

СИНТЕЗ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

УДК 547.78+547.79

М.І. Короткіх¹, О.П. Швайка³, А.В. Кисельов¹, А.В. Кнішевицький¹, Н.В. Глиняна¹,
К.О. Марічев³, В.П. Новіков², В.І. Лубенець², О.П. Іськів², Н.І. Москаленко²,
О.П. Комаровська-Порохнявець²

¹Інститут фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України

²Національний університет "Львівська політехніка"

³Донецький національний університет

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПРОТО- ТА МЕТАЛО- КАРБЕНОВИХ СПОЛУК РЯДУ АЗОЛІВ ТА АЗИНІВ

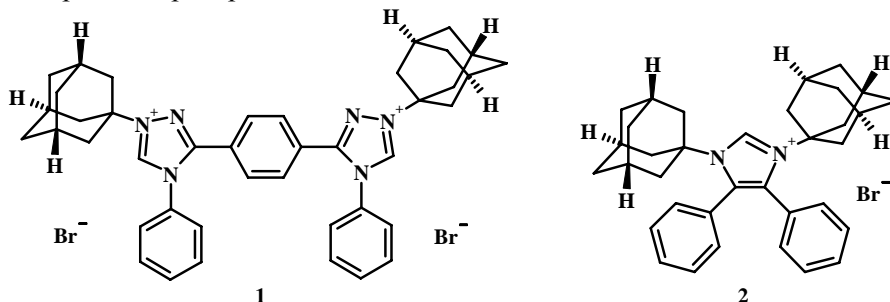
© Короткіх М.І., Швайка О.П., Кисельов А.В., Кнішевицький А.В., Глиняна Н.В.,
Марічев К.О., Новіков В.П., Лубенець В.І., Іськів О.П., Москаленко Н.І.,
Комаровська-Порохнявець О.П., 2008

Наведено дані про антимікробну активність прото- та металокарбенових сполук ряду азолів та азинів. На тест-культурах *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* виявлено високу антимікробну активність адамантановмісних бістриазолієвих 1 та імідазолієвих солей 2, а також карбенових комплексів срібла 8–11.

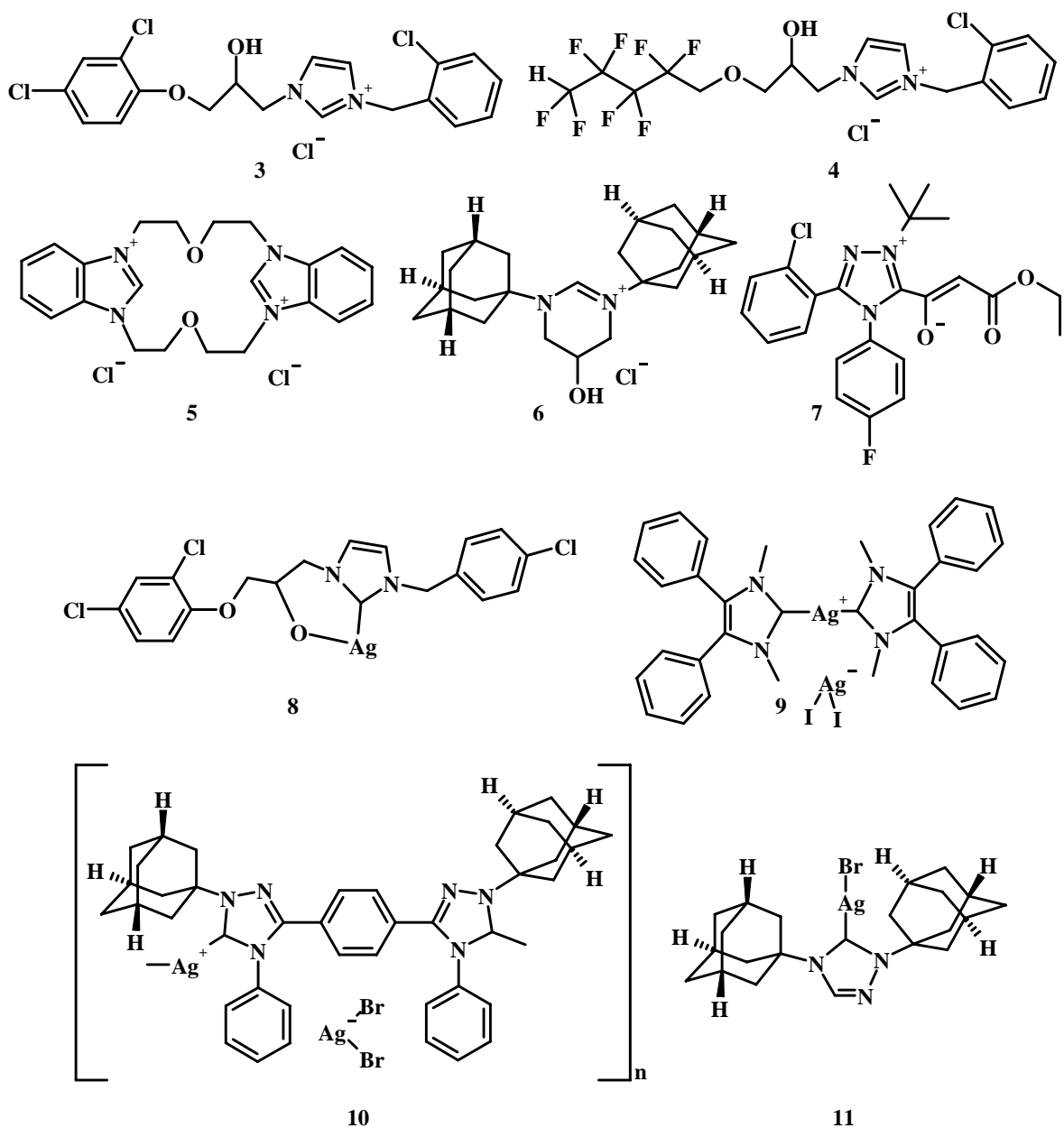
The data of antimicrobial activity for proto-and metalocarbene compounds of a series of azoles and azines are presented in this work. The high antimicrobial activity of adamantane containing bistriazolium salt 1, imidazolium salt 2 and also carbene complexes of silver 8–11 was found on the test-cultures of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*.

