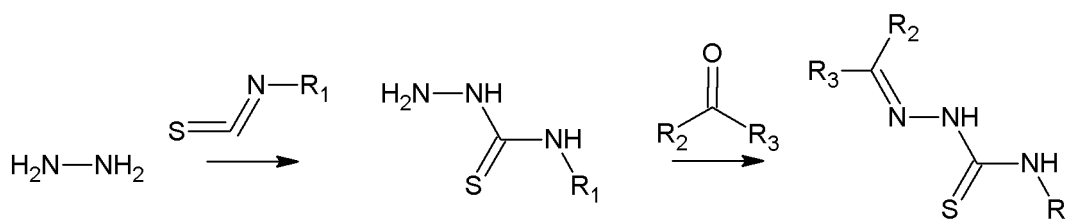


Rys. 14. Przykładowa struktura ogólna wprowadzenia piperazyny do tiosemikarbazonu.

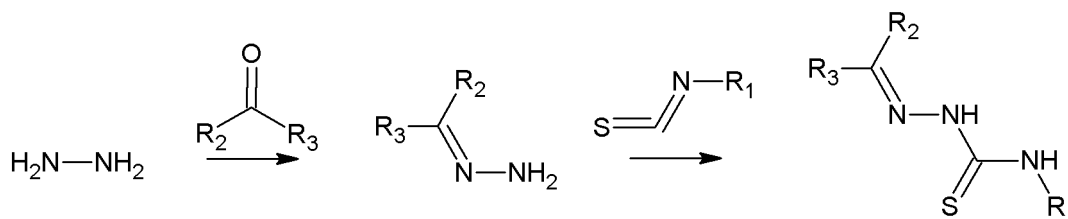
3.2. Trzy podstawowe metody syntezy tiosemikarbazonów [127]

Poniżej krótko omówiłam podstawowe metody syntezy tytułowych związków.

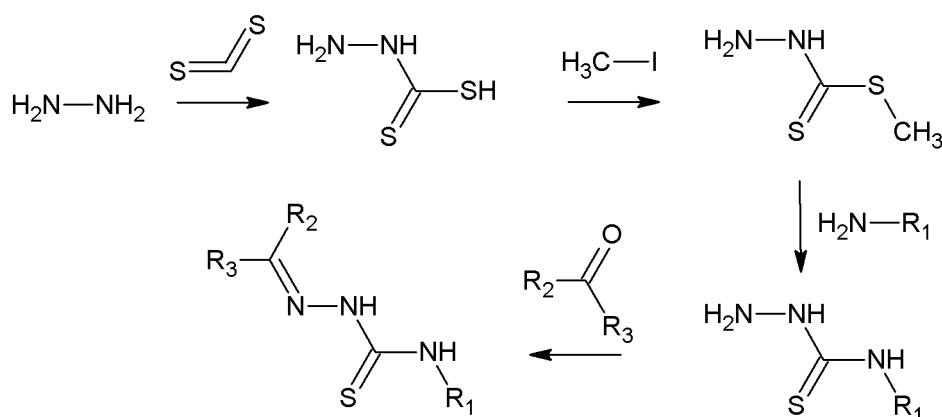
1) Metoda dwuetapowa, w której pierwszy etap polega na reakcji hydrazyny z izotiocyjanianem, natomiast w drugim etapie otrzymany produkt kondensuje się z odpowiednim oksozwiązkiem tj. aldehydem lub ketonem, w wyniku czego otrzymuje się produkt końcowy – tiosemikarbazon.



2) Jest to również proces dwuetapowy, podobny do pierwszej metody, ponieważ stosowane są takie same odczynniki, jednak dodawane w odwrotnej kolejności. Najpierw hydrazyna ulega reakcji z oksozwiązkiem, a następnie dodaje się izotiocyjanian.



3) Metoda czteroetapowa, w której w pierwszym etapie hydrazyna reaguje z disiarczkiem węgla, a następnie otrzymany produkt poddaje się reakcji z jodkiem metylu. Trzeci etap polega na reakcji otrzymanego produktu z nukleofilowo-podstawionymi aminami, a w ostatnim etapie następuje kondensacja z odpowiednim oksozwiązkiem.



3.3. Zastosowana metody syntezy

W praktyce tiosemikarbazydy otrzymałam zgodnie z procedurą otrzymywania tiomocznika opisaną w literaturze przez Katritzky'ego [128], który wykorzystywał pochodne bis(benzotriazolilo)tiomocznika do otrzymania *N*-podstawionych tiosemikarbazydów. Metoda ta została zmodyfikowana przez dr Macieja Serdę [129], poprzez zastąpienie pochodnej benzotriazolilowej 1,1'-tiokarbonyldiimidazolem. Otrzymany półprodukt kondensowałam z *N*-podstawioną pochodną piperazyny, piperydyny, morfoliną, tiomorfoliną lub glicyną, następnie ogrzewałam z wodzianem hydrazyny, tworząc ostatecznie tiosemikarbazyd.

W wyniku przeprowadzonych reakcji otrzymałam szereg nowych tiosemikarbazonów opisanych w rozdziałach 5.4.1 - 5.4.102 Części Eksperymentalnej niniejszej pracy na drodze kondensacji podstawionych tiosemikarbazydów z aldehydami lub ketonami w środowisku

kwaśnym. W syntezie wykorzystałam promieniowanie mikrofalowe, które przyspiesza reakcję i zwiększa jej wydajność. Promieniowanie mikrofalowe jako niekonwencjonalne źródło energii wykorzystywane jest m.in. w syntezie organicznej, w której reakcje chemiczne są przyspieszane ze względu na selektywną absorpcję energii promieniowania mikrofalowego przez polarne cząsteczki.

Promieniowanie mikrofalowe powoduje wydajny wewnętrzny transport ciepła (ogrzewanie in situ), w wyniku czego ogrzewanie jest jednolite i całkowite. Niewątpliwymi zaletami stosowania promieniowania mikrofalowego są:

- ograniczenie zużycia rozpuszczalników organicznych,
- wyższa wydajność,
- czystsze produkty,
- krótki czas reakcji,
- uproszczona obróbka produktów.

Wydajności reakcji wahały się od 19% do 97% (**Tabela 1.**). Otrzymane preparaty oczyszczałam poprzez krystalizację z bezwodnego metanolu.

Nr	Wydajność	LogP	T.top. [°C]	Nr	Wydajność	LogP	T.top. [°C]
1a	70%	1.92	210-211°C	12a	59%	3.56	173-174
1b	59%	1.64	195-196	12b	75%	4.53	111-112
1c	83%	1.84	189-190	12c	87%	1.95	176-177
1d	74%	1.71	209-210	12d	81%	2.62	180-181
1e	51%	0.97	195-196	12e	46%	1.07	192-193
1f	47%	2.57	232-233	13	61%	4.42	178-179
1g	38%	0.92	210-211	14a	87%	5.60	177-178
1h	56%	3.56	221-222	14b	76%	3.40	146-147
1i	20%	1.26	193-194	14c	81%	4.95	148-149
1j	75%	4.12	179-180	5.4.12	51%	0.55	245-246
1k	39%	1.28	198-199	5.4.26	70%	2.56	198-199
1l	49%	3.18	198-199	5.4.34	35%	3.43	207-208
1m	83%	2.57	206-207	5.4.35	85%	4.96	171-172
1n	64%	3.97	199-200	5.4.36	80%	2.11	199-200
1o	36%	0.46	191-192	5.4.37	67%	1.31	167-168
1p	70%	0.48	217-218	5.4.38	71%	3.41	213-214
2a	36%	1.44	161-162	5.4.39	87%	4.03	199-200
2b	43%	1.72	162-163	5.4.40	82%	1.39	245-246
2c	73%	2.08	213-214	5.4.54	63%	3.03	167-168
3a	70%	1.87	202-203	5.4.57	96%	2.54	143-144
3b	34%	2.13	198-199	5.4.59	52%	2.79	183-184
3c	83%	4.24	207-208	5.4.61	43%	2.34	134-135
3d	68%	3.72	202-203	5.4.64	29%	2.43	171-172

4	78%	3.23	204-205	5.4.65	28%	1.48	79-80
5a	48%	3.73	159-160	5.4.67	63%	2.69	199-200
5b	44%	1.26	194-195	5.4.70	65%	2.90	175-176
5c	86%	1.31	223-224	5.4.71	74%	2.81	167-168
5d	33%	2.05	186-187	5.4.75	85%	2.97	180-181
6a	73%	2.56	215-216	5.4.76	87%	2.95	163-164
6b	80%	3.93	234-235	5.4.77	30%	2.67	168-169
6c	74%	3.42	228-229	5.4.78	64%	3.31	182-183
7	49%	-2.11	188-189	5.4.79	62%	1.94	162-163
8a	97%	3.73	203-204	5.4.80	81%	3.60	225-226
8b	76%	4.01	205-206	5.4.81	19%	3.61	159-160
8c	76%	4.67	197-198	5.4.82	56%	2.74	177-178
8d	78%	4.37	224-225	5.4.84	95%	2.86	173-174
8e	77%	3.77	218-219	5.4.85	51%	1.12	171-172
8f	51%	2.15	197-198	5.4.86	37%	3.63	178-179
8g	72%	3.89	188-189	5.4.87	29%	1.44	187-188
8h	71%	5.14	218-219	5.4.88	34%	2.26	150-151
8i	57%	4.62	221-222	5.4.89	41%	2.99	162-163
8j	82%	4.66	215-216	5.4.90	56%	2.92	177-178
8k	72%	5.45	207-208	5.4.91	58%	3.50	186-187
8l	64%	2.97	199-200	5.4.92	50%	3.05	168-169
9	77%	2.92	184-185	5.4.93	58%	2.85	186-187
10	57%	2.54	205-206	5.4.94	48%	3.13	176-177
11a	72%	2.15	174-175	5.4.96	87%	3.86	151-152
11b	64%	3.90	164-165	5.4.98	82%	5.15	141-142
11c	63%	4.06	212-213	5.4.99	68%	5.23	142-143
11d	38%	0.60	169-170	5.4.101	22%	1.70	187-188
11e	54%	1.43	120-121	4.4.102	25%	-0.05	130-131

Tabela 1. Wydajności, wartości lipofilowości (LogP - obliczone przy użyciu programu ACD/ChemSketch wersja 12.01) oraz temperatury topnienia otrzymanych tiosemikarbazonów. Struktury związków **1a-14c** przedstawione są w **Tabeli 2**, natomiast pozostałych TSCs w odpowiednich rozdziałach Części Eksperymentalnej.

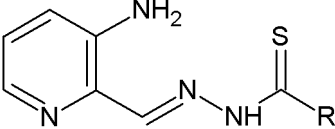
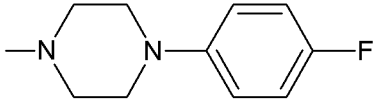
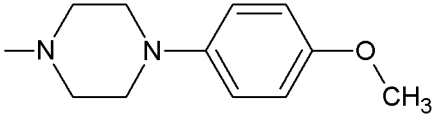
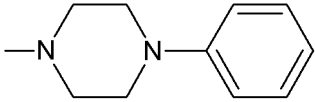
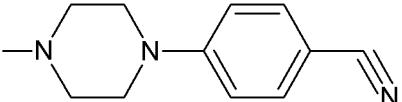
Najwyższe wydajności uzyskałam kondensując otrzymane tiosemikarbazony z aldehydem 5-bromosalicylowym i wszystkie podjęte próby syntezy zakończyły się otrzymaniem czystego produktu (**8a - 8e**). Stosunkowo dobre wydajności uzyskałam syntezując pochodne Triapiny - związki **1a - 1p** (wyjątkiem są związki **1g, 1i, 1k i 1o**), jednak podczas prób syntezy nie udało mi się otrzymać związków zawierających w swoich strukturach 1-(4-nitrofenylo)piperazynę, 1-cykloheksylopiiperazynę oraz morfolinę. Otrzymałam kilka pochodnych 2-chinolinokarbonylowego, 8-hydroksychinolino-2-karbonylowego i aldehydu salicylowego z zadowalającymi wydajnościami oraz trzy związki oparte na 2-pirydynokarbonylowym (**2a - 2c**), które ciężko było oczyścić i dopiero po kilkakrotnej krystalizacji udało mi się je otrzymać w czystej formie. Zadowalające wydajności uzyskanałam syntezując związki oparte na aldehydzie salicylowym (**6a - c** oraz

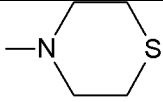
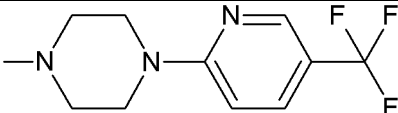
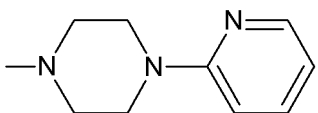
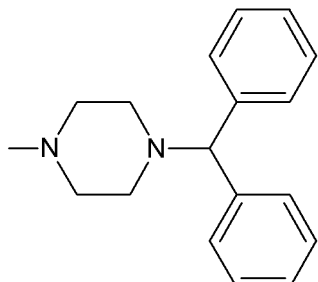
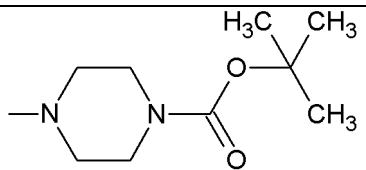
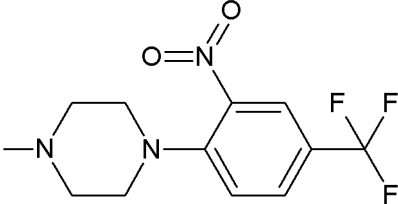
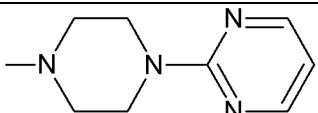
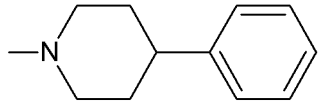
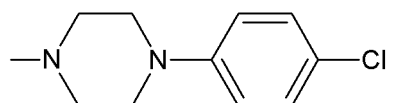
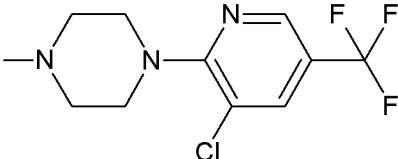
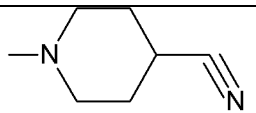
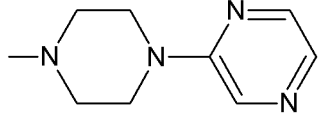
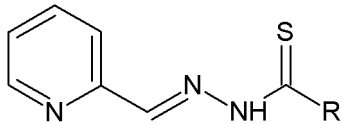
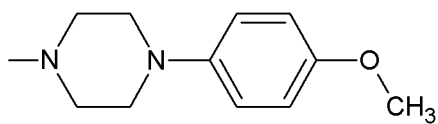
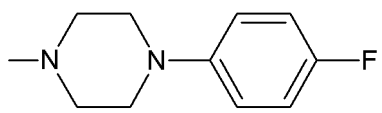
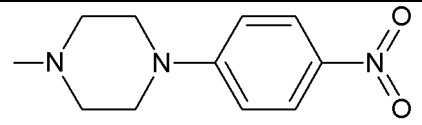
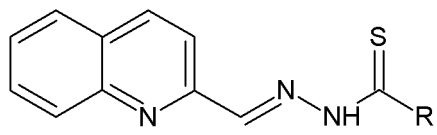
5.4.34 - 5.4.40), jednak stosowanie innych mono- (9), di- (10) i trihydroksybenzaldehydów (5.4.57) pozwoliło mi uzyskać niewiele pochodnych (mimo wysokiej wydajności), ponieważ pojawiały się znaczne problemy z wyizolowaniem produktu z mieszaniny reakcyjnej. Związki oparte na 2-nitrobenzaldehydzie, 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydzie oraz 2-chlorotioksanonie uzyskałam z zadowalającymi wydajnościami. Ciekawą zależność zaobserwowałam w przypadku pochodnych 2-fluorobenzaldehydu oraz 2,5-difluorobenzaldehydu i 2,6-difluorobenzaldehydu - związki oparte na mono- pochodnej wykazywały znacznie wyższą wydajność niż dipodstawione benzaldehydy, natomiast wśród nich najtrudniej było otrzymać pochodne 2,6-difluoro.

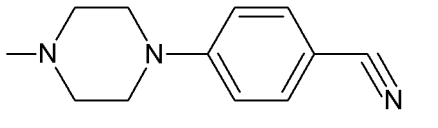
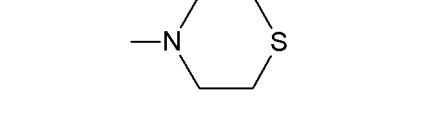
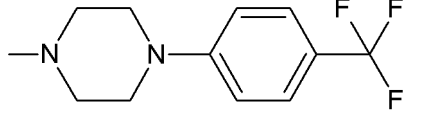
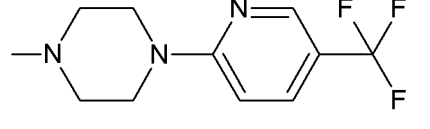
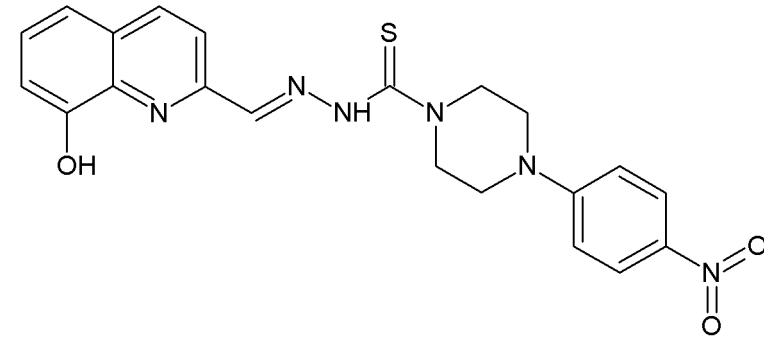
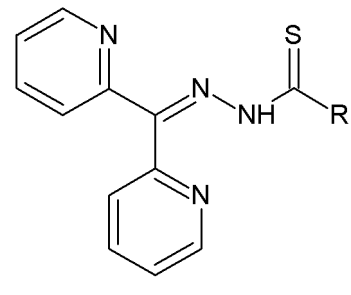
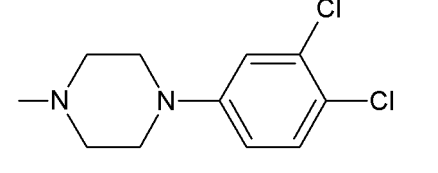
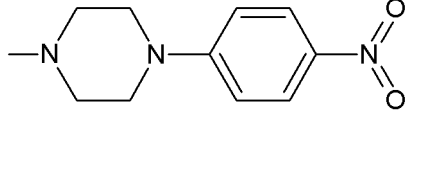
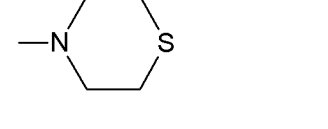
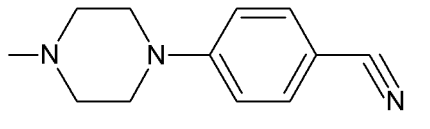
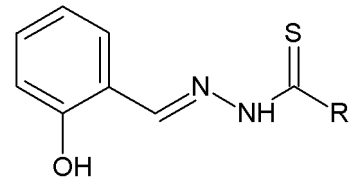
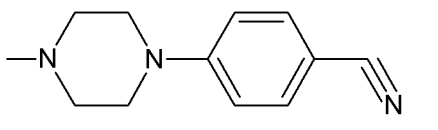
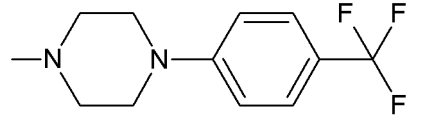
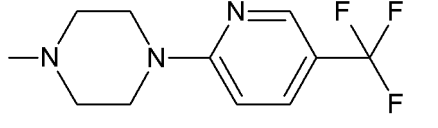
Próbowałam otrzymać także tiosemikarbazony oparte m.in. na kwasie askorbinowym, D-galaktozie, 2-butanonie, 4-bromobenzaldehydzie, difenyloczynie i propanalu, jednak nie udało się otrzymać czystych produktów pomimo kilku powtórzeń syntez.

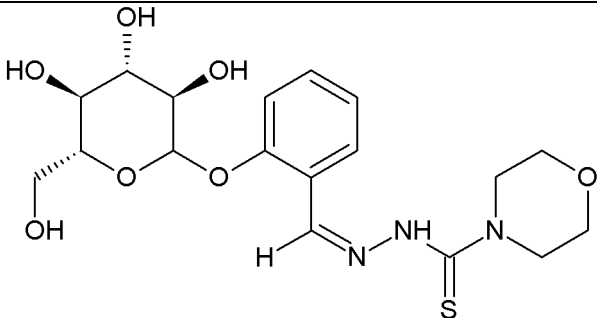
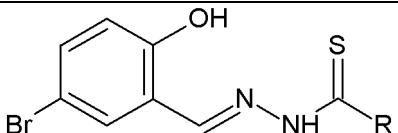
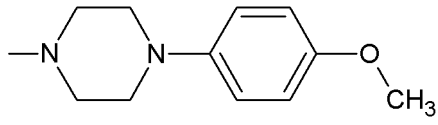
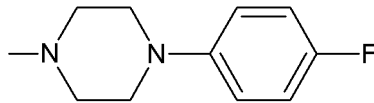
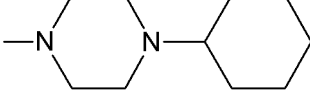
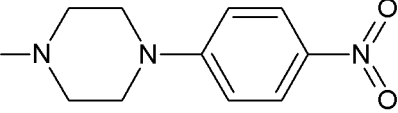
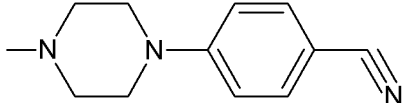
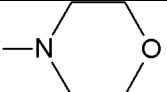
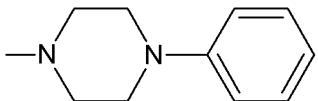
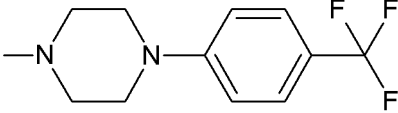
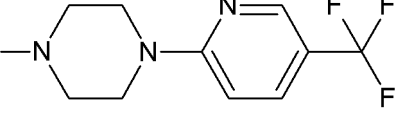
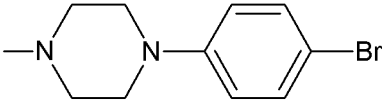
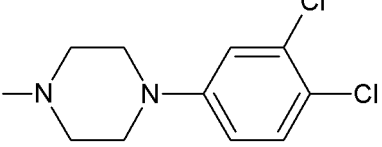
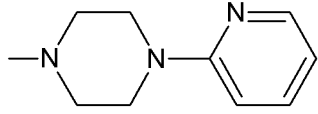
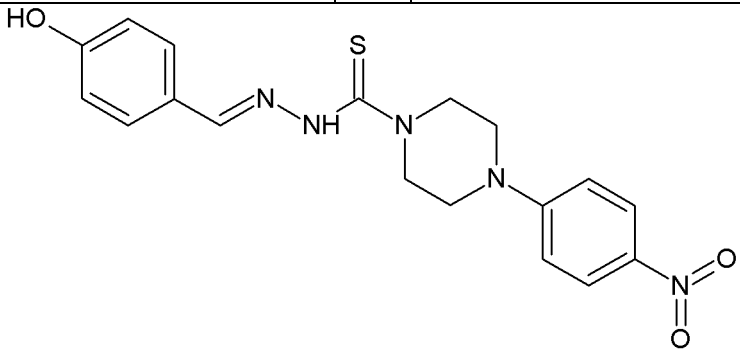
Większość znanych TSCs jest silnie hydrofobowa (zwłaszcza struktury w których występuje wiele pierścieni aromatycznych), a ich niska rozpuszczalność w wodzie powoduje ograniczenia ich stosowania. Dlatego w swoich badaniach poszukiwałam związków, które spełniały określone kryteria tj. stosowałam aldehydy/ketony zawierające w swojej strukturze grupy hydrofilowe np. hydroksylową czy aminową, które powodują zwiększenie rozpuszczalności tiosemikarbazonów w wodzie. Podobne znaczenie ma obecność grupy cukrowej w strukturze TSCs. W wyniku prowadzonych badań udało mi się otrzymać tiosemikarbazon oparty na glukozydzie aldehydu salicylowego (7), który wykazuje stosunkowo wysoką rozpuszczalność w wodzie, co sugeruje konieczność dalszych badań nad tym związkiem.

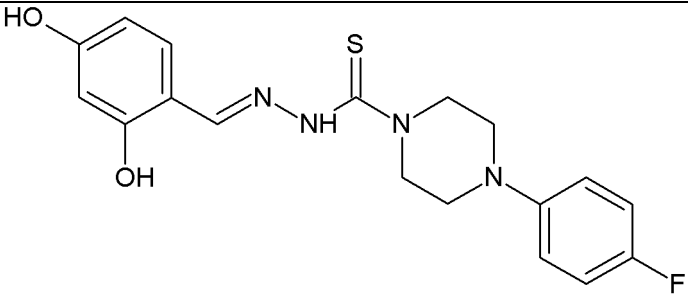
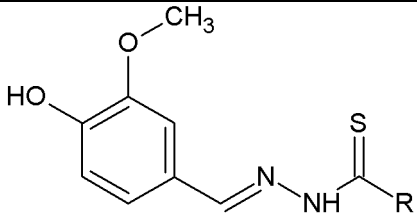
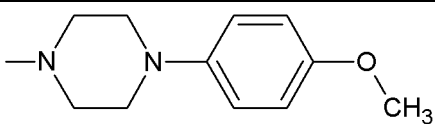
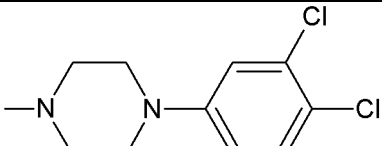
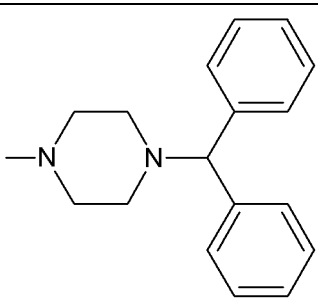
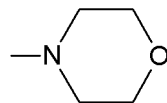
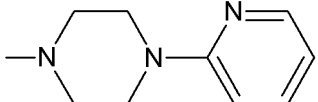
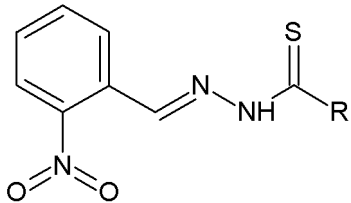
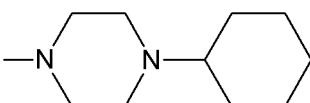
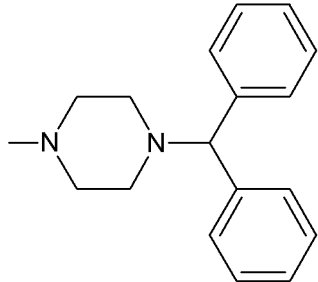
W Tabeli 2 przedstawiono struktury tiosemikarbazonów wykazujących wysoką aktywność biologiczną.

			
1a		1b	
1c		1d	

1e		1f	
1g		1h	
1i		1j	
1k		1l	
1m		1n	
1o		1p	
			
2a		2b	
2c			
			

3a		3b	
3c		3d	
4			
			
5a		5b	
5c		5d	
			
6a		6b	
6c			

7			
			
8a		8b	
8c		8d	
8e		8f	
8g		8h	
8i		8j	
8k		8l	
9			

<p>10</p>			
			
<p>11a</p>		<p>11b</p>	
<p>11c</p>		<p>11d</p>	
<p>11e</p>			
			
<p>12a</p>		<p>12b</p>	

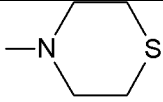
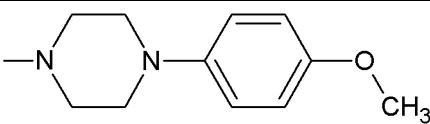
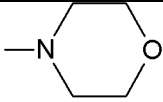
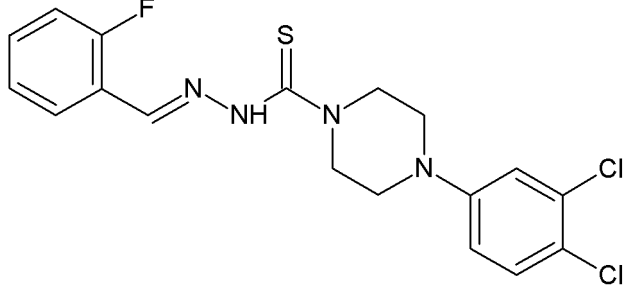
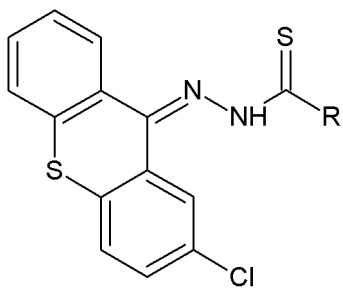
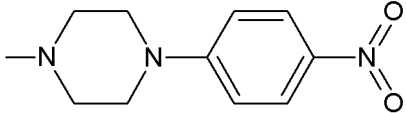
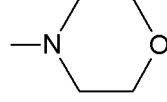
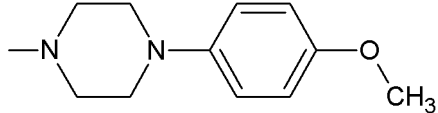
12c		12d	
12e			
13			
			
14a		14b	
14c			

Tabela 2. Struktury zaprojektowanych i zsyntezowanych tiosemikarbazonów wykazujących aktywność biologiczną.

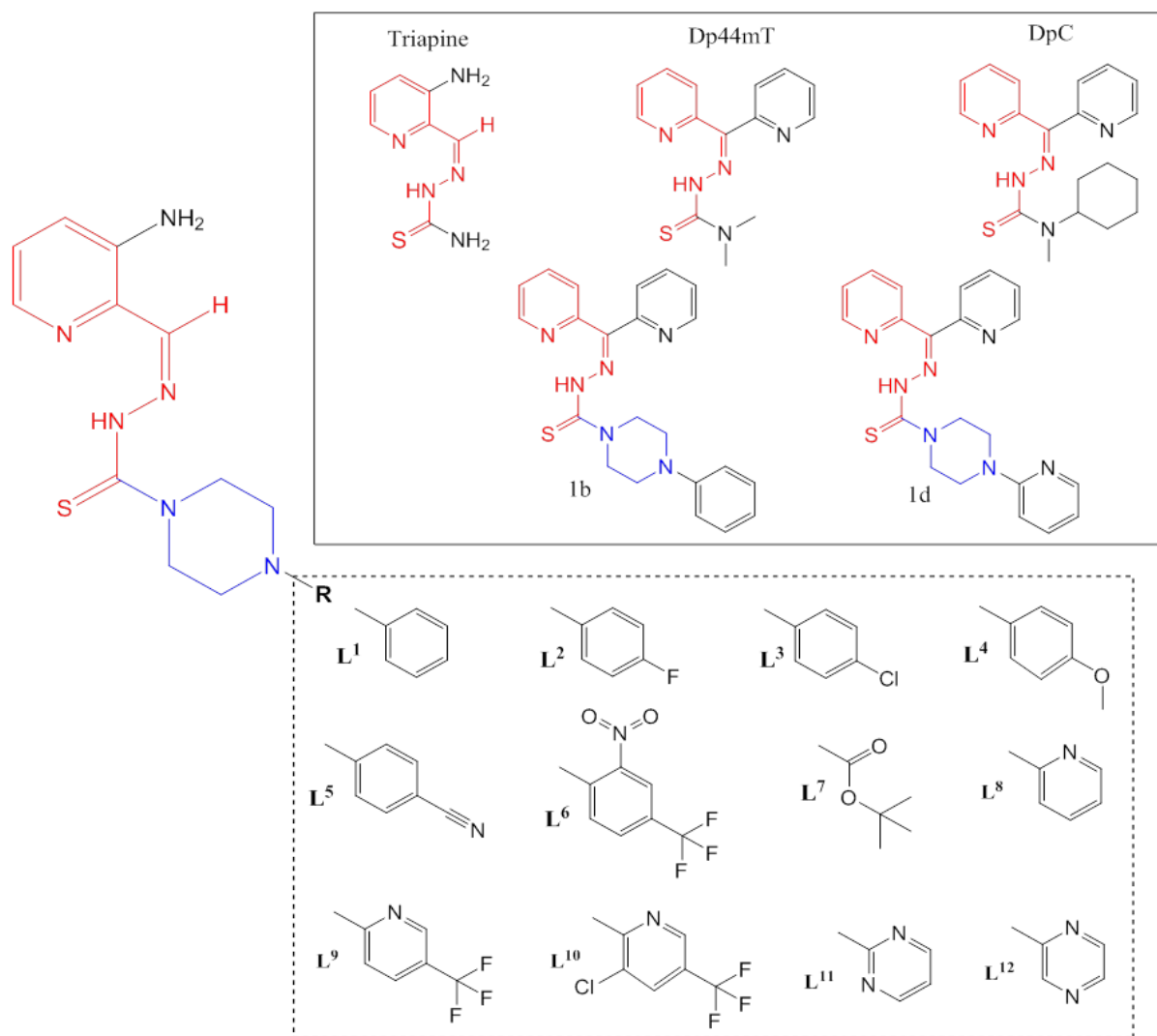
3.4. Projektowanie tiosemikarbazonów zawierających piperazynę opartych na szkielecie Triapiny

Zaprojektowałam i otrzymałam serię nowych tiosemikarbazonów, które formalnie są pochodnymi Triapiny (**1a-1p**), obejmują jednak w swojej strukturze piperazynę w taki sposób, aby azot w położeniu (N4) był podwójnie podstawiony. Warunek taki okazał się kluczowy dla wysokiej aktywności wcześniej otrzymanych związków należących do TSCs - DpC i Dp44mT. Badane ligandy są obojętne w fizjologicznym pH, co pozwala im przenikać przez błony komórkowe i wiązać komórkowe żelazo łatwiej niż mniej rozpuszczalnym

w lipidach ligandom, np. DFO. W związku z tym badania zależności struktura - aktywność sugerują, że połączenie piperazyny z Triapiną pozwala na uzyskanie silnych i selektywnych chelatorów przeciwnowotworowych, które wymagają dalszych badań *in vivo*.

Poprzez włączenie pierścienia piperazyny jako obiecującej nowej grupy farmakoforowej, który zastępuje *N*-końcową grupę aminową otrzymałam analogi Triapiny (**Rys. 15.**). O ile wiadomo, że schemat podstawienia na atomie *N4* tiosemikarbazonu ma kluczowe znaczenie dla aktywności Dp44mT, nie było przeprowadzonych podobnych badań dla Triapiny [130]. W literaturze jest tylko kilka opisanych TSCs zawierających piperazynę, dlatego wprowadziłam ją zamiast grupy aminowej, ponieważ może to modulować aktywność antyproliferacyjną nowych analogów, z tego względu, że piperazynowy heterocykl występuje w wielu różnych biologicznie czynnych związkach, z których niektóre są obecnie stosowane w terapii klinicznej [131]. W szczególności, nowe pochodne mogą w znaczący sposób zmieniać farmakokinetykę i farmakodynamikę, podczas gdy zastąpienie niepodstawionej grupy NH₂ fragmentem piperazyny zwiększa ich lipofilowość. Modyfikacja struktury poprzez inkorporację piperazyny jako PS jest standardowym schematem projektowania leków, który często skutkuje zwiększonym potencjałem leczniczym otrzymanych analogów [132].

Fragmentacja cząsteczek organicznych na mniejsze struktury jest ważną metodą w analizie retrosyntetycznej i zainspirowała metody, które określić można jako pseudo-retrosyntetyczne [133]. Pozwoliło to zidentyfikować fragmenty, które mogą być użyteczne w projektowaniu leków. Na przykład, włączono motyw di-2-pirydyłowy [134], chinolinyłowy [135], piperazynyłowy [136], morfolinyłowy [137] i chinoksalinyłowy [138] które są powszechnymi fragmentami w innych czynnikach przeciwnowotworowych do projektu nowych TSCs.



Rys. 15. Nowe struktury tiosemikarbazonów oparte na szkielecie Triapiny

3.4.1. Chelatujące właściwości zaprojektowanych analogów Triapiny

3.4.1.1. Stałe protonacji otrzymanych ligandów

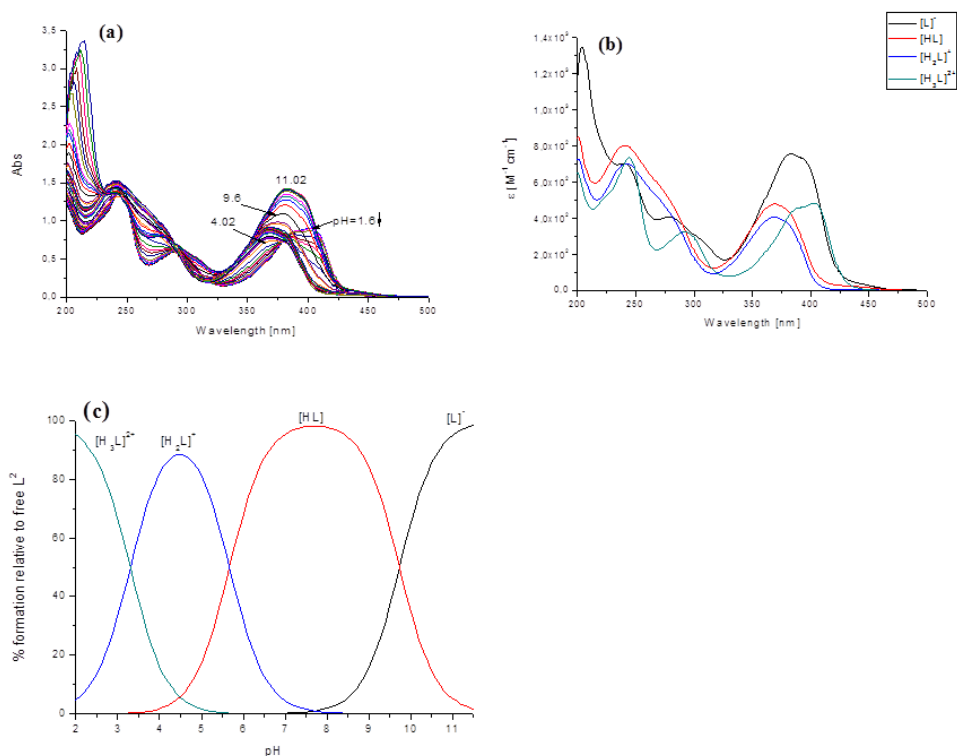
Wiele aspektów aktywności biologicznej TSCs wiązano z ich potencjałem kompleksotwórczym. Oznaczenia stałych protonacji i krzywych izobestycznych zostały wykonane we współpracy z dr Moniką Pyrkosz - Bulską w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

W celu wyznaczenia zakresu pH, w którym chelator występował w neutralnej postaci, wykonano miareczkowanie spektrofotometryczne - znajomość tych wartości jest ważna dla zrozumienia przejścia cząsteczki przez błony komórkowe, ponieważ naładowane chelatory posiadają ograniczoną zdolność do przenikania przez błony [139]. Badania te przeprowadzono w 80% (w/w) mieszaninie rozpuszczalników MeOH / H₂O ze względu na niską rozpuszczalność tych związków w czystej wodzie. W pełni sprotonowane formy

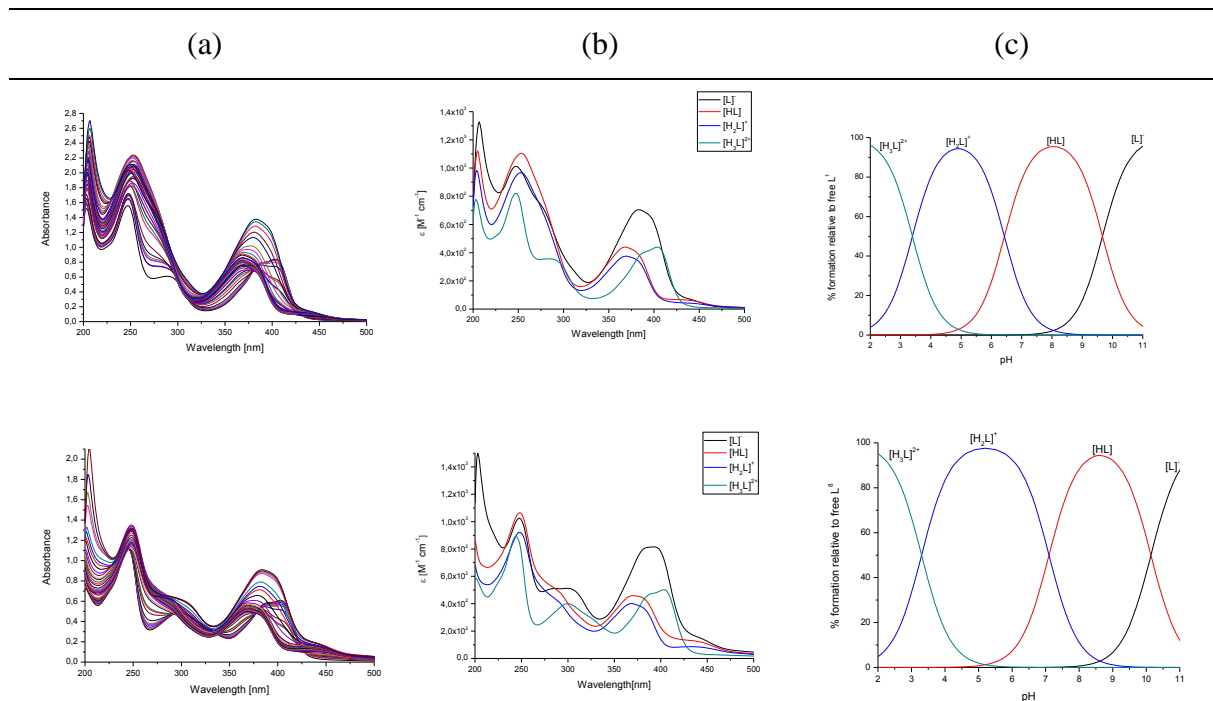
ligandów mają cztery lub pięć protonów dysocjujących, jeden w grupie hydrazanowej tiosemikarbazonu, jeden w pierścieniu pirydyny i dwa w ugrupowaniu piperazyny. Piąty proton pochodzi z dodatkowego pierścienia pirydynowego, pirymidynowego lub pirazynowego. Otrzymane stałe protonowania podano w **Tabeli 3**, a schemat rozmieszczenia postaci sprotonowanych wybranego liganda (L^2) przedstawiono na **Rysunku 16**.

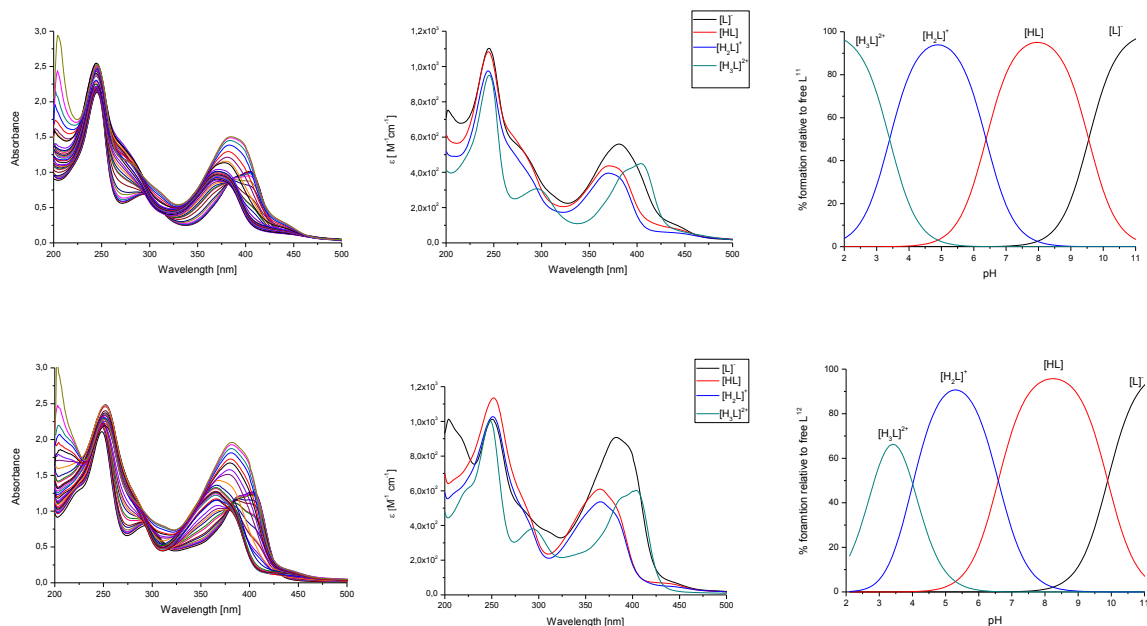
	$\log\beta_1^H$	$\log\beta_2^H$	$\log\beta_3^H$	$\log\beta_4^H$	$\log K_1$	$\log K_2$	$\log K_3$	$\log K_4$
L^1	9.67(1)	16.17(1)	19.49(1)		9.67	6.50	3.32	
L^2	9.73 (1)	15.40 (2)	18.70(2)		9.73	5.77	3.20	
L^3	9.25(1)	15.83(2)	19.05(2)		9.25	6.58	3.22	
L^4	9.58(1)	13.35(2)	19.76(3)		9.58	6.77	3.41	
L^5	9.47(1)	15.15(2)	18.31(2)		9.47	5.68	3.16	
L^6	9.43(1)	15.65(1)	18.91(1)		9.43	6.22	3.26	
L^7	9.94(1)	16.93(2)	20.21(3)		9.94	6.99	3.28	
L^8	9.96(1)	17.34 (1)	22.07(3)	25.39(3)	9.96	7.38	4.73	3.32
L^9	9.70 (1)	17.26 (2)	22.41(4)	25.58(4)	9.70	7.56	5.15	3.17
L^{10}	9.66 (1)	17.23 (1)	22.74(2)	25.96(3)	9.66	7.57	5.51	3.22
L^{11}	9.55(1)	15.93 (2)	19.33(2)		9.55	6.38	3.40	
L^{12}	9.63 (1)	16.37 (2)	19.60(2)		9.63	6.74	3.23	
Triapine	10.64 (1)	14.12 (1)			10.64	3.48		
Triapine [140]	10.86 (1)	14.65 (1)			10.86	3.79		

Tabela 3. Stałe protonacji ($\log\beta^H$) badanych ligandów L^1 - L^{12} w mieszaninie MeOH/H₂O.



Rys. 16. (a) miareczkowanie spektrofotometryczne w funkcji absorpcji w odniesieniu do pH wolnego liganda L^2 ; (b) widma elektronowe sprotonowanych cząsteczek liganda L^2 ; (c) krzywe rozmieszczenia sprotonowanych cząsteczek liganda L^2 w zależności od pH. ($I = 0.1 M$ (KCl) w 80% (w/w) MeOH/ H_2O ; $T = 25.0^\circ C$; $[L^2] = 5 \times 10^{-5} M$; pH = 1.60 - 11.02).





Rys. 17. (a) miareczkowanie spektrofotometryczne w funkcji absorpcji w odniesieniu do pH wolnych ligandów **L¹**, **L⁸**, **L¹¹** i **L¹²**; (b) widma elektronowe sprotonowanych cząsteczek ligandów; (c) krzywe rozmieszczenia sprotonowanych cząsteczek wybranych ligandów w zależności od pH. ($I = 0.1$ M (KCl) w 80% (w/w) MeOH/H₂O; $T = 25.0$ °C; $[L] = 5 \times 10^{-5}$ M; $pH = 1.9 - 11.5$).

Spektrofotometryczne miareczkowania UV / Vis ujawniły charakterystyczne zmiany widmowe w zakresie długości fali 240 - 450 nm. Wszystkie badane ligandy wykazywały intensywne pasma absorpcji w tym zakresie, które były zależne od sprotonowanego stanu cząsteczki. Pasma o maksymalnej absorpcji $\lambda_{max} \approx 380$ nm - 404 nm przypisano do przejść $n \rightarrow \pi^*$ pierścienia pirydynowego. Mniej intensywne pasma przy $\lambda \approx 290$ nm pochodziły głównie z przejść $\pi \rightarrow \pi^*$ chromoforu azometinowego.

Podczas pierwszego etapu deprotonowania ($[H_3L]^{2+} \rightarrow [H_2L]^+$) obserwuje się przesunięcie pasma ku fioletowi i zmniejszenie intensywności maksimum absorpcji w obszarze widzialnym. Kolejnym dwóm etapom deprotonacji towarzyszyło przesunięcie ku obszarowi czerwieni i wzrost intensywności pasma (**Rys. 17. (b)**) Po deprotonowaniu grupy N²-H ładunek ujemny jest przenoszony głównie do atomu siarki za pośrednictwem tautomerycznej równowagi tionowo-tiolowej.

Stałe dysocjacji protonów i widma poszczególnych ligandów (**Tabela 3**) obliczono na podstawie dekonwolucji widm UV-Vis zależnych od pH. Uzyskane wartości $\log K_a$ są zgodne z wcześniej opisanymi ligandami tiosemikarbazowymi [130, 140].

Dla badanych ligandów, pierwsza stała protonacji odpowiadała protonowaniu grupy hydrazanowej =N-NH. Obniżona o jeden rząd wielkości wartość stałej w porównaniu do innych zgłoszonych ligandów *N*-pirydylo-tiosemikarbazonowych ($\log K \sim 10.2 - 11$), można

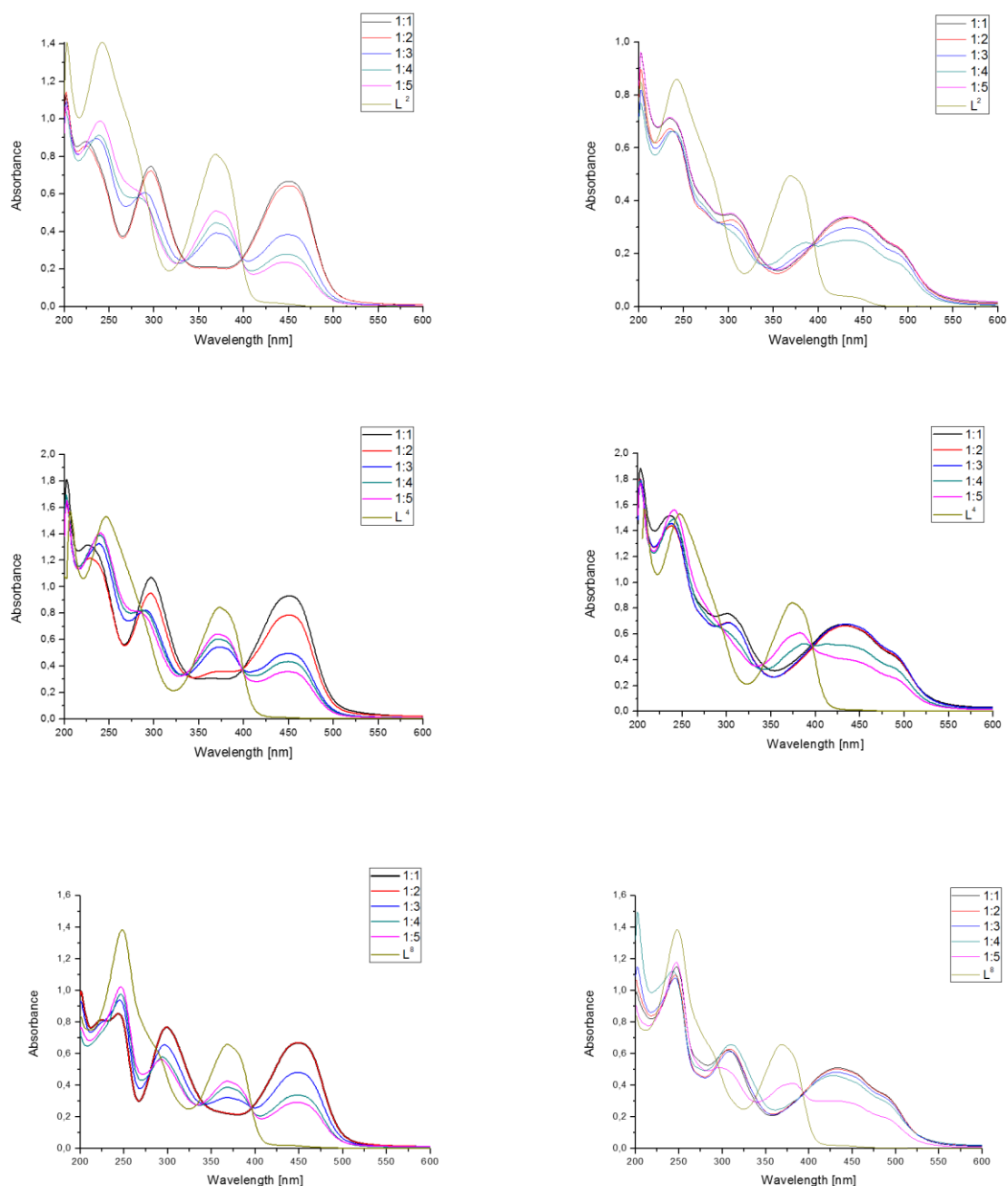
najprawdopodobniej przypisać podstawieniu pierścienia piperazynowego pierścieniem aromatycznym (L^1 - L^7), pirydyną (L^8 - L^{10}) lub pirymidyną i pirazyną odpowiednio w L^{11} i L^{12} . Efekt ten związany jest z odciąganiem elektronów przez podstawniki. Z drugiej strony wiązanie wodorowe między azotem pirydylowym i ugrupowaniem hydrazynowym =N-NH jest prawdopodobnie odpowiedzialne za znaczne różnice w wartości logK. Następną stałą protonacji, logK o wartości 5.7 - 7.2 została przypisana do ugrupowania piperazyny. Uzyskane wartości logK grupy funkcyjnej piperazyny badanych ligandów są porównywalne z podanymi wartościami [141]. LogK o wartości 3.1 - 3.4 można przypisać protonowaniu azotu pirydynowego. Wartości te są zgodne z najpopularniejszym tiosemikarbazonem - Triapiną i innymi opublikowanymi tiosemikarbazonami α -N-pirydyli [142]. Dla ligandów L^8 - L^{10} zaobserwowano dodatkowe logK o wartości 4.73, 5.15 i 5.51. Wartości te najprawdopodobniej odpowiadają protonowaniu dodatkowej grupy pirydynowej, co jest zgodne z tablicowymi wartościami logK pirydyny (5.23) [143]. Kolejne stałe protonowania wystąpiły znacznie poniżej pH = 2.5.

Biorąc pod uwagę stosowany rozpuszczalnik i porównując obserwowane dane z serią wcześniej zbadanych ligandów [140], zasadowość podstawników zawartych w ligandach najprawdopodobniej podąża za trendem: hydrazynowa grupa N^2H > piperazyna > dodatkowa grupa funkcyjna (np. pirydyna, pirymidyna lub pirazyna) \approx pirydyna.

W fizjologicznym pH = 7 - 8.5 dla przebadanych ligandów dominuje neutralna nienaładowana forma, co ułatwia ich łatwy transport przez błony komórkowe. To wyjaśnia, przynajmniej częściowo, wysoką aktywność biologiczną tych chelatorów przez mobilizację wewnątrzkomórkowego żelaza, zapobieganie wychytowi Fe z białka transportowego w surowicy (transferyny) i hamowaniu proliferacji komórkowej [144]. Postać sprotonowana stała się dominująca poniżej pH = 5, natomiast forma deprotonowana występowała jedynie powyżej pH = 11. Dlatego, jeśli te środki byłyby kiedykolwiek podawane jako leki drogą doustną, niskie pH żołądka (pH = 1 - 2) uniemożliwiłoby absorpcję leku z powodu dodatniego naładowania cząsteczki. Łatwiejsze wchłanianie miałyby miejsce w jelicie cienkim, gdzie wyższe pH (pH = 5 - 7) skutkowałoby występowaniem liganda w postaci obojętnego związku, czemu towarzyszyłby większy wychyt [145].

3.4.1.2. Zdolność do chelatowania Cu (II) i Fe (III)

W celu oceny zdolności tworzenia kompleksów przez badane ligandy będące pochodnymi Triapiny, wykonano spektroskopowe miareczkowanie roztworów wszystkich związków $L^1 - L^{12}$ jonami miedzi i żelaza. Miareczkowano badane ligandy jonami metali w celu wytworzenia ich kompleksów metalicznych przy następującym stosunku metalu do ligandu 1:1 - 1:5. Na **Rysunku 18** przedstawiono krzywe izobestyczne wybranych ligandów.



Rys. 18. Elektronowe widma absorpcyjne Cu (II) i Fe (III) - L^2 , L^4 , L^8 zarejestrowane przy różnych stosunkach metalu do liganda. I = 0,1 M (KCl) w 80% (w/w) MeOH / H₂O; T = 25,0°C; [L] = 5×10^{-5} M.

Dodanie jonu metalu do roztworu liganda powoduje rozległe zmiany w obszarze widzialnym widm ligandów. Te zmiany sugerują natychmiastowe tworzenie kompleksów w roztworach w reakcji każdego z badanych ligandów z użytymi jonami metali. Wszystkie ligandy wykazywały charakterystyczne intensywne przejścia w zakresie 400 - 500 nm dla Cu (II) i 380 - 510 nm dla Fe (III), które rozciągały się do obszaru widzialnego. Na **Rysunku 18** pokazano elektronową zmianę widmową obserwowaną w roztworze MeOH / H₂O (80/20), gdy dodano Cu (II) lub Fe (III) do wybranych ligandów L², L⁴ i L⁸. W przypadku braku jonów metali jasnożółty roztwór wykazywał intensywne pasma absorpcji przy $\lambda_{\max} \approx 250$ nm, $\lambda_{\max} \approx 290$ nm i $\lambda_{\max} \approx 380$ nm - 404 nm. Po dodaniu roztworu jonów Cu (II) lub Fe (III) sygnały samego liganda zmniejszyły się, a natężenia kompleksu zwiększyły się przy 430 - 450 nm z niektórymi punktami izobastycznymi przy $\lambda \approx 337$ nm i 395 nm. Obecność tego pasma wskazuje na przenoszenie ładunku liganda do metalu, które jest typowe dla kompleksu Cu (II). To pasmo przeniesienia odpowiada przejściu S → Cu (II) i Npy → Cu (II). Podobne pasma przeniesienia ładunku liganda do metalu zaobserwowano również w kompleksach innych ligandów TSCs [140, 141]. Nie zaobserwowano pasm przejść d-d ze względu na niskie stężenie kompleksów Cu (II) w roztworze. Pasma te powinny mieć małą intensywność w zakresie 600 - 700 nm.

W badanych ligandach tworzeniu się mono-kompleksów żelaza (III) tworzyły szerokie pasmo w przedziale 450 - 620 nm. Ponieważ ligandy niezawierające metali nie absorbują w tym regionie, są to najprawdopodobniej pasma przenoszące ładunek (CT) kompleksów Fe-L. Dodatkowo opracowaliśmy charakterystyczne pasma CT $\lambda_{\max} \approx 639$ nm kompleksów Fe (III) - L o długości fali 580 - 680 nm, które również wykryto w innych kompleksach Fe (III) - TSC [141, 142]. Analiza otrzymanych wyników wykazała, że przedstawione ligandy mogą działać jako skuteczne chelatory miedzi i żelaza.

Nr	Miedź			Żelazo		
	Wzrost intensywności pasma absorpcji po koordynacji metalu	Spadek intensywności pasma absorpcji po koordynacji metalu	Punkty izobestyczne	Wzrost intensywności pasma absorpcji po koordynacji metalu	Spadek intensywności pasma absorpcji po koordynacji metalu	Punkty izobestyczne
L ¹	247 nm, 370 nm	450 nm	325 nm, 401 nm	306 nm	433 nm	397 nm
L ²	370 nm	≈ 293 nm, 450 nm	334 nm, 397 nm	370 nm nowe pasmo w obszarze widzialnym przy 310 nm	450 nm	394 nm
L ⁴	373 nm	≈ 296 nm, 450 nm	337 nm, 398 nm	381 nm nowe pasmo w obszarze widzialnym przy 303 nm	436 nm	337 nm, 397 nm
L ⁵	370 nm	450 nm	336 nm, 397 nm	370 nm	433 nm	393 nm
L ⁷	370 nm	450 nm	336 nm, 397 nm	269 nm, 376 nm;	436 nm	393 nm
L ⁹	-	≈ 298 nm, 450 nm	342 nm, 395 nm	-	≈ 304 nm, 430 nm	393 nm
L ¹²	365 nm	450 nm	340 nm, 389 nm	366 nm	430 nm	395 nm

Tabela 4. Zmiany w widmach absorpcji i punkty izobestyczne dla wybranych ligandów.

3.4.2. Porównanie aktywności przeciwnowotworowej i selektywności wybranych tiosemikabazonów opartych na 3-aminopirydynokarbalddehydzie do Triapiny

Otrzymane związki - analogi Triapiny, zawierające w swojej strukturze piperazynę badane były w laboratorium dr Anny Mrozek - Wilczkiewicz oraz dr Katarzyny Malarz z Zakładu Fizyki Ciała Stałego Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach pod kątem ich cytotoksyczności wobec komórek nowotworowych jelita grubego z obecnym (HCT116 p53^{+/+}) i usuniętym genem supresorowym TP53 - kodującym białko p53 (HCT116 p53^{-/-}), linii komórkowej guza mózgu U-251 i Hs683 oraz linii komórkowej nowotworu piersi MCF-7. By związki mogły być z powodzeniem stosowane jako leki przeciwnowotworowe muszą wykazywać selektywność względem komórek nowotworowych i normalnych, niezmiennych chorobowo komórek, dlatego testowano otrzymane związki wobec linii komórkowej NHDF - wyniki przedstawiono w **Tabeli 5**.

Poziom aktywności:

IC₅₀: < 1 μM

IC₅₀: 1 - 6.25 μM

IC₅₀: > 6.25 μM

Nr	IC ₅₀ [μM]					
	HCT116 p53 ^{+/+}	HCT116 p53 ^{-/-}	MCF-7	U-251	Hs683	NHDF
L¹	1.524 ± 0.445	0.128 ± 0.012	0.532 ± 0.145	0.403 ± 0.090	1.436 ± 0.358	>25
L²	0.526 ± 0.077	0.152 ± 0.074	0.360 ± 0.111	0.887 ± 0.158	2.487 ± 0.512	>25
L³	0.120 ± 0.005	0.167 ± 0.018	0.204 ± 0.049	0.128 ± 0.012	1.483 ± 0.335	>25
L⁴	1.328 ± 0.209	0.185 ± 0.088	0.424 ± 0.149	0.649 ± 0.170	4.457 ± 0.954	>25
L⁵	1.450 ± 0.452	0.7461 ± 0.354	3.807 ± 1.023	2.569 ± 0.675	10.050 ± 2.643	>25
L⁶	0.139 ± 0.016	0.270 ± 0.007	0.470 ± 0.097	0.381 ± 0.042	1.894 ± 0.812	>25
L⁷	0.762 ± 0.238	1.133 ± 0.049	2.536 ± 0.400	3.084 ± 1.273	4.624 ± 1.031	>25
L⁸	1.900 ± 0.292	0.139 ± 0.020	1.120 ± 0.113	1.070 ± 0.280	1.162 ± 0.307	>25
L⁹	0.422 ± 0.113	0.123 ± 0.061	0.204 ± 0.024	0.277 ± 0.058	0.844 ± 0.238	>25
L¹⁰	0.170 ± 0.015	0.159 ± 0.011	0.258 ± 0.040	0.137 ± 0.016	0.195 ± 0.021	>25
L¹¹	0.668 ± 0.045	0.650 ± 0.055	1.730 ± 0.388	1.268 ± 0.374	2.838 ± 0.581	>25
L¹²	0.435 ± 0.108	0.342 ± 0.042	2.218 ± 0.638	0.743 ± 0.109	2.595 ± 0.237	>25
Triapina	1.121 ± 0.277	1.336 ± 0.338	2.328 ± 0.431	1.476 ± 0.558	1.763 ± 0.292	>25

Tabela 5. Aktywność antyproliferacyjna (IC₅₀) nowych analogów 3-AP w porównaniu z Triapina w różnych typach komórek nowotworowych i prawidłowych komórek ludzkich fibroblastów (NHDF).

Wszystkie badane analogi wykazały znacznie wyższą aktywność antyproliferacyjną niż Triapina. Najaktywniejszym związkiem okazał się związek **L³** o wartości IC₅₀ równej 0,12 μM wobec linii komórkowej HCT116 p53^{+/+}. Aktywność tego związku była bardzo podobna dla wszystkich badanych linii nowotworowych i oscylowała wokół 0,12 - 0,2 μM. Ta pochodna wykazała również obiecujący indeks terapeutyczny (208 w przypadku HCT116 p53^{+/+}, **Tabela 6.**), ponieważ jego cytotoksyczność wobec normalnych linii komórkowych jest stosunkowo niska. Wyjątkiem jest jednak linia komórkowa glejaka Hs683, ponieważ wartość IC₅₀ jest dziesięciokrotnie wyższa dla związku **L³**. W rzeczywistości linia komórkowa Hs683 wykazywała oporność na prawie wszystkie testowane analogi, z wyjątkiem pochodnych **L⁹** i **L¹⁰**. Te dwa analogi były aktywne wobec wszystkich testowanych linii komórek nowotworowych.

Analiza aktywności badanych ligandów wykazała, że związki halogenowane na końcowym pierścieniu aromatycznym, wykazywały wyższą aktywność niż ich niepodstawione odpowiedniki (np. **L¹** w porównaniu z **L²** i **L³**). Związki z pierścieniami diazynowymi okazały się mniej aktywne niż fenol (**L¹** w porównaniu do **L¹¹** i **L¹²**), a pierścień pirydynowy wytworzył pochodną, która była jeszcze mniej aktywna (**L⁸**). Wprowadzenie grupy trifluorometylowej do struktury tiosemikarbazonu skutkowało uzyskaniem bardzo

aktywnych analogów wobec wszystkich testowanych linii komórek nowotworowych oraz wykazujących niższą toksyczność wobec prawidłowych fibroblastów (**L⁶**, **L⁹**, **L¹⁰**). Wpływ obecności genu supresorowego TP53 na podatność komórki na działanie niektórych analogów Triapiny jest interesujący. Pochodne **L¹**, **L⁴**, **L⁵** i **L⁸** były około 2 - 14 razy bardziej skuteczne wobec linii HCT116 p53^{-/-} niż wobec komórek typu dzikiego. Z kolei efekt ten jest odwrotny w przypadku związku **L⁷**, który okazały się nieco mniej aktywny wobec linii komórkowej z usuniętym genem TP53. Oprócz tych obserwacji okazało się, że komórki raka jelita grubego, piersi i glejaka U-251 są podobnie podatne na działanie badanych TSCs.

Interesującym wyjątkiem była linia komórkowa Hs683, która okazała się stosunkowo odporna na prawie wszystkie badane związki z dziesięciokrotnie wyższą średnią wartością IC₅₀. Wyjaśnić to może inny poziom podstawowej homeostazy żelaza, np. z różnych poziomów aktywności i stężeń receptorów transferyny (Tf). Linia komórkowa Hs683 jest znacznie bardziej oporna niż linia U-251 na toksyny Tf, np. białko przeciwwirusowe lub dezaktywujące rybosomy [146].

Podsumowując, analizowane związki wykazują obiecujące właściwości jako środki przeciwnowotworowe o silnej i selektywnej aktywności antyproliferacyjnej (**Tabela 6**). Analiza zależności struktura - aktywność ujawnia, że wprowadzenie pierścienia piperazyny do struktury Triapiny pozwala uzyskać silne i selektywne chelatory przeciwnowotworowe. W szczególności związki **L⁹** i **L¹⁰**, które posiadają w swoich strukturach atomy fluoru, wykazują najlepszą aktywność wobec wszystkich badanych linii nowotworowych. Z tego powodu wybrano związek **L⁹** do dokładniejszego zbadania molekularnych mechanizmów jego aktywności.

Wartości oznaczono kolorami:

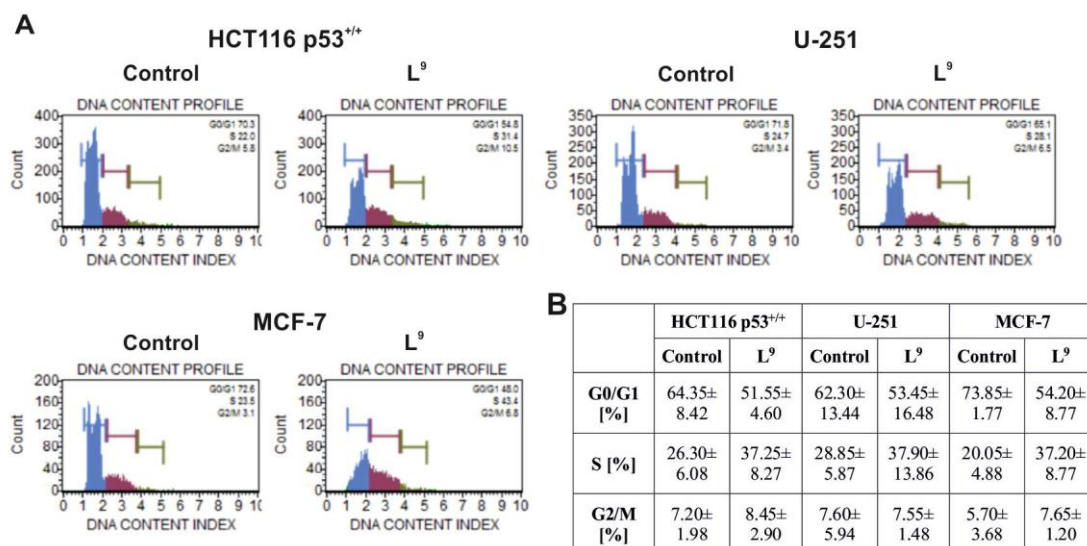
- TI > 25
- TI 2.5-25
- TI < 2.5

Indeks terapeutyczny (TI)					
Nr	NHDF vs. HCT116 p53 ^{+/+}	NHDF vs. HCT116 p53 ^{-/-}	NHDF vs. MCF-7	NHDF vs. U-251	NHDF vs. Hs683
L ¹	>16	>195	>47	>62	>17
L ²	>48	>164	>69	>28	>10
L ³	>208	>150	>123	>195	>17
L ⁴	>19	>135	>59	>39	>6
L ⁵	>17	>34	>7	>10	>2
L ⁶	>180	>93	>53	>66	>13
L ⁷	>33	>22	>10	>8	>5
L ⁸	>13	>180	>22	>23	>22
L ⁹	>59	>203	>123	>90	>30
L ¹⁰	>147	>157	>97	>182	>128
L ¹¹	>37	>38	>14	>20	>9
L ¹²	>57	>73	>11	>34	>10
Triapina	>22	>19	>11	>17	>14

Tabela 6. Indeksy terapeutyczne (ang. *Therapeutic index (TI)*) wybranych tiosemikarbazonów opisujące ich selektywność wobec normalnych komórek.

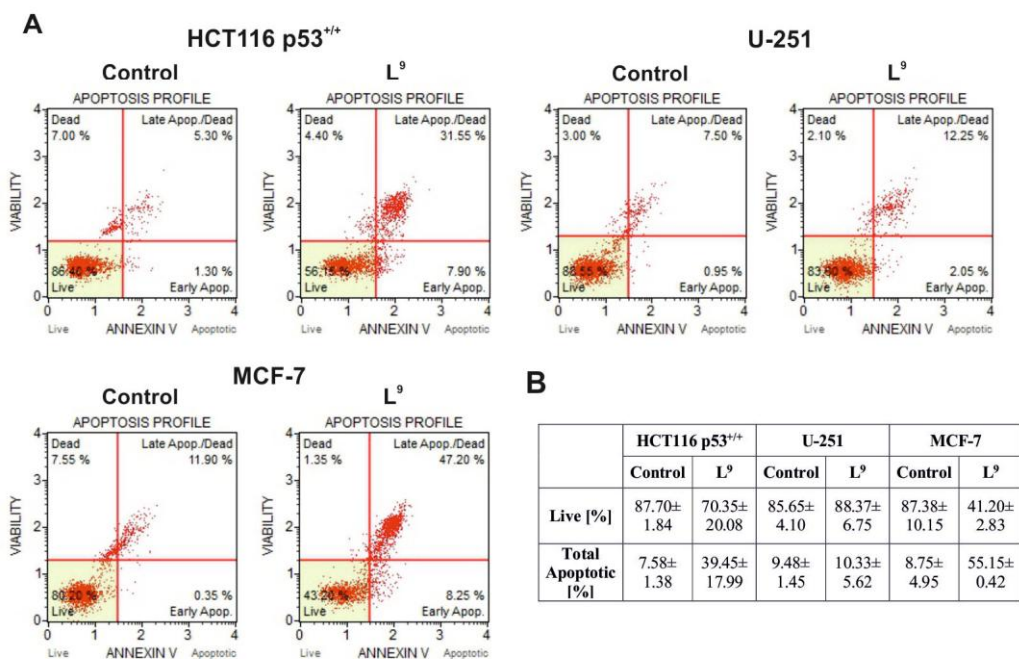
3.4.2.1. Analiza cyklu komórkowego

Jednym z najaktywniejszych tiosemikarbazonów w badanej serii jest związek L⁹. Na **Rysunku 19** przedstawiono wyniki ilustrujące wpływ związku na regulację cyklu komórkowego w liniach komórkowych HCT116 p53^{+/+}, U-251 i MCF-7. Zaobserwowano spadek procentowej ilości komórek w fazie G0 / G1 już 24 godziny po podaniu związku L⁹ we wszystkich liniach komórkowych. Efekt ten był szczególnie silny w komórkach U-251, w których L⁹ zmniejszył odsetek komórek w fazie G0 / G1 do 50% w porównaniu z komórkami nieleczonymi (78%) (**Rys. 19. (B)**). Dodatkowo, związek L⁹ indukował wzrost ilości komórek w fazie S we wszystkich testowanych liniach komórkowych, a najsilniejszy efekt zaobserwowano dla linii komórkowej U-251 (41%). 24 godziny po podaniu związku L⁹, nie zaobserwowano żadnych zmian w ilości komórek w fazie G2 / M w porównaniu z nieleczoną linią kontrolną. Wyniki te sugerują, że badane TSCs mogą indukować zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 / S, przyczyniając się w ten sposób do indukowania śmierci komórki.



Rys. 19. Wpływ związku **L⁹** na regulację cyklu komórkowego w komórkach HCT116 p53^{+/+}, U-251 i MCF-7. Histogramy pokazują procent komórek w fazach G0 / G1, S i G2 / M cyklu komórkowego (A). W tabeli przedstawiono średni procent komórek w fazach G0 / G1, S i G2 / M cyklu komórkowego z trzech niezależnych eksperymentów (B).

Przebadano również zdolność związku **L⁹** do indukowania apoptozy w komórkach HCT116, U-251 i MCF-7 stosując wybarwienie aneksyną V-FITC (**Rys. 20.**). Największy procent komórek apoptotycznych zaobserwowano w przypadku linii komórkowej MCF-7. W tym przypadku wykryto sześciokrotny wzrost liczby martwych komórek (w porównaniu z komórkami nieleczonymi). Całkowita wartość apoptotyczna wynosiła 55% (**Rys. 20. (B)**). W przypadku HCT116 p53^{+/+} zaobserwowano czterokrotny wzrost liczby martwych komórek. W przypadku linii komórkowej U-251, odsetek komórek apoptotycznych był trzykrotnie wyższy w komórkach do których podano związek **L⁹** niż w grupie kontrolnej.



Rys. 20. Ocena indukcji apoptozy w komórkach HCT116 p53^{+/+}, U-251 i MCF-7 po 48 h po podaniu związku L⁹. Histogramy pokazują procent wczesnej i późnej apoptozy dla jednego z trzech niezależnych eksperymentów (A). W tabeli przedstawiono średni procent żywych, wczesnych i późnych komórek apoptycznych z trzech niezależnych eksperymentów (B).

3.5. Aktywność przeciwnowotworowa wybranych tiosemikarbazonów

Oznaczenia cytotoksyczności *in vitro* zostały wykonane przez dr Katarzynę Malarz w ramach badań prowadzonych do rozprawy doktorskiej w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Oznaczenia wykonano przy użyciu testu MTS (kolorymetryczna metoda detekcji proliferujących komórek) przede wszystkim wobec linii komórkowej HCT116 nowotworu jelita grubego typu dzikiego HCT116 p53^{+/+} oraz z usuniętym genem TP53 (kodującym białko p53) HCT116 p53^{-/-}, ponieważ ten typ nowotworu jest szczególnie związany z wyższym wychwytem i metabolizmem żelaza, co czyni go potencjalnie podatnym na leczenie ukierunkowane na homeostazę żelaza. Badano również cytotoksyczność otrzymanych TSCs wobec linii komórkowych nowotworów mózgu – U-251 i Hs683 oraz nowotworu piersi MCF-7, natomiast selektywność tiosemikarbazonów badano względem linii NHDF prawidłowych komórek ludzkich fibroblastów. Zastosowany test oparty jest na zdolności enzymu dehydrogenazy mitochondrialnej do przekształcania pomarańczowej, rozpuszczalnej w wodzie soli tetrazolowej (MTS) w obecności metosiarczanu fenazy (PMS) do formazanu będącego produktem końcowej reakcji. Zdolność do produkcji formazanu mają tylko żywe

komórki – pozwala to na dokładne wyznaczenie procentu funkcjonalnych komórek i wpływu leku na żywotność linii komórkowej. Oznacza się go spektrofotometrycznie i na tej podstawie wyznacza się wartość IC₅₀ – stężenie substancji powodujące zahamowanie wzrostu populacji komórek o połowę.

Poziom aktywności:

IC₅₀: < 1 μM

IC₅₀: 1 - 6.25 μM

IC₅₀: > 6.25 μM

Nazwa	BIOLOGIA					
	HCT 116 ^{+/+} UK[μM]	HCT 116 ^{-/-} [μM]	MCF-7 [μM]	U-251 [μM]	Hs 683 [μM]	NHDF [μM]
1a	0,5263 ± 0,0774	0,1518 ± 0,07441	0,3600 ± 0,1113	0,8874 ± 0,1576	2,487 ± 0,512	>25
1b	1,328 ± 0,209	0,1847 ± 0,0881	0,4238 ± 0,1486	0,6493 ± 0,1703	4,457 ± 0,9535	>25
1c	1,524 ± 0,4445	0,1277 ±0,0115	0,5319 ± 0,1446	0,4034 ± 0,090	1,436 ± 0,3575	>25
1d	1,450 ± 0,4515	0,7461 ± 0,354	3,807 ± 1,023	2,569 ± 0,675	10,05 ± 2,643	>25
1e	1,457 ± 0,195	0,5294± 0,03895	1,272 ± 0,1395	2,046 ± 0,6885	0,8427 ± 0,1518	>25
1f	0,4217 ± 0,1131	0,1234 ±0,0612	0,2042 ± 0,0236	0,2771 ± 0,0583	0,8443 ± 0,2377	25,23± 2,57
1g	1,9 ± 0,292	0,1388 ± 0,0196	1,120 ± 0,1125	1,070 ± 0,2795	1,162 ± 0,3071	>25
1h	0,3076 ± 0,0216	0,4778 ± 0,0325	0,3164 ± 0,0594	0,3603 ± 0,0951	0,6895 ± 0,2612	23,31 ± 2,59
1i	0,7623 ± 0,2384	1,133 ± 0,049	2,536 ± 0,4	3,084 ± 1,2725	4,624 ± 1,031	>25
1j	0,1387 ± 0,0158	0,2701 ± 0,0068	0,4700 ± 0,0968	0,3805 ± 0,0416	1,894 ± 0,812	>25
1k	0,6679 ± 0,0452	0,6500 ± 0,0546	1,730 ± 0,388	1,268 ± 0,3742	2,838 ± 0,581	>25
1l	0,1399 ± 0,0157	0,2769 ± 0,0088	0,2247 ± 0,0382	0,2954 ± 0,0286	6,521 ± 1,483	>25
1m	0,1199 ± 0,0048	0,1667 ± 0,0183	0,2036 ± 0,0489	0,1275 ± 0,01245	1,483 ± 0,3345	>25
1n	0,1695 ± 0,0145	0,1592 ± 0,0109	0,2576 ± 0,0399	0,1372 ± 0,0163	0,1952 ± 0,0211	>25
1o	0,3453 ± 0,1165	0,5284 ± 0,0444	0,9323 ± 0,3397	1,073 ± 0,2308	2,119 ± 0,654	>25
1p	0,4345 ±	0,3421 ±	2,218 ±	0,7426 ±	2,595 ±	>25

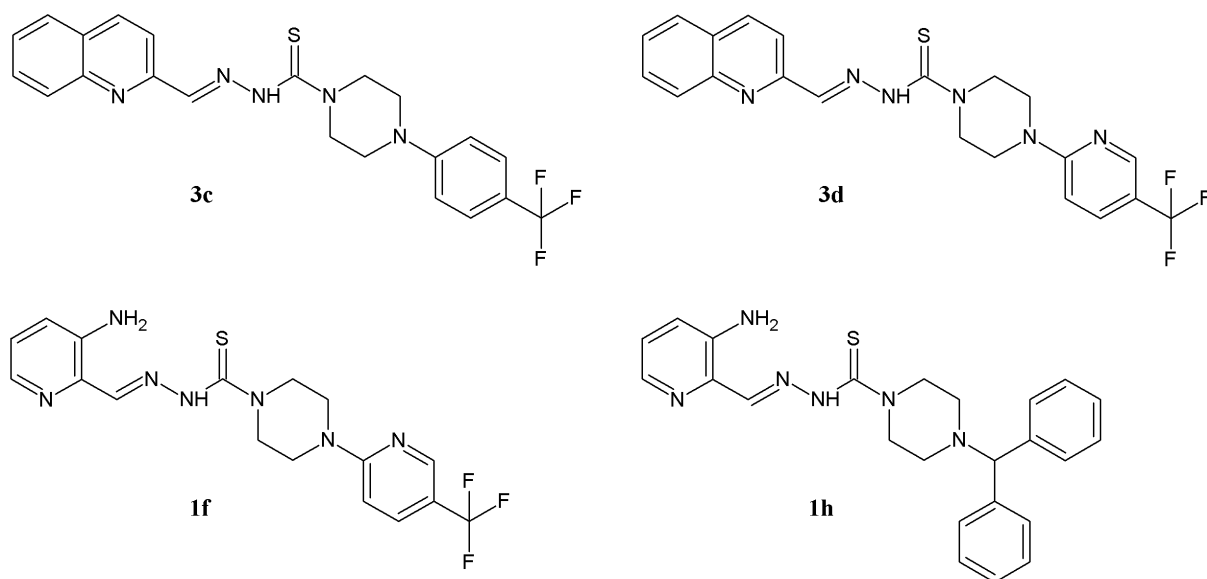
	0,1075	0,0416	0,638	0,1088	0,237	
2a	5,133 ± 1,235	0,2292 ± 0,0788	0,5390 ± 0,1042	0,1913 ± 0,0536	6,946 ± 3,646	>25
2b	0,1718 ± 0,0542	0,0138 ± 0,0038	0,0150 ± 0,0057	0,0214 ± 0,0056	0,5088 ± 0,2850	>25
2c	0,2978 ± 0,0743	0,01017 ± 0,0031	0,0206 ± 0,0056	0,0363 ± 0,0069	4,676 ± 2,86	13,28 ± 0,56
3a	0,5568 ± 0,1427	0,4258± 0,0337	0,2288 ± 0,1089	0,1831 ± 0,0557	6,326 ± 1,612	>25
3b	18,31±0,92	5,848± 0,4505	-	-	-	13,06±1,9
3c	0,1393 ± 0,0131	0,0663± 0,0186	0,0657 ± 0,0178	0,1691 ± 0,0169	0,2170 ± 0,0556	12,09± 0,61
3d	0,1833 ± 0,0371	0,1377± 0,0499	0,0714 ± 0,0210	0,1321 ± 0,0393	0,2669 ± 0,0635	16,66± 5,57
4	11,69 ±1,77	8,415 ± 1,3275	-	-	-	>25
5a	0,3105 ±0,0560	0,01538 ± 0,0040	0,0711 ± 0,0180	0,1511 ± 0,0417	0,1701 ± 0,034	12,87 ± 0,99
5b	3,197 ± 1,321	0,1440 ± 0,0183	0,1617 ± 0,0531	0,1946 ± 0,0409	0,5604 ± 0,2754	>25
5c	0,8447 ±0,1944	0,1818 ± 0,0263	0,1872 ± 0,0356	0,2014 ± 0,0235	0,4508 ± 0,1933	10,3 ± 1,074
5d	0,2272 ± 0,1504	0,0185 ± 0,00304	0,0336 ± 0,00304	0,2803 ± 0,0876	0,4762 ± 0,1927	12,32 ± 0,37
6a	15,87 ± 5,97	8,330 ± 1,371	-	-	-	>25
6b	>25	11,69 ± 3,71	-	-	-	>25
6c	24,79 ±0,203	8,953 ± 0,203	-	-	-	>25
7	>25	21,74 ± 1,625	-	-	-	-
8a	7,986 ± 1,724	2,598 ± 0,334	-	-	-	15,62 ± 0,92
8b	4,380 ± 1,971	1,726 ± 0,6265	-	-	-	12,07 ± 2,834
8c	13,16 ± 1,535	6,00 ± 0,395	-	-	-	21,51 ± 3,02
8d	6,568 ± 4,56	2,973 ± 1,414	-	-	-	17,03 ± 3,755
8e	5,298 ± 1,333	1,405 ± 0,4225	-	-	-	>25
8f	19,24 ± 2,94	7,756 ±	-	-	-	>25

		1,568				
8g	8,032 ± 1,227	2,253 ± 0,8715	-	-	-	19,93 ± 2,81
8h	4,76 ± 0,78	1,92 ± 0,31	-	-	-	14,48 ± 0,79
8i	4,00 ± 0,62	3,37 ± 0,60	-	-	-	>25
8j	4,58 ± 0,45	2,26 ± 0,49	-	-	-	18,53 ± 5,2
8k	5,38 ± 0,63	3,25 ± 0,53	-	-	-	>25
8l	9,56 ± 1,09	3,56 ± 0,17	-	-	-	>25
9	>25	16,57 ± 1,04	-	-	-	>25
10	11,36 ± 4,69	9,37 ± 0,65	-	-	-	>25
11a	>25	21,74 ± 1,625	-	-	-	-
11b	12,1 ± 1,03	11,15 ± 4,026	-	-	-	>25
11c	22,55 ± 1,36	20,43 ± 1,75	-	-	-	-
12a	11,78 ± 3,275	20,43 ± 2,29	-	-	-	>25
12b	>25	22,21 ± 0,825	-	-	-	-
13	>25	15,83 ± 7,6205	-	-	-	-

Tabela 7. Wartości aktywności przeciwnowotworowej (IC₅₀) wybranych TSCs.