Актуальність роботи. Відомі антимікробні властивості похідних азолів та азолієвих солей, серед яких багато сполук стали фармацевтичними препаратами (протигрибковими – похідні імідазолів і 1,2,4-триазолів, зокрема, клотримазол, біфоназол, нізорал, дифлюкан тощо) [1, 2]. Значна антимікробна активність притаманна також похідним азинам, наприклад, похідним хінолонів, цетилпіридинію хлориду та його аналогам. Високою антивірусною активністю відзначаються адамантанові похідні [1, 3], біологічно активні також краунові структури. Отже, цікавими видаються комбінації азольних структур з адамантановою чи крауновою, місткові форми. Особливо маловивченою залишається антимікробна активність похідних адамантановмісних азолієвих та азинієвих солей, деяких 2-гідроксипропіленовмісних місткових солей азолію, солей з краун-структурою, цвітер-іонних сполук триазольного ряду, карбенових комплексів перехідних металів. Останні тільки недавно почали вивчатися на антимікробну активність [4].

Мета роботи. У цій роботі поставлено за мету вивчення антимікробних властивостей солей біс-1,2,4-триазолію 1, імідазолію 2-4, краун-солі 5, солі піримідинію 6, цвітер-іонної сполуки 7, карбенових комплексів срібла 8-11. Ці сполуки єднає наявність в молекулах прото- або металокарбенових центрів, які за певних умов здатні генерувати карбени. Біологічна активність таких сполук маловідома. У завдання дослідження також входило порівняння отриманих даних з активністю відомих лікарських препаратів.



Експериментальна частина. Синтез сполуки 1 здійснювався за методом роботи [5] рециклізацією-фенілен-біс-1,3,4-оксадіазолу з аніліном з подальшим адамантилюванням отриманого *n*-фенілен-біс-1,2,4-триазолу 1-бромадамантаном в оцтовій кислоті. Для синтезу солі 2 використовували методику прямого адамантилювання 4,5-дифенілімідазолу 1-бромадамантаном в присутності гідриду кальцію в *o*-дихлорбензолі [6]. Солі 3,4 отримано приєднанням відповідного арилгліцидилового етеру до імідазолу в ацетонітрилі в присутності *трет*-бутилату натрію з подальшою кватернізацією отриманого похідного імідазолу *o*-хлорбензилхлоридом в ацетонітрилі [7]. Краун-сіль 5 одержано кватернізацією 1,5-ди(1-бензімідазоліл)-3-оксапентану 2,2'-дихлордіетиловим етером в *o*-дихлорбензолі [8]. Реакція утворення солі 6 перебігає при взаємодії 1,3-ді(1-адамантил)амідину з епіхлоргідрином [9]. Синтез вихідного амідину полягає в розщепленні 1,4-ді(1-адамантил)-1,2,4-триазолієвої солі під дією алкоголятів лужних металів [10]. Цвітер-іонна сполука 7 синтезована під час взаємодії відповідного стабільного карбену (триазолілідену) з малоновим етером в толуолі [11]. Нарешті, карбенові комплекси 8-11 отримані з відповідних азолієвих та бісазолієвих солей за методом Ліна (під дією Ag_2O в дихлорметані) [12]. Сполуки 2-6, 8-11 одержано вперше.