W Tabeli 7 przedstawiono otrzymane tiosemikarbazony wykazujące aktywność przeciwnowotworową. Wyniki wykazują, że najaktywniejsze związki oparte są na 2-chinoliokarbaldyde oraz 3-aminopirydylo-2-karbaldydie. Analiza struktury związków zawierających grupę trifluorometylową cechujących się wysoką aktywnością antyproliferacyjną wobec przedstawionych linii komórkowych – **3c** i **3d** wykazała, że na ich aktywność wpływa obecność atomu azotu w pierścieniu aromatycznym, mianowicie zastąpienie jednego atomu węgla atomem azotu skutkuje spadkiem aktywności przeciwnowotworowej tiosemikarbazonu.

Najaktywniejszymi przedstawicielami otrzymanych tiosemikarbazonów opartych na 3-aminopirydylo-2-karbaldydie są tiosemikarbazony **1f** i **1h**. Związek **1f** zawiera w swojej strukturze grupę trifluorometylową, co jest zgodne z wcześniej zauważoną zależnością, natomiast grupa difenylometylowa obecna w związku **1h** może korelować z wysoką lipofilowością związku, a tym samym wysoką aktywnością TSC.



Rys. 21. Struktury najaktywniejszych przeciwnowotworowo TSCs - ich aktywność wzrasta zgodnie ze schematem **3c > 3d > 1f > 1h**.

Tiosemikarbazony oparte na 2-chlorotioksantonie, 2,5-difluorobenzaldehydzie, 2,6-difluorobenzaldehydzie, dihydroksyacetonie, 2-fluorobenzaldehydzie, glikozydzie aldehydu salicylowego, 4-hydroksy-2-metoksybenzaldehydzie, 2-nitrobenzaldehydzie, 4-nitrobenzaldehydzie, 3-pentanonie i 2,4,6-trihydroksybenzaldehydzie nie wykazały istotnej aktywności przeciwnowotworowej.

3.6. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza wybranych tiosemikarbazonów

Oznaczenia aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej zostały wykonane przez prof. Josefa Jampilka z Comenius University w Bratysławie, Słowacja oraz grupy współpracowników z University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences w Brnie, Republika Czeska.

Zsyntezowane związki oceniono pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej wobec wybranych szczepów wielolekoopornych oraz izolowanych szczepów opornych na metycylinę lub izoniazyd tj. *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) MRSA 63718, MRSA SA 630 i MRSA SA 3202, *Enterococcus faecalis* (paciorkowiec kałowy), *Mycobacterium tuberculosis* (prątek gruźlicy) H37Ra, *Mycobacterium kansasii* (zakaźny prątek niegruźliczy) DSM 44162, *Mycobacterium marinum* (prątek morski) CAMP 5644, stosując linie *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i *Mycobacterium smegmatis* (prątek saprofityczny) ATCC 700084 jako odniesienie, natomiast jako próbę kontrolną stosowano Cyklopiroks (CPX), N-(3-aminopropyl)morfolinę (APM) oraz Izoniazyd (INH).

W przypadku *S. aureus* i *E. faecalis* do określenia minimalnego stężenia hamującego (MIC) zastosowano mikro – metodę rozcieńczania w bulionie MH (Mueller Hinton Broth), zmodyfikowaną zgodnie z wytycznymi NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), natomiast w przypadku *Mycobacterium* stosowano mikro – metodę rozcieńczania w pożywce Middlebrook 7H9. MIC określono jako najniższe stężenie związku, przy którym nie zaobserwowano wzrostu bakterii. Wartość MIC jest szeroko stosowana w testach bakteryjnych i jest standardowym poziomem wykrywalności według Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Syntezywane związki oceniono pod kątem ich aktywności przeciwgrzybiczej wobec izolowanych szczepów *Candida albicans* (bielnik biały) CCM 8261, *Candida krusei* CCM 8271 oraz *Candida parapsilosis* CCM 8260. Zastosowano metodę mikrorozcieńczeń w bulionie RPMI-1640 do stężeń 128-0,016 µg/ml, natomiast jako próbę kontrolną stosowano Flucytozynę (FTC) i Amfoterycynę B (amf B). Po inkubacji płytek aktywność związków oceniono jako minimalne stężenie (MIC), które w widoczny sposób zahamowało wzrost grzybów.

W **Tabeli 8** przedstawiono wyniki aktywności przeciwbakteryjnej, natomiast w **Tabeli 9** wyniki aktywności przeciwgrzybiczej wybranych tiosemikarbazonów.

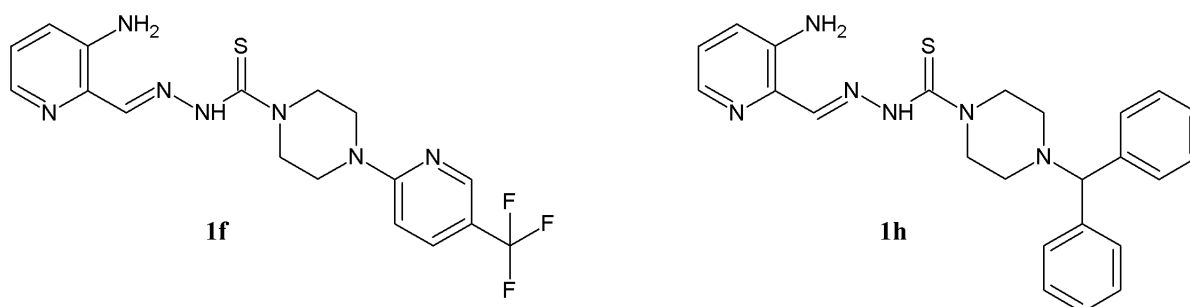
3.6.1. Aktywność przeciwbakteryjna

Nazwa	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	MRSA 63718	MRSA SA 630	MRSA SA 3202	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>Mtb</i> H37Ra	<i>M. smegmatis</i> ATCC 700084	<i>M. kansasii</i> DSM 44162	<i>M. marinum</i> CAMP 5644
1d	175	701	175	87.5	87.5	87.5	175	175	175
1f	78.1	625	312	19.5	156	625	78.1	7.81	4.88
1g	374	93.7	93.7	93.7	749	374	749	9.37	5.86
1h	148	297	148	297	74.3	9.29	594	9.29	4.65
8a	571	571	571	571	571	571	286	571	571
8c	301	301	301	150	150	9.40	301	37.6	75.2
8d	551	551	275	275	551	34.4	551	551	551
8e	576	288	288	288	576	72.0	576	576	576
8g	153	305	305	153	610	305	76	610	305
8h	65.6	131	131	32.8	525	65.6	131	32.8	131
8i	131	262	131	131	524	32.7	131	32.7	262
8j	516	516	258	516	516	129	65	129	258
8k	262	524	524	524	524	65.5	131	32.7	262
8l	38.1	152	38.1	76.1	609	19.03	304	76.1	304
11a	159	319	319	159	639	39.9	639	79.9	319
11b	146	583	146	291	583	146	146	36	146

11c	555	555	555	555	138	138	555	555	555
11d	217	433	433	217	867	867	867	867	867
11e	86	172	689	172	689	345	172	345	689
12a	170	682	682	682	682	5.33	341	5.33	341
12c	825	825	825	825	825	825	825	825	825
12d	641	641	641	641	641	641	641	641	641
12e	217	435	869	435	869	869	869	869	869
14a	502	502	502	502	502	502	251	520	502
14b	278	556	278	556	278	556	556	556	556
14c	130	518	259	259	130	518	518	130	518
CPX	0.75	48.3	48.3	48.3	1.4	48.3	0.38	3.02	0.75
AMP	5.72	45.8	45.8	45.8	2.1	-	-	-	-
INH	-	-	-	-	-	36.5	117	29.2	467

Tabela 8. Aktywność przeciwbakteryjna wybranych tiosemikarbazonów. Kolorem żółtym zaznaczono obiecujące wyniki testów.

Badane tiosemikarbazony nie wykazały znaczącej aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepów *S. aureus*, natomiast ciekawą aktywność zaobserwowano w przypadku szczepów *Mycobacterium*. Najniższe wartości MIC uzyskano w przypadku TSCs opartych na aldehydzie 5-bromosalicylowym i 3-aminopirydylo-2-karbaldehydzie, a najaktywniejszymi związkami spośród badanych okazały się **1f** oraz **1h**.



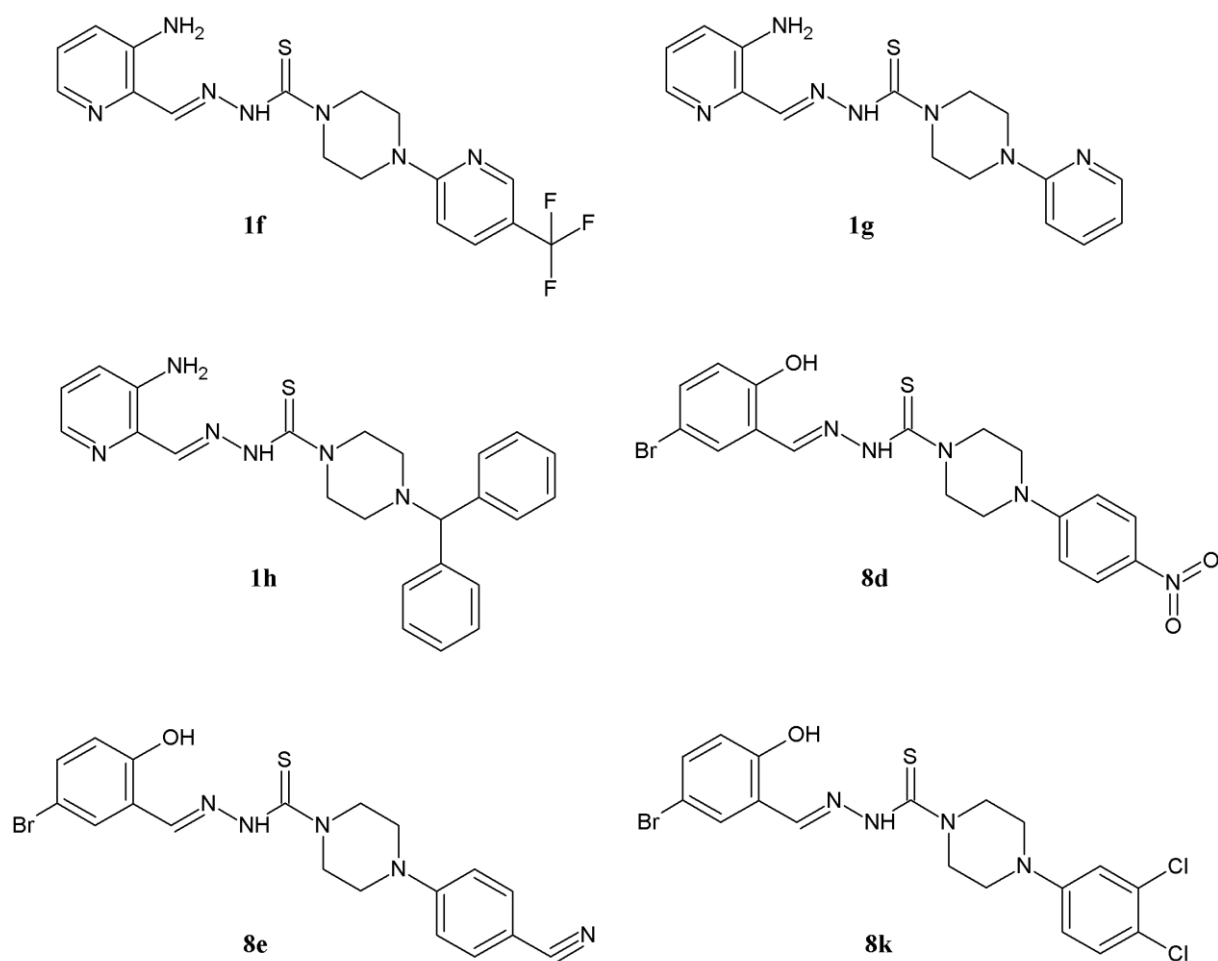
Rys. 22. Struktury najaktywniejszych przeciwbakteryjnie tiosemikarbazonów.

3.6.2. Aktywność przeciwgrzybicza

Nazwa	<i>C. albicans</i> CCM 8361	<i>C. krusei</i> CCM 8271	<i>C. parapsilosis</i> CCM 8260
1d	10.9	1.37	10.9
1f	2.44	0.61	1.22
1g	2.93	1.46	1.46
1h	0.58	0.58	1.16
8a	71	2.23	143
8c	9.40	18.8	75.2
8d	1.08	0.54	4.31
8e	1.13	0.56	2.25
8g	76	2.38	153
8h	8.21	1.03	4.10
8i	2.05	1.02	16.38
8j	32.3	32.3	65
8k	4.10	1.02	4.10
8l	9.52	1.19	152
11a	39.9	19.9	9.99
11b	4.55	18.21	2.28
11c	4.34	8.68	8.68
11d	217	433	433
11e	172	86	345
12a	682	42.6	341
12c	412	412	412
12d	641	320	320
12e	434	217	434
14a	63	125	63
14b	556	278	278
14c	259	32.4	32.4
FTC	7.75	124	3.88
Amf B	1.08	2.16	2.16

Tabela 9. Aktywność przeciwgrzybicza wybranych tiosemikarbazonów. Kolorem żółtym zaznaczono obiecujące wyniki testów.

Wszystkie badane tiosemikarbazony wykazały wysoką aktywność przeciwgrzybiczną wobec drożdżaków tj. *Candida albicans* CCM 8361, *Candida krusei* CCM 8271 i *Candida parapsilosis* CCM 8260. Najaktywniejszym ze wszystkich TSCs okazał się być **1h**, który na podobnym poziomie hamuje wzrost wszystkich szczepów, jednak pozostałe oparte na 3-aminopirydylo-2-karbaldehydzie i aldehydzie 5-bromosalicylowym również wykazują interesującą aktywność, niezależnie od rodzajów podstawników obecnych w strukturze tiosemikarbazonu.



Rys. 23. Struktury najaktywniejszych przeciwgrzybiczo tiosemikarbazonów.

3.7. Analiza relacji struktura - aktywność (SAR)

Analiza zależności struktura - aktywność pozwala stwierdzić, że związki w których strukturach znajdują się dodatkowe atomy azotu w pierścieniach aromatycznych cechują się wyższą aktywnością zarówno przeciwnowotworową jak i przeciwbakteryjną oraz przeciwgrzybiczą, natomiast wprowadzenie pierścienia piperazyny powoduje wzrost aktywności przeciwnowotworowej analogów Triapiny w porównaniu do niej samej. Generalnie wprowadzenie motywu piperazynowego pozwala więc na wygenerowanie potencjalnie interesujących pochodnych. Uzyskane wyniki stanowią cenną bibliotekę danych dla dalszych badań tej interesującej grupy związków.

4. PODSUMOWANIE

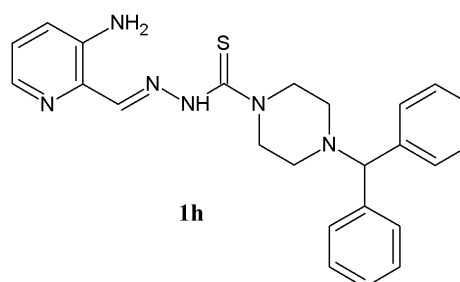
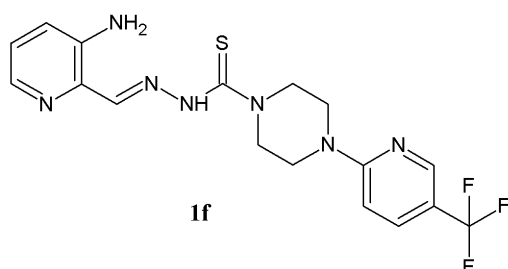
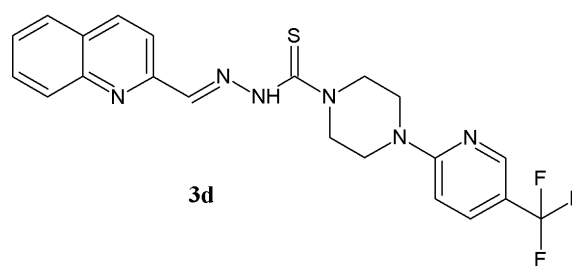
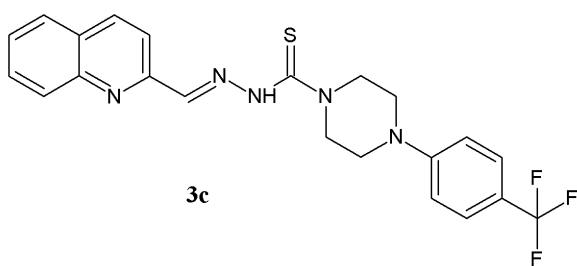
W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano 23 tiosemikarbazydy, z których 10 nie zostało do tej pory opisanych w literaturze oraz 102 nowych nieopisanych w literaturze tiosemikarbazonów o potencjalnej aktywności biologicznej.

Badania kompleksowania TSCs potwierdziły, że wybrane ligandy mogą działać jako skuteczne chelatory miedzi i żelaza, co często w literaturze wiązane jest z aktywnością tej klasy związków.

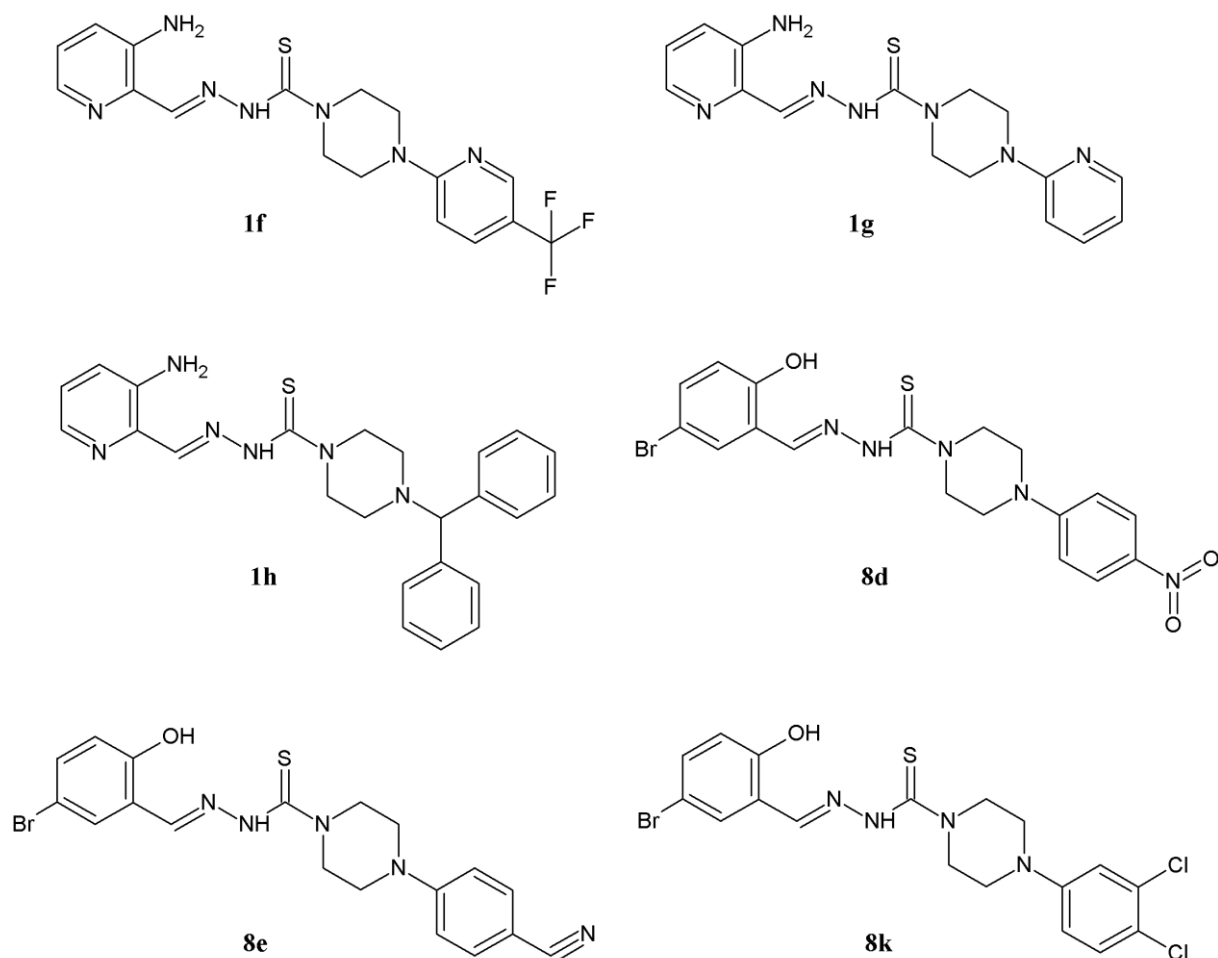
Wszystkie zaprojektowane i zsyntezowane TSCs zostały przebadane na Uniwersytecie Śląskim pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej wobec linii komórkowej HCT116 raka jelita grubego, natomiast najaktywniejsze przebadano również pod kątem ich aktywności wobec nowotworów mózgu oraz piersi. Selektywność ich działania sprawdzono wobec prawidłowych komórek ludzkich fibroblastów.

Spośród otrzymanych związków 26 wykazuje znaczną, a 26 umiarkowaną aktywność przeciwnowotworową wobec badanych linii komórkowych nowotworu jelita grubego HCT116 p53^{+/+} i HCT116 p53^{-/-}, nowotworów mózgu U-251 i Hs683 oraz linii komórkowej nowotworu piersi MCF-7.

Najwyższą aktywność przeciwnowotworową wykazują tiosemikarbazony zawierające w swojej strukturze grupę trifluorometylową dołączoną do pierścienia aromatycznego, w szczególności najaktywniejsze okazały się związki **3c** i **3d** oraz **1f** i **1h**. Ponadto większość TSCs cechuje się wysoką selektywnością wobec komórek rakowych.



Wybrane tiosemikarbazony przebadano na University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences w Brnie oraz Comenius University w Bratysławie pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej. Zaobserwowano znaczną aktywność niektórych TSCs wobec szczepów *Mycobacterium*, natomiast wszystkie przebadane związki cechowały się wysoką aktywnością wobec drożdżaków. Największą aktywność przeciwgrzybiczą wykazały związki o rozbudowanej strukturze, będące pochodnymi Triapiny oraz aldehydu 5-bromosalicylowego.



Podsumowując otrzymane wyniki potwierdzają wielokierunkowe działanie cytotoksyczne zsyntezowanych tiosemikarbazonów oraz ukazują jak zmiana podstawników w strukturze TSCs może drastycznie wpłynąć na aktywność tej klasy związków. Metoda kondensacji tiosemikarbazonów z aldehydami jest wygodną platformą syntetyczną pozwalającą otrzymać wiele nowych interesujących tiosemikarbazonów oraz dowolnie modyfikować ich strukturę.

Analiza zależności struktura-aktywność pozwala stwierdzić, że związki w których strukturach znajdują się dodatkowe atomy azotu w pierścieniach aromatycznych cechują się

wyższą aktywnością zarówno przeciwnowotworową jak i przeciwbakteryjną oraz przeciwgrzybiczą, natomiast wprowadzenie pierścienia piperazyny powoduje wzrost aktywności przeciwnowotworowej analogów Tripainy w porównaniu do niej samej.

Generalnie wprowadzenie motywu piperazynowego pozwala więc na wygenerowanie potencjalnie potencjalnie interesujących pochodnych. Uzyskane wyniki stanowią cenne dane dla dalszych badań tej interesującej grupy związków. Otrzymana biblioteka związków jest nadal obiektem badań farmakologicznych ukierunkowanych na poszukiwanie nowych interesujących efektorów biologicznych.

5. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

5.1. Pomiary Instrumentalne

Temperatury topnienia otrzymanych związków oznaczono w szklanych kapilarach za pomocą aparatu firmy Stanford Research Systems OptiMelt (MPA100), w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Reakcje mikrofalowe przeprowadzono w reaktorze firmy CEM model DISCOVER® BenchMate™, w szczelnie zamkniętych szklanych probówkach o pojemności 10 ml, w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Widma ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMQC i COSY rejestrowano na spektrometrze Bruker model Ascend 500 MHz przy częstotliwości 500 i 126 MHz na Chorzowskim Wydziale Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach oraz Bruker Avance III 400 MHz FT-NMR o częstotliwości 400 i 101 MHz znajdującym się w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, wykorzystując deuterowny dimetylosulfotlenek jako rozpuszczalnik. Otrzymane widma analizowano przy użyciu programu MestreNova 8.2.

Widma masowe rejestrowano przy użyciu spektrometru Varian 500-MS IT Mass Spectrometer (LR-MS (ESI)) w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, spektrometru mas z analizatorem czasu przelotu (TOF) firmy WATERS, model LCT Premier XE w Laboratorium Wysokorozdzielczej Spektrometrii Masowej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej oraz wysokosprawnego chromatografu cieczowego Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) sprzężonego ze spektrometrem masowym LTQ Orbitrap XL Hybrid Ion Trap - Orbitrap z transformacją Fouriera (Thermo Scientific) na Faculty of Pharmacy Comenius University in Bratislava. Czystość związków potwierdzono wykorzystując technikę chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Stosowano płytki aluminiowe pokryte żelem krzemionkowym o grubości warstwy 0,2 mm z indykatorem UV (firmy Merck). Do detekcji stosowano lampę UV o długości fali $\lambda = 254$ nm oraz $\lambda = 365$ nm.

Lipofilowości otrzymanych związków wyznaczono przy użyciu programu ACD/ChemSketch wersja 12.01.

5.2. Stosowne odczynniki

ACROS-ORGANICS: aldehyd 5-bromosalicylowy, 2-chinolinokarbalddehyd, 2-chlorotioksanton, 2,5-difluorobenzalddehyd, 2,6-difluorobenzalddehyd, 2,4-dihydroksybenzaldehyd, 4-fenylopiperydyna, 2-fluorobenzalddehyd, glicyna, glikozyl aldehydu salicylowego, 8-hydroksychinolino-2-karbalddehyd, 1-(4-metoksyfenylo)piperazyna, 1-(4-nitrofenylo)piperazyna, 1-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyna, 1-piperazynokarboksylan tert-butylu, 2-(1-piperazynylo)pirymidyna, 1,1'-tiokarbonylodiimidazol, wodzian hydrazyny.

ASTA-TECH: 3-aminopirydyno-2-karbalddehyd, 2,4,6-trihydroksybenzaldehyd.

ENAMINE: 1-(2-pirydylo)piperazyna.

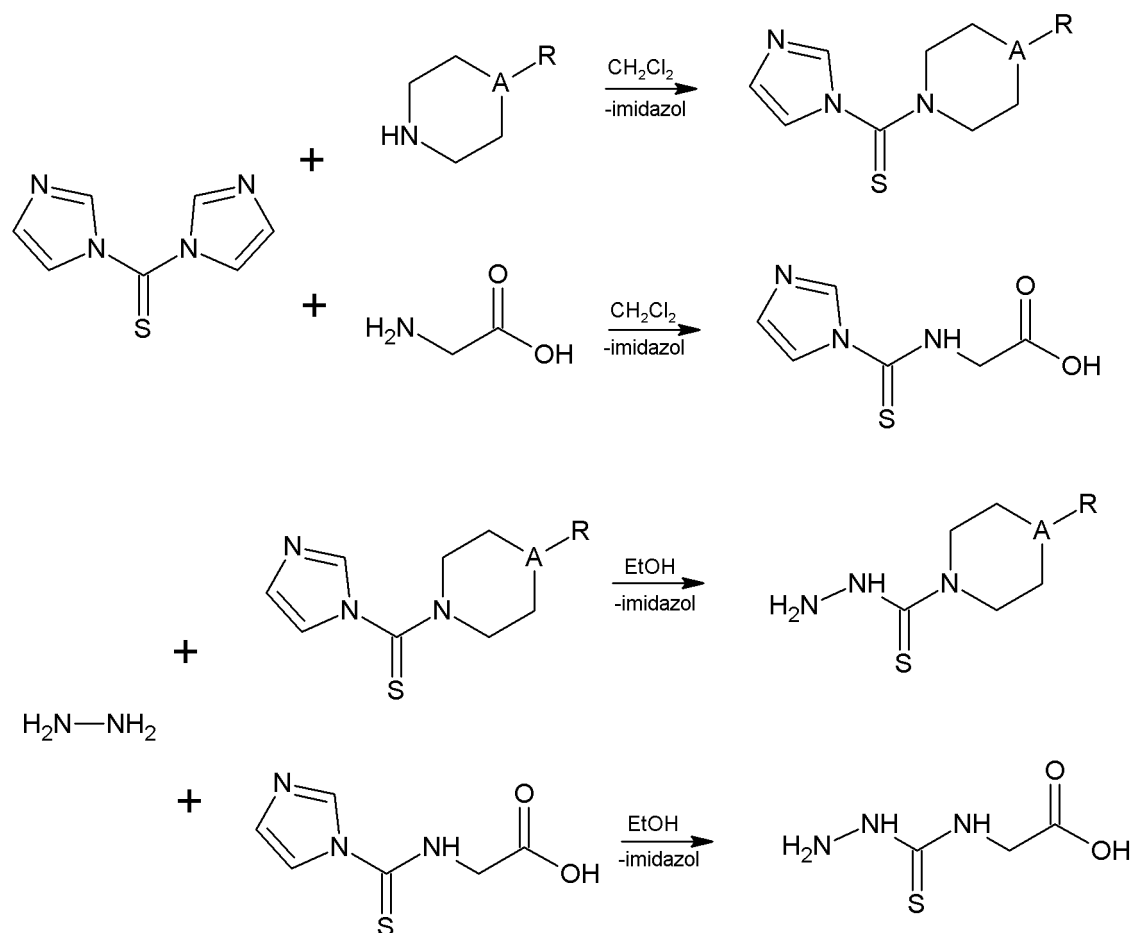
MAYBRIDGE: 1-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyna.

POCH: chlorek metylenu, chlorek wapnia, etanol, lodowaty kwas octowy, metanol.

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY: 1-(4-fluorofenylo)piperazyna.

SIGMA-ALDRICH: aldehyd salicylowy, 1-(4-bromofenylo)piperazyna, 1-(4-chlorofenylo)piperazyna, 1-(4-cyjanofenylo)piperazyna, 4-cyjanopiperidydyna, 4-cykloheksylopiperydydyna, 1-(3,4-dichlorofenylo)piperazyna 1-(difenylometylo)piperazyna, dihydroksyacetone, deuterowane dimetylosulfotlenek, 1-fenylopiperydydyna, 4-hydroksybenzaldehyd, 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd, keton dipirydylowy, morfolina, 2-nitrobenzaldehyd, 4-nitrobenzaldehyd, 3-pentanone, 1-(2-pirazyynylo)piperazyna, 2-pirydynokarbalddehyd, tiomorfolina, 1-(4-trifluorometylofenylo)piperazyna, 1-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyna.

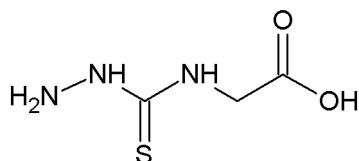
5.3. Synteza tiosemikarbazydów



W szklanej probówce o pojemności 25 cm^3 zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne umieszczono równomolowe ilości (1,1'-tiokarbonylo)bis-1*H*-imidazolu oraz odpowiedniej pochodnej piperazyny, piperydyny, morfoliny, tiomorfoliny lub glicyny, a następnie dodano chlorek metylenu. Całość szczelnie zamknięto kapslem z septą, a następnie mieszano w temperaturze pokojowej przez 24 h. Otrzymany półprodukt ekstrahowano wodą destylowaną. Otrzymaną fazę organiczną suszono nad bezwodnym chlorkiem wapnia, a następnie odparowano na wyparce rotacyjnej.

Do otrzymanej pochodnej imidazoliliotioketonu dodano równomolową ilość wodzianu hydrazyny oraz 25 cm^3 etanolu. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano 2 h pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Produkt końcowy pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C , a następnie krystalizowano z bezwodnego metanolu.

5.3.1. Otrzymywanie kwasu *[(hydrazynylo)karbotionylo]amino* octowego



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,4596 g (6 mmol) glicyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoszary tiosemikarbazyd z wydajnością 85%.

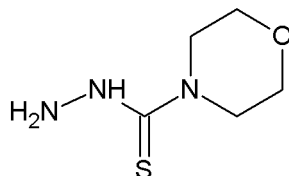
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 4.09 (s, 2H, CH₂), 5.27 (s, 2H, NH₂), 7.14 (s, 1H, NH), 8.01 (s, 1H, OH), 12.69 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.8; 164.9; 166.6.

Temperatura topnienia: 242 - 243 °C

LogP: -1.18

5.3.2. Otrzymywanie *(4-morfolino)tiokarbohydrazydu*



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,52 cm³ (0,5179 g, 6 mmol) morfoliny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały krystaliczny tiosemikarbazyd z wydajnością 74%.

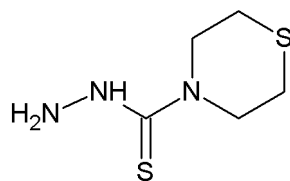
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.59 (m, 4H, CH₂), 3.68 (m, 4H, CH₂), 4.79 (s, 2H, NH₂), 9.12 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 48.2; 66.2; 183.4.

Temperatura topnienia: 170 - 171 °C

LogP: -0.84

5.3.3. Otrzymywanie (4-tiomorfolino)tiokarbonydrazyny



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,93 cm³ (0,9969 g, 6 mmol) tiomorfoliny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biało-szary krystaliczny tiosemikarbazyd z wydajnością 89%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 4.03 (m, 8H, CH₂), 4.83 (s, 2H, NH₂), 9.19 (s, 1H, NH).

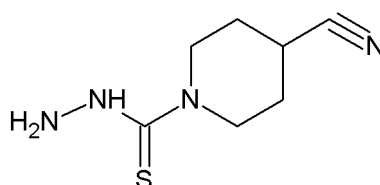
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 26.4; 50.8; 182.3.

Temperatura topnienia: 160 - 161 °C

LR-MS (ESI): 200.4 [M+Na]⁺

LogP: 0.04

5.3.4. Otrzymywanie (4-cyjanopiperydino)-1-tiokarbonydrazyny



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,6814 g (6 mmol) 4-cyjanopiperydiny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biało-kremowy krystaliczny tiosemikarbazyd z wydajnością 79%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.63 (m, 2H, CH₂), 1.88 (m, 2H, CH₂), 3.11 (m, 1H, CH), 3.49 (m, 2H, CH₂), 4.03 (m, 2H, CH₂), 4.95 (s, 2H, NH₂), 9.14 (s, 1H, NH).

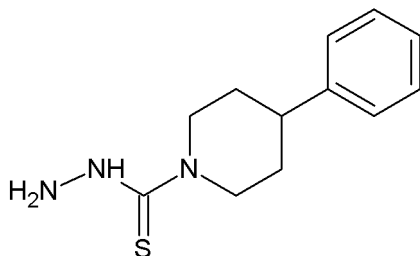
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 25.8; 28.2; 46.3; 122.4; 182.8.

Temperatura topnienia: 129 - 130 °C

LR-MS (ESI): 206.8 [M+Na]⁺

LogP: -0.47

5.3.5. Otrzymywanie (4-fenyl-1-piperydino)-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,9872 g (6 mmol) 4-fenylpiperydiny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoczerwony krystaliczny tiosemikarbazyd z wydajnością 82%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.52 (m, 2H, CH₂), 1.77 (d, 2H, *J* = 12.3 Hz), 2.80 (m, 1H, CH), 3.00 (t, 2H, *J* = 13.0 Hz), 3.88 (s, 2H, CH₂), 4.70 (d, 2H, *J* = 13.7 Hz), 7.17-7.24 (m, 3H, Ar-H), 7.26-7.33 (m, 2H, Ar-H), 9.05 (s, 1H, NH).

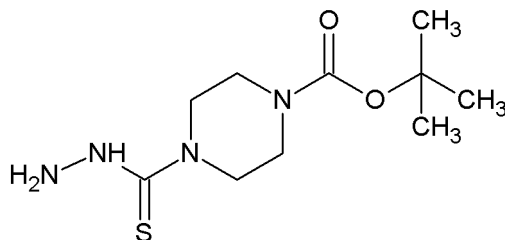
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 33.1; 42.2; 48.5; 126.7; 127.1; 128.9; 145.9; 182.6.

Temperatura topnienia: 162 - 163 °C

LR-MS (ESI): 235.7 [M+H]⁺

LogP: 2.25

5.3.6. Otrzymywanie *tert*-butylo-4-(hydrazynylokarbonylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,1521 g (6 mmol) 1-piperazynokarboksylanu *tert*-butylu, 1,1880 g (6 mmol)

1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 70%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.41 (s, 9H, CH₃), 3.32 (m, 4H, CH₂), 3.71 (m, 4H, CH₂), 4.72 (s, 2H, NH₂), 9.11 (s, 1H, NH).

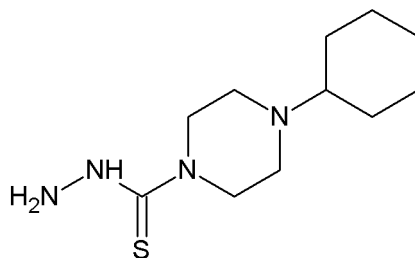
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 19.0; 28.5; 47.4; 49.0; 79.6; 154.3; 183.1.

Temperatura topnienia: 165 - 166 °C

LR-MS (ESI): 283.8 [M+Na]⁺

LogP: 0.32

5.3.7. Otrzymywanie (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,0303 g (6 mmol) 1-cykloheksylo-piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 59%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.19 (m, 6H, CH₂), 1.73 (d, 5H, *J* = 8.4 Hz), 3.36 (m, 4H, CH₂), 3.66 (s, 4H, CH₂), 4.73 (s, 2H, NH₂), 9.02 (s, 1H, NH).

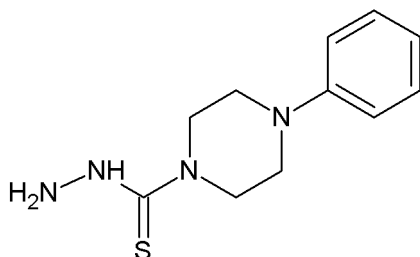
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 25.7; 26.3; 28.7; 48.3; 48.7; 62.9; 182.9.

Temperatura topnienia: 178 - 179 °C

LR-MS (ESI): 242.5 [M+H]⁺

LogP: 1.65

5.3.8. Otrzymywanie (4-fenylo-1-piperazyno)tiokarbonydrazyny



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 0,95 cm³ (1,0089 g, 6 mmol) 1-fenylo-piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoróżowy tiosemikarbazyd z wydajnością 70%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.15 (s, 4H, CH₂), 3.87 (s, 4H, CH₂), 4.89 (s, 2H, NH₂), 6.80 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.22 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz), 9.17 (s, 1H, NH).

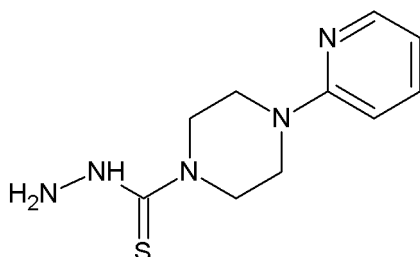
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 48.3; 56.5; 116.0; 119.7; 129.4; 151.1; 183.0.

Temperatura topnienia: 173 - 174 °C

LR-MS (ESI): 237.6 [M+H]⁺

LogP: 0.90

5.3.9. Otrzymywanie [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbonydrazyny



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 0,93 cm³ (0,9970 g, 6 mmol) 1-(2-pirydylo)opiperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując kremowy tiosemikarbazyd z wydajnością 98%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.18 (s, 4H, CH₂), 3.85 (m, 4H, CH₂), 4.77 (s, 2H, NH₂), 6.67 (m, 1H, Ar-H), 6.83 (m, 1H, Ar-H), 7.56 (m, 1H, Ar-H), 8.13 (m, 1H, Ar-H), 9.13 (s, 1H, NH).

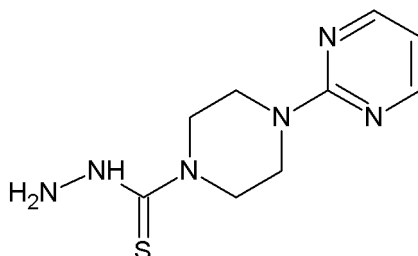
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.4; 47.2; 107.6; 113.7; 138.0; 148.0; 159.1; 183.0.

Temperatura topnienia: 172 - 173 °C

LR-MS (ESI): 237.7 [M+H]⁺

LogP: -0.02

5.3.10. Otrzymywanie [4-(2-pirymidynylo)-1-piperazyno]tiokarbonylhydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,87 cm³ (1,0075 g, 6 mmol) 2-(1-piperazynylo)pirymidyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 92%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.75 (m, 4H, CH₂), 3.83 (m, 4H, CH₂), 4.76 (s, 2H, NH₂), 6.66 (t, 1H, *J* = 4.7 Hz), 8.38 (d, 2H, *J* = 4.7 Hz), 9.13 (s, 1H, NH).

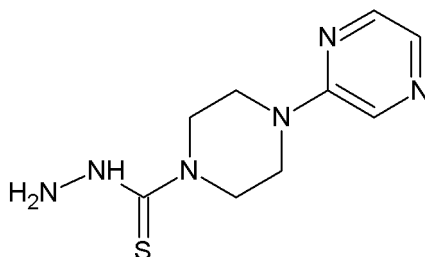
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 43.2; 47.3; 110.9; 158.4; 161.5; 183.0.

Temperatura topnienia: 208 - 209 °C

LR-MS (ESI): 238.4 [M+H]⁺

LogP: 0.34

5.2.11. Otrzymywanie [4-(2-pirazynylo)-1-piperazyno]tiokarbonylhydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 1,0054 g (6 mmol) 1-(2-pirazynylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 88%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.61 (m, 4H, CH₂), 3.87 (m, 4H, CH₂), 4.77 (s, 2H, NH₂), 7.86 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz), 8.09 (dd, 1H, *J*₁ = 2.7 Hz, *J*₂ = 1.5 Hz), 8.31 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz), 9.16 (s, 1H, NH).

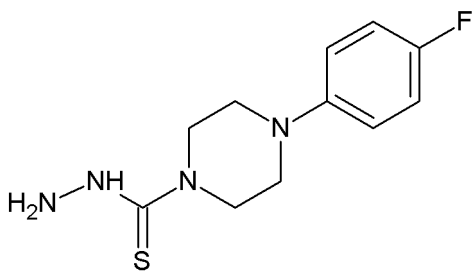
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 43.7; 47.0; 131.7; 133.0; 141.9; 154.7; 182.9.

Temperatura topnienia: 177 - 178 °C

LR-MS (ESI): 238.6 [M+H]⁺

LogP: -0.45

5.3.12. Otrzymywanie 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonylhydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 1,1034 g (6 mmol) 1-(4-fluorofenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoróżowy tiosemikarbazyd z wydajnością 97%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.09 (m, 4H, CH₂), 3.87 (m, 4H, CH₂), 4.77 (s, 2H, NH₂), 6.97 (m, 2H, Ar-H), 7.05 (m, 2H, Ar-H), 9.19 (s, 1H, NH).

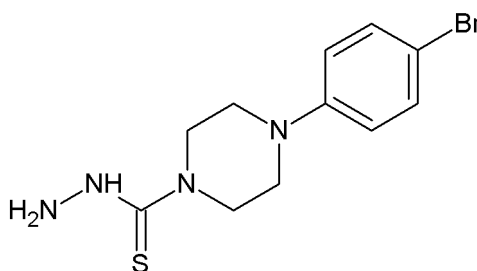
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 47.6; 49.1; 115.9; 117.9; 148.0; 157.8; 183.0.

Temperatura topnienia: 180 - 181 °C

LR-MS (ESI): 276.3 [M+Na]⁺

LogP: 0.99

5.3.13. Otrzymywanie 4-(4-bromofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrydu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,5000 g (2 mmol) 1-(4-bromofenylo)piperazyny, 0,3960 g (2 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,10 cm³ (0,1068 g, 2 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 67%.

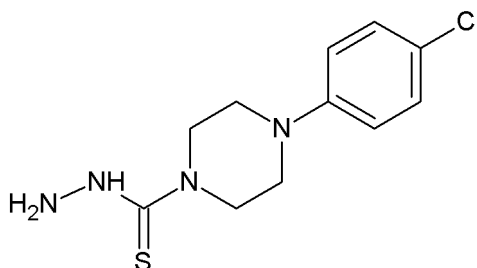
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.17 (s, 4H, CH₂), 3.86 (s, 4H, CH₂), 4.80 (s, 2H, NH₂), 6.90 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.35 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 9.17 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 40.5; 47.3; 110.7; 117.8; 132.0; 150.2; 183.0.

Temperatura topnienia: 193 - 194 °C

LogP: 1.67

5.3.14. Otrzymywanie 4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrydu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,2042 g (6 mmol) 1-(4-chlorofenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol)

1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 90%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.16 (t, 4H, *J* = 5.2 Hz), 3.86 (t, 4H, *J* = 5.2 Hz), 4.78 (s, 2H, NH₂), 6.95 (m, 2H, Ar-H), 7.24 (m, 2H, Ar-H), 9.18 (s, 1H, NH).

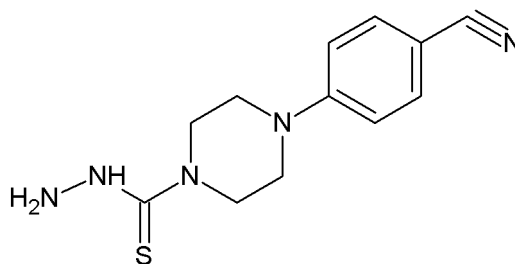
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 47.3; 48.0; 117.3; 123.0; 129.1; 149.8; 182.9.

Temperatura topnienia: 195 - 196 °C

LR-MS (ESI): 270.4 [M+H]⁺

LogP: 1.63

5.3.15. Otrzymywanie 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazydu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,1582 g (6 mmol) 1-(4-cyjanofenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnopomarańczowy tiosemikarbazyd z wydajnością 70%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.42 (m, 4H, CH₂), 3.89 (m, 4H, CH₂), 4.78 (s, 2H, NH₂), 7.05 (s, 2H, Ar-H), 7.60 (m, 2H, Ar-H), 9.15 (s, 1H, NH).

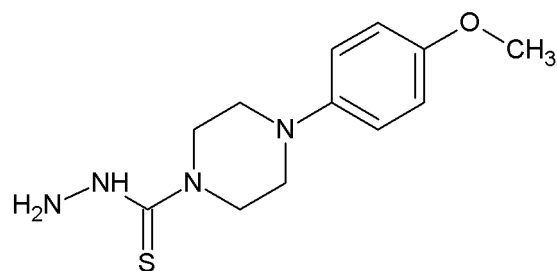
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.9; 48.9; 98.6; 114.3; 120.5; 133.8; 153.0; 182.9.

Temperatura topnienia: 169 - 170 °C

LR-MS (ESI): 301.0 [M+K]⁺

LogP: 0.78

5.3.16. Otrzymywanie 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,2016 g (6 mmol) 1-(4-metoksyfenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnokremowy tiosemikarbazyd z wydajnością 81%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.00 (m, 3H, CH₃), 3.86 (m, 4H, CH₂), 4.11 (m, 4H, CH₂), 4.77 (s, 2H, NH₂), 6.83 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 6.90 (m, 2H, Ar-H), 9.17 (s, 1H, NH).

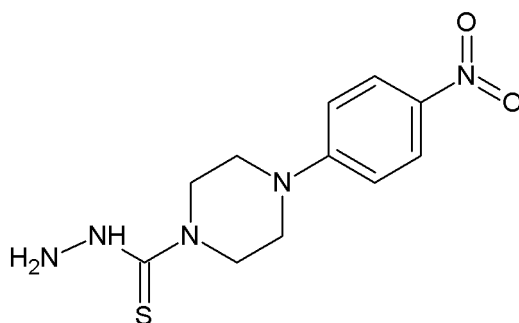
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 19.0; 49.9; 56.5; 114.8; 118.2; 145.4; 153.7; 183.1.

Temperatura topnienia: 194 - 195 °C

LR-MS (ESI): 288.0 [M+Na]⁺

LogP: 0.71

5.3.17. Otrzymywanie 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,2694 g (6 mmol) 1-(4-nitrofenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując żółty tiosemikarbazyd z wydajnością 87%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.57 (s, 4H, CH₂), 3.91 (s, 4H, CH₂), 4.97 (s, 2H, NH₂), 6.97 (d, 2H, *J* = 9.3 Hz), 8.08 (m, 2H, Ar-H), 9.15 (s, 1H, NH).

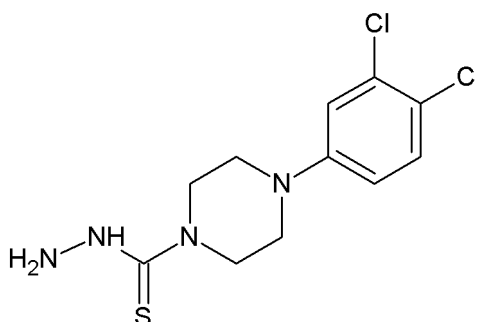
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.7; 46.7; 112.5; 126.2; 137.3; 154.6; 182.8.

Temperatura topnienia: 207 - 208 °C

LR-MS (ESI): 304.1 [M+Na]⁺

LogP: 1.35

5.3.18. Otrzymywanie 4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazydu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 1,4007 g (6 mmol) 1-(3,4-dichlorofenylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol) 1,1'-tiokarbonyldiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoróżowy tiosemikarbazyd z wydajnością 68%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.08 (s, 4H, CH₂), 3.86 (m, 4H, CH₂), 4.76 (s, 2H, NH₂), 6.93 (m, 1H, Ar-H), 7.14 (s, 1H, Ar-H), 7.40 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 9.19 (s, 1H, NH).

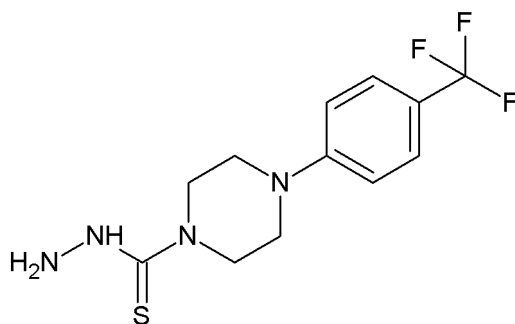
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 47.1; 47.3; 115.6; 116.6; 120.1; 130.9; 132.0; 150.7; 183.0.

Temperatura topnienia: 186 - 187 °C

LR-MS (ESI): 303.7 [M+H]⁺

LogP: 2.46

5.3.19. Otrzymywanie 4-[4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,9209 g (4 mmol) 1-(4-trifluorometylofenylo)piperazyny, 0,7920 g (4 mmol) 1,1'-tiokarbonyldiimidazolu oraz 0,19 cm³ (0,2137 g, 4 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 56%.

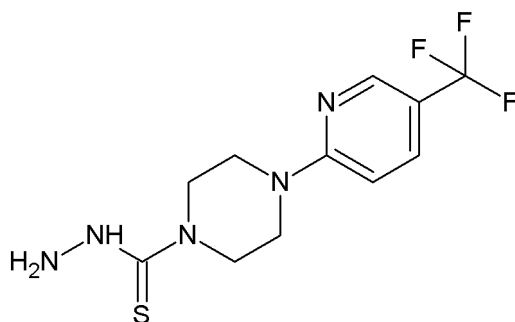
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.18 (m, 4H, CH₂), 3.90 (s, 4H, CH₂), 4.77 (s, 2H, NH₂), 7.07 (s, 2H, Ar-H), 7.51 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 9.18 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 46.6; 47.1; 114.3; 118.1; 118.4; 126.7; 153.2; 183.0.

Temperatura topnienia: 181 - 182 °C

LogP: 2.15

5.3.20. Otrzymywanie 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,9249 g (4 mmol) 1-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyny, 0,7920 g (4 mmol) 1,1'-tiokarbonyldiimidazolu oraz 0,19 cm³ (0,2137 g, 4 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 70%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.70 (s, 4H, CH₂), 3.87 (s, 4H, CH₂), 4.76 (s, 2H, NH₂), 6.93 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz), 7.82 (s, 1H, Ar-H), 8.42 (s, 1H, Ar-H), 9.14 (s, 1H, NH).

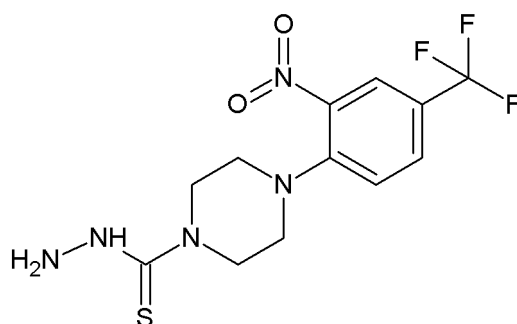
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 43.8; 46.9; 49.1; 106.7; 113.7; 135.0; 145.7; 160.3; 183.0.

Temperatura topnienia: 206 - 207 °C

LR-MS (ESI): 305.3 [M+H]⁺

LogP: 1.64

5.3.21. Otrzymywanie 4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie 5.3, wykorzystując do reakcji 0,9700 g (3.5 mmol) 1-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyny, 0,6930 g (3.5 mmol) 1,1'-tiokarbonyldiimidazolu oraz 0,17 cm³ (0,1870 g, 3.5 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnopomarańczowy krystaliczny tiosemikarbazyd z wydajnością 75%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.26 (m, 4H, CH₂), 3.88 (m, 4H, CH₂), 4.76 (s, 2H, NH₂), 7.44 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz), 7.86 (dd, 1H, *J*₁ = 9.0 Hz, *J*₂ = 2.3 Hz), 8.17 (dd, 1H, *J*₁ = 2.3 Hz, *J*₂ = 0.9 Hz), 9.15 (s, 1H, NH).

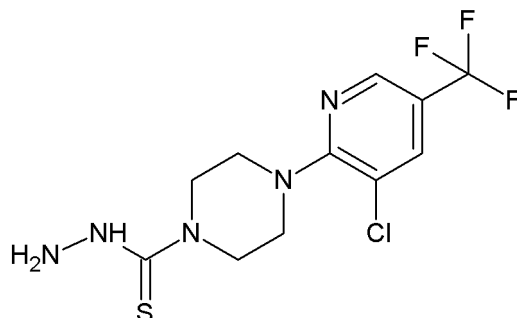
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 46.9; 49.4; 119.7; 121.2; 123.0; 124.4; 130.5; 139.1; 147.5; 183.0.

Temperatura topnienia: 167 - 168 °C

LR-MS (ESI): 349.1 [M+H]⁺

LogP: 3.18

5.3.22. Otrzymywanie 4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 0,5478 g (2 mmol) 1-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyny, 0,3960 g (2 mmol) 1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,10 cm³ (0,1068 g, 2 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując biały tiosemikarbazyd z wydajnością 85%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.51 (m, 4H, CH₂), 3.88 (m, 4H, CH₂), 4.83 (s, 2H, NH₂), 8.20 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz), 8.56 (s, 1H, Ar-H), 9.18 (s, 1H, NH).

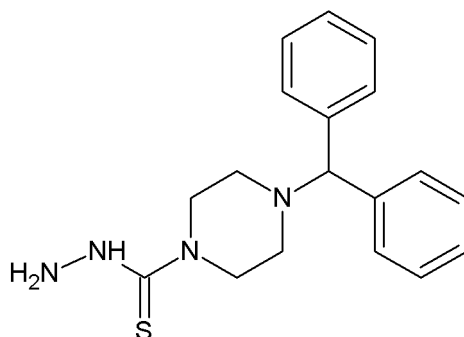
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 47.3; 48.1; 120.2; 122.8; 125.0; 136.8; 143.5; 159.7; 183.2.

Temperatura topnienia: 191 - 192 °C

LR-MS (ESI): 340.3 [M+H]⁺

LogP: 3.03

5.3.23. Otrzymywanie 4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano według procedury ogólnej opisanej w punkcie **5.3**, wykorzystując do reakcji 1,5609 g (6 mmol) 1-(difenylometylo)piperazyny, 1,1880 g (6 mmol)

1,1'-tiokarbonylodiimidazolu oraz 0,29 cm³ (0,3205 g, 6 mmol) wodzianu hydrazyny. Surowy produkt krystalizowano z metanolu otrzymując jasnoróżowy tiosemikarbazyd z wydajnością 79%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 2.29 (t, 4H, *J* = 4.9 Hz), 3.72 (t, 4H, *J* = 4.9 Hz), 4.33 (s, 1H, CH); 4.75 (s, 2H, NH₂), 7.20 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz), 7.31 (t, 4H, *J* = 7.5 Hz), 7.43 (d, 4H, *J* = 7.1 Hz), 9.04 (s, 1H, NH).

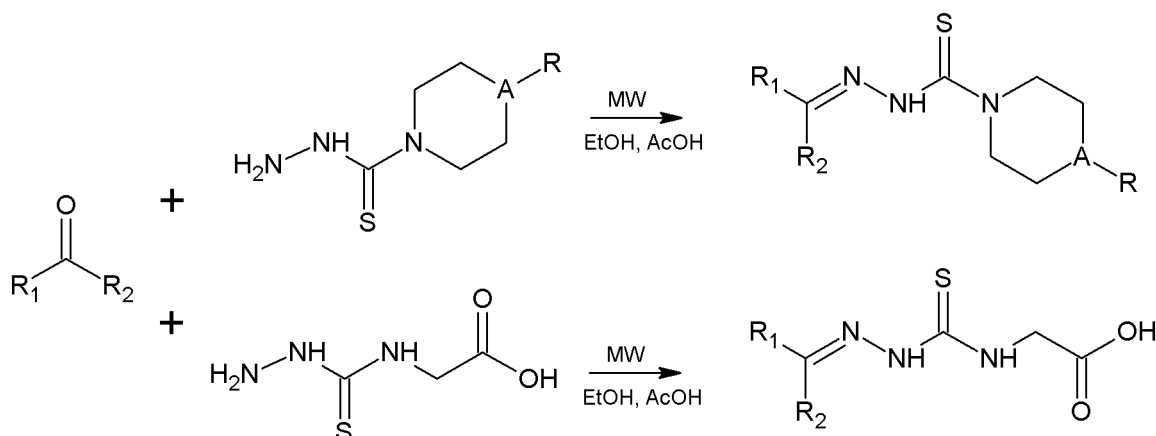
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 19.0; 50.7; 51.9; 56.5; 128.2; 129.1; 137.1; 142.8; 147.8; 181.1.

Temperatura topnienia: 158 - 159 °C

LR-MS (ESI): 326.2 [M+H]⁺

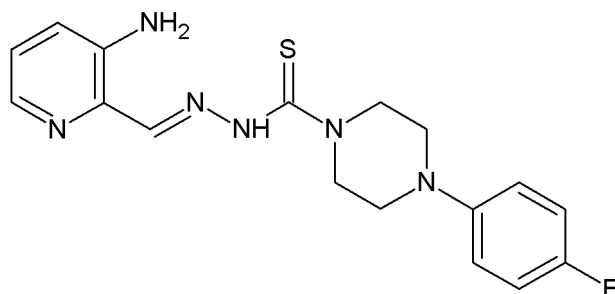
LogP: 2.62

5.4. Synteza tiosemikarbazonów



W szklanej probówce o pojemności 10 cm³ zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne umieszczono równomolowe ilości tiosemikarbazydu oraz odpowiedniego aldehydu lub ketonu. Następnie dodano 5 cm³ etanolu oraz trzy krople lodowatego kwasu octowego. Probówkę szczelnie zamknięto kapslem i umieszczono w reaktorze mikrofalowym w temperaturze 83°C na 20 minut (moc reaktora nie przekraczała 50 W). Otrzymany produkt krystalizowano z metanolu.

5.4.1. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (1a**)**



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,251 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 70%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.18 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 6.96-7.03 (m, 2H, Ar-H), 7.04-7.13 (m, 4H, Ar-H), 7.17 (s, 2H, NH_2), 7.84 (d, 1H, $J = 3.9$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.44 (s, 1H, NH).

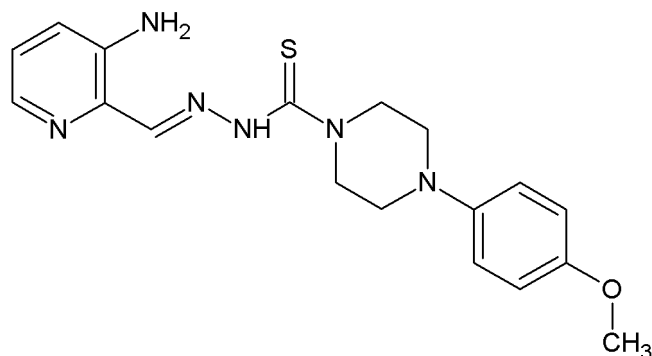
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.6; 49.3; 115.8; 117.9; 122.4; 124.5; 134.2; 137.2; 144.2; 147.8; 149.5; 155.8; 157.6; 180.1.

Temperatura topnienia: 210 - 211 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 359.1466 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{FN}_6\text{S}$: 359.1454)

LogP: 1.92

5.4.2. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**1b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółtokremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,218 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 59%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.11 (s, 4H, CH_2), 3.70 (s, 3H, CH_3), 4.07 (s, 4H, CH_2), 6.85 (m, 2H, Ar-H), 6.96 (m, 2H, Ar-H), 7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.17 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 1.7$ Hz), 8.52 (s, 1H, CH), 11.43 (s, 1H, NH).

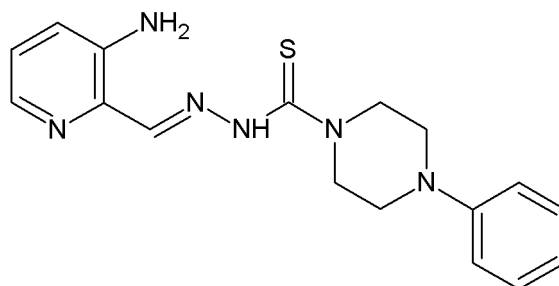
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.8; 50.0; 55.7; 114.8; 118.3; 122.4; 124.5; 134.2; 137.1; 144.2; 145.3; 149.4; 153.7; 180.1.

Temperatura topnienia: 195 - 196 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 371.1645 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{OS}$: 371.1654)

LogP: 1.64

5.4.3. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**1c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2363 g (1 mmol) 4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,281 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 83%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.26 (s, 4H, CH_2), 4.09 (s, 4H, CH_2), 6.82 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz), 6.99 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.10 (m, 2H, Ar-H), 7.18 (s, 2H, NH_2), 7.25 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.44 (s, 1H, NH).

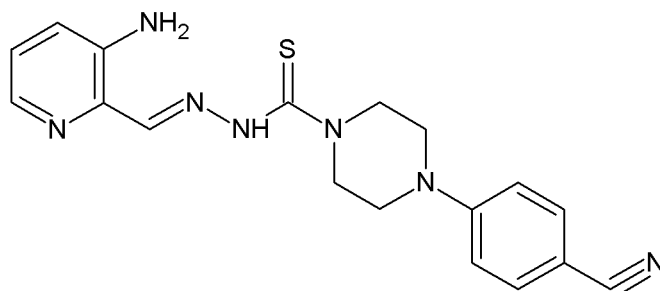
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.3; 48.6; 116.0; 119.6; 122.4; 124.5; 129.5; 134.2; 137.2; 144.2; 149.5; 150.9; 180.0.

Temperatura topnienia: 189 - 190 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 341.1547 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{S}$: 341.1548)

LogP: 1.84

5.4.4. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (1d**)**



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2613 g (1 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydylo-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,269 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 74%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.53 (s, 4H, CH_2), 4.10 (s, 4H, CH_2), 7.02 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.17 (s, 2H, NH_2), 7.62 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.54 (s, 1H, CH), 11.42 (s, 1H, NH).

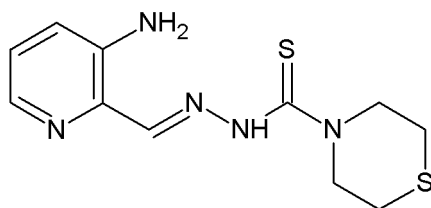
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.8; 47.9; 98.5; 114.0; 120.6; 122.5; 124.5; 133.8; 134.2; 137.2; 144.2; 149.6; 152.9; 179.9.

Temperatura topnienia: 209 - 210 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 366.1503 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_7\text{S}$: 366.1501)

LogP: 1.71

5.4.5. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu (1e)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1773 g (1 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbonydu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydylo-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,143 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 51%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 2.71 (m, 4H, CH_2), 4.23 (m, 4H, CH_2), 7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.17 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.34 (s, 1H, NH).

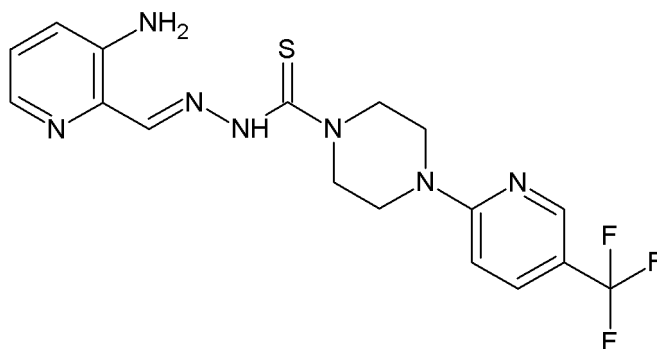
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 26.9; 51.8; 122.4; 124.5; 134.2; 137.1; 144.2; 149.7; 179.6.

Temperatura topnienia: 195 - 196 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 281.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 0.97

5.4.6. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**1f**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2033 g (0.67 mmol) 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0856 g (0.67 mmol) 3-aminopirydylo-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,193 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 47%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.80 (s, 4H, CH_2), 4.09 (s, 4H, CH_2), 6.97 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 7.08 (m, 2H, Ar-H), 7.18 (s, 2H, NH_2), 7.85 (m, 2H, Ar-H), 8.46 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz), 8.54 (s, 1H, CH), 11.42 (s, 1H, NH).

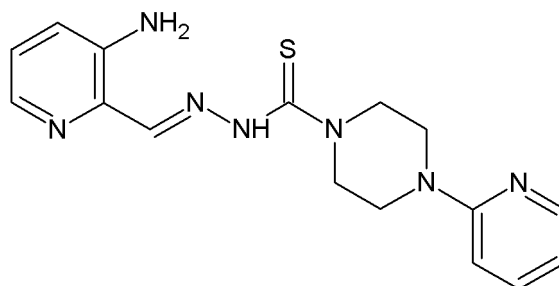
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 43.8; 47.9; 106.7; 113.8; 122.5; 124.5; 126.4; 134.2; 135.0; 137.1; 144.2; 145.7; 149.6; 160.3; 180.0.

Temperatura topnienia: 232 - 233 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 410.1365 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_7\text{S}$: 410.1374)

LogP: 2.57

5.4.7. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirydynylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (1g**)**



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2374 g (1 mmol) [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,1286 g (1 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,129 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirydynylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 38%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.64 (m, 4H, CH_2), 4.07 (m, 4H, CH_2), 6.68 (m, 1H, Ar-H), 6.86 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.18 (s, 2H, NH_2), 7.58 (m, 1H, Ar-H), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.15 (d, 1H, $J = 4.9$ Hz), 8.54 (s, 1H, CH), 11.41 (s, 1H, NH).

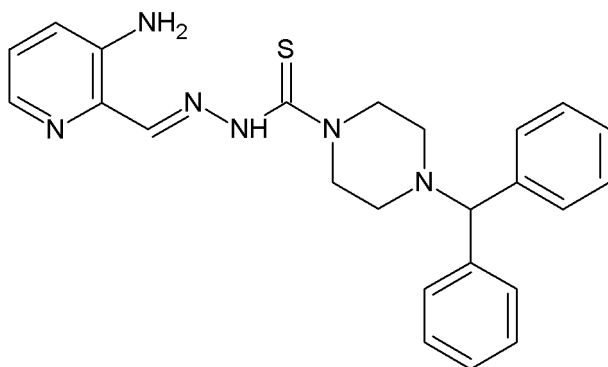
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.4; 48.3; 107.5; 113.7; 122.5; 124.5; 134.2; 137.1; 138.1; 144.2; 148.0; 149.5; 159.0; 180.1.

Temperatura topnienia: 210 - 211 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 342.1514 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_7\text{S}$: 342.1501)

LogP: 0.92

5.4.8. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**1h**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1632 g (0.5 mmol) 4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydylo-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,120 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 56%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 2.39 (m, 4H, CH_2), 3.94 (m, 4H, CH_2), 7.07 (m, 2H, Ar-H), 7.12 (s, 2H, NH_2), 7.21 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 7.32 (t, 4H, $J = 7.6$ Hz), 7.46 (d, 4H, $J = 7.2$ Hz), 7.82 (dd, 1H, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.46 (s, 1H, CH), 11.30 (s, 1H, NH).

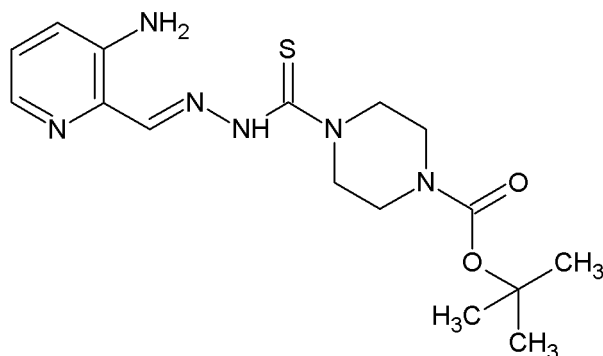
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 48.9; 51.6; 74.9; 122.5; 124.4; 127.5; 128.1; 129.1; 134.2; 137.1; 142.7; 144.2; 149.3; 180.0.

Temperatura topnienia: 221 - 222 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 429.1856 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{S}$: 429.1861)

LogP: 3.56

5.4.9. Otrzymywanie *N'*-([2-(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo-piperazyno-1-karboksylanu tert-butylu (**1i**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1302 g (0.5 mmol) tert-butylo-4-(hydrazynylokarbotionylo)piperazyno-1-tiokarbohydrydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonyloaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0364 g czystego *N'*-([2-(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo-piperazyno-1-karboksylanu tert-butylu z wydajnością 20%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.43 (s, 9H, CH₃), 3.44 (m, 4H, CH₂), 3.93 (m, 4H, CH₂), 7.05-7.12 (m, 2H, Ar-H), 7.13-7.19 (s, 2H, NH₂), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.51 (s, 1H, CH), 11.39 (s, 1H, NH).

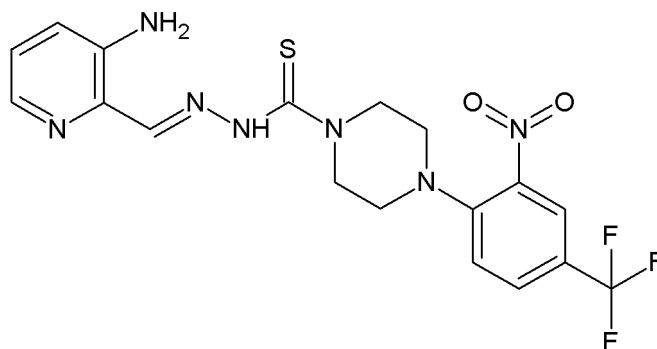
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 28.5; 48.4; 79.7; 122.8; 124.5; 133.9; 136.9; 144.3; 149.2; 154.3; 180.2.

Temperatura topnienia: 193 - 194 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 365.1769 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₆H₂₅N₆O₂S: 365.1760)

LogP: 1.26

5.4.10. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbonydu (**1j**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1747 g (0.5 mmol) 4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1710 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 75%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.38 (m, 4H, CH_2), 4.09 (m, 4H, CH_2), 7.07 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz), 7.11 (dd, 1H, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.13-7.21 (s, 2H, NH_2), 7.47 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 7.83-7.91 (m, 2H, CH), 8.20 (d, 1H, $J = 2.7$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.42 (s, 1H, NH).

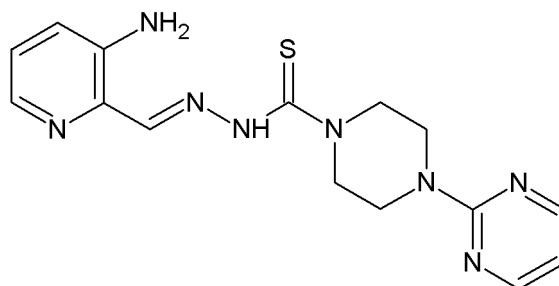
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 19.0; 47.9; 49.3; 56.5; 121.1; 122.5; 123.0; 124.4; 130.5; 134.2; 137.2; 138.9; 144.3; 147.5; 149.7; 180.1.

Temperatura topnienia: 179 - 180 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 454.1269 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$: 454.1273)

LogP: 4.12

5.4.11. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirymidylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**1k**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1192 g (0.5 mmol) [4-(2-pirymidynylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1127 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirymidylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 39%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.86 (m, 4H, CH_2), 4.05 (m, 4H, CH_2), 6.69 (t, 1H, $J = 4.7$ Hz), 7.07 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz), 7.11 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.13-7.22 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.41 (d, 2H, $J = 4.7$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.43 (s, 1H, NH).

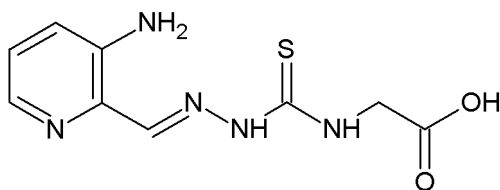
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 43.2; 48.4; 111.0; 122.5; 124.5; 134.2; 137.1; 144.2; 149.4; 158.5; 161.5; 180.1.

Temperatura topnienia: 198 - 199 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 343.1464 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_8\text{S}$: 343.1453)

LogP: 1.28

5.4.12. Otrzymywanie kwasu [(N'-{2-[(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo}karbonotionylo)amino] octowego



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0746 g (0.5 mmol) kwasu {[(hydrazynylo)karbotionylo]amino} octowego oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0648 g czystego kwasu [(N'-{2-[(3-aminopirydylo)metyleno]hydrazynylo}karbonotionylo)amino] octowego z wydajnością 51%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.24 (s, 2H, CH_2), 6.83 (s, 2H, Ar-H), 7.07 (m, 2H, NH_2), 7.83 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.5$ Hz), 8.01 (s, 1H, NH), 8.48 (s, 1H, CH), 10.92 (s, 1H, OH), 12.96 (s, 1H, NH).

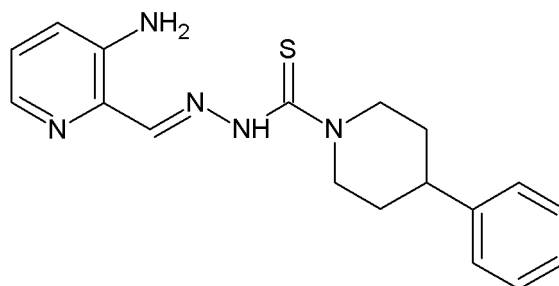
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.8; 123.9; 124.2; 125.6; 131.4; 135.6; 144.2; 150.2; 166.6.

Temperatura topnienia: 245 - 246 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 254.0712 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 254.0712)

LogP: 0.55

5.4.13. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenylopiperydyno-1-tiokarbohidrazynu (**11**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1177 g (0.5 mmol) (4-fenylo-1-piperidyno)-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0837 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-fenylopiperydyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 49%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.66 (m, 2H, CH_2), 1.88 (dd, 2H, $J_1 = 13.5$ Hz, $J_2 = 3.4$ Hz), 2.89 (m, 1H, CH_2), 3.19 (m, 2H, CH_2), 4.93 (d, 2H, $J = 13.2$ Hz), 7.06 (dd, 2H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz), 7.10 (dd, 1H, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.19-7.23 (m, 2H, NH_2), 7.26-7.29 (m, 2H, Ar-H), 7.29-7.34 (m, 2H, Ar-H), 7.83 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.52 (s, 1H, CH), 11.35 (s, 1H, NH).

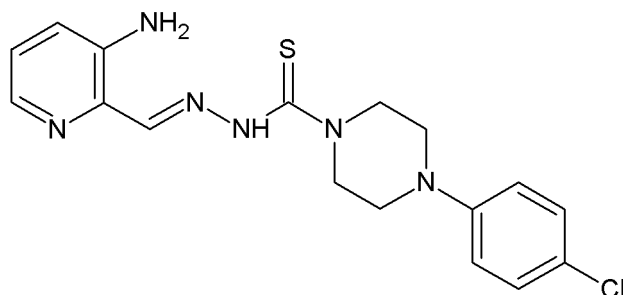
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 33.3; 42.1; 49.6; 122.5; 124.4; 126.7; 127.2; 128.9; 134.2; 137.0; 144.2; 145.8; 148.9; 179.7.

Temperatura topnienia: 198 - 199 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 340.1590 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{S}$: 340.1596)

LogP: 3.18

5.4.14. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazyny (**1m**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1354 g (0.5 mmol) 4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazyny oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1552 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazyny z wydajnością 83%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.27 (t, 4H, $J = 5.2$ Hz), 4.08 (t, 4H, $J = 5.3$ Hz), 6.99 (m, 2H, CH), 7.06-7.08 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz), 7.09-7.12 (dd, 1H, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.14-7.22 (s, 2H, NH_2), 7.25-7.28 (m, 2H, CH), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 11.45 (s, 1H, NH).

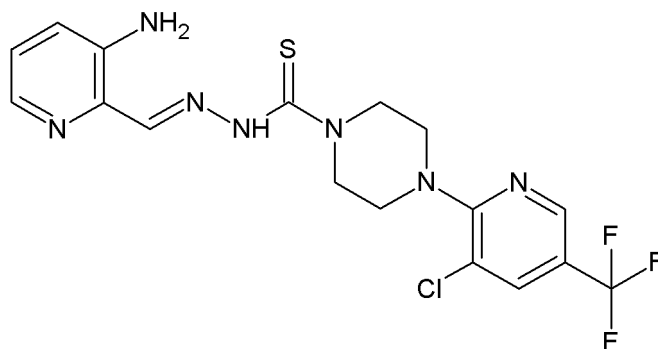
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.0; 48.4; 117.3; 122.5; 123.1; 124.5; 129.1; 134.2; 137.2; 144.2; 149.5; 149.7; 180.1.

Temperatura topnienia: 206 - 207 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 375.1155 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClN}_6\text{S}$: 375.1159)

LogP: 2.57

5.4.15. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu (**1n**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1699 g (0.5 mmol) 4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydyno-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ciemnobrązowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0689 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-[3-chloro-5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 64%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.63 (m, 4H, CH_2), 4.10 (m, 4H, CH_2), 7.05-7.09 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz), 7.09-7.12 (dd, 1H, $J_1 = 8.3$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.14-7.21 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.23 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 8.53 (s, 1H, CH), 8.59 (dd, 1H, $J_1 = 2.3$ Hz, $J_2 = 1.1$ Hz), 11.44 (s, 1H, NH).

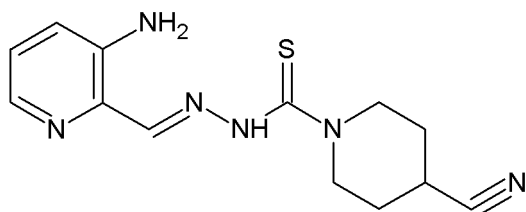
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.1; 48.3; 119.1; 120.0; 122.5; 124.5; 125.0; 134.2; 136.9; 137.2; 143.6; 144.2; 149.6; 159.5; 180.3.

Temperatura topnienia: 199 - 200 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 444.0988 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClF}_3\text{N}_7\text{S}$: 444.0985)

LogP: 3.97

5.4.16. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-cyjanopiperydino-1-tiokarbonydu (**1o**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0921 g (0.5 mmol) (4-cyjanopiperydino)-1-tiokarbonydu oraz 0,0643 g (0.5 mmol) 3-aminopirydino-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ceglasty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0524 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-cyjanopiperydino-1-tiokarbonydu z wydajnością 36%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.77 (m, 2H, CH_2), 1.98 (m, 2H, CH_2), 3.20 (m, 1H, CH_2), 3.71 (m, 2H, CH_2), 4.22 (m, 2H, CH_2), 7.02-7.12 (m, 2H, Ar-H), 7.16 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 8.50 (s, 1H, CH), 11.38 (s, 1H, NH).

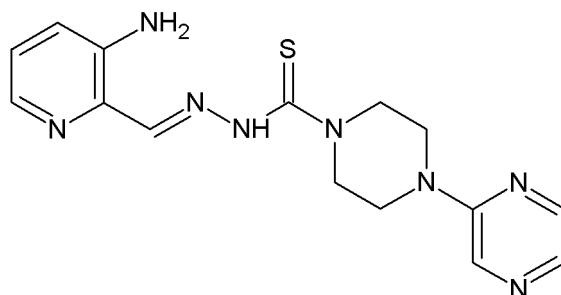
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 25.8; 28.5; 47.3; 60.3; 122.6; 124.5; 134.1; 137.1; 144.2; 149.4; 179.9.