1,3-Діадамантил-4,5-дифенілімідазолій бромід (2). Суміш 3,3 г (15 ммоль) 4,5-дифенілімідазолу, 6,45 г (30 мм) 1-бромадамантану и 0,61 г (15 ммоль) гідриду кальцію кип'ятили в 3 мл *o*-дихлорбензолу 4 год, додавали 1 г (4,65 ммоль) 1-бромадамантану и продовжували кип'ятіння протягом 4 год.

Реакційну суміш охолоджували до 80° С і фільтрували в гарячому стані. Осад промивали 10 мл киплячого ацетонітрилу. Об'єднані фільтрати випаровували досуха, осад розтирали з 10 мл петролейного етеру та відфільтровували. Вихід 4 г (47 %). Після перекристалізації з водного розчину оцтової кислоти (1:19) отримували 2,5 г броміду 2. Т. пл. 274–276 °С (AcOH – H₂O, 1:19). Знайдено, %: С 73,9; Н 7,1; Вг 14,1; N 5,0. C₃₅H₄₁BrN₂. Розраховано, %: С 73,8; Н 7,3; Вг 14,0; N 4,9. Спектр ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 1,44-1,65 м (12Н), 2,08-2,16 м (18Н) (1-Ad), 7,32-7,44 м (10Н) (Ar), 8,92 с (1Н) (CHN).

1,3-Ді(1-адамантил)-5-гідрокси-5,6-дигідро-4Н-піримідиній хлорид (6). Розчин 5 г (16,03 ммоль) 1,3-ді(1-адамантил)формаїдину у 12,35 мл (160,3 ммоль) епіхлоргідрину кип'ятили 20 хв. Реакційну масу охолоджували, осад розтирали з 25–30 мл діетилового етеру, відфільтровували, промивали діетиловим етером, сушили. Вихід солі 6 5,58 г (86%). Т. пл. > 300 °С (етилцелозольв). Знайдено, %: С 71,4; Н 9,0; Cl 8,7; N 7,0. C₂₄H₃₇ClN₂O. Розраховано, %: С 71,2; Н 9,2; Cl 8,8; N 6,9. Спектр ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 1,65 м (12Н), 1,82 м (6Н), 1,97 м (6Н), 2,16 м (6Н) (Ad); 3,34 м, 3,45 м (4Н, CH₂N); 4,26 м (1Н, CHO); 5,39 (1Н, OH); 7,77 с (1Н, CHN).

Антимікробну активність вивчали на тест-культурах бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* та грибів *Candida tenuis*, *Aspergillus niger* методом дифузії речовин в агар на твердому поживному середовищі (м'ясо-пептонний агар – для бактерій, сусло-агар – для грибів). Мікробне навантаження 10⁹ клітин (спор) на 1 мл. Тривалість інкубації бактерій 24 год при температурі 35°С, грибів – 48–72 год при 28–30°С.

Ступінь активності досліджуваних сполук оцінювали за розміром зон пригнічення росту тест-культур мікроорганізмів, вважаючи, що при діаметрі 11 – 15 мм мікроорганізм малочутливий до препарату, при 16 – 25 мм – чутливий та при > 25 мм – високочутливий. Повторювали кожен дослід тричі. Для оцінки рівня активності вказаних сполук на тест-культурах мікроорганізмів здійснено порівняння в цих самих умовах з дією відомих антибіотиків: ванкоміцину, оксациліну, ністатину.

Обговорення результатів. У таблиці наведено основні результати вимірювань за вказаною схемою.