Temperatura topnienia: 191 - 192 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 289.1235 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}$: 289.1223)

LogP: 0.46

5.4.17. Otrzymywanie *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirazynylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**1p**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0596 g (0.25 mmol) [4-(2-pirazynylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,0322 g (0.25 mmol) 3-aminopirydino-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0159 g czystego *N'*-[2-(3-aminopirydylo)metyleno]-4-(2-pirazynylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 70%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.72 (m, 4H, CH_2), 4.09 (m, 4H, CH_2), 7.05-7.12 (m, 2H, CH), 7.14-7.22 (s, 2H, NH_2), 7.84 (dd, 1H, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.88 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz), 8.12 (dd, 1H, $J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 1.5$ Hz), 8.35 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz), 8.54 (s, 1H, CH), 11.44 (s, 1H, NH).

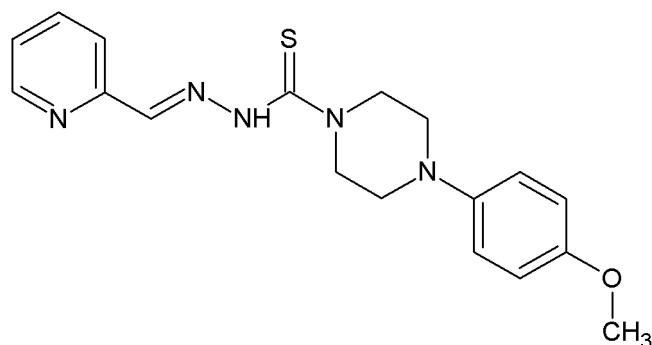
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 43.8; 48.0; 122.5; 124.5; 131.7; 133.1; 134.2; 137.2; 141.9; 144.2; 149.6; 154.7; 180.0.

Temperatura topnienia: 217 - 218 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 343.1454 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_8\text{S}$: 343.1453)

LogP: 0.48

5.4.18. Otrzymywanie *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**2a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,10 cm³ (0,1082 g, 1 mmol) 2-pirydynokarbaldydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się brunatny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,127 g czystego *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 36%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 2.72 (m, 4H, CH₂), 3.17 (s, 3H, CH₃), 3.68 (m, 4H, CH₂), 6.84 (s, 2H, Ar-H), 7.31 (m, 1H, Ar-H), 7.40 (m, 1H, Ar-H), 7.55 (m, 1H, Ar-H), 7.67 (m, 1H, Ar-H), 7.84 (m, 1H, Ar-H), 8.55 (d, 1H, *J* = 4.3 Hz), 10.37 (s, 1H, CH), 15.24 (s, 1H, NH).

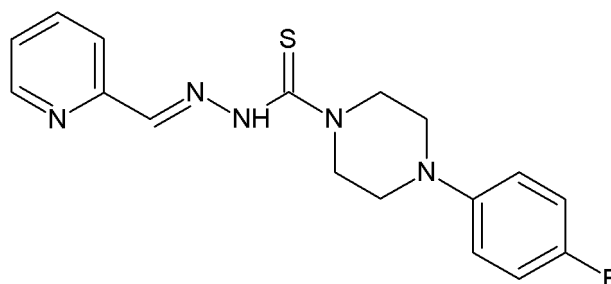
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.7; 55.6; 114.8; 118.2; 123.0; 125.1; 137.1; 145.2; 148.2; 149.5; 153.8; 156.8; 170.8; 182.3.

Temperatura topnienia: 161 - 162 °C

HRMS-ESI-TOF: 356.1545 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₈H₂₁N₅OS: 356.1545)

LogP: 1.44

5.4.19. Otrzymywanie *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**2b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,10 cm³ (0,1082 g, 1 mmol) 2-pirydynokarbonylu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnobrazowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,045 g czystego *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 43%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.17 (s, 4H, CH₂), 4.11 (m, 4H, CH₂), 7.00 (m, 2H, Ar-H), 7.08 (m, 2H, Ar-H), 7.86 (m, 2H, Ar-H), 8.21 (s, 1H, Ar-H), 8.57 (dd, 1H, *J*₁ = 11.3 Hz, *J*₂ = 4.7 Hz), 11.48 (s, 1H, CH), 15.24 (s, 1H, NH).

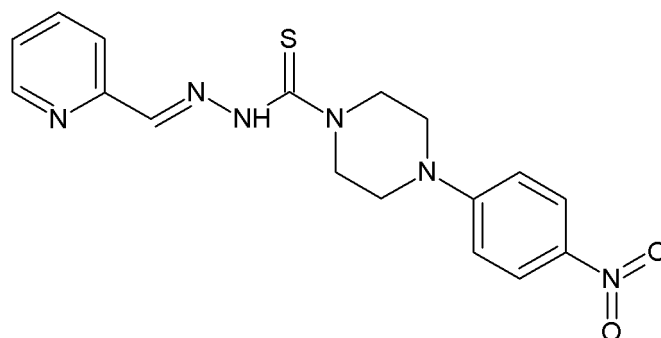
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.0; 49.4; 50.3; 115.7; 117.9; 120.0; 124.5; 137.3; 144.6; 147.9; 149.9; 153.8; 181.2.

Temperatura topnienia: 162 - 163 °C

HRMS-ESI-TOF: 344.1341 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₇H₁₈FN₅S: 344.1345)

LogP: 1.72

5.4.20. Otrzymywanie *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**2c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,10 cm³ (0,1082 g, 1 mmol) 2-pirydynokarbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,272 g czystego *N'*-[(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 73%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.69 (s, 4H, CH₂), 4.13 (s, 4H, CH₂), 6.97 (t, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.39 (m, 1H, Ar-H), 7.87 (m, 1H, Ar-H), 8.10 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 8.22 (s, 1H, Ar-H), 8.59 (d, 1H, *J* = 4.3 Hz), 11.52 (s, 1H, CH), 15.19 (s, 1H, NH).

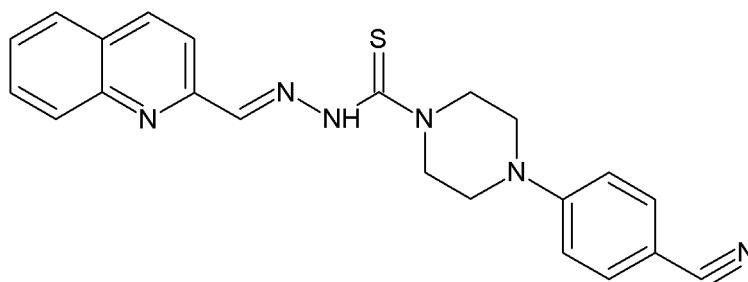
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.8; 49.4; 112.5; 120.1; 124.6; 126.3; 137.2; 137.3; 144.6; 150.0; 153.8; 154.5; 181.1.

Temperatura topnienia: 213 - 214 °C

HRMS-ESI-TOF: 371.1280 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₇H₁₈N₆O₂S: 371.1290)

LogP: 2.08

5.4.21. Otrzymywanie *N'*-[(2-chinolinilylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**3a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1307 g (0.5 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0810 g (0.5 mmol) 2-chinolinokarbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,140 g czystego *N'*-[(2-chinolinilylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 70%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.58 (s, 4H, CH_2), 4.14 (s, 4H, CH_2), 7.02 (d, 3H, $J = 8.5$ Hz), 7.09 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.64 (m, 2H, Ar-H), 7.81 (m, 2H, Ar-H), 8.03 (m, 2H, Ar-H), 8.37 (s, 1H, CH), 11.67 (s, 1H, NH).

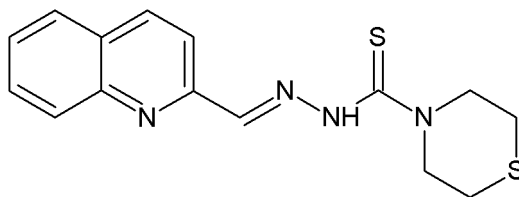
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.8; 49.4; 98.5; 114.1; 114.8; 117.8; 120.4; 128.4; 129.3; 130.4; 133.8; 137.0; 144.0; 148.0; 153.0; 153.9; 173.0; 181.2.

Temperatura topnienia: 202 - 203 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 401.1555 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{S}$: 401.1548)

LogP: 1.87

5.4.22. Otrzymywanie *N'*-[(2-chinolinyllo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbonydu (**3b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1773 g (1 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbonydu oraz 0,1620 g (1 mmol) 2-chinolinokarbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,038 g czystego *N'*-[(2-chinolinyllo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 34%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 2.71 (s, 4H, CH₂), 3.71 (s, 4H, CH₂), 7.61 (d, 1H, *J* = 6.5 Hz), 7.76 (d, 1H, *J* = 7.1 Hz), 7.97 (dd, 3H, *J*₁ = 15.1 Hz, *J*₂ = 7.9 Hz), 8.14 (s, 1H, Ar-H), 8.35 (s, 1H, CH), 12.32 (s, 1H, NH).

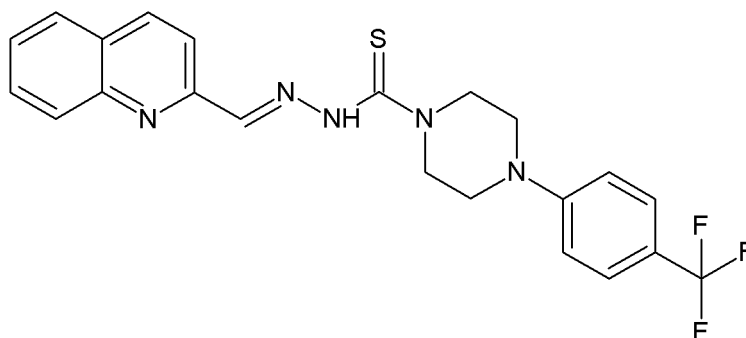
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 25.7; 52.1; 117.4; 127.3; 128.0; 128.4; 129.2; 130.5; 136.9; 142.4; 147.9; 154.2; 163.2.

Temperatura topnienia: 198 - 199 °C

HRMS-ESI-TOF: 317.0969 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₅H₁₆N₄S₂: 317.0895)

LogP: 2.13

5.4.23. Otrzymywanie *N'*-[(2-chinolinyl)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**3c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1522 g (0.5 mmol) 4-[4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0810 g (0.5 mmol) 2-chinolinokarbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,185 g czystego *N'*-[(2-chinolinyl)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 83%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.52 (s, 4H, CH_2), 4.15 (s, 4H, CH_2), 7.09 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.55 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz), 7.63 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 7.79 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 8.02 (m, 3H, Ar-H), 8.35 (s, 1H, CH), 8.39 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 11.68 (s, 1H, NH).

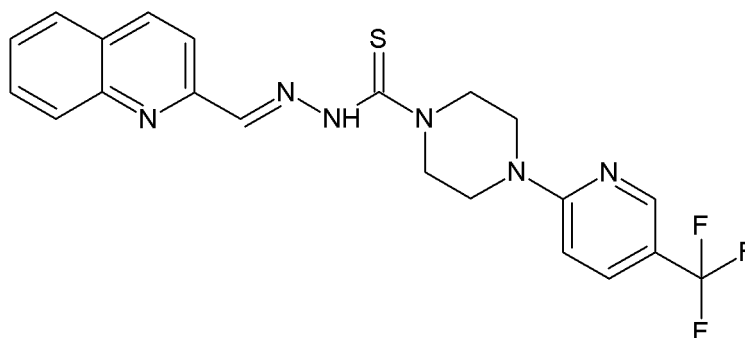
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 46.8; 49.9; 114.3; 117.8; 118.4; 124.4; 126.7; 127.7; 128.2; 128.5; 129.3; 130.6; 137.2; 144.4; 147.9; 153.1; 154.3; 181.2.

Temperatura topnienia: 207 - 208 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 444.1473 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_5\text{S}$: 444.1470)

LogP: 4.24

5.4.24. Otrzymywanie *N'*-[(2-chinolinyl)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**3d**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1527 g (0.5 mmol) 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu oraz 0,0810 g (0.5 mmol) 2-chinolinokarbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,150 g czystego *N'*-[(2-chinolinyl)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 68%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.85 (s, 4H, CH_2), 4.13 (s, 4H, CH_2), 6.97 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 7.63 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 7.79 (t, 1H, $J = 7.4$ Hz), 7.86 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 8.02 (m, 3H, Ar-H), 8.35 (s, 1H, CH), 8.38 (m, 1H, Ar-H), 8.46 (s, 1H, Ar-H), 11.67 (s, 1H, NH).

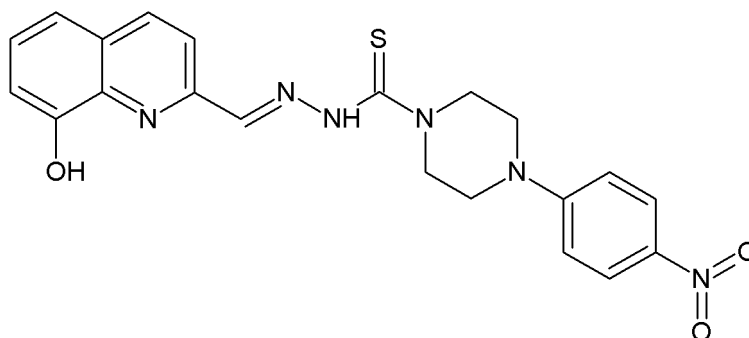
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.1; 49.9; 106.7; 113.8; 114.0; 117.8; 127.6; 128.2; 128.5; 129.3; 130.5; 135.0; 137.1; 144.4; 145.7; 147.9; 154.3; 160.3; 181.4.

Temperatura topnienia: 202 - 203 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 445.1411 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_6\text{S}$: 445.1422)

LogP: 3.72

5.4.25. Otrzymywanie *N'*-[(8-hydroksy-2-chinolinilo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**4**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2814 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1767 g (1 mmol) 8-hydroksychinolino-2-karbonydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,339 g czystego *N'*-[(8-hydroksy-2-chinolinilo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 78%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.74 (m, 4H, CH_2), 4.14 (m, 4H, CH_2), 6.98 (t, 2H, $J = 10.2$ Hz), 7.12 (m, 2H, Ar-H), 7.42 (m, 2H, Ar-H), 8.08 (m, 2H, Ar-H), 8.29 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 8.38 (s, 1H, CH), 9.84 (s, 1H, OH), 11.74 (s, 1H, NH).

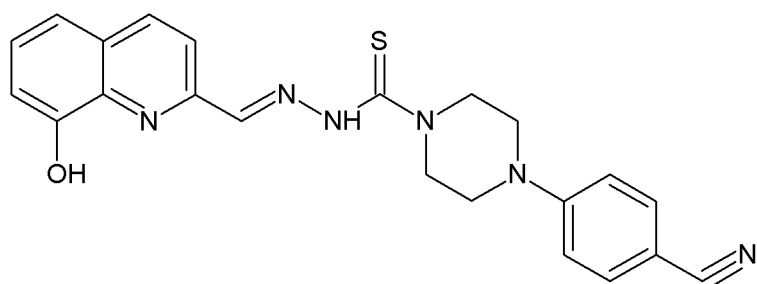
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.8; 49.6; 112.4; 112.6; 117.8; 118.6; 126.3; 128.6; 129.2; 137.0; 137.3; 138.6; 144.3; 152.2; 153.6; 154.5; 181.0.

Temperatura topnienia: $204 - 205^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 437.1387 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$: 437.1396)

LogP: 3.23

5.4.26. Otrzymywanie *N'*-[(8-hydroksy-2-chinolinylometyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazylu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,2613 g (1 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazylu oraz 0,1767 g (1 mmol) 8-hydroksychinolino-2-karbaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się beżowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,143 g czystego *N'*-[(8-hydroksy-2-chinolinylometyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazylu z wydajnością 70%.

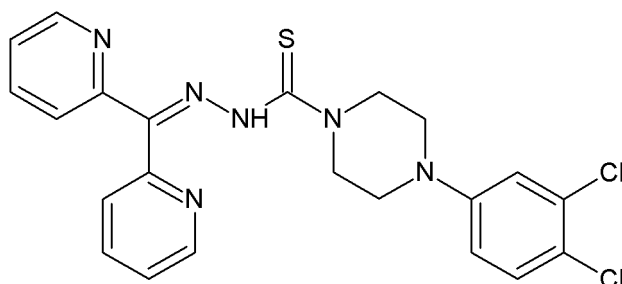
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.59 (s, 4H, CH_2), 4.14 (s, 4H, CH_2), 7.02 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.12 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz), 7.37-7.48 (m, 2H, Ar-H), 7.63 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 8.02 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 8.30 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 8.37 (s, 1H, CH), 9.83 (s, 1H, OH), 11.73 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 46.0; 49.8; 98.5; 112.7; 114.0; 118.0; 118.3; 120.6; 128.6; 129.2; 133.9; 137.0; 138.6; 144.3; 152.2; 152.9; 153.8; 181.2.

Temperatura topnienia: 198 - 199 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 2.65

5.4.27. Otrzymywanie *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**5a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1532 g (0.5 mmol) 4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,0921 g (0.5 mmol) ketonu dipirydylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółto-pomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,065 g czystego *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 48%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 3.46 (s, 4H, CH_2), 4.15 (s, 4H, CH_2), 7.13 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz), 7.43 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 7.49 (m, 1H, Ar-H), 7.61 (m, 2H, Ar-H), 7.98 (m, 4H, Ar-H), 8.61 (d, 1H, $J = 3.9$ Hz), 8.88 (d, 1H, $J = 4.2$ Hz), 14.66 (s, 1H, NH).

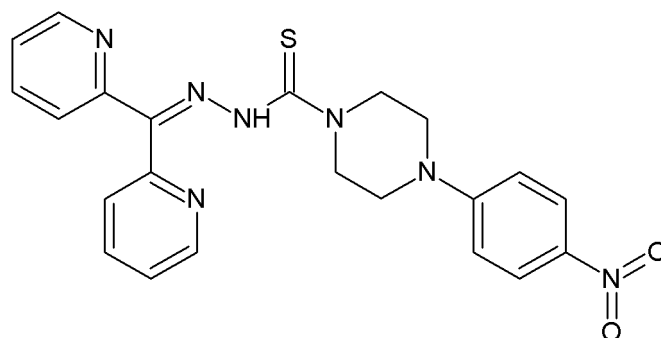
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 47.0; 48.9; 115.2; 116.2; 119.8; 124.2; 125.1; 127.4; 131.0; 132.1; 137.8; 149.1; 150.3; 156.0; 180.6.

Temperatura topnienia: 159 - 160 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 471.0934 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{S}$: 471.0925)

LogP: 3.73

5.4.28. Otrzymywanie *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**5b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1407 g (0.5 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0921 g (0.5 mmol) ketonu dipirydylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,089 g czystego *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 44%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.84 (m, 4H, CH_2), 4.82 (m, 4H, CH_2), 6.97 (s, 3H, Ar-H), 7.55 (d, 2H, $J = 4.2$ Hz), 8.07 (s, 3H, Ar-H), 8.52 (s, 2H, Ar-H), 8.83 (s, 1H, Ar-H), 9.15 (s, 1H, Ar-H), 14.67 (s, 1H, NH).

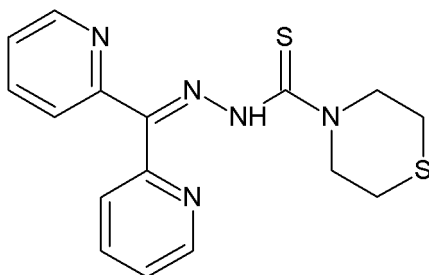
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.8; 48.5; 112.3; 113.6; 120.2; 124.2; 126.3; 129.8; 136.9; 148.7; 148.9; 154.6; 182.8.

Temperatura topnienia: 194 - 195 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 448.1556 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$: 448.1556)

LogP: 1.26

5.4.29. Otrzymywanie *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu (**5c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0887 g (0.5 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbohydrazynu oraz 0,0921 g (0.5 mmol) ketonu dipirydylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ciemnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,147 g czystego *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-tiomorfolino-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 86%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 2.78 (s, 4H, CH_2), 4.28 (s, 4H, CH_2), 7.53 (m, 3H, Ar-H), 7.96 (m, 3H, Ar-H), 8.59 (m, 1H, Ar-H), 8.82 (m, 1H, Ar-H), 14.65 (s, 1H, NH).

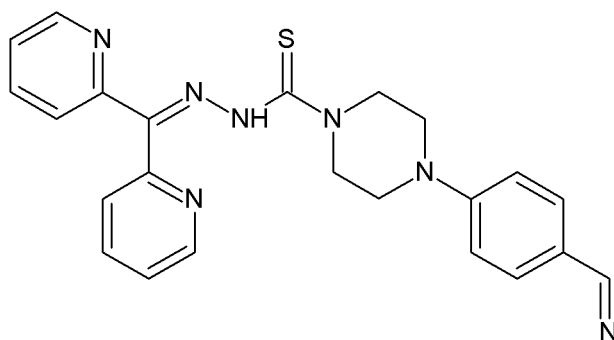
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 51.9; 56.5; 123.6; 124.3; 126.3; 137.5; 148.6; 148.9; 156.0.

Temperatura topnienia: 223 - 224 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 344.1004 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{S}_2$: 344.1004)

LogP: 1.31

5.4.30. Otrzymywanie *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**5d**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1307 g (0.5 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0921 g (0.5 mmol) ketonu dipirydylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,027 g czystego *N'*-[di(2-pirydylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 33%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.58 (s, 4H, CH_2), 4.32 (s, 4H, CH_2), 6.84 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.28 (s, 1H, Ar-H), 7.41 (m, 2H, Ar-H), 7.54 (d, 3H, $J = 8.7$ Hz), 7.87 (m, 2H, Ar-H), 8.66 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz), 8.78 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz), 14.83 (s, 1H, NH).

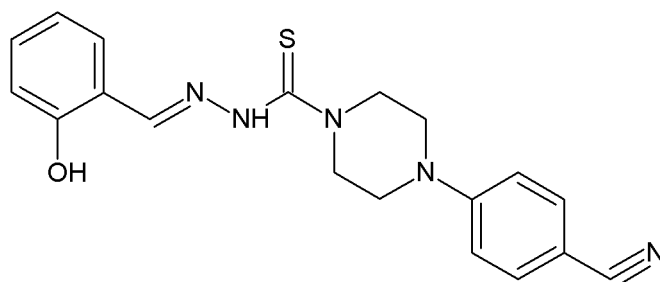
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 46.1; 48.7; 99.3; 113.6; 114.9; 120.4; 124.3; 127.3; 133.9; 137.8; 148.9; 153.3; 156.0; 180.5.

Temperatura topnienia: 186 - 187 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 428.1648 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{S}$: 428.1657)

LogP: 2.05

5.4.31. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**6a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2614 g (1 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1221 g, 1 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,276 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 73%.

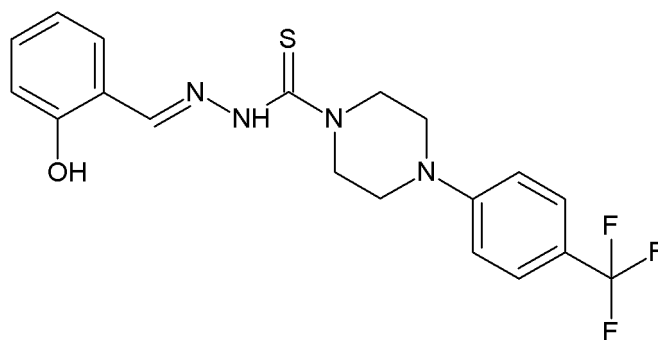
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.53 (s, 4H, CH₂), 4.09 (s, 4H, CH₂), 6.91 (m, 2H, Ar-H), 6.99 (t, 2H, *J* = 4.2 Hz), 7.28 (t, 1H, *J* = 7.6), 7.43 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.61 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 8.51 (s, 1H, CH), 11.52 (s, 1H, OH), 11.55 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.8; 48.0; 98.6; 114.0; 117.0; 119.0; 119.6; 120.5; 130.4; 131.4; 133.8; 146.9; 152.9; 157.6; 179.7.

Temperatura topnienia: 215 - 216 °C

LogP: 2.56

5.4.32. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo) piperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**6b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1522 g (0.5 mmol) 4-[4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,164 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 80%.

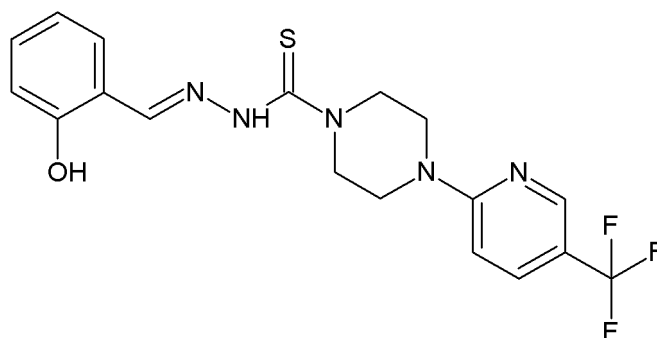
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.47 (s, 4H, CH₂), 4.10 (s, 4H, CH₂), 6.91 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz), 7.08 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 7.28 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.44 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.54 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 8.51 (s, 1H, CH), 11.54 (s, 1H, OH), 11.56 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 46.6; 48.2; 114.3; 117.0; 118.4; 119.0; 119.6; 124.4; 126.7; 130.4; 131.4; 146.8; 153.0; 157.6; 179.7.

Temperatura topnienia: 234 - 235 °C

LogP: 3.93

5.4.33. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**6c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1523 g (0.5 mmol) 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,152 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 74%.

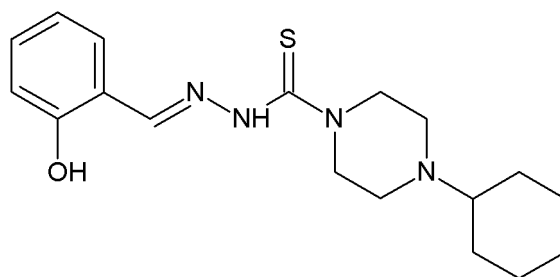
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.80 (s, 4H, CH₂), 4.09 (s, 4H, CH₂), 6.91 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz), 6.97 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 7.28 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.44 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.85 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz), 8.46 (s, 1H, Ar-H), 8.51 (s, 1H, CH), 11.54 (s, 2H, NH, OH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 43.8; 48.1; 106.7; 117.0; 119.0; 119.6; 124.3; 126.4; 130.4; 131.2; 135.0; 145.7; 146.9; 157.6; 160.3; 179.7.

Temperatura topnienia: 228 - 229 °C

LogP: 3.42

5.4.34. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2424 g (1 mmol) (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1221 g, 1 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się biały krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,246 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 35%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.20 (t, 4H, *J* = 9.6 Hz), 1.58 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz), 1.75 (d, 4H, *J* = 10.0 Hz), 2.28 (s, 1H, CH₂), 2.56 (s, 4H, CH₂), 3.89 (s, 4H, CH₂), 4.09 (s, 1H, CH₂), 6.90 (dd, 2H, *J*₁ = 7.5 Hz, *J*₂ = 4.5 Hz), 7.27 (t, 1H, *J* = 7.7 Hz), 7.40 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz), 8.46 (s, 1H, CH), 11.43 (s, 1H, OH), 11.62 (s, 1H, NH).

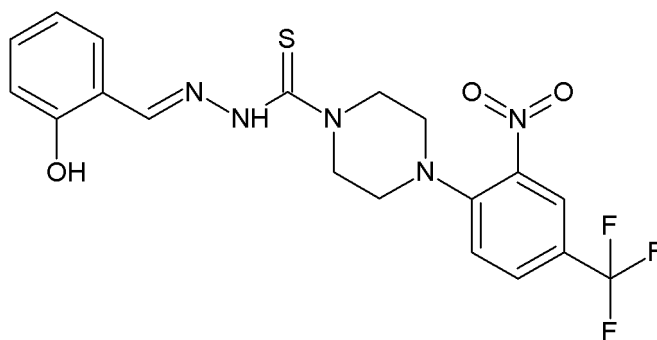
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 25.7; 26.2; 28.6; 48.7; 49.1; 63.0; 117.0; 119.0; 119.6; 130.5; 131.3; 146.6; 157.6; 179.5.

Temperatura topnienia: 207 - 208 °C

LR-MS (ESI): 346.1 [M+H]⁺

LogP: 3.43

5.4.35. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,1747 g (0.5 mmol) 4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1676 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-[2-nitro-4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 85%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.42 (m, 4H, CH₂), 4.09 (m, 4H, CH₂), 6.91 (m, 2H, Ar-H), 7.28 (m, 1H, Ar-H), 7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.89 (dd, 1H, *J*₁ = 9.1 Hz, *J*₂ = 2.4 Hz), 8.20 (m, 1H, Ar-H), 8.50 (s, 1H, CH), 11.52 (m, 1H, OH), 11.55 (s, 1H, NH).

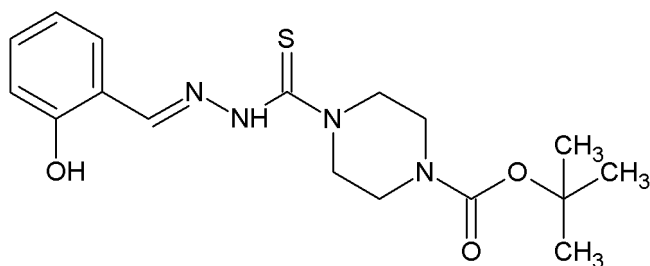
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 48.0; 49.1; 49.2; 117.0; 119.0; 119.3; 119.6; 121.1; 124.4; 125.2; 130.5; 131.4; 138.8; 146.9; 147.4; 157.5; 179.8.

Temperatura topnienia: 171 - 172 °C

LR-MS (ESI): 452.7 [M+H]⁺

LogP: 4.96

5.4.36. Otrzymywanie *N'*-4-([2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo)-piperazyno-1-karboksylanu tert-butylu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1302 g (0.5 mmol) tert-butylu-4-(hydrazynylokarbotionylo)piperazyno-1-tiokarbohydrydu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0813 g czystego *N'*-4-([2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo)karbotionylo)piperazyno-1-karboksylanu tert-butylu z wydajnością 80%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.43 (s, 9H, CH₃), 3.45 (m, 4H, CH₂), 3.92 (m, 4H, CH₂), 6.91 (m, 2H, Ar-H), 7.28 (m, 1H, Ar-H), 7.43 (dd, 1H, *J*₁ = 7.9 Hz, *J*₂ = 1.7 Hz), 8.47 (s, 1H, CH), 11.51 (s, 2H, OH, NH).

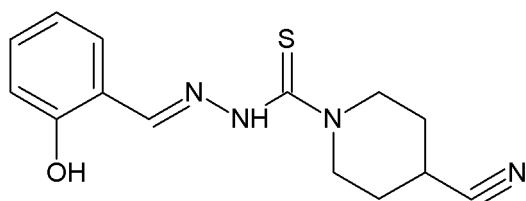
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 19.0; 28.5; 48.5; 56.5; 79.7; 117.0; 119.0; 119.6; 130.4; 131.4; 146.8; 154.3; 157.5; 179.9.

Temperatura topnienia: 199 - 200 °C

LR-MS (ESI): 365.1 [M+H]⁺

LogP: 2.11

5.4.37. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cyjanopiperydino-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0921 g (0.5 mmol) (4-cyjanopiperydino)-1-tiokarbonydu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się ciemnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0905 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cyjanopiperydino-1-tiokarbonydu z wydajnością 67%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.77 (m, 2H, CH₂), 1.98 (m, 2H, CH₂), 3.71 (m, 2H, CH₂), 4.21 (m, 2H, CH₂), 6.90 (m, 2H, Ar-H), 7.28 (m, 1H, Ar-H), 7.42 (dd, 1H, *J*₁ = 7.9 Hz, *J*₂ = 1.7 Hz), 8.46 (s, 1H, CH), 11.50 (s, 1H, OH), 11.51 (s, 1H, NH).

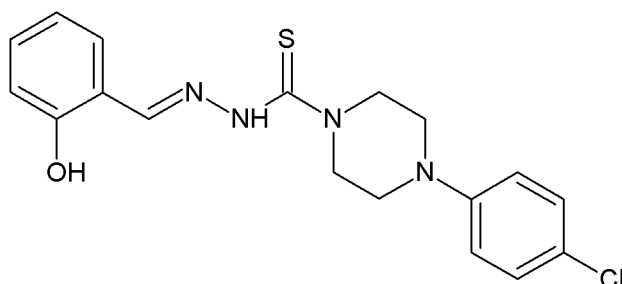
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 28.5; 47.4; 49.1; 117.0; 119.0; 119.6; 122.3; 130.3; 131.4; 146.8; 157.5; 179.7.

Temperatura topnienia: 167 - 168 °C

LR-MS (ESI): 311.4 [M+Na]⁺

LogP: 1.31

5.4.38. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1354 g (0.5 mmol) 4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1357 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-chlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 71%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.28 (t, 4H, *J* = 5.2 Hz), 4.07 (t, 4H, *J* = 5.2 Hz), 6.91 (m, 2H, Ar-H), 6.99 (m, 2H, Ar-H), 7.25-7.28 (m, 3H, Ar-H), 7.43 (dd, 1H, *J*₁ = 7.9 Hz, *J*₂ = 1.7 Hz), 8.49 (s, 1H, CH), 11.55 (s, 1H, OH), 11.57 (s, 1H, NH).

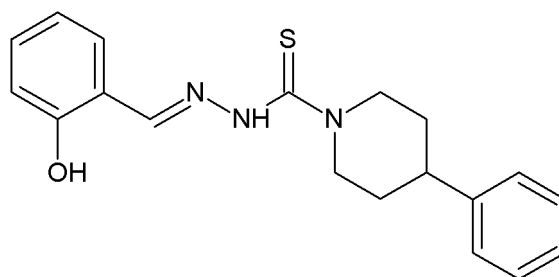
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 48.0; 48.5; 117.0; 117.3; 119.0; 119.6; 123.1; 129.2; 130.4; 131.4; 146.8; 149.7; 157.6; 179.7.

Temperatura topnienia: 213 - 214 °C

LR-MS (ESI): 397.8 [M+Na]⁺

LogP: 3.41

5.4.39. Otrzymywanie *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperydyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1177 g (0.5 mmol) (4-fenylo-1-piperidyno)-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0611 g, 0.5 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1016 g czystego *N'*-[(2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperydyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 87%.

¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.67 (m, 2H, CH₂), 1.88 (m, 2H, CH₂), 3.20 (t, 2H, *J* = 13.0 Hz), 4.90 (d, 2H, *J* = 13.3 Hz), 6.90 (m, 2H, Ar-H), 7.21 (m, 1H, Ar-H), 7.27 (m, 3H, Ar-H), 7.31 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz), 7.41 (dd, 1H, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 1.7 Hz), 8.84 (s, 1H, CH), 11.47 (s, 1H, OH), 11.63 (s, 1H, NH).

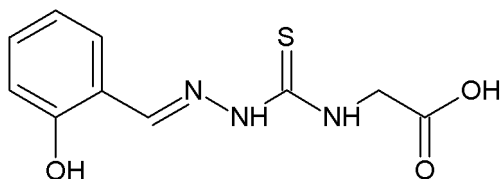
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 33.3; 42.1; 49.6; 117.0; 119.0; 119.5; 126.7; 127.2; 128.9; 130.4; 131.2; 145.7; 146.5; 157.5; 179.3.

Temperatura topnienia: 199 - 200 °C

LR-MS (ESI): 339.2 [M+H]⁺

LogP: 4.03

5.4.40. Otrzymywanie kwasu *N'*-({[2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo}karbotionylo) octowego



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0746 g (0.2 mmol) kwasu {[(hydrazynylo)karbotionylo]amino} octowego oraz 0,03 cm³ (0,0306 g, 0.25 mmol) aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0608 g czystego kwasu *N'*-({[2-(2-hydroksyfenylo)metyleno]hydrazynylo}karbotionylo) octowego z wydajnością 82%.

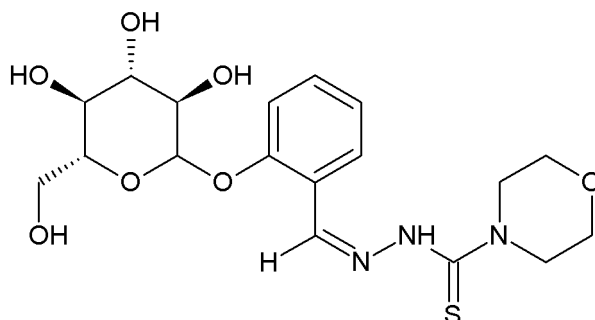
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.41 (s, 2H, CH₂), 6.89 (m, 2H, Ar-H), 7.24 (m, 1H, Ar-H), 7.42 (dd, 1H, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 1.7 Hz), 8.49 (s, 1H, CH), 10.88 (s, 1H, OH), 10.98 (s, 1H, NH), 13.00 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.8; 116.7; 119.4; 119.8; 129.4; 131.0; 145.7; 150.0; 157.2; 166.6.

Temperatura topnienia: 245 - 246°C

LogP: 1.39

5.4.41. Otrzymywanie *N'*-2{[(3,4,5-trihydroksy-6-hydroksymetyleno)tetrahydropiran-2-yloksy]benzylideno}morfolino-1-tiokarbohydrazynu (**7**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0806 g (0.5 mmol) (4-morfolino)tiokarbohydrazynu oraz 0,1420 g (0.5 mmol) glikozydu aldehydu salicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,105 g czystego *N'*-2{[(3,4,5-trihydroksy-6-hydroksymetyleno)tetrahydropiran-2-yloksy]benzylideno}morfolino-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 49%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.19 (m, 2H, CH_2), 3.68 (m, 4H, CH_2), 3.93 (m, 4H, CH_2), 4.57 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz), 4.91 (d, 1H, $J = 6.7$ Hz), 5.04 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz), 5.13 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz), 5.16 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz), 7.07 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.22 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.38 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.75 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.56 (s, 1H, CH), 11.02 (s, 1H, NH).

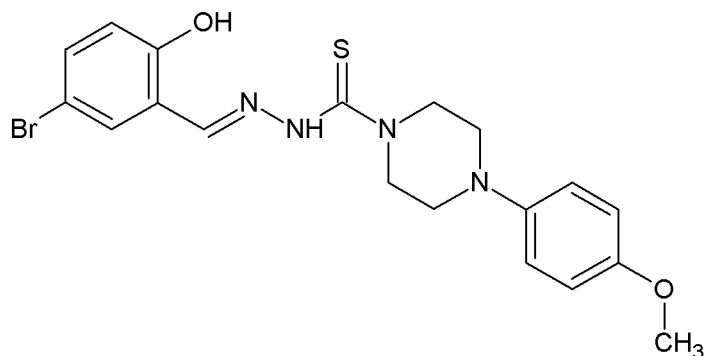
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 51.0; 61.1; 66.5; 70.1; 74.0; 76.8; 77.6; 101.7; 116.3; 122.8; 123.9; 125.6; 131.6; 141.0; 156.6; 181.1.

Temperatura topnienia: 188 - 189 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 426.3 [M-H]⁻

LogP: -2.11

5.4.42. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**8a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,435 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 97%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.12 (s, 3H, CH_3), 3.70 (s, 4H, CH_2), 4.07 (s, 4H, CH_2), 6.86 (dd, 3H, $J_1 = 11.7$ Hz, $J_2 = 9.0$ Hz), 6.95 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 7.41 (dd, 1H, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 1.9$ Hz), 7.68 (s, 1H, Ar-H), 8.44 (s, 1H, CH), 8.95 (s, 1H, OH), 11.68 (s, 1H, NH).

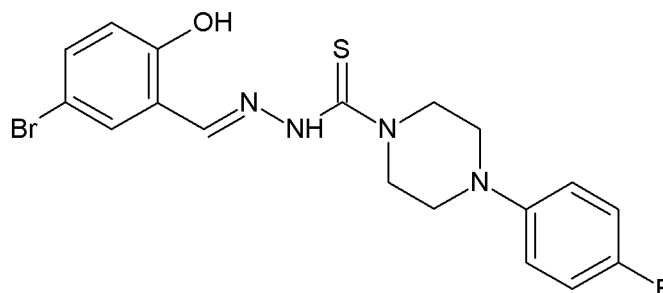
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 49.0; 50.0; 55.7; 110.5; 114.8; 118.2; 119.5; 121.3; 131.9; 133.6; 135.9; 144.7; 145.3; 153.8; 155.7.

Temperatura topnienia: 203 - 204 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 447.4 [M-H] $^-$

LogP: 3.73

5.4.43. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**8b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biało-kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,331 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 76%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.20 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.00 (m, 2H, Ar-H), 7.08 (t, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.41 (dd, 1H, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.68 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz), 8.44 (s, 1H, CH), 11.67 (s, 1H, OH), 11.70 (s, 1H, NH).

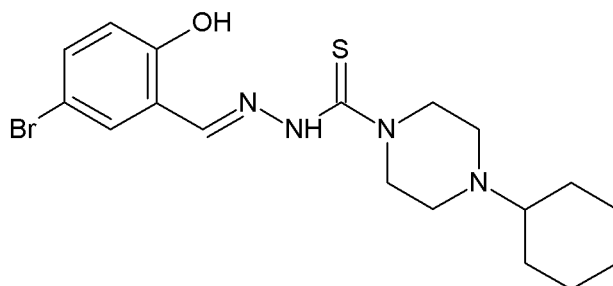
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 49.1; 110.5; 115.9; 117.9; 119.2; 121.3; 131.9; 133.6; 144.7; 147.8; 155.8; 156.7; 157.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 205 - 206 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 435.4 [M-H] $^-$

LogP: 4.01

5.4.44. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**8c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2424 g (1 mmol) (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbohydrazynu oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a *następnie* krystalizowano z metanolu uzyskując 0,092 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 76%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.19 (m, 4H, CH_2), 1.58 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz), 1.75 (d, 4H, $J = 9.0$ Hz), 2.29 (s, 1H, CH_2), 2.57 (s, 4H, CH_2), 3.89 (s, 4H, CH_2), 6.86 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.39 (m, 1H, Ar-H), 7.65 (t, 1H, $J = 4.6$ Hz), 8.40 (s, 1H, CH), 8.94 (s, 1H, OH), 11.75 (s, 1H, NH).

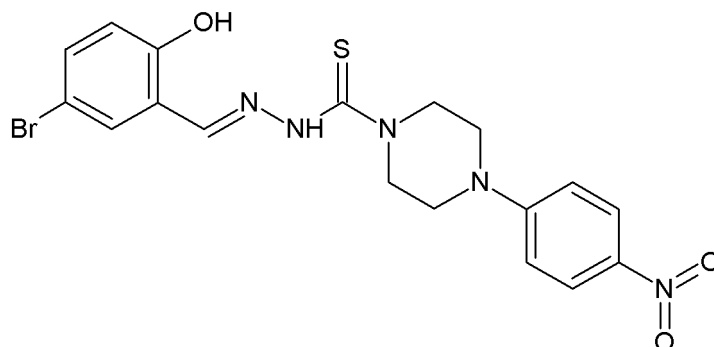
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 25.7; 26.3; 31.2; 48.7; 65.9; 110.5; 119.3; 121.3; 131.9; 133.5; 144.5; 156.6; 179.7; 207.1.

Temperatura topnienia: 197 - 198 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 423.0850 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{BrN}_4\text{OS}$: 423.0854)

LogP: 4.67

5.4.45. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**8d**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się pomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,360 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 78%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.68 (s, 4H, CH_2), 4.12 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 6.99 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 7.41 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.68 (s, 1H, Ar-H), 8.09 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 8.46 (s, 1H, CH), 11.58 (s, 1H, OH), 11.67 (s, 1H, NH).

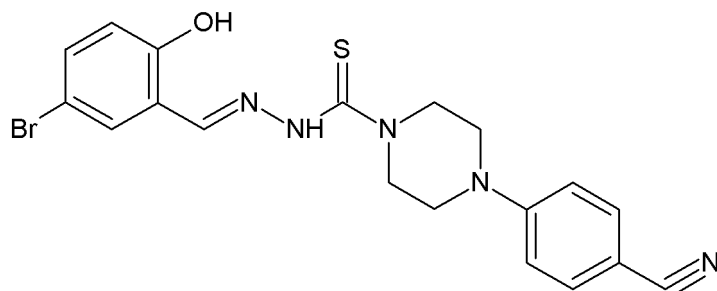
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.6; 47.9; 110.6; 112.5; 119.3; 121.3; 126.2; 131.9; 133.6; 137.3; 144.9; 154.5; 156.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 224 - 225 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 462.0236 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BrN}_5\text{O}_3\text{S}$: 462.0236)

LogP: 4.37

5.4.46. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**8e**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2093 g (0.8 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1641 g (0.8 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,272 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 77%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.53 (s, 4H, CH_2), 4.09 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.01 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 7.41 (dd, 1H, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 2.2$ Hz), 7.62 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.68 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz), 8.45 (s, 1H, CH), 11.66 (s, 1H, OH), 11.68 (s, 1H, NH).

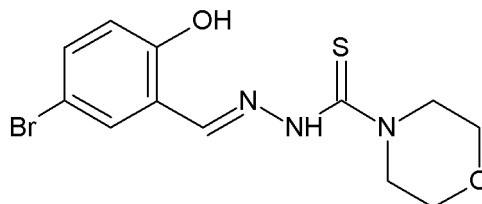
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 45.8; 48.1; 98.6; 110.6; 114.0; 119.3; 120.6; 121.3; 131.9; 133.6; 133.9; 144.9; 152.9; 156.7; 179.7.

Temperatura topnienia: 218 - 219 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 442.0334 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BrN}_5\text{OS}$: 442.0337)

LogP: 3.77

5.4.47. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu (**8f**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1264 g (0.8 mmol) (4-morfolino)tiokarbonydu oraz 0,1641 g (0.8 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,141 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 51%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.67 (m, 4H, CH_2), 3.92 (m, 4H, CH_2), 6.87 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.40 (dd, 1H, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 2.2$ Hz), 7.67 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 8.41 (s, 1H, CH), 11.62 (s, 1H, OH), 11.65 (s, 1H, NH).

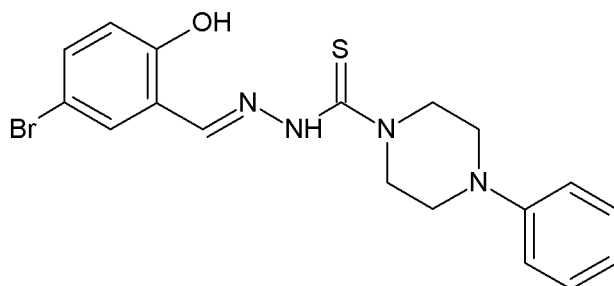
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 49.5; 66.2; 110.5; 119.3; 121.2; 131.9; 133.6; 144.8; 156.6; 180.1.

Temperatura topnienia: 197 - 198 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 342.2 [M-H] $^-$

LogP: 2.15

5.4.48. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**8g**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2363 g (1 mmol) (4-fenylo-1-piperazyno)tiokarbohidrazynu oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,301 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 72%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.27 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 6.82 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 6.88 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 6.97 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 7.25 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz), 7.41 (dd, 1H, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 2.1$ Hz), 7.68 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz), 8.44 (s, 1H, CH), 11.67 (s, 1H, OH), 11.70 (s, 1H, NH).

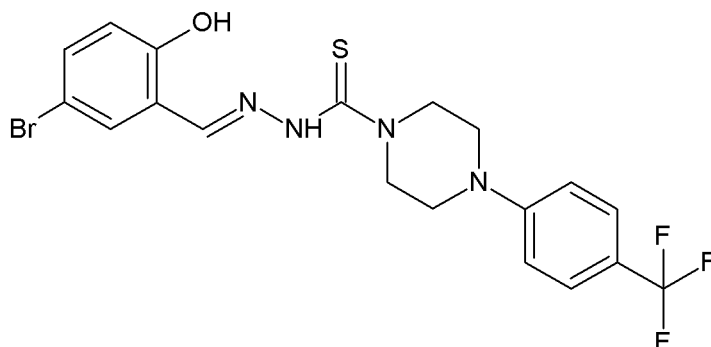
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.3; 48.8; 51.2; 110.5; 116.2; 119.3; 121.3; 129.5; 131.9; 133.6; 144.7; 150.9; 156.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 188 - 189 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 417.0388 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrN}_4\text{OS}$: 417.0385)

LogP: 3.89

5.4.49. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo) piperazyno-1-tiokarbonydu (**8h**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1522 g (0.5 mmol) 4-[4-(trifluorometylo)fenylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1026 g (0.5 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,173 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 71%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.47 (s, 4H, CH_2), 4.10 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.08 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.41 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.54 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.69 (s, 1H, Ar-H), 8.46 (s, 1H, CH), 11.66 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, NH).

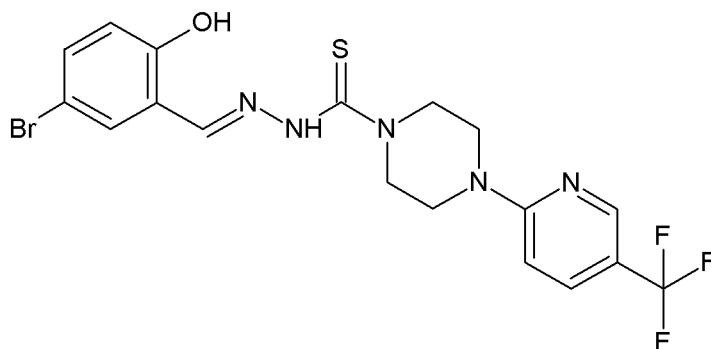
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 46.6; 48.3; 110.6; 114.3; 118.4; 119.3; 121.3; 124.4; 126.7; 131.9; 133.6; 144.8; 153.0; 156.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 218 - 219 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 485.0259 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BrF}_3\text{N}_4\text{OS}$: 485.0258)

LogP: 5.14

5.4.50. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**8i**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1527 g (0.5 mmol) 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1026 g (0.5 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,139 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 57%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.80 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 6.97 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 7.41 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 7.69 (s, 2H, Ar-H), 7.85 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 8.46 (s, 1H, CH), 11.67 (s, 2H, NH, OH).

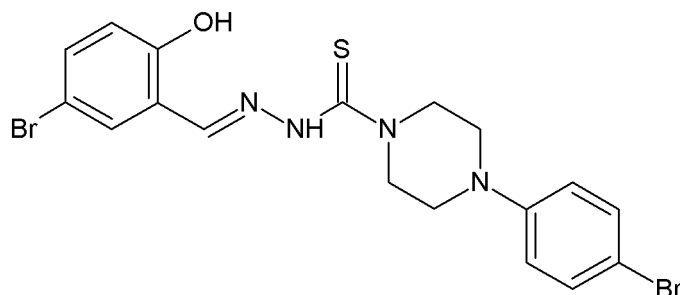
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 43.8; 48.2; 106.7; 110.5; 119.3; 121.3; 124.3; 126.4; 131.9; 133.6; 135.0; 144.8; 145.7; 156.7; 160.3; 179.8.

Temperatura topnienia: 221 - 222 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 486.0206 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrF}_3\text{N}_5\text{OS}$: 486.0211)

LogP: 4.62

5.4.51. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-bromofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**8j**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1576 g (0.5 mmol) 4-(4-bromofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1026 g (0.5 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,205 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-bromofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 82%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.28 (s, 4H, CH_2), 4.07 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 6.94 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 7.40 (t, 3H, $J = 9.8$ Hz), 7.69 (s, 1H, Ar-H), 8.44 (s, 1H, CH), 11.66 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, NH).

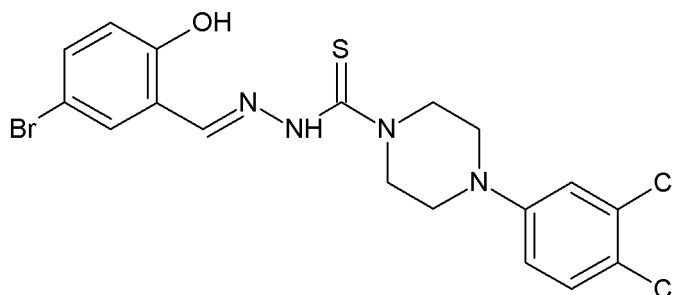
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.8; 48.5; 110.6; 110.7; 117.8; 119.8; 121.3; 131.9; 132.0; 133.7; 144.7; 150.0; 156.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 215 - 216 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 494.9496 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{Br}_2\text{N}_4\text{OS}$: 494.9490)

LogP: 4.66

5.4.52. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**8k**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1526 g (0.5 mmol) 4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1026 g (0.5 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,175 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 72%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.35 (s, 4H, CH_2), 4.07 (s, 4H, CH_2), 6.88 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 6.96 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.18 (s, 1H, Ar-H), 7.42 (t, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.69 (s, 1H, Ar-H), 8.45 (s, 1H, CH), 11.66 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, NH).

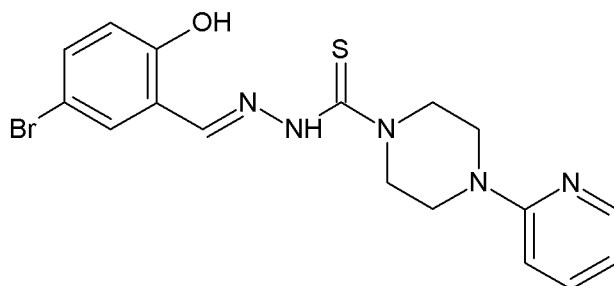
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.3; 48.4; 110.6; 115.5; 116.5; 119.3; 120.2; 121.3; 131.0; 131.9; 132.0; 133.6; 144.8; 150.5; 156.7; 179.8.

Temperatura topnienia: 207 - 208 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 484.9610 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrCl}_2\text{N}_4\text{OS}$: 484.9605)

LogP: 5.45

5.4.53. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**81**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1187 g (0.5 mmol) [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbohydrazynu oraz 0,1026 g (0.5 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,134 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 64%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.65 (s, 4H, CH_2), 4.06 (s, 4H, CH_2), 6.68 (s, 1H, Ar-H), 6.87 (t, 2H, $J = 9.2$ Hz), 7.41 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.57 (s, 1H, Ar-H), 7.69 (s, 1H, Ar-H), 8.14 (s, 1H, Ar-H), 8.45 (s, 1H, CH), 11.67 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, NH).

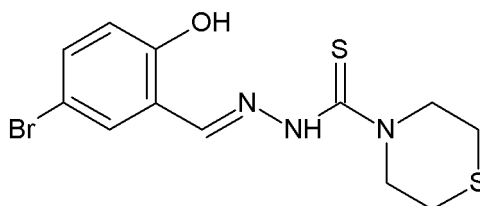
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.7; 51.0; 107.6; 110.5; 113.7; 119.3; 121.3; 131.9; 133.6; 138.1; 148.0; 156.7; 158.9; 179.8; 193.2.

Temperatura topnienia: 199 - 200 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 418.0332 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrN}_5\text{OS}$: 418.0337)

LogP: 2.97

5.4.54. Otrzymywanie *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydrazyny



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1773 g (1 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbonydrazyny oraz 0,2051 g (1 mmol) aldehydu 5-bromosalicylowego. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,228 g czystego *N'*-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydrazyny z wydajnością 63%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 2.71 (s, 4H, CH_2), 4.22 (s, 4H, CH_2), 6.87 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.41 (m, 1H, Ar-H), 7.67 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz), 8.43 (s, 1H, CH), 11.61 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, NH).

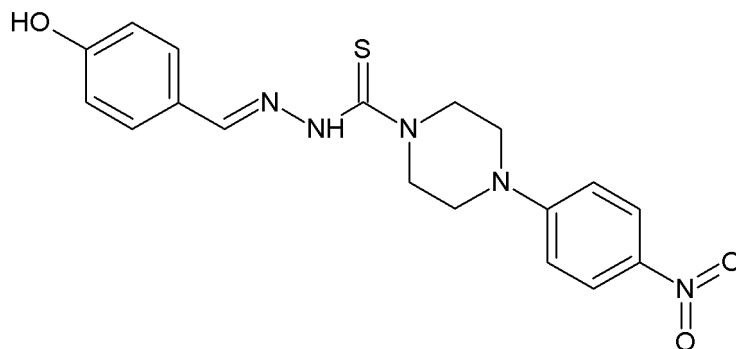
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 27.0; 52.1; 110.5; 119.3; 121.2; 131.9; 133.6; 144.9; 156.6; 179.5.

Temperatura topnienia: 167 - 168 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 360.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 3.03

5.4.55. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**9**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1286 g (1 mmol) 4-hydroksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,295 g czystego *N'*-[(4-hydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 77%.

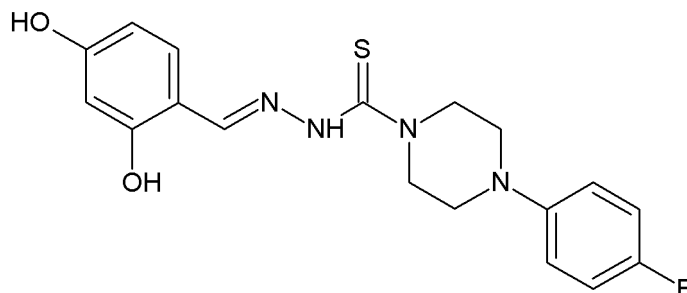
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.11 (s, 4H, CH_2), 4.05 (s, 4H, CH_2), 6.37 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.70 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.84 (t, 2H, $J = 8.9$ Hz), 6.94 (m, 2H, Ar-H), 8.36 (s, 1H, Ar-H), 8.52 (s, 1H, Ar-H), 9.23 (s, 1H, CH), 11.39 (s, 1H, OH), 11.82 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 50.0; 55.7; 107.9; 114.8; 118.3; 121.5; 133.3; 145.3; 147.4; 148.8; 153.7; 183.2.

Temperatura topnienia: 184 - 185 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 2.92

5.4.56. Otrzymywanie *N'*-[(2,4-dihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**10**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1381 g (1 mmol) 2,4-dihydroksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,165 g czystego *N'*-[(2,4-dihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 57%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): δ 3.18 (s, 4H, CH_2), 4.05 (s, 4H, CH_2), 6.33 (m, 2H, Ar-H), 7.00 (dd, 2H, $J_1 = 9.0$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz), 7.08 (t, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.21 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 8.36 (s, 1H, CH), 9.88 (s, 1H, OH), 11.35 (s, 1H, OH), 11.68 (s, 1H, NH).

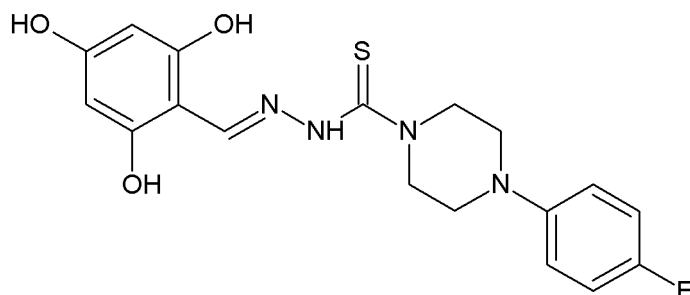
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO): δ 48.5; 49.1; 103.3; 107.9; 111.0; 115.8; 117.9; 132.0; 147.9; 155.9; 157.6; 159.6; 160.8; 179.5.

Temperatura topnienia: 205 - 206 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 374.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 2.54

5.4.57. Otrzymywanie *N'*-[(2,4,6-trihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1712 g (1 mmol) 2,4,6-trihydroksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ciemnoczerwony osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,487 g czystego *N'*-[(2,4,6-trihydroksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 96%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): δ 3.43 (m, 4H, CH_2), 4.06 (m, 4H, CH_2), 5.81 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz), 7.00 (m, 2H, Ar-H), 7.08 (t, 2H, $J = 8.8$ Hz), 8.70 (s, 1H, CH), 9.94 (s, 1H, OH), 11.35 (s, 1H, OH), 11.07 (s, 3H, OH, OH, NH).

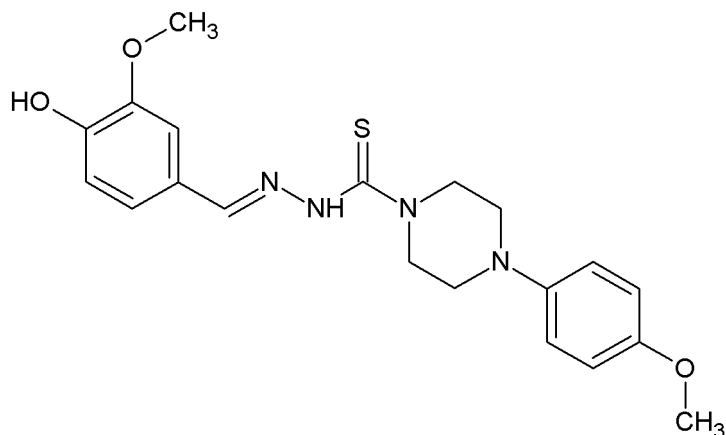
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO): δ 49.1; 56.5; 94.8; 99.6; 115.7; 117.9; 147.9; 155.8; 157.8; 159.7; 164.6; 167.9; 172.5; 191.4.

Temperatura topnienia: 143 - 144 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 392.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 2.54

5.4.58. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydrokso-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo) piperazyno-1-tiokarbohidrazydu (**11a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazydu oraz 0,1522 g (1 mmol) 4-hydrokso-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,290 g czystego *N'*-[(4-hydrokso-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazydu z wydajnością 72%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.16 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 3H, CH₃), 3.82 (s, 4H, CH₂), 4.04 (s, 4H, CH₂), 6.83 (m, 2H, Ar-H), 6.94 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 7.02 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.23 (s, 1H, Ar-H), 8.02 (s, 1H, CH), 9.53 (s, 1H, OH), 11.10 (s, 1H, NH).

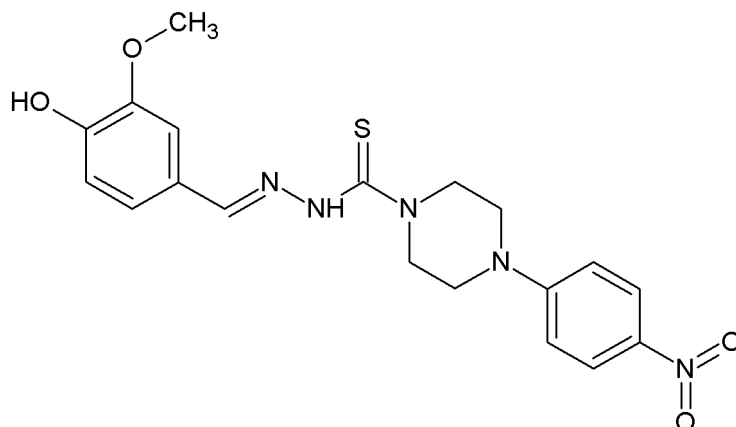
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 50.2; 50.5; 55.7; 55.9; 109.4; 114.8; 116.0; 118.1; 122.0; 126.2; 144.6; 145.4; 148.5; 149.2; 153.7; 180.9.

Temperatura topnienia: 174 - 175 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 399.1487 [M-H]⁻ (obliczona dla C₂₀H₂₃N₄O₃S: 399.1491)

LogP: 2.15

5.4.59. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo) piperazyno-1-tiokarbohidrazydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazydu oraz 0,1522 g (1 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się ciemnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,214 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazydu z wydajnością 52%.

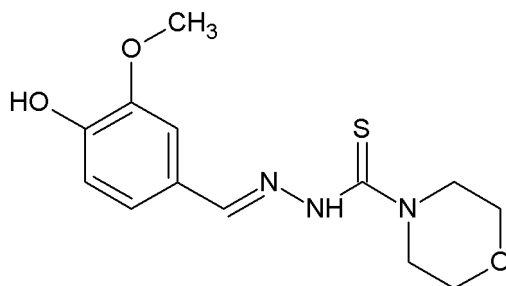
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.57 (m, 4H, CH₂), 3.91 (m, 4H, CH₂), 6.82 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.00 (m, 2H, Ar-H), 7.22 (s, 1H, Ar-H), 8.08 (m, 3H, Ar-H), 9.14 (s, 1H, CH), 9.52 (s, 1H, OH), 11.16 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.7; 46.6; 56.0; 112.5; 116.0; 120.3; 122.0; 126.3; 129.6; 137.2; 138.0; 148.5; 154.6; 181.0; 182.8.

Temperatura topnienia: 183 - 184 °C

LogP: 2.79

5.4.60. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu (**11d**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1612 g (1 mmol) (4-morfolino)tiokarbohydrazynu oraz 0,1522 g (1 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,112 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 38%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.17 (d, 3H, $J = 5.2$ Hz), 3.68 (m, 4H, CH_2), 3.89 (m, 4H, CH_2), 6.81 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.01 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.19 (s, 1H, Ar-H), 7.99 (s, 1H, CH), 9.51 (s, 1H, OH), 11.08 (s, 1H, NH).

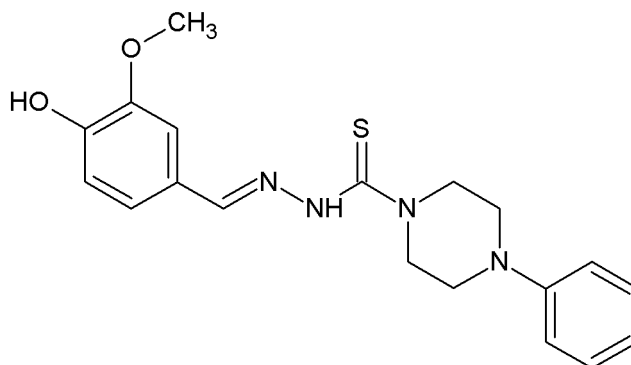
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 51.4; 55.9; 64.5; 109.3; 116.0; 122.0; 126.1; 144.6; 148.5; 149.2; 181.1.

Temperatura topnienia: 169 - 170 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 294.0914 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 294.0912)

LogP: 0.60

5.4.61. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,3545 g (3 mmol) (4-fenyl-1-piperazyno)tiokarbohydrazynu oraz 0,2282 g (3 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszankę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,476 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-fenylopiperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 43%.

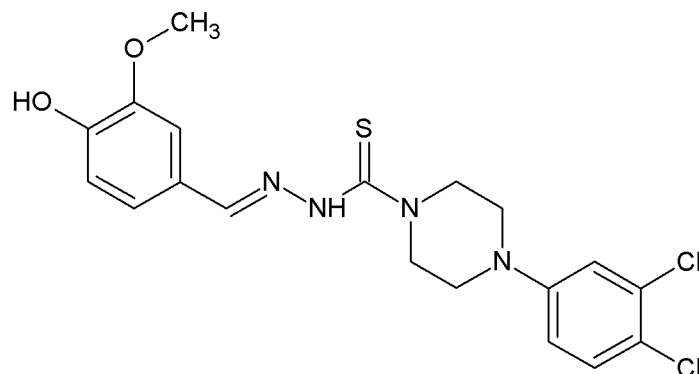
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.22 (s, 3H, CH_3), 3.29 (t, 4H, $J = 5.2$ Hz), 4.05 (t, 4H, $J = 5.1$ Hz), 6.81 (m, 2H, Ar-H), 6.99 (m, 3H, Ar-H), 7.24 (m, 3H, Ar-H), 8.03 (s, 1H, CH), 9.54 (s, 1H, OH), 11.11 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.5; 51.2; 109.4; 116.0; 119.7; 122.0; 126.1; 129.5; 144.6; 148.5; 149.2; 151.0; 151.1; 180.8; 193.1.

Temperatura topnienia: 134 - 135 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 2.34

5.4.62. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu (**11b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1526 g (0.5 mmol) 4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu oraz 0,0761 g (0.5 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,140 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrazynu z wydajnością 64%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 3.36 (s, 4H, CH_2), 3.82 (s, 3H, CH_3), 4.04 (s, 4H, CH_2), 6.82 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 6.96 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 7.16 (s, 1H, Ar-H), 7.22 (s, 1H, Ar-H), 7.43 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 8.03 (s, 1H, CH), 9.51 (s, 1H, OH), 11.15 (s, 1H, NH).

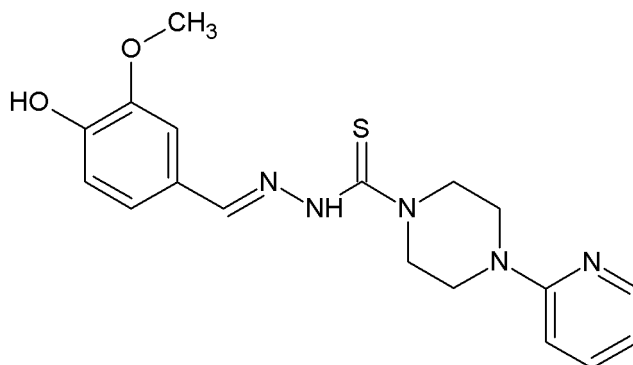
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $d_6\text{-DMSO}$, ppm): δ 47.7; 50.0; 55.9; 109.3; 115.5; 116.0; 116.5; 120.1; 122.0; 126.1; 131.0; 132.0; 144.6; 148.5; 149.2; 150.7; 180.8.

Temperatura topnienia: 164 - 165 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 437.0613 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$: 437.0606)

LogP: 3.90

5.4.63. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**11e**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1187 g (0.5 mmol) [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,0761 g (0.5 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,056 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 54%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.63 (s, 4H, CH_2), 3.81 (s, 3H, CH_3), 4.02 (s, 4H, CH_2), 6.68 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz), 6.84 (t, 2H, $J = 9.2$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.23 (s, 1H, Ar-H), 7.57 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 8.04 (s, 1H, CH), 8.14 (s, 1H, Ar-H), 9.50 (s, 1H, OH), 11.12 (s, 1H, NH).

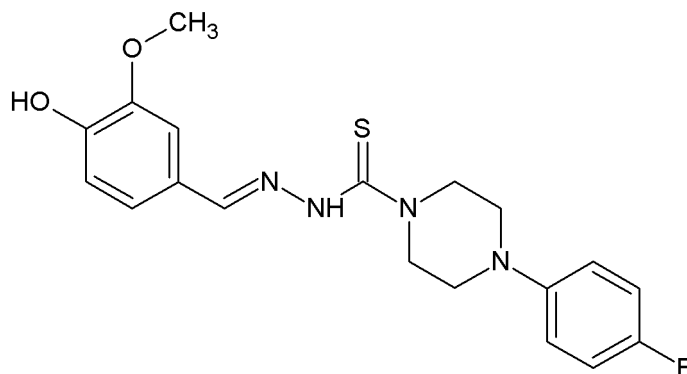
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.9; 50.2; 55.9; 107.6; 109.4; 113.7; 116.0; 122.0; 126.1; 138.1; 144.6; 148.1; 148.5; 149.2; 159.2; 180.9.

Temperatura topnienia: 120 - 121 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 370.1334 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 370.1338)

LogP: 1.43

5.4.64. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo) piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1522 g (1 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20 °C. Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,056 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 29%.

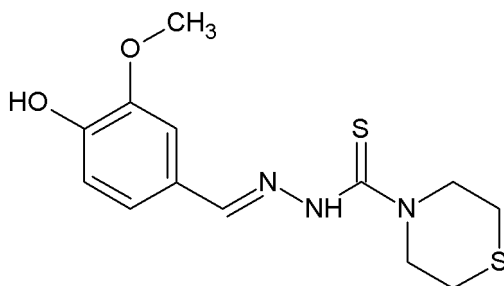
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.22 (t, 4H, *J* = 5.1 Hz), 4.05 (t, 4H, *J* = 5.0 Hz), 6.82 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 6.96-7.11 (m, 5H, Ar-H), 7.22 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz), 8.03 (s, 1H, CH), 9.51 (s, 1H, OH), 11.12 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.5; 50.4; 55.9; 109.5; 115.7; 115.9; 117.7; 117.8; 122.0; 126.1; 144.6; 148.0; 148.5; 149.2; 180.9.

Temperatura topnienia: 171 - 172 °C

LogP: 2.43

5.4.65. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1773 g (1 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbonydu oraz 0,1522 g (1 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszankę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,039 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 28%.

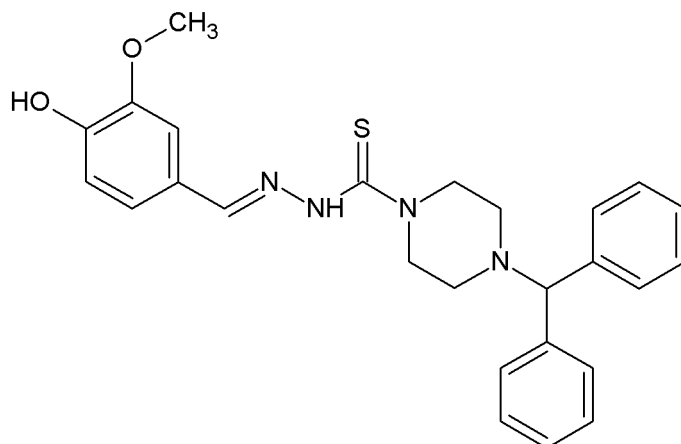
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 2.77 (m, 4H, CH_2), 3.80 (s, 3H, CH_3), 4.15 (m, 4H, CH_2), 6.82 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.01 (dd, 1H, $J_1 = 8.1$ Hz, $J_2 = 1.9$ Hz), 7.20 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz), 8.02 (s, 1H, CH), 9.51 (s, 1H, OH), 11.06 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): 27.3; 53.6; 55.9; 109.4; 116.0; 122.1; 126.0; 144.9; 148.5; 149.2; 180.9.

Temperatura topnienia: 79 - 80 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 1.48

5.4.66. Otrzymywanie *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(difenylometylo) piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**11c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1632 g (0.5 mmol) 4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,0761 g (0.5 mmol) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnokremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,146 g czystego *N'*-[(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 63%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 2.44 (s, 4H, CH_2), 3.68 (s, 3H, CH_3), 3.91 (s, 4H, CH_2), 6.79 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 6.95 (dd, 1H, $J_1 = 8.1$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz), 7.14 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz), 7.21 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 7.32 (t, 4H, $J = 7.6$ Hz), 7.45 (d, 4H, $J = 7.2$ Hz), 7.95 (s, 1H, CH), 9.45 (s, 1H, OH), 10.97 (s, 1H, NH).

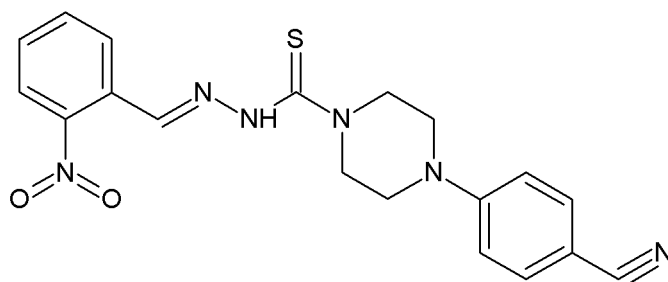
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 50.8; 52.1; 55.7; 75.2; 108.7; 115.8; 122.2; 126.1; 127.4; 128.1; 129.0; 142.9; 144.1; 148.4; 149.1; 180.6.

Temperatura topnienia: 212 - 213 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 459.1853 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$: 459.1855)

LogP: 4.06

5.4.67. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1307 g (0.5 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,0756 g (0.5 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,124 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 63%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.53 (s, 4H, CH_2), 4.09 (s, 4H, CH_2), 7.01 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.63 (m, 3H, Ar-H), 7.79 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz), 8.06 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz), 8.61 (s, 1H, CH), 11.61 (s, 1H, NH).

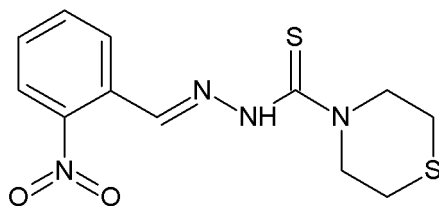
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 46.0; 49.3; 98.6; 114.0; 120.5; 125.1; 128.3; 129.2; 130.7; 133.8; 134.1; 139.7; 148.5; 152.9; 181.1.

Temperatura topnienia: 199 - 200 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 395.1296 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$: 395.1290)

LogP: 2.69

5.4.68. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu (**12c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1773 g (1 mmol) (4-tiomorfolino)tiokarbonydu oraz 0,1512 g (1 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,271 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]tiomorfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 87%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 2.74 (s, 4H, CH_2), 4.18 (s, 4H, CH_2), 7.65 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.80 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz), 8.05 (m, 2H, Ar-H), 8.60 (s, 1H, CH), 11.51 (s, 1H, NH).

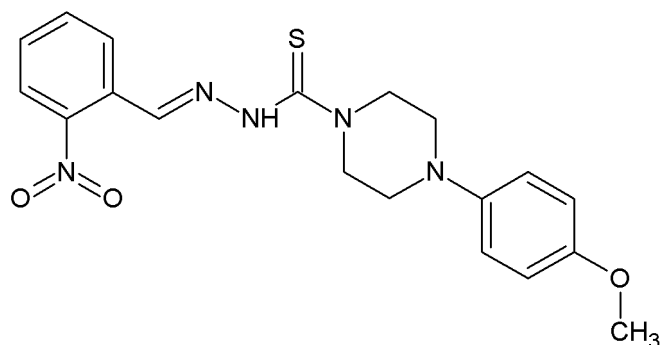
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 27.2; 53.2; 125.2; 128.2; 129.2; 130.8; 134.2; 139.8; 148.5; 181.2.

Temperatura topnienia: 176 - 177 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 309.0480 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$: 309.0480)

LogP: 1.95

5.4.69. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**12d**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1512 g (1 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,322 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 81%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.13 (s, 4H, CH_2), 3.70 (s, 3H, CH_3), 4.07 (s, 4H, CH_2), 6.85 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 6.95 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.64 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.79 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.06 (dd, 2H, $J_1 = 8.2$ Hz, $J_2 = 3.8$ Hz), 8.60 (s, 1H, CH), 11.58 (s, 1H, NH).

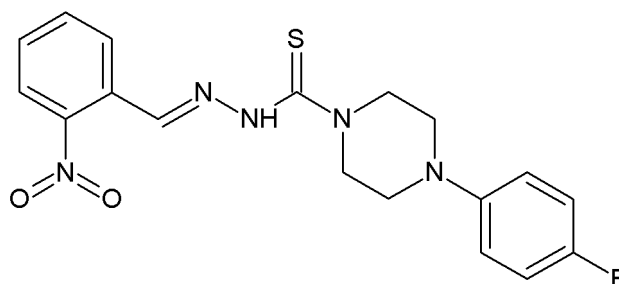
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 31.2; 50.1; 55.6; 114.8; 118.2; 125.1; 128.2; 129.2; 130.7; 134.1; 139.6; 145.3; 148.5; 153.7; 181.1.

Temperatura topnienia: 180 - 181 $^{\circ}\text{C}$

ESI-FTMS: 398.1290 $[\text{M-H}]^-$ (obliczona dla $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$: 398.1287)

LogP: 2.62

5.4.70. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1512 g (1 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się pomarańczowy krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,253 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 65%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.21 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 7.00 (dd, 2H, $J_1 = 9.1$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz), 7.08 (t, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.65 (m, 1H, Ar-H), 7.79 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz), 8.06 (m, 2H, Ar-H), 8.60 (s, 1H, CH), 11.59 (s, 1H, NH).

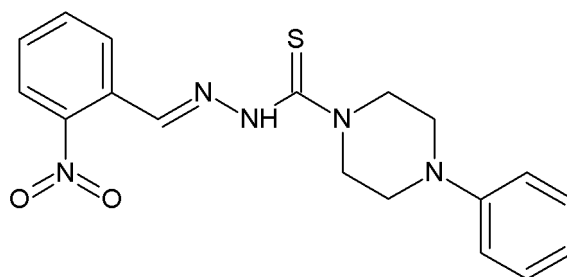
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 49.3; 49.9; 115.8; 117.8; 125.1; 128.2; 129.2; 130.7; 134.1; 139.6; 147.8; 148.5; 155.7; 181.1.

Temperatura topnienia: 175 - 176 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 412.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

LogP: 2.90

5.4.71. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2363 g (1 mmol) (4-fenyl-1-piperazyno)tiokarbohidrazynu oraz 0,1512 g (1 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się jasnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,274 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 74%.

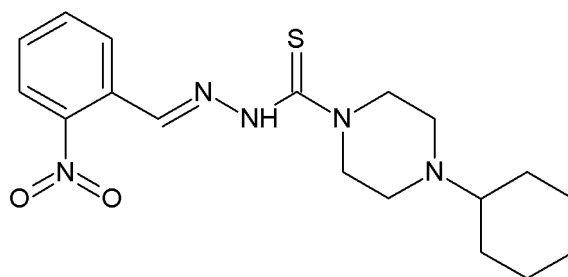
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.28 (s, 4H, CH_2), 4.08 (s, 4H, CH_2), 6.82 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 6.98 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.24 (m, 2H, Ar-H), 7.65 (m, 1H, Ar-H), 7.80 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz), 8.06 (m, 2H, Ar-H), 8.61 (s, 1H, CH), 11.59 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 48.5; 49.9; 115.9; 119.6; 125.1; 128.2; 129.2; 129.5; 130.7; 134.1; 139.6; 148.5; 150.9; 181.1.

Temperatura topnienia: 167 - 168 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 2.81

5.4.72. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**12a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2424 g (1 mmol) (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbohidrazynu oraz 0,1512 g (1 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,220 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-cykloheksylopiperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 59%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.21 (m, 5H, CH_2), 1.76 (m, 5H, CH_2), 2.57 (s, 4H, CH_2), 3.89 (s, 4H, CH_2), 7.64 (m, 1H, Ar-H), 7.79 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.04 (m, 2H, Ar-H), 8.57 (s, 1H, CH), 11.45 (s, 1H, NH).

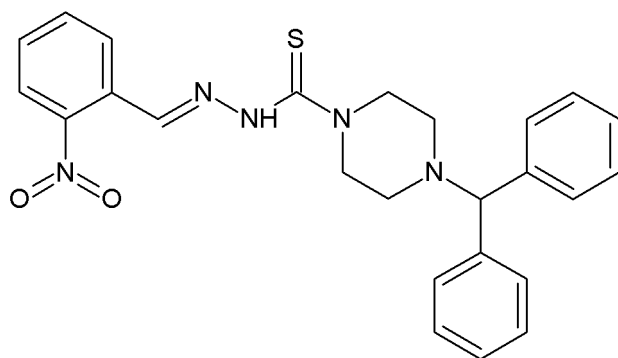
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 25.7; 26.3; 28.8; 31.2; 48.9; 50.7; 125.1; 128.2; 129.2; 130.6; 134.1; 139.3; 148.4; 180.1.

Temperatura topnienia: 173 - 174 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 376.1799 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 376.1807)

LogP: 3.56

5.4.73. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu (**12b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1632 g (0.5 mmol) 4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,0756 g (0.5 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ciemnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1643 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]-4-(difenylometylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 75%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 1.06 (t, 1H, $J = 7.0$ Hz), 2.40 (s, 4H, CH_2), 3.94 (s, 4H, CH_2), 7.32 (t, 5H, $J = 7.5$ Hz), 7.46 (m, 5H, Ar-H), 7.62 (t, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.76 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.02 (m, 2H, Ar-H), 8.53 (s, 1H, CH), 11.45 (s, 1H, NH).

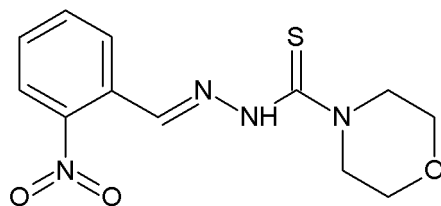
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 49.1; 50.3; 51.8; 74.9; 125.1; 127.5; 128.1; 128.3; 129.0; 130.7; 134.0; 139.3; 142.8; 148.4; 181.0.

Temperatura topnienia: 111 - 112 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 460.1818 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 460.1807)

LogP: 4.53

5.4.74. Otrzymywanie *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu (**12e**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0806 g (0.5 mmol) (4-morfolino)tiokarbonydu oraz 0,0756 g (0.5 mmol) 2-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się żółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,188 g czystego *N'*-[(2-nitrofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 46%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.67 (m, 4H, CH_2), 3.92 (m, 4H, CH_2), 7.64 (m, 1H, Ar-H), 7.79 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz), 8.04 (m, 2H, Ar-H), 8.58 (s, 1H, CH), 11.53 (s, 1H, NH).

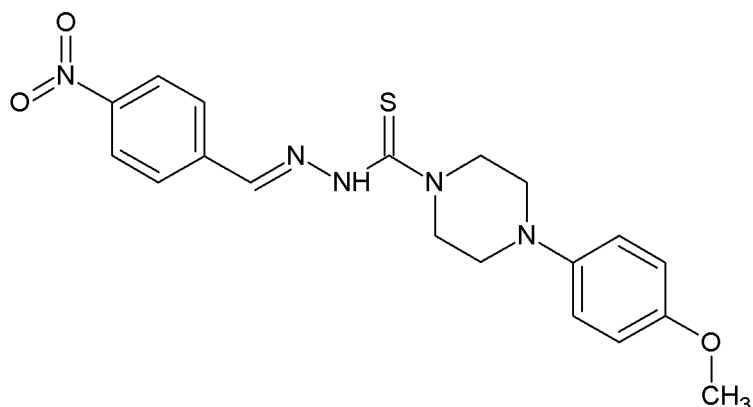
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 50.8; 66.4; 125.1; 128.3; 129.1; 130.8; 134.1; 139.7; 148.5; 181.4.

Temperatura topnienia: 192 - 193 $^{\circ}\text{C}$

HRMS-ESI-TOF: 295.0876 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (obliczona dla $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: 295.0865)

LogP: 1.07

5.4.75. Otrzymywanie *N'*-[(4-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,1534 g (1 mmol) 4-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się pomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,340 g czystego *N'*-[(4-nitrofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 85%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.17 (m, 4H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃), 4.08 (s, 4H, CH₂), 6.85 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 6.96 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 7.90 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 8.27 (s, 2H, Ar-H), 8.29 (s, 1H, CH), 11.55 (s, 1H, NH).

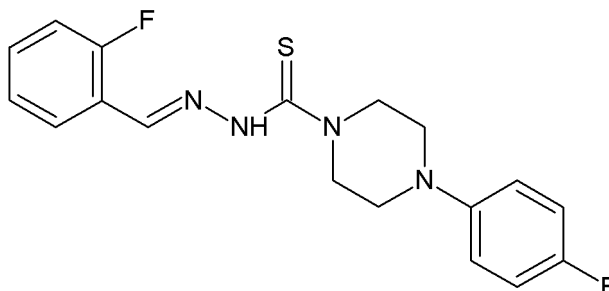
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 50.2; 50.4; 55.7; 114.8; 118.2; 124.6; 128.1; 141.3; 141.7; 145.3; 148.0; 153.7; 181.2.

Temperatura topnienia: 180 - 181 °C

HRMS-ESI-TOF: 400.1448 [M+H]⁺ (obliczona dla C₁₉H₂₂N₅O₃S: 400.1443)

LogP: 2.97

5.4.76. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,385 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 87%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.20 (m, 4H, CH₂), 4.09 (m, 4H, CH₂), 7.00 (m, 2H, Ar-H), 7.08 (t, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.29 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 1H, Ar-H), 7.85 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 8.40 (s, 1H, CH), 11.40 (s, 1H, NH).

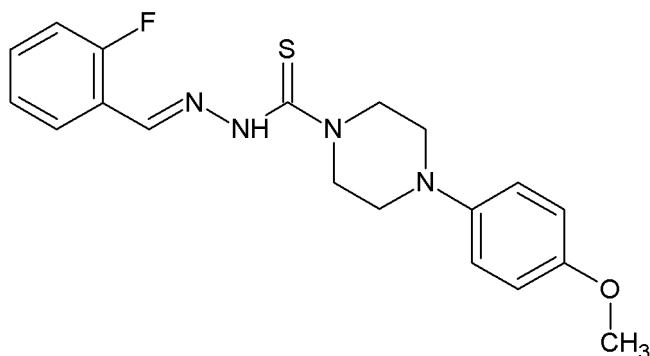
¹³C-NMR (101 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.4; 54.2; 115.7; 117.8; 122.4; 125.4; 126.7; 132.1; 137.2; 147.9; 155.5; 159.9; 162.3; 181.2.

Temperatura topnienia: 163 - 164 °C

LR-MS (ESI): 359.4 [M-H]⁻

LogP: 2.95

5.4.77. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,110 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 30%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.13 (s, 4H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃), 4.07 (s, 4H, CH₂), 6.85 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 6.95 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 7.29 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 1H, Ar-H), 7.85 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz), 8.40 (s, 1H, CH), 11.38 (s, 1H, NH).

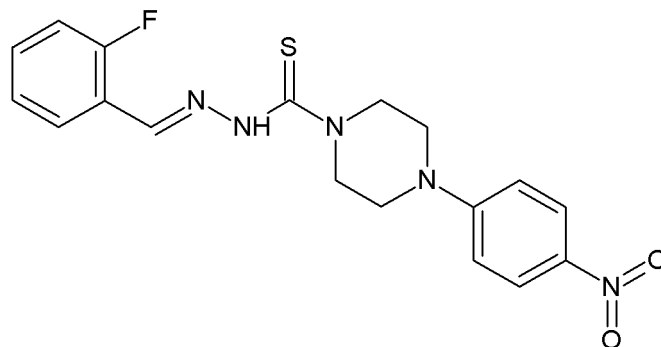
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 50.3; 55.6; 114.8; 116.6; 118.2; 122.4; 125.4; 126.7; 132.1; 137.1; 145.4; 153.7; 160.1; 162.1; 181.0.

Temperatura topnienia: 168 - 169 °C

LR-MS (ESI): 371.4 [M-H]⁻

LogP: 2.67

5.4.78. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się ciemnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,249 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 64%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.68 (m, 4H, CH₂), 4.12 (m, 4H, CH₂), 6.99 (m, 2H, Ar-H), 7.28 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 1H, Ar-H), 7.88 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz), 8.10 (m, 2H, Ar-H), 8.41 (s, 1H, CH), 11.43 (s, 1H, NH).

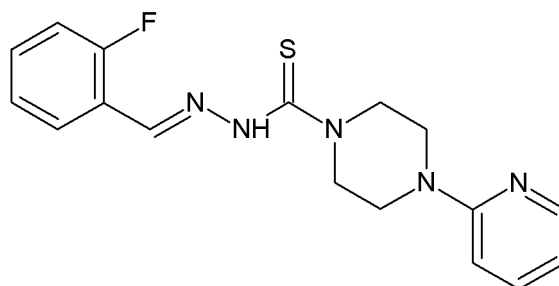
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.8; 49.4; 112.5; 116.5; 120.2; 122.4; 126.3; 129.5; 132.1; 137.2; 154.6; 160.1; 162.1; 180.9.

Temperatura topnienia: 182 - 183 °C

LR-MS (ESI): 386.3 [M-H]⁻

LogP: 3.31

5.4.79. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1187 g (0.5 mmol) [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,06 cm³ (0,0640 g, 0.5 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,0960 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 62%.

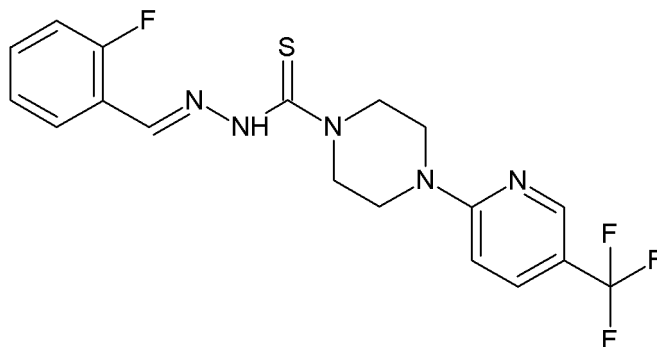
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.65 (s, 4H, CH₂), 4.07 (s, 4H, CH₂), 6.68 (t, 1H, *J* = 5.5 Hz), 6.85 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz), 7.28 (t, 2H, *J* = 9.2 Hz), 7.46 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 7.57 (t, 1H, *J* = 7.7 Hz), 7.86 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 8.15 (s, 1H, Ar-H), 8.41 (s, 1H, CH), 11.39 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.7; 50.0; 107.5; 113.7; 116.4; 122.4; 125.4; 126.7; 132.1; 137.1; 138.1; 148.0; 159.0; 162.1; 181.0.

Temperatura topnienia: 162 - 163 °C

LogP: 1.94

5.4.80. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1527 g (0.5 mmol) 4-[5-(trifluorometylo)-2-pirydylo]piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,06 cm³ (0,0640 g, 0.5 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1660 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(5-trifluorometylo-2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 81%.

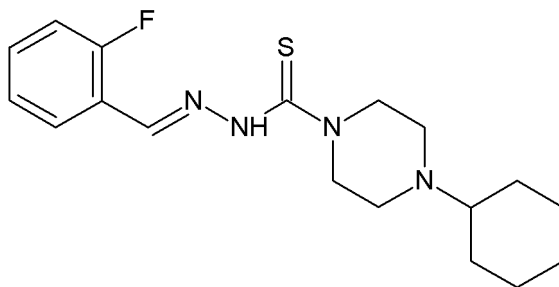
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.81 (s, 4H, CH₂), 4.07 (s, 4H, CH₂), 6.96 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 7.28 (t, 2H, *J* = 9.9 Hz), 7.46 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 7.86 (m, 2H, Ar-H), 8.41 (s, 1H, CH), 8.44 (s, 1H, Ar-H), 11.41 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.1; 49.7; 106.7; 116.5; 122.4; 125.4; 126.7; 132.1; 135.0; 137.2; 145.7; 160.1; 160.3; 162.1; 181.1; 207.0.

Temperatura topnienia: 225 - 226 °C

LogP: 3.60

5.4.81. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-cykloheksylo-piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2424 g (1 mmol) (4-cykloheksylo-1-piperazyno)tiokarbonydu oraz 0,11cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,034 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-cykloheksylo-piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 19%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.20 (t, 4H, *J* = 9.8 Hz), 1.58 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz), 1.71-1.81 (m, 4H, CH₂), 2.27 (s, 1H, CH₂), 2.58 (s, 4H, CH₂), 3.89 (s, 4H, CH₂), 4.09 (m, 1H, CH₂), 7.27 (t, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.45 (dd, 1H, *J*₁ = 13.6 Hz, *J*₂ = 6.0 Hz), 7.83 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz), 8.37 (s, 1H, CH), 11.42 (s, 1H, NH).

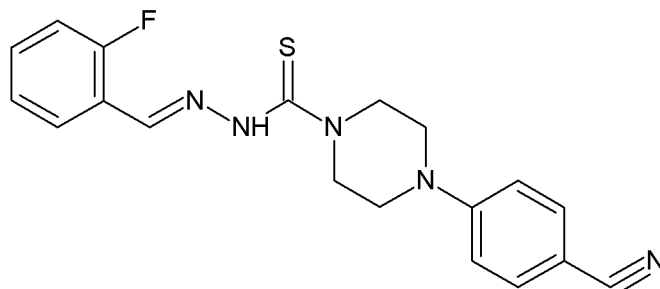
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 25.7; 26.3; 28.7; 31.2; 49.0; 62.9; 122.4; 125.4; 126.6; 132.0; 136.8; 160.1; 162.0; 180.7.

Temperatura topnienia: 159 - 160 °C

LR-MS (ESI): 348.1 [M+H]⁺

LogP: 3.61

5.4.82. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2613 g (1 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,206 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 56%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.54 (m, 4H, CH₂), 4.09 (m, 4H, CH₂), 7.01 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.28 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (dd, 1H, *J*₁ = 13.3 Hz, *J*₂ = 6.4 Hz), 7.61 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.87 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 8.41 (s, 1H, CH), 11.41 (s, 1H, NH).

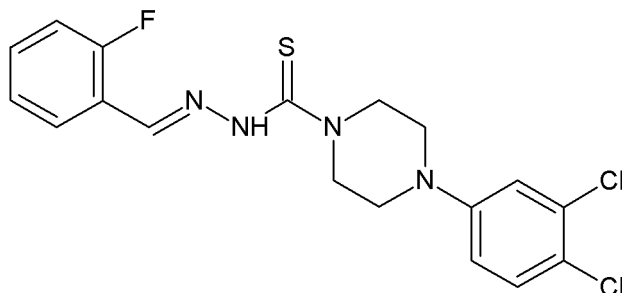
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 46.1; 49.1; 98.6; 114.0; 116.5; 120.6; 122.4; 125.4; 126.7; 132.1; 133.8; 137.2; 153.0; 160.1; 180.9.

Temperatura topnienia: 177 - 178 °C

LR-MS (ESI): 389.3 [M+Na]⁺

LogP: 2.74

5.4.83. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**13**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2613 g (0.5 mmol) 4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,06 cm³ (0,0640 g, 0.5 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,125 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 61%.

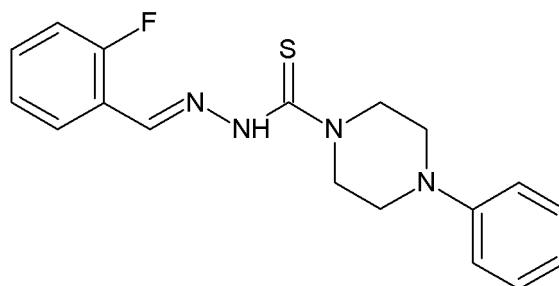
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.35 (m, 4H, CH₂), 4.06 (m, 4H, CH₂), 6.95 (dd, 1H, *J*₁ = 9.0 Hz, *J*₂ = 2.6 Hz), 7.16 (d, 1H, *J* = 2.6 Hz), 7.28 (m, 2H, Ar-H), 7.39-7.50 (m, 2H, Ar-H), 7.86 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 8.41 (s, 1H, CH), 11.41 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 47.6; 49.1; 49.8; 115.5; 116.5; 120.1; 122.4; 125.4; 126.7; 131.0; 132.1; 137.2; 150.6; 160.1; 162.1; 181.0.

Temperatura topnienia: 178 - 179 °C

LogP: 4.42

5.4.84. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonylhydrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1182 g (0.5 mmol) (4-fenylo-1-piperazyno)tiokarbonylhydrazynu oraz 0,06 cm³ (0,0640 g, 0.5 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,163 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonylhydrazynu z wydajnością 95%.

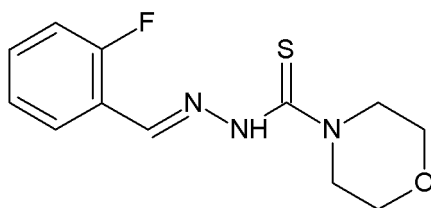
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.28 (s, 4H, CH₂), 4.10 (m, 4H, CH₂), 6.81 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz), 6.98 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz), 7.26 (m, 4H, Ar-H), 7.45 (m, 1H, Ar-H), 7.85 (m, 1H, Ar-H), 8.41 (s, 1H, CH), 11.39 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 48.5; 49.1; 50.1; 116.0; 119.7; 125.5; 126.7; 129.5; 132.1; 137.1; 151.0; 160.1; 162.1; 181.0.

Temperatura topnienia: 173 - 174 °C

LogP: 2.86

5.4.85. Otrzymywanie *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,1612 g (1 mmol) (4-morfolino)tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1279 g, 1 mmol) 2-fluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnożółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,137 g czystego *N'*-[(2-fluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 51%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.68 (m, 4H, CH₂), 3.93 (m, 4H, CH₂), 7.28 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (dd, 1H, *J*₁ = 13.9 Hz, *J*₂ = 6.7 Hz), 7.83 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz), 8.38 (s, 1H, CH), 11.35 (s, 1H, NH).

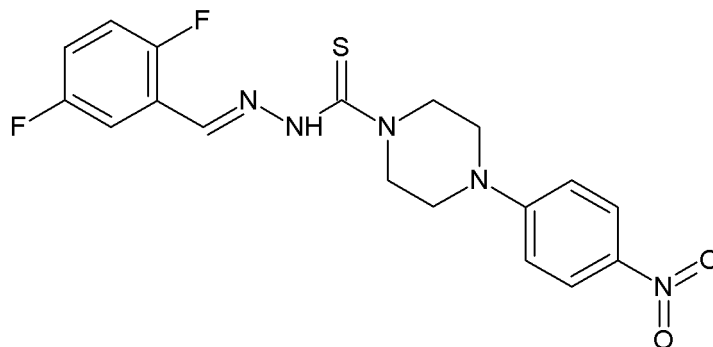
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 51.0; 66.5; 116.5; 122.3; 126.7; 132.1; 137.2; 160.1; 162.1; 181.2.

Temperatura topnienia: 171 - 172 °C

LR-MS (ESI): 267.8 [M+H]⁺

LogP: 1.12

5.4.86. Otrzymywanie *N'*-[(2,5-difluorofenyl)metylen]-4-(4-nitrofenyl)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenyl)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,5-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,151 g czystego *N'*-[(2,5-difluorofenyl)metylen]-4-(4-nitrofenyl)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 37%.

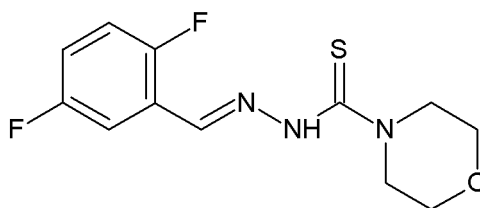
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.68 (s, 4H, CH₂), 4.11 (s, 4H, CH₂), 6.97 (t, 2H, *J* = 8.3 Hz), 7.34 (m, 2H, Ar-H), 7.58 (t, 1H, *J* = 8.6 Hz), 8.10 (dd, 2H, *J*₁ = 9.0 Hz, *J*₂ = 4.5 Hz), 8.36 (s, 1H, CH), 11.50 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.7; 49.3; 112.4; 120.4; 126.2; 129.5; 136.0; 137.2; 138.1; 154.5; 156.3; 157.9; 159.8; 180.9.

Temperatura topnienia: 178 - 179 °C

LogP: 3.63

5.4.87. Otrzymywanie *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 5.4, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) (4-morfolino)tiokarbohidrazynu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,5-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,082 g czystego *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]morfolino-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 29%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.68 (m, 4H, CH₂), 3.93 (m, 4H, CH₂), 7.33 (m, 2H, Ar-H), 7.52 (m, 1H, Ar-H), 8.33 (s, 1H, CH), 11.43 (s, 1H, NH).

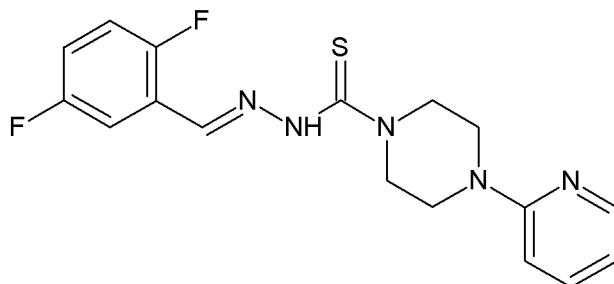
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 51.0; 66.4; 111.9; 112.1; 124.0; 136.0; 156.3; 158.2; 159.8; 181.1.

Temperatura topnienia: 187 - 188 °C

LR-MS (ESI): 283.8 [M+H]⁺

LogP: 1.44

5.4.88. Otrzymywanie *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2373 g (1 mmol) [4-(2-pirydylo)-1-piperazyno]tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,5-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się żółty krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,082 g czystego *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(2-pirydylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 34%.

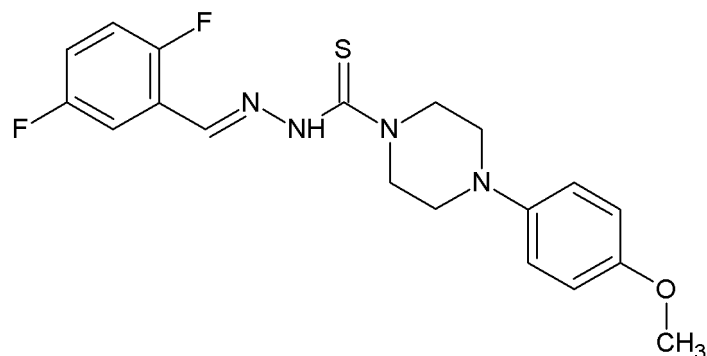
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.18 (m, 4H, CH₂), 4.07 (m, 4H, CH₂), 6.68 (m, 1H, Ar-H), 6.85 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 7.35 (m, 1H, Ar-H), 7.57 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz), 8.14 (d, 2H, *J* = 3.3 Hz), 8.36 (s, 1H, CH), 11.47 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 44.6; 51.0; 107.5; 107.7; 113.6; 113.8; 118.3; 124.1; 135.9; 138.1; 148.0; 159.0; 159.1; 181.0; 193.2.

Temperatura topnienia: 150 - 151 °C

LogP: 2.26

5.4.89. Otrzymywanie *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,5-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,160 g czystego *N'*-[(2,5-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 41%.

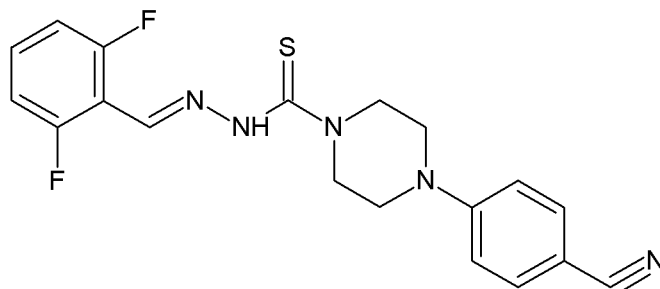
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.13 (s, 4H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃), 4.08 (s, 4H, CH₂), 6.85 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 6.94 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz), 7.34 (m, 2H, Ar-H), 7.54 (m, 1H, Ar-H), 8.35 (s, 1H, CH), 11.46 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 50.1; 50.3; 55.6; 111.9; 114.8; 118.3; 124.1; 135.9; 145.3; 153.7; 156.3; 157.9; 158.2; 159.8; 180.9.

Temperatura topnienia: 162 - 163 °C

LogP: 2.99

5.4.90. Otrzymywanie *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2613 g (1 mmol) 4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,6-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,216 g czystego *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-cyjanofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 56%.

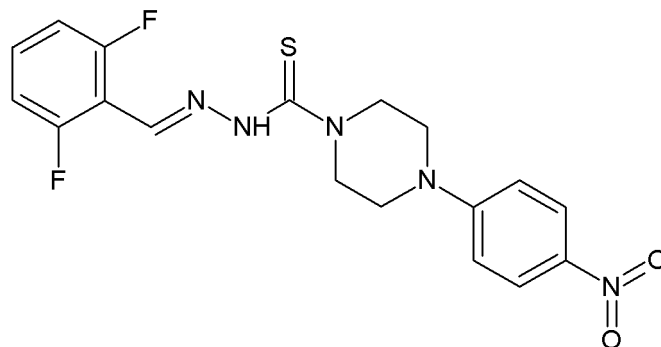
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.51 (s, 4H, CH₂), 4.08 (s, 4H, CH₂), 7.01 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 7.18 (t, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.48 (m, 1H, Ar-H), 7.61 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz), 8.30 (s, 1H, CH), 11.45 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 46.2; 49.1; 49.9; 98.7; 112.7; 112.9; 114.1; 114.2; 120.5; 131.9; 133.8; 153.0; 159.7; 161.7; 180.9.

Temperatura topnienia: 177 - 178 °C

LogP: 2.92

5.4.91. Otrzymywanie *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,6-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się ciemnożółty osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,234 g czystego *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 58%.

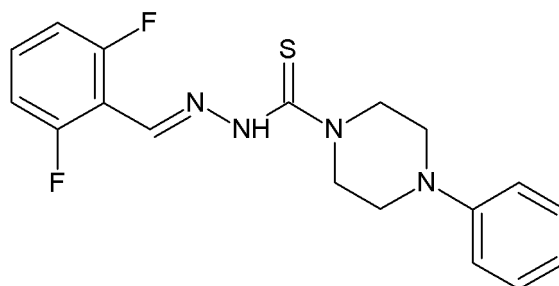
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.65 (s, 4H, CH₂), 4.10 (s, 4H, CH₂), 6.98 (m, 2H, Ar-H), 7.19 (t, 2H, *J* = 8.7 Hz), 8.10 (t, 3H, *J* = 8.2 Hz), 8.30 (s, 1H, CH), 11.46 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.9; 49.7; 112.5; 120.5; 126.2; 128.7; 131.9; 134.0; 137.4; 154.1; 154.6; 159.7; 161.7; 180.9.

Temperatura topnienia: 186 - 187°C

LogP: 3.50

5.4.92. Otrzymywanie *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonylhydrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2363 g (1 mmol) (4-fenylo-1-piperazyno)tiokarbonylhydrazynu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,6-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się biały osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,182 g czystego *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonylhydrazynu z wydajnością 50%.

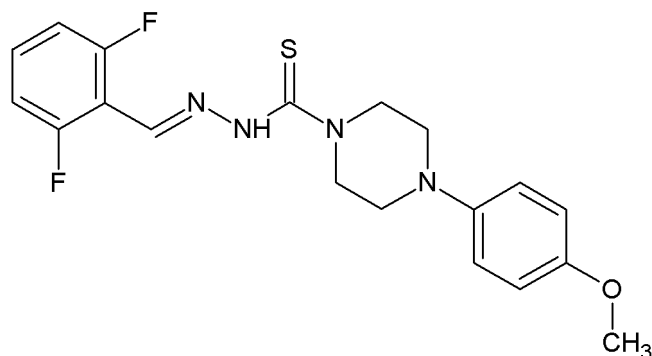
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.25 (s, 4H, CH₂), 4.08 (s, 4H, CH₂), 6.81 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz), 6.97 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz), 7.18 (m, 1H, Ar-H), 7.23 (dd, 3H, *J*₁ = 14.3 Hz, *J*₂ = 6.5 Hz), 7.48 (m, 1H, Ar-H), 8.29 (s, 1H, CH), 11.41 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.1; 50.5; 112.8; 116.0; 116.1; 116.6; 119.8; 129.5; 131.9; 133.9; 151.0; 159.7; 161.7; 181.0.

Temperatura topnienia: 168 - 169 °C

LogP: 3.05

5.4.93. Otrzymywanie *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2664 g (1 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,6-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,225 g czystego *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 58%.

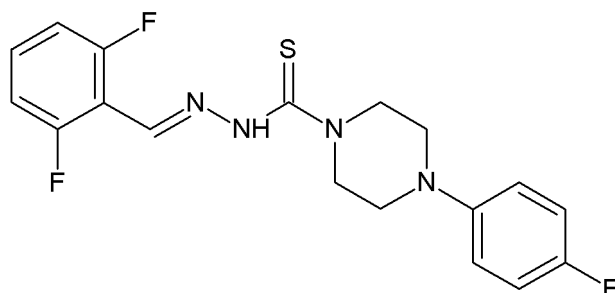
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.11 (s, 4H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃), 4.07 (s, 4H, CH₂), 6.84 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 6.94 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.18 (t, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.48 (m, 1H, Ar-H), 8.29 (s, 1H, CH), 11.39 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 50.2; 55.6; 111.9; 112.7; 112.9; 114.8; 118.2; 118.8; 131.9; 133.8; 145.4; 153.9; 159.7; 161.7; 180.9.

Temperatura topnienia: 186 - 187°C

LogP: 2.85

5.4.94. Otrzymywanie *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,11 cm³ (0,1421 g, 1 mmol) 2,6-difluorobenzaldehydu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się kremowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,183 g czystego *N'*-[(2,6-difluorofenylo)metyleno]-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 48%.

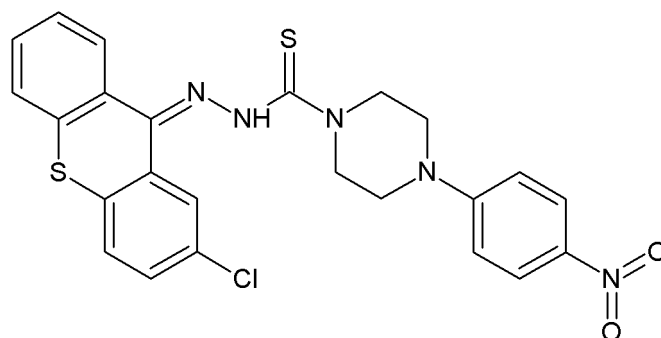
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.18 (s, 4H, CH₂), 4.08 (s, 4H, CH₂), 6.99 (m, 2H, Ar-H), 7.08 (t, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.18 (t, 2H, *J* = 8.8 Hz), 7.48 (m, 1H, Ar-H), 8.29 (s, 1H, CH), 11.41 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 49.5; 50.6; 112.8; 115.7; 115.9; 117.9; 131.9; 133.9; 148.0; 155.8; 157.6; 159.7; 161.7; 180.9.

Temperatura topnienia: 176 - 177°C

LogP: 3.13

5.4.95. Otrzymywanie *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**14a**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2813 g (1 mmol) 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,2517 g (1 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20 °C. Wytrącił się pomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,442 g czystego *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 87%.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 3.56 (m, 4H, CH₂), 3.91 (m, 4H, CH₂), 6.96 (m, 2H, Ar-H), 7.60 (m, 2H, Ar-H), 7.83 (m, 2H, Ar-H), 7.92 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 8.08 (m, 2H, Ar-H), 8.37 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 8.46 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 9.14 (s, 1H, NH).

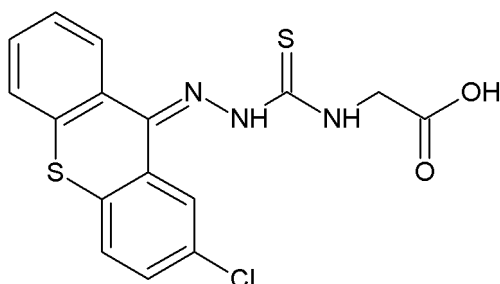
¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 45.6; 46.6; 112.5; 126.2; 127.2; 127.6; 128.5; 129.3; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 137.2; 138.1; 154.2; 178.3; 182.7.

Temperatura topnienia: 177 - 178 °C

LR-MS (ESI): 510.3 [M+H]⁺

LogP: 5.60

5.4.96. Otrzymywanie kwasu *([2-(2-chlorotioksant-9-yleno)hydrazynylo]tiokarbonylo)-amino) octowego*



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0746 g (0.5 mmol) kwasu {[2-(2-chlorotioksant-9-yleno)hydrazynylo]karbonylo}amino octowego oraz 0,1259 g (0.5 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się brązowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1704 g czystego kwasu *([2-(2-chlorotioksant-9-yleno)hydrazynylo]tiokarbonylo)amino) octowego* z wydajnością 87%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.71 (d, 2H, $J = 2.0$ Hz), 5.27 (s, 1H, NH), 7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.78-7.89 (m, 3H, Ar-H), 7.93 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 8.01 (s, 1H, OH), 8.38 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 8.46 (dd, 1H, $J_1 = 8.1$ Hz, $J_2 = 1.5$ Hz), 12.71 (s, 1H, NH).

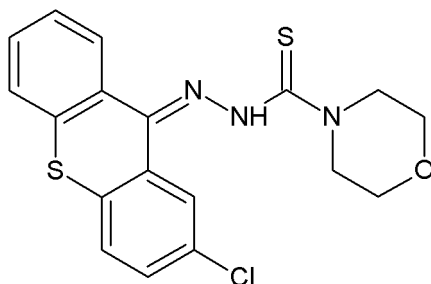
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 44.8; 127.1; 127.6; 128.3; 128.5; 129.3; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 166.6; 178.3.

Temperatura topnienia: 151 - 152 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 380.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 3.86

5.4.97. Otrzymywanie *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-morfolino-1-tiokarbonydu (**14b**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,0806 g (0.5 mmol) (4-morfolino)tiokarbonydu oraz 0,1259 g (0.5 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się brunatno-czerwony osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1485 g czystego *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-morfolino-1-tiokarbonydu z wydajnością 76%.

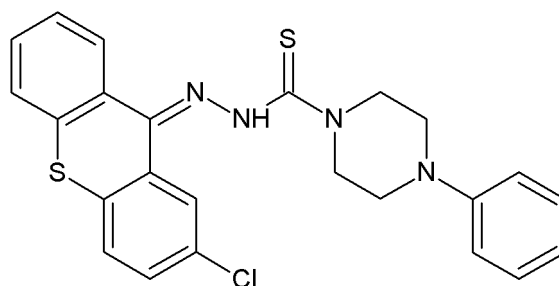
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.57 (t, 4H, $J = 5.6$ Hz), 3.68 (t, 4H, $J = 5.6$ Hz), 7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.79-7.89 (m, 3H, Ar-H), 7.94 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 8.39 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 8.47 (dd, 1H, $J_1 = 8.2$ Hz, $J_2 = 1.4$ Hz), 9.13 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 43.4; 63.8; 127.2; 127.6; 128.3; 128.5; 129.3; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 178.3; 187.6.

Temperatura topnienia: 146 - 147 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 3.40

5.4.98. Otrzymywanie *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonyldrazyny



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1182 g (0.5 mmol) (4-fenyl-1-piperazyno)tiokarbonyldrazyny oraz 0,1259 g (0.5 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się brunatno-czerwony krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1908 g czystego *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-fenylo-piperazyno-1-tiokarbonyldrazyny z wydajnością 82%.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.15 (m, 4H, CH_2), 3.87 (m, 4H, CH_2), 6.80 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz), 6.94 (m, 2H, Ar-H), 7.22 (m, 2H, Ar-H), 7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.78-7.90 (m, 3H, Ar-H), 7.94 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 8.39 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 8.47 (dd, 1H, $J_1 = 8.2$ Hz, $J_2 = 1.4$ Hz), 9.18 (s, 1H, NH).

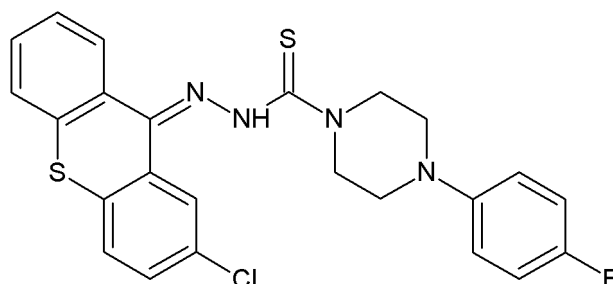
$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.5; 48.3; 116.0; 119.6; 127.1; 127.5; 128.3; 128.5; 129.3; 129.4; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 151.1; 178.3; 182.9.

Temperatura topnienia: 141 - 142 $^{\circ}\text{C}$

LR-MS (ESI): 465.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

LogP: 5.15

5.4.99. Otrzymywanie *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1272 g (0.5 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1259 g (0.5 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się brunatno-czerwony osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,1646 g czystego *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 68%.

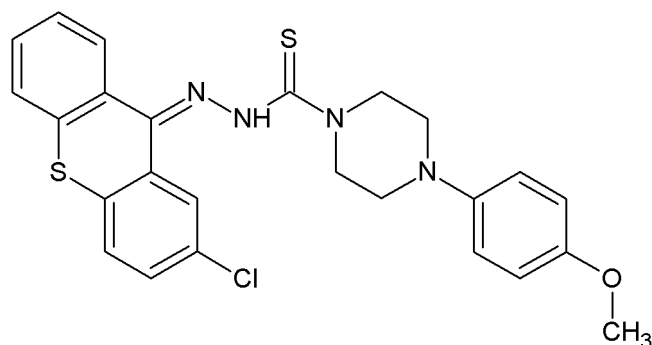
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.08 (t, 4H, $J = 5.2$ Hz), 3.86 (t, 4H, $J = 5.2$ Hz), 6.97 (m, 2H, Ar-H), 7.06 (m, 2H, Ar-H), 7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.78-7.89 (m, 3H, Ar-H), 7.93 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 8.38 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 8.46 (dd, 1H, $J_1 = 8.1$ Hz, $J_2 = 1.5$ Hz), 9.19 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.5; 49.1; 115.7; 115.9; 117.8; 117.9; 127.1; 127.5; 128.3; 128.5; 129.3; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 178.3; 183.0.

Temperatura topnienia: 142 - 143 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 5.23

5.4.100. Otrzymywanie *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu (**14c**)



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1332 g (0.5 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,1259 g (0.5 mmol) 2-chlorotioksantonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się brunatno-czerwony osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,2011 g czystego *N'*-(2-chlorotioksant-9-yleno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 81%.

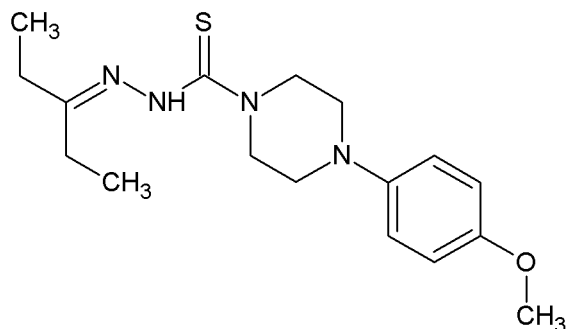
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.00 (t, 4H, $J = 5.1$ Hz), 3.68 (s, 3H, CH_3), 3.85 (t, 4H, $J = 5.1$ Hz), 6.82 (m, 2H, Ar-H), 6.91 (m, 2H, Ar-H), 7.62 (m, 1H, Ar-H), 7.77-7.88 (m, 3H, Ar-H), 7.93 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 8.38 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 8.47 (dd, 1H, $J_1 = 8.2$ Hz, $J_2 = 1.5$ Hz), 9.17 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.7; 49.9; 55.7; 114.7; 118.2; 127.2; 127.6; 128.4; 128.5; 129.3; 129.6; 130.0; 132.1; 133.3; 133.8; 135.9; 136.8; 145.4; 153.7; 178.3; 183.0.

Temperatura topnienia: 148 - 149 $^{\circ}\text{C}$

LogP: 4.95

5.4.101. Otrzymywanie *N'*-(3-pentylideno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,1332 g (0.5 mmol) 4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu oraz 0,05 cm³ (0,0431 g, 0.5 mmol) 3-pentanon. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C. Wytrącił się jasnoróżowy krystaliczny osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,036 g czystego *N'*-(3-pentylideno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbonydu z wydajnością 22%.

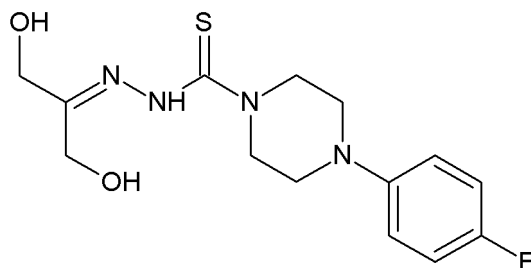
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 1.01 (m, 3H, CH₃), 2.23 (m, 3H, CH₃), 2.32 (m, 3H, CH₃), 3.11 (m, 4H, CH₂), 3.41 (s, 4H, CH₂), 3.69 (s, 4H, CH₂), 6.84 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 6.94 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 10.66 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 10.4; 23.4; 28.8; 31.1; 49.7; 55.6; 114.7; 118.6; 145.6; 158.8; 165.7.

Temperatura topnienia: 187 - 188 °C

LogP: 1.70

5.4.102. Otrzymywanie *N'*-(1,3-dihydroksypropan-2-yleno)-4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu



Związek otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w punkcie **5.4**, wykorzystując do reakcji 0,2543 g (1 mmol) 4-(4-fluorofenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu oraz 0,0929 g (1 mmol) dihydroksyacetonu. Mieszaninę ogrzewano przez 20 minut w reaktorze mikrofalowym, po czym pozostawiono na noc w lodówce laboratoryjnej w temperaturze -20°C . Wytrącił się ciemnopomarańczowy osad produktu, który przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie krystalizowano z metanolu uzyskując 0,061 g czystego *N'*-(3-pentylideno)-4-(4-metoksyfenylo)piperazyno-1-tiokarbohidrazynu z wydajnością 25%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 3.09 (m, 4H, CH_2), 3.17 (d, 2H, $J = 3.6$ Hz), 3.86 (m, 4H, CH_2), 4.09 (m, 2H, CH_2), 6.97 (m, 2H, Ar-H), 7.06 (m, 2H, Ar-H), 9.19 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 47.4; 49.1; 115.7; 115.9; 117.9; 148.0; 155.7; 157.6; 182.9.

Temperatura topnienia: 130 - 131 $^{\circ}\text{C}$

LogP: -0.05

6. LITERATURA

1. E.M. Bavin, R.J. W. Rees, J.M. Robson, M. Seiler, D.E. Seymour, D. Suddaby, The tuberculostatic activity of some thiosemicarbazones, *J. Pharm Pharmacol.* 2 (1950) 764-772.
2. G. Domagk, R. Behnisch, F. Mietzsch, H. Schmidt, On a new class of compounds effective in vitro against tubercle bacilli, *Naturwissenschaften* (1946) 315.
3. E.A.B.M.R. Council, Thiacetazone investigation: isoniazid with thiacetazone in the treatment of pulmonary tuberculosis in East Africa-second investigation, *Tubercle* 44 (1963) 301-333.
4. R.W. Brockman, J.R. Thomson, M.J. Bell, H.E. Skipper, Observations on the antileukemic activity of pyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone and thiocarbohydrazone, *Cancer Res.* 16 (1956) 167-170.
5. G.A. Kune, Today's drugs: methisazone, *Br. Med. J.* 2 (1964) 621-645.
6. F.A. French, E.J.J. Blanz, The carcinostatic activity of alpha-(N) heterocyclic carboxaldehyde thiosemicarbazones. I. Isoquinoline-1-carboxaldehyde thiosemicarbazone, *Cancer Res.* 25 (1965) 1454-1458.
7. R.A. Finch, M.C. Liu, A.H. Cory, J.G. Cory, A.C. Sartorelli, Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP): an inhibitor of ribonucleotide reductase with antineoplastic activity, *Adv. Enzyme Regul.* 39 (1999) 3-12.
8. D.K. Sau, R.J. Butcher, S. Chaudhuri, N. Saha, Spectroscopic, structural and antibacterial properties of copper(II) complexes with bio-relevant 5-methyl-3-formylpyrazole N(4)-benzyl-N(4)-methylthiosemicarbazone, *Mol. Cell. Biochem.* 253 (2003) 21-29.
9. I. Kızılcıklı, Y.D. Kurt, B. Akkurt, A.Y. Genel, S. Birteksoz, G. Otuk, B. Ulkuseven, Antimicrobial activity of a series of thiosemicarbazones and their Zn II and Pd II complexes, *Folia Microbiol.* 52 (2007) 15-25.
10. M. Karatepe, F. Karatas, Antioxidant, pro-oxidant effect of the thiosemicarbazone derivative Schiff base (4-(1-phenylmethylcyclobutane-3-yl)-2-(2-hydroxybenzylidenehydrazino) thiazole) and its metal complexes on rats, *Cell. Biochem. Funct.* 24 (2006) 547-554.

11. A. Walcourt, M. Loyevsky, D.B. Lovejoy, V.R. Gordeuk, D.R. Richardson, Dephosphorylation of CDK9 by protein phosphatase 2A and protein phosphatase-1 in Tat-activated HIV-1 transcription, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 36 (2004) 401-407.
12. S.N. Pandeya, J.R. Dimmock, Recent evaluations of thiosemicarbazones and semicarbazones and related compounds for antineoplastic and anticonvulsant activities, *Die Pharmazie* 48 (1993) 659-666.
13. W.C. Kaska, C. Carrans, J. Michalowski, J. Jackson and W. Levinson, Inhibition of the RNA dependent DNA polymerase and the malignant transforming ability of Rous sarcoma virus by Thiosemicarbazone-transition metal complexes, *Bioinorg. Chem. Appl.* 8 (1978) 245-254.
14. L. Heinisch, D. Tresselt, Complex formation of antiviral isatin-3-isothiosemicarbazones and thiocarbonylhydrazones using transition-group metals, *Pharmazie* 32 (1977) 582-586.
15. A. Diaz, I. Garcia, R. Cao, H. Beraldo, M.M. Salberg, D.X. West, L. Gonzalez, E. Ochoa, Ribose, galactose and glucose bis (thiosemicarbazone) complexes of copper (II) and nickel (II), *Polyhedron* 16 (1997) 3549-3555.
16. R. Casiday, R. Frey, Iron Use and Storage in the Body: Ferritin, *Washington University* (1999) 1-12.
17. C.P. Gupta, Role of Iron (Fe) in Body, *J. Appl. Chem.* 7 (2014) 38-46.
18. I. Bertini, H. B. Gray, S.J. Lippard and J. S. Valentine, Bioinorganic Chemistry, *University Science Book, Sausalito, California* (1994) 167-252.
19. H. Oexle, E. Gnaiger, G. Weiss, Iron-dependent changes in cellular energy metabolism: Influence on citric acid cycle and oxidative phosphorylation, *Biochim. Biophys. Acta.* 1413 (1999) 99-107.
20. H. Drakesmith, A. Prentice, Viral infection and iron metabolism, *Nat. Rev. Microbiol.* 6 (2008) 541-552.
21. L. Pauling, C.D. Coryell, The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin, *PNAS U.S.A.* 22 (1936) 210-216.
22. L. Stryer, Biochemia, *PWN, Warszawa* (2003) 154-155.
23. T. Matsui, S. Ozaki, E. Liong, G.N. Phillips, Y. Watanabe, Effects of the Location of Distal Histidine in the Reaction of Myoglobin with Hydrogen Peroxide, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) 2838-2844.
24. R.L. Wixom, L. Prutkin, H.N. Munro, Hemosidrin; nature, formation and significance, *Int. Rev. Ex. Pathol.* 22 (1979) 193-225.

25. A.R. Cowley, J.R. Dilworth, P.S. Donnelly, A.D. Gee, J.M. Heslop, Acetylacetonate bis(thiosemicarbazone) complexes of copper and nickel: towards new copper radiopharmaceuticals, *Dalton Trans.* (2004) 2404-2412.
26. I.G. Santos, A. Hagenbach, U. Abram, Stable gold(III) complexes with thiosemicarbazone derivatives, *Dalton Trans.* (2004) 677-682.
27. J.S. Casas, M.S. Garc'ia-Tasende, J. Sordo, Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. a structural review, *Coord. Chem. Rev.* 209 (2000) 197-261.
28. R.V. Singh, N. Fahmi, M.K. Biyala, Coordination behavior and biopotency of N and S/O donor ligands with their Palladium(II) and Platinum(II) complexes, *J. Iran. Chem. Soc.* 2 (2005) 40-46.
29. S. Chandra, Sangeetika, A. Rathi, Magnetic and spectral studies on copper(II) complexes of N-O and N-S donor ligands, *J. Saudi Chem. Soc.* 5 (2001) 175-182.
30. I.G. Santos, U. Abram, R. Alberto, E.V. Lopez, A. Sanchez, Tricarbonylrhenium(I) complexes with thiosemicarbazone derivatives of 2-acetylpyridine and 2-pyridine formamide showing two unusual coordination modes of tridentate thiosemicarbazone ligands, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 1834-1836.
31. P. Sengupta, R. Dinda, S. Ghosh, W.S. Sheldrick, Synthesis and characterization of some biologically active ruthenium(II) complexes of thiosemicarbazones of pyridine 2-aldehyde and thiophene 2-aldehyde involving some ring substituted 4-phenylthiosemicarbazides and 4-cyclohexylthiosemicarbazide. Crystal structure of *cis*-[Ru(PPh₃)₂(L⁶H)₂](ClO₄)₂·2H₂O [L⁶H=4-(cyclohexyl) thiosemicarbazone of pyridine 2-aldehyde], *Polyhedron* 22 (2003) 447-453.
32. D. Kovala-Demertzi, N. Kourkoumelis, M.A. Demertzis, J.R. Miller, C.S. Frampton, J.K. Swearingen, D.X. West, Trinuclear palladium(II) complexes with 2-hydroxy-4-methoxyacetophenone N-4-dimethylthiosemicarbazone: Synthesis, spectral studies and crystal structure of a tripalladium complex, *Eur. J. Inorg. Chem.* 4 (2000) 727-734.
33. F. Basuli, S.M. Peng, S. Bhattacharya, Steric control of the coordination mode of the salicylaldehyde thiosemicarbazone ligand. Syntheses, structures, and redox properties of ruthenium and osmium complexes, *Inorg. Chem.* 36 (1997) 5645-5647.
34. H. Sigel, Metal Ions in Biological Systems, *Dekker* 13 (1981) 541-552.
35. A.E. Graminha, A.A. Batista, J. Ellena, E.E. Castellano, L.R. Teixeira, I.C. Mendes, H. Beraldo, Ruthenium (II) complexes containing N(4)-tolyl-2-acetylpyridine

- thiosemicarbazones and phosphine ligands: NMR and electrochemical studies of cis–trans isomerization, *J. Mol. Struct.* 875 (2008) 219-225.
36. S. Guveli, B. Ulkuseven, Nickel(II)–triphenylphosphine complexes of ONS and ONN chelating 2-hydroxyacetophenone thiosemicarbazones, *Polyhedron* 30 (2011) 1385-1388.
 37. R. Prabhakaran, R. Karvembu, T. Hashimoto, K. Shimizu, K. Natarajan, Formation of structurally different solvated and non-solvated [Ni (PTSC)(PPh₃)₃](PTSC= salicylaldehyde-N-phenylthiosemicarbazide anion) crystals from single pot, *Inorg. Chim. Acta* 358 (2005) 2093-2096.
 38. A. Wissner, D. M. Berger, D. H. Boschelli, M.B. Floyd, L.M. Greenberger, B.C. Gruber, B.D. Johnson, N. Mamuya, R. Nilakantan, M.F. Reich, R. Shen, H.R. Tsou, E. Upeslakis, Y.F. Wang, B. Wu, F. Ye, N. Zhang, 4-anilino-6,7-dialkoxyquinoline-3-carbonitrile inhibitors of epidermal growth factor receptor kinase and their bioisosteric relationship to the 4-anilino-6,7-dialkoxyquinazoline inhibitors, *J. Med. Chem.* 43 (2000) 3244–3256.
 39. R. Pavan, P.I. da S. Maia, S.R.A. Leite, V.M. Deflon, A.A. Batista, D.N. Sato, S.G. Franzblau, C.Q.F. Leite, Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti – Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 1898-1905.
 40. J.J.P. Stewart, Optimization of parameters for semiempirical methods I. *Method. J. Comput. Chem.* 10 (1989) 209–220.
 41. A.M. Merlot, N. Pantarat, S.V. Menezes, S. Sahni, D.R. Richardson, D.S. Kalinowski, Cellular Uptake of the Antitumor Agent Dp44mT Occurs via a Carrier/Receptor-Mediated Mechanism, *Mol. Pharmacol.* 84 (2013) 911-924.
 42. G. Pelosi, Thiosemicarbazone Metal Complexes: From Structure to Activity, *Open Crystallogr. J.* 3 (2010) 16-28.
 43. M.B. Ferrari, F. Bisceglie, G. Pelosi, P. Tarasconi, R. Albertini, P.P. Dall’Aqlio, S. Pinelli, A. Bergamo, G. Sava, Synthesis, characterization and biological activity of copper complexes with pyridoxal thiosemicarbazone derivatives. X-ray crystal structure of three dimeric complexes, *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 301-312.
 44. R.L. Elliott, J.F. Head, Cancer: Tumor Iron Metabolism, Mitochondrial Dysfunction and Tumor Immunosuppression; “A Tight Partnership—Was Warburg Correct?”, *J. Cancer Ther.* 3 (2012) 278-311.

45. M. Serda, D.S. Kalinowski, A. Mrozek-Wilczkiewicz, R. Musiol, A. Szurko, A. Ratuszna, N. Pantarat, Z. Kovacevic, A.M. Merlot, D.R. Richardson, J. Polański, Synthesis and characterization of quinoline-based thiosemicarbazones and correlation of cellular iron-binding efficacy to anti-tumor efficacy, *J. Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22 (2012) 5527-5531.
46. T.R. Chapman, T.J. Kinsella, Ribonucleotide reductase inhibitors: a new look at an old target for radiosensitization, *Frontiers* 1 (2012) 1-6.
47. A. Graslund, A. Ehrenberg, L. Thelander, Characterization of the free radical of mammalian ribonucleotide reductase, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 5711–5715.
48. D.A. Green, W.E. Antholine, S.J. Wong, D.R. Richardson, C.R. Chitambar, Inhibition of malignant cell growth by 311, a novel iron chelator of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class: Effect on the r2 subunit of ribonucleotide reductase, *Clin. Cancer Res.* 7 (2001) 3574–3579.
49. H. Shang, Q. Li, G. Feng, Z. Cui, Molecular analysis and functions of p53r2 in zebrafish, *Gene* 475 (2011) 30–38.
50. P.P. Wei, A.B. Tomter, A.K. Rohr, K.K. Andersson, E.I. Solomon, Circular dichroism and magnetic circular dichroism studies of the active site of p53r2 from human and mouse: Iron binding and nature of the biferrous site relative to other ribonucleotide reductases, *Biochem.* 45 (2006) 14043–14051.
51. A.C. Sartorelli, K.C. Agrawal, E.C. Moore, Mechanism of inhibition of ribonucleoside diphosphate reductase by α -(N)-heterocyclic aldehyde thiosemicarbazones, *Biochem. Pharmacol.* 20 (1971) 3119-3123.
52. L. Thelander, A. Gräslund, Mechanism of inhibition of mammalian ribonucleotide reductase by the iron chelate of 1-formylisoquinoline thiosemicarbazone. Destruction of the tyrosine free radical of the enzyme in an oxygen-requiring reaction, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 4063-4066.
53. H. Wiseman, B. Halliwell, Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer, *Biochem. J.* 313 (1996) 17-29.
54. C.R. Hunt, J.E. Sim, S.J. Sullivan, T. Featherstone, W. Golden, C.V. Kapp-Herr, R.A. Hock, R.A. Gomez, A.J. Parsian, D.R. Spitz, Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress, *Cancer Res.* 58 (1998) 3986-3992.
55. J.M. Mates, F.M. Sanchez-Jimenez, Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy, *Int. J. Biochem. Cell B.* 32 (2000) 157-170.

56. H.J.H. Fenton, Oxidation of tartaric acid in presence of iron, *J. Chem. Soc.* 65 (1894) 899–910.
57. S. Toyokuni, Role of iron in carcinogenesis: Cancer as a ferrototoxic disease, *Cancer Sci.* 100 (2009) 9-16.
58. Y. Nishiyama, H. Suwa, K. Okamoto, M. Fukumoto, H. Hiai, S. Toyokuni, Low incidence of point mutations in H-, K- and N-ras oncogenes and p53 tumor suppressor gene in renal cell carcinoma and peritoneal mesothelioma of Wistar rats induced by ferric nitrilotriacetate, *Jpn. J. Cancer Res.* 86 (1995) 1150–1158.
59. S. Toyokuni, K. Okamoto, J. Yodoi, H. Hiai, Persistent oxidative stress in cancer, *FEBS Lett.* 358 (1995) 1– 3.
60. L.A. Loeb, Mutator phenotype may be required for mutistage carcinogenesis, *Cancer Res.* 51 (1991) 3075–3079.
61. T. Tanaka, Y. Iwasa, S. Kondo, H. Hiai, S. Toyokuni, High incidence of allelic loss on chromosome 5 and inactivation of *p15INK4B* and *p16INK4A* tumor suppressor genes in oxystress-induced renal cell carcinoma of rats, *Oncogene* 18 (1999) 3793–3797.
62. J. Shao, B. Zhou, A.J. Di Bilio, L. Zhu, T. Wang, C. Qi, J. Shih, Y. Yen, a Ferrous-Triapine complex mediates formation of reactive oxygen species that inactivate human ribonucleotide reductase, *Mol. Cancer Ther.* 5 (2006) 586-592.
63. V.V. Grushin, W.J. Marshall, The Fluoro Analogue of Wilkinson's Catalyst and Unexpected Ph–Cl Activation, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 3068-3069.
64. M.C. Simpson, D.J. Cole-Hamilton, Catalytic applications of rhodium complexes containing trialkylphosphines, *Coord. Chem. Rev.* 155 (1996) 163-207.
65. T. Ishii, K. Yasuda, A. Akatsuka, O. Hino, P.S. Hartman, and N. Ishii, a Mutation in the SDHC Gene of Complex II Increases Oxidative Stress, Resulting in Apoptosis and Tumorigenesis, *Cancer Res.* 65 (2005) 203-209.
66. X. Huang, Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal, *Mutat. Res.* 533 (2003) 153-171.
67. J.L. Heath, J.M. Weiss, C.P. Lavau, D.S. Wechsler, Iron Deprivation in Cancer – Potential Therapeutic Implications, *Nutrients* 5 (2013) 2836-2859.
68. H.L. Elford, M. Freese, E. Passamani, H.P. Morris, Ribonucleotide reductase and cell proliferation. I. Variations of ribonucleotide reductase activity with tumor growth rate in a series of rat hepatomas, *J. Biol. Chem.* 245 (1970) 5228–5233.
69. I.M. Gomes, C.J. Maia, C.R. Santos, Steap proteins: From structure to applications in cancer therapy, *Mol. Cancer Res.* 10 (2012) 573–587.

70. C. Hershko, Control of disease by selective iron depletion: a novel therapeutic strategy utilizing iron chelators. Bailliere's, *Clin. Haematol.* 7 (1994) 965-1000.
71. D.R. Richardson, P. Ponka, E. Baker, The effect of the iron(III) chelator, desferrioxamine, on iron and transferrin uptake by the human malignant melanoma cell, *Cancer Res.* 54 (1994) 685-689.
72. A. Gaál, G. Orgován, Z. Polgári, A. Réti, V.G. Mihucz, S. Bősze, N. Szoboszlai, C. Strelí, Complex forming competition and in-vitro toxicity studies on the applicability of di-2-pyridylketone-4,4,-dimethyl-3-thiosemicarbazone (Dp44mT) as a metal chelator, *J. Inorg. Biochem.* 130 (2014) 52-58.
73. J. Chen, Y. Huang, G. Liu, Z. Afrasiabi, E. Sinn, S. Padhye, Y. Ma, The cytotoxicity and mechanisms of 1,2-naphthoquinone thiosemicarbazone and its metal derivatives against MCF-7 human breast cancer cells, *Toxicol. Appl. Pharm.* 197 (2004) 40-48.
74. A.K. Larsen, A. Skladanowski, Cellular resistance to topoisomerase targeted drugs: from drug uptake to cell death, *Biochim. Biophys. Acta* 1400 (1998) 257-274.
75. A.K. Larsen, A. Skladanowski, K. Bojanowski, The roles of DNA topoisomerase II during the cell cycle, *Prog. Cell Cycle Res.* 2 (1996) 229-239.
76. J. Easmon, G. Pürstinger, G. Heinisch, T. Roth, H.H. Fiebig, W. Holzer, W. Jager, M. Jenny, J. Hofmann, Synthesis, cytotoxicity, and antitumor activity of copper(II) and iron(II) complexes of (4)N-azabicyclo[3.2.2]nonane thiosemicarbazones derived from acyl diazines, *J. Med. Chem.* 44 (2001) 2164-2171.
77. I.C. Mendes, M.A. Soares, R.G. Dos Santos, C. Pinheiro, H. Beraldo, Gallium(III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: cytotoxic activity against malignant glioblastoma, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 1870-1877.
78. Y. Yu, Z. Kovacevic, D.R. Richardson, Tuning cell cycle regulation with an iron key, *Cell Cycle* 6 (2007) 1982-1994.
79. L. Breen, M. Heenan, V. Amberger-Murphy, M. Clynes, Investigation of the role of p53 in chemotherapy resistance of lung cancer cell lines, *Anticancer Res.* 27 (2007) 1361-1364.
80. M. Whitnall, J. Howard, P. Ponka, D.R. Richardson, a class of iron chelators with a wide spectrum of potent antitumor activity that overcomes resistance to chemotherapeutics, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103 (2006) 14901-14906.
81. J.M. Kolesar, W.R. Schelman, P.G. Geiger, K.D. Holen, A.M. Traynor, D.B. Alberti, J.P. Thomas, C.R. Chitambar, G. Wilding, W.E. Antholine, Electron paramagnetic

- resonance study of peripheral blood mononuclear cells from patients with refractory solid tumors treated with Triapine, *J. Inorg. Biochem.* 102 (2008) 693-698.
82. S. Adsule, V. Barve, D. Chen, F. Ahmed, Q.P. Dou, S. Padhye, F.H. Sarkar, Novel Schiff base copper complexes of quinoline-2 carboxaldehyde as proteasome inhibitors in human prostate cancer cells, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 7242-7246.
 83. M.L.R. Lim, M.G. Lum, T.M. Hansen, X. Roucou, P. Nagley, On the release of cytochrome c from mitochondria during cell death signaling, *J. Biomed. Sci.* 9 (2002) 488-506.
 84. J.M. Jurgensmeier, Z. Xie, Q. Deveraux, L. Ellerby, D. Bredesen, J.C. Reed, Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95 (1998) 4997-5002.
 85. H. Irving, R.J.P. Williams, Order of stability of metal complexes, *Nature* 162 (1948) 746-747.
 86. J.G. Cory, A.H. Cory, G. Rappa, A. Lorico, M.C. Liu, T.S. Lin, A.C. Sartorelli, Inhibitors of ribonucleotide reductase. Comparative effects of amino- and hydroxy-substituted pyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones, *Biochem. Pharmacol.* 48 (1994) 335– 344.
 87. R.A. Finch, M. Liu, S.P. Grill, W.C. Rose, R. Loomis, K.M. Vasquez, Y. Cheng, A.C. Sartorelli, Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde-thiosemicarbazone): a potent inhibitor of ribonucleotide reductase activity with broad spectrum antitumor activity, *Biochem. Pharmacol.* 59 (2000) 983–991.
 88. W.A. Creasey, R.L. Capizzi, R.C. DeConti, Clinical and biochemical studies of high-dose intermittent therapy of solid tumors with hydroxyurea (NSC-32065), *Cancer Chemother. Rep.* 54 (1970) 191–194.
 89. T.B. Chaston, D.B. Lovejoy, R.N. Watts, D.R. Richardson, Examination of the antiproliferative activity of iron chelators: multiple cellular targets and the different mechanism of action of Triapine compared with desferrioxamine and the potent pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogue 311, *Clin. Cancer Res.* 9 (2003) 402–414.
 90. J. Murren, M. Modiano, C. Clairmont, P. Lambert, N. Savaraj, T. Doyle, M. Sznol, Phase I and Pharmacokinetic Study of Triapine, a Potent Ribonucleotide Reductase Inhibitor, Administered Daily for Five Days in Patients with Advanced Solid Tumors, *Clinic. Cancer Res.* 9 (2003) 4092-4100.
 91. C.R. Kowol, R. Trondl, V.B. Arion, M.A. Jakupec, I. Lichtscheidl, B.K. Keppler, Fluorescence properties and cellular distribution of the investigational anticancer drug

- Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone) and its zinc(II) complex, *Dalton Trans.* 39 (2010) 704-706.
92. A.B. Miah, K.J. Harrington, C.M. Nutting, Triapine in Clinical Practise, *Eur. J. Clin. Med. Oncol.* 2 (2010) 1-6.
93. C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 46 (2001) 3-26.
94. D.F. Veber, S.R. Johnson, H. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 2615-2623.
95. J. Klekota, G. Lundell, Chemical substructures that enrich for biological activity, *Bioinformatics.* 24 (2008) 2518-2525.
96. S. Barelier, I. Krimm, Ligand specificity, privileged substructures and protein druggability from fragment-based screening, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 15 (2011) 469-474.
97. R.M. Baum, The top pharmaceuticals that changed the world, *Chem. Eng. News* 83 (2005) 5.
98. J. Sadowski, H. Kubinyi, a scoring scheme for discriminating between drugs and nondrugs, *J. Med. Chem.* 41 (1998) 3325-3329.
99. M. Wagener, V.J. von Geerestein, Potential drugs and nondrugs: prediction and identification of important structural features, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 40 (2000) 280-292.
100. J. Polański, A. Kurczyk, A. Bąk, R. Musioł, Privileged Structures - Dream or Reality: Preferential Organization of Azanaphthalene Scaffold, *Curr. Med. Chem.* 19 (2012) 1921-1945.
101. Y. Fukunishi, H. Nakamura, Definition of drug-likeness for compound affinity, *J. Chem. Inf. Model.* 51 (2011) 1012-1016.
102. P.D. Leeson, B. Springthorpe, The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry, *Nat. Rev. Drug Discov.* 6 (2007) 881-890.
103. J. Bajorath, Virtual screening: methods, expectations and reality, *Curr. Drug Discov.* 2 (2002) 24-28.
104. A.A. Patchett, R.P. Nargund, Privileged structures – an update. *Annu. Rep. Med. Chem.* 35 (2000) 289-298.

105. K.J. Barakat, K. Cheng, W.W. Chan, B.S. Butler, T.M. Jacks, K.D. Schlemm, D.F. Hora, G.J. Hickey, R.G. Smith, A.A. Patchett, R.P. Nargund, Synthesis and biological activities of phenyl piperazine-based peptidomimetic growth hormone secretagogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, (1998) 1431-1436.
106. K.A. Jacobson, Y.C. Kim, B.F. King, In search of selective P2 receptor ligands: interaction of dihydropyridine derivatives at recombinant rat P2X(2) receptors. *J. Auton. Nerv. Syst.* 81 (2000) 152-157.
107. A. Converso, K. Burow, A. Marzinzik, K.B. Sharpless, M.G. Finn, 2,6-Dichloro-9-thiabicyclo[3.3.1]nonane: a privileged bivalent scaffold for the display of nucleophilic components, *J. Org. Chem.* 66 (2001) 4386-4392.
108. K.C. Nicolaou, J.A. Pfefferkorn, A.J. Roecker, G.Q. Cao, S. Barluenga, H.J. Mitchell, Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. General principles and solid-phase synthesis of benzopyrans, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 9939-9953.
109. C.G. Wermuth, Are pyridazines privileged structures? *Med. Chem. Comm.* 2 (2011) 935-941.
110. R. Musiol, M. Serda, S. Hensel-Bielowka, J. Polanski, Quinoline-based antifungals. *Curr. Med. Chem.* 17 (2010) 1960-1973.
111. S. Bongarzone, M.L. Bolognesi, The concept of privileged structures in rational drug design: focus on acridine and quinoline scaffolds in neurodegenerative and protozoan diseases, *Expert Opin. Drug Discov.* 6 (2011) 251-268.
112. J.A. DiMasi, R.W. Hansen, H.G. Grabowski, The price of innovation: new estimates of drug developments costs, *J. Health Econ.* 22 (2003) 151-185.
113. S. Garattini, Are me-too drugs justified? *J. Nephrol.* 10 (1997) 283-294.
114. E. van der Horst, A.P. Ijzerman, Computational Approaches to Fragment and Substructure Discovery and Evaluation, *John Wiley & Sons*, (2008) 199-222.
115. M. Al-Ghorbani, B.A. Begum, M.S.V. Zabiulla, S.A. Khanum, Piperazine and morpholine: Synthetic preview and pharmaceutical applications, *J. Chem. Pharm. Res.* 7 (2015) 281-301.
116. D.A. Horton, G.T. Bourne, M.L. Smythe, The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures, *Chem. Rev.* 103 (2003) 893-930.
117. I. Nikolova, N. Danchev, Piperazine Based Substances of Abuse: a New Party Pills on Bulgarian Drug Market, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 22 (2008) 652-655.

118. S. Ghasi, C.P. Chijioke, R. Anakwue, Pharmacodynamic effect of piperazine citrate on the blood pressure of anaesthetized cat, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 3 (2009) 379-383.
119. S. Kumari, C. B. Mishra, M. Tiwari, Pharmacological evaluation of novel 1-[4-(4-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-phenyl-urea as potential anticonvulsant and antidepressant agent, *Pharmacol. Rep.* 68 (2016) 250-258.
120. N. Singh, P.P. Hazari, S. Prakash, K. Chuttani, H. Khurana, H. Chandra, A.K. Mishra, a homodimeric bivalent radioligand derived from 1-(2-methoxyphenyl) piperazine with high affinity for *in vivo* 5-HT_{1A} receptor imaging, *Med. Chem. Commun.* 3 (2012) 814-823.
121. A. Naseem, A. Mumtaz, Evaluation of Antihistamine in Pure and in Dosage forms by Least Square Regression Method, *J. Chem. Soc. Pak.* 36 (2014) 6-10.
122. A. Ahmadi, M. Khalili, S. Chavrogh, B. Nahri-Niknafs, Synthesis and Anti-inflammatory Performance of Newly Cyclizine Derivatives on Adult Male Wistar Rats, *Iran. J. Pharm. Res.* 11 (2012) 1027-1037.
123. R. Kharb, K. Bansal, A. Kumar Sharma, A valuable insight into recent advances on antimicrobial activity of piperazine derivatives, *Der Pharma Chemica*, 4 (2012) 2470-2488.
124. J.N.N.S. Chandra, C.T. Sadashiva, C.V. Kavita, K.S. Rangappa, Synthesis and *in vitro* antimicrobial studies of medicinally important novel N-alkyl and N-sulfonyl derivatives of 1-[bis (4-fluorophenyl)-methyl] piperazine, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 6621-6627.
125. M. Singh, H.R. Jadhav, A. Kumar, Design, Synthesis and *in-vitro* evaluation of piperazine incorporated novel anticancer agents, *Lett. Drug Des. Discov.* 15 (2018) 435-452.
126. E. X. She, Z. Hao, a novel piperazine derivative potently induces caspase-dependent apoptosis of cancer cells via inhibition of multiple cancer signaling pathways, *Am. J. Transl. Res.* 5 (2013) 622-633.
127. C. Moretto dos Reis, D. Sousa Pereira, R. de Oliveira Paiva, L. Ferreira Kneipp, A. Echevarria, Microwave-Assisted Synthesis of New N₁,N₄-Substituted Thiosemicarbazones, *Molecules* 16 (2011) 10668-10684.
128. A. Katritzky, S. Ledoux, R. Witek, S. Nair, 1-(Alkyl/Arylthiocarbamoyl)benzotriazoles as Stable Isothiocyanate Equivalents: Synthesis of Di- and Trisubstituted Thioureas, *J. Org. Chem.* 69 (2004) 2976-2982.

129. M. Serda, Synteza i aktywność biologiczna nowych analogów tiosemikarbazonowych chelatorów żelaza, *Praca doktorska wykonana w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach* (2013) 88.
130. D. Kalinowski, D. Richardson, The evolution of iron chelators for the treatment of iron overload disease and cancer, *Pharmacol Rev.* 57 (2005) 547–583.
131. T.P. Stanojkovic, D. Kovala-Demertzi, A. Primikyri, I. Garcia-Santos, A. Castineiras, Z. Juranic, M.A. Demertzis, Zinc (II) complexes of 2-acetyl pyridine 1-(4-fluorophenyl)-piperazinyli thiosemicarbazone: Synthesis, spectroscopic study and crystal structures - potential anticancer drugs, *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 467–476.
132. N. Ae, Y. Fujiwara, Process of a quaternary ammonium salt, US20110263847A1, (2011).
133. V. Kubíček, J. Havlíčková, J. Kotek, G. Tircsó, P. Hermann, E. Tóth, I. Lukes, Gallium(III) complexes of DOTA and DOTA-monoamide: kinetic and thermodynamic studies, *Inorg. Chem.* 49 (2010) 10960–10969.
134. E. Proschak, Y. Tanrikulu, G. Schneider, Chapter 7: Fragment-based de novo design of drug-like molecules. In: A. Varnek, A. Tropsha, editors. Chemoinformatics approaches to virtual screening, *Cambridge: Royal Society Press*, (2008) 217–239.
135. E.M. Becker, D.B. Lovejoy, J.M. Greer, R. Watts, D.R. Richardson, Identification of the dipyridyl ketone isonicotinoyl hydrazone (PKIH) analogues as potent iron chelators and anti-tumour agents, *Br. J. Pharmacol.* 138 (2003) 819–830.
136. Y. Wang, J. Ai, Y. Wang, Y. Chen, L. Wang, G. Liu, M. Geng, A. Zhang, Synthesis and c-Met kinase inhibition of 3,5-disubstituted and 3,5,7-trisubstituted quinolines: identification of 3-(4-acetylpiperazin-1-yl)-5-(3-nitrobenzylamino)-7-(trifluoromethyl)quinoline as a novel anticancer agent, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 2127–2142.
137. X. Hou, Z. Ge, T. Wang, W. Guo, J. Cui, T. Cheng, C. Lai, R. Li, Dithiocarbamic acid esters as anticancer agent. Part 1: 4-Substituted-piperazine-1-carbodithioic acid 3-cyano-3,3-diphenyl-propyl esters, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 4214–4219.
138. K. Yu, L. Toral-Barza, C. Shi, W-G. Zhang, J. Lucas, B. Shor, J. Kim, J. Verheijen, K. Curran, D.J. Malwitz, D.C. Cole, J. Ellingboe, S. Ayril-Kaloustian, T.S. Mansour, J.J. Gibbons, R.T. Abraham, P. Nowak, A. Zask, Biochemical, cellular, and in vivo activity of novel ATP-competitive and selective inhibitors of the mammalian target of rapamycin, *Cancer Res.* 69 (2009) 6232–6240.

139. D.B. Lovejoy, D.M. Sharp, N. Seebacher, P. Obeidy, T. Prichard, C. Stefani, M.T. Basha, P.C. Sharpe, P.J. Jansson, D.S. Kalinowski, P.V. Bernhardt, D.S. Richardson, Novel second-generation di-2-pyridylketone thiosemicarbazones show synergism with standard chemotherapeutics and demonstrate potent activity against lung cancer xenografts after oral and intravenous administration in vivo, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 7230–7244.
140. É.A. Enyedy, N.V. Nagy, É. Zsigó, C.R. Kowol, V.B. Arion, B.K. Keppler, T. Kiss, Comparative Solution Equilibrium Study of the Interactions of Copper(II), Iron(II) and Zinc(II) with Triapine (3-Aminopyridine-2-carbaldehyde Thiosemicarbazone) and Related Ligands, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2010 (2010) 1717–1728.
141. E. Lacivita, M. Leopoldo, P. De Giorgio, F. Berardi, R. Perrone, Determination of 1-aryl-4-propylpiperazine pKa values: The substituent on aryl modulates basicity, *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 1339–1344.
142. M. Smyth, W.F. Smyth, R. Palmer, J. Clifford, Acid—base equilibria of some benzhydryl piperazine derivatives, *Anal. Chim. Acta.* 86 (1976) 185–194.
143. É.A. Enyedy, M.F. Primik, C.R. Kowol, V.B. Arion, T. Kiss, B.K. Keppler, Interaction of Triapine and related thiosemicarbazones with iron(III)/(II) and gallium(III): a comparative solution equilibrium study, *Dalton Trans.* 40 (2011) 5895–5905.
144. L. Thelander, A. Gräslund, M. Thelander, Continual presence of oxygen and iron required for mammalian ribonucleotide reduction: possible regulation mechanism, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 110 (1983) 859–865.
145. E. Lacivita, M. Leopoldo, P. De Giorgio, F. Berardi, R. Perrone, Determination of 1-aryl-4-propylpiperazine pKa values: The substituent on aryl modulates basicity, *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 1339–1344.
146. A. Omuro, L.M. De Angelis, Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review, *JAMA.* 310, (2013) 1842–1850.

7. CURRICULUM VITAE

Marta Rejmund



Data urodzenia: 27.09.1990 r.
Adres zamieszkania: ul. Struga 24, 41-200 Sosnowiec
Kontakt: tel. 793 239 696,
Adres e-mail: rejmund.m@gmail.com

WYKSZTAŁCENIE

2014 – obecnie Uniwersytet Śląski, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek -
Chemia (studia dzienne III stopnia).
2012 – 2014 Uniwersytet Śląski, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek -
Chemia Leków (studia dzienne II stopnia).
2012 – 2014 Uniwersytet Śląski, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek -
Chemia (studia dzienne II stopnia).
2009 – 2012 Uniwersytet Śląski, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek -
Chemia Leków (studia dzienne I stopnia).
2009 – 2012 Uniwersytet Śląski, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, kierunek -
Chemia (studia dzienne I stopnia).

DOŚWIADCZENIE ZAWODOWE

2014.10.01 - 2015.06.30 Udział w projekcie FORSZT - Fundament Optymalnego Rozwoju:
Staże z Technologii.
2012.01.09 – 2013.06.30 Uniwersytet Rozwoju, Chorzów - Instruktor eksperymentów
chemicznych i fizycznych.

PRAKTYKI I STAŻE

2011.08.01 – 2011.08.19 Laboratorium Chemiczne, Katowicki Holding Węglowy KWK
Wujek.

2011.08.01 – 2011.09.01 Polski Fundusz Inwestycji Gospodarczych sp. z o.o. w Warszawie.

2013.07.01 – 2013.09.30 Instytut Ekologii Terenów Przemysłowych w Katowicach.

UMIEJĘTNOŚCI

- Znajomość obsługi aparatury chemicznej m.in.:
 - Reaktora mikrofalowego,
 - Analizatora rtęci,
 - Spektrometru emisji atomowej ze wzbudzeniem w indukowanej plazmie,
- Znajomość technik chromatograficznych,
- Umiejętność przygotowywania próbek do analiz,
- Przeprowadzanie oznaczeń chemicznych w zakresie klasycznej i instrumentalnej analizy organicznej i nieorganicznej,
- Znajomość interpretacji widm NMR (^1H i ^{13}C).

JĘZYKI

- j. niemiecki – dobra znajomość w mowie i piśmie.
- j. angielski – dobra znajomość w mowie i piśmie.

ZAINTERESOWANIA

Chemia – terapia przeciwnowotworowa, podróże, fotografia, literatura współczesna, muzyka.

POSIADAM

- Certyfikat ukończenia kursu Zarządzania organizowanego przez Uniwersytet Śląski,
- Certyfikat ukończenia kursu e-Urzędnik organizowanego przez Uniwersytet Śląski,
- Certyfikat ukończenia kursu Ochrony Środowiska organizowanego przez Uniwersytet Śląski,
- Certyfikat uczestnictwa w kursie „Chemia informatyczna: oprogramowanie do obliczeń numerycznych i symbolicznych, wizualizacji danych naukowych oraz edytory struktur molekularnych,
- Certyfikat uczestnictwa w kursie „Chemia informatyczna: Podstawy chemii obliczeniowej. Duże układy molekularne w obliczeniach chemicznych”.

Publikacje:

1. **Marta Rejmund**, Anna Mrozek-Wilczkiewicz, Katarzyna Malarz, Monika Pyrkosz-Bulska, Kamila Gajcy, Mieczysław Sajewicz, Robert Musioł, Jarosław Polański, *Piperazynyl fragment improves anticancer activity of Triapine*, PLOS ONE, PONE-D-17-20968R1, Impact Factor = 2.806, punkty MNiSW = 40, 2017.
2. Katarzyna Malarz, Anna Mrozek-Wilczkiewicz, Maciej Serda, **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Robert Musioł, *Anticancer thiosemicarbazones deregulate the oxidative equilibrium of a cell through the formation of redox-active complexes*, Oncotarget Journal, 035177R1, Impact Factor = 5.168, punkty MNiSW = 40, 2017.
3. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański i inni, *Piperazine as a new privileged fragment for antifungal and antimicrobial thiosemicarbazones*, PLOS ONE, w przygotowaniu.
4. Anna Mrozek-Wilczkiewicz, Katarzyna Malarz, **Marta Rejmund**, Jarosław Polanski and Robert Musioł, *Active thiosemicarbazones based on di-2-pyridine ketone and quinoline moiety*, Oncotarget Journal, w przygotowaniu.

Zgłoszenie patentowe:

1. Polański J., **Rejmund M.**, Gajcy K., Pyrkosz-Bulska M., Mrozek-Wilczkiewicz A., Malarz K., Musioł R. Nowe pochodne Triapiny sposób ich otrzymywania oraz ich zastosowanie, Zgłoszenie patentowe **P.421488**, 2017.

Prezentacje ustne na konferencjach krajowych:

1. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, *Synteza i analiza spektroskopowa tiosemikarbazonów będących pochodnymi 4-(4-fluorofenyl)piperazyno-1-tiokarbonydu*. I Ogólnopolska Konferencja Innowacyjni Naukowcy, Wrocław, 30 maja 2016.
2. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, *Tiosemikarbazony – nowe leki o wysokiej aktywności przeciwnowotworowej*, IV Ogólnokrajowa Konferencja Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój, Oleśnica, 23 listopada 2016.
3. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, *Tiosemikarbazony - synteza nowych, biologicznie aktywnych związków o wysokiej lipofilowości*, IV Śląskie Spotkania Naukowe, Ustroń, 24 - 25 marca 2017.

Postery na konferencjach zagranicznych:

1. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Microwave – Assisted Synthesis and Characterization of Novel Thiosemicarbazones based on Substituted N-4-Phenylpiperazine and Thiomorpholine. XVIIIth Gliwice Scientific Meetings, Gliwice, 21 - 22 listopada 2014.
2. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Microwave – Assisted Synthesis and Characterization of Thiosemicarbazones based on 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde. 44th Conference Drug Synthesis and Analysis, Brno, 2 - 4 września 2015.
3. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Synthesis and Characterization of Thiosemicarbazones based on 2-nitrobenzaldehyde. XIXth Gliwice Scientific Meetings, Gliwice, 20 - 21 listopada 2015.
4. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Synthesis and Spectroscopic Characterization of Thiosemicarbazones based on 4-(4-cyanophenyl)piperazine-1-carbothiohydrazide. 8th Conference Chemistry towards Biology, Brno, 28 sierpnia – 01 września 2016.
5. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Thiosemicarbazones as an important anticancer agents – synthesis and characterization of novel compounds. XIX International Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, Łódź, 25 listopada 2016.
6. **Marta Rejmund**, Anna Mrozek-Wilczkiewicz, Katarzyna Malarz, Jarosław Polański, Synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazones based on 2-quinolinecarboxaldehyde. III International Conference of cell biology, Kraków, 26 - 27 maja 2017.
7. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Microwave – Assisted Synthesis and Spectroscopic Characterization of Thiosemicarbazones based on 2-chlorothioxanthone. 46th EuroCongress on Drug Synthesis and Analysis, Bratysława, 05 - 08 września 2017.

Postery na konferencjach krajowych:

1. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Synteza i charakterystyka spektroskopowa tiosemikarbazonów opartych na mono- i difluorobenzaldehydach. IX Aktualne Problemy Chemii Analitycznej, Katowice, 15 maja 2015.
2. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Analytical Techniques Used in the Synthesis of Novel Thiosemicarbazones based on 5-bromosalicylaldehyde. XXXVIII Sympozjum

nt. Chromatograficznych Metod Badania Związków Organicznych, Szczyrk, 27 - 29 maja 2015.

3. **Marta Rejmund**, Weronika Ambrożkiewicz, Jarosław Polański, Synteza i charakterystyka spektroskopowa tiosemikarbazonów opartych na aldehydzie 4-hydroksy-3-metoksybenzoesowym (wanilinie). *Pomiędzy Naukami – Zjazd Fizyków I Chemików*, Chorzów, 18 września 2015.
4. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Synteza i analiza spektroskopowa tiosemikarbazonów będących pochodnymi 4-(4-nitrofenylo)piperazyno-1-tiokarbohydrydu. *Pomiędzy Naukami – Zjazd Fizyków I Chemików*, Chorzów, 16 września 2016.
5. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Synteza i charakterystyka spektroskopowa nowych, potencjalnie aktywnych biologicznie tiosemikarbazonów. *XI Seminarium Naukowe „Aktualne Problemy Chemii Analitycznej”*, Katowice, 12 maja 2017.
6. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Wykorzystanie ekstraktu z Geranium jako alternatywnego, przyjaznego środowiska reduktora złota do jego nanocząstek. *Eco Innovation Summit – Ogólnopolska Konferencja Naukowo – Branżowa*, Wrocław, 02 czerwca 2017.
7. **Marta Rejmund**, Jarosław Polański, Tiosemikarbazony – synteza nowych, biologicznie aktywnych związków o wysokiej lipofilowości. *Pomiędzy Naukami Zjazd Fizyków i Chemików – VI Ogólnopolska Konferencja dla Młodych Naukowców*, Chorzów, 15 września 2017.