Таблиця

Антимікробна активність прото- та металокарбенових сполук 1-11 за методом дифузії речовини в агар

№ з/п	Концентрація, %	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів (ДЗР), мм				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteum</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>A. niger</i>
1	0,5	11,3	23,6	35,6	0	0
	0,1	0	16	24	0	0
2	0,5	0	22,3	39,3	0	15,6
	0,1	0	19,6	32,3	0	10
3	0,5	26	26	19,3	0	0
	0,1	12	13,6	0	0	0
4	0,5	0	10,3	33,3	0	0
	0,1	0	0	12,6	0	0
5	0,5	0	18,6	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
6	0,5	0	19	7,6	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
7	0,5	0	16	16	0	0
	0,1	0	9	0	0	0
8	0,5	24	27,5	27,6	8	0
	0,1	19	26	17	6	0
9	0,5	11,6	10,6	16,6	0	0
	0,1	11	8,6	16,6	0	0
10	0,5	17,6	23,6	19,6	0	0
	0,1	16,3	16	11,6	0	0
11	0,5	20	26,3	20,3	0	0
	0,1	18,6	24	13	0	0
A	0,01	16	18	58	0	0
B	0,01	0	11	15	24	25
C	0,01	0	21	0	0	0

A – ванкоміцин; B – ністатин; C – оксацилін.

Найбільша антибактеріальна активність була знайдена для солей 1 і 2, до яких особливо чутлива *M. luteum* та дещо менше *S. aureus* (діаметр зон затримки росту ДЗЗР за концентрації 0,5 % 22–39 мм), причому розведення до концентрації 0,1 % у разі солі 2 доволі мало впливає на активність (ДЗЗР 16–32 мм). Помітна чутливість *S. aureus* і *M. luteum* до 0,5 % концентрацій солей 3,4 погіршується при розведенні до концентрації 0,1 %. *S. aureus* чутливий також до солей 5,6 і цвітер-іона 7 в концентрації 0,5 %, але на цій тест-культурі при розведенні та на інших культурах в будь-якій концентрації активність сильно знижується.

Характерною особливістю антибактеріальної дії карбенових комплексів 8-11 є порівняно мала залежність активності від розведення на тест-культурах *S. aureus* і *M. luteum*, що потребує подальших експериментів за нижчих концентрацій, та антибактеріальна дія також на кишкову паличку. Найбільша активність виявляється для комплексу 8, причому спостерігається ряд активності: 8>11>10>9. Порівняно з активністю оксациліну сполуки 8,10,11 виявляють сильнішу дію на кишкову паличку і *M. luteum*, а активність щодо *S. aureus* можна вважати близькою (зіставлення за різних концентрацій). Порівняно з ванкомицином активність 8,10,11 близька на тест-культурах кишкової палички і *S. aureus*, але помітно менша на культурі *M. luteum*.

Помірна протигрибкова активність виявлена для сполуки 2 на тест-культурі *A. niger* та для сполуки 8 на культурі *C. tenuis*.

Отже, у роботі виявлено високу антимікробну активність бістриазолієвої солі 1, імідазолієвої солі 2, карбенових комплексів 8-11, помірну активність солей 3-6 та цвітер-іона 7.

Робота виконана за підтримки ДФФД і Міністерства освіти і науки України (грант № Ф25.3/049).

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая Волна, 2008.– 1206 с. 2. Pat. USA 3719760 / К.Н. Buchel, F. Grewe, H. Scheinpluge, H. Kaspers, E. Regel. – Publ. 6.03.73. 3. Bhattacharyya S. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.– 1995.– № 14.–1845. 4. a) Melaiye A., Simons R.S., Milsted A., Pingitore F., Westdemiotis C., Tessier C.A., Youngs W.J. J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47. – P. 973. b) Ray S., Mohan R., Singh J. K., Samantaray M.K.; Shaikh M.M., Panda D., Ghosh P. J. Amer. Chem. Soc.– 2007.– Vol. 129, № 48.– P. 15042; c) Hindi K.M., Siciliano T.J., Durmus S., Panzner M.J., Medvetz D.A., Reddy D. V., Hogue L. A., Hovis C. E., Hilliard J. K., Mallet R. J., Tessier C.A., Cannon C.L., Youngs W.J. J. Med. Chem. 2008.– Vol. 51, № 6. – P. 1577. d) Lin I.J.B, Vasam C.S. Can. J. Chem. 2005.– Vol. 83, № 6.– P. 812. e) Ray L., Katiyar V., Raihan M.J., Nanavati H., Shaikh M.M., Ghosh P. Eur. J. Inorg. Chem. 2006.– № 18.– P. 3724; f) Kascatan N. A., Panzner M.J., Tessier C.A., Cannon C.L., Youngs W.J. Coordination Chem. Rev. 2007.– Vol. 251, № 5-6.– P. 884. 5. Kiselyov A.V., Korotkikh N.I., Cowley A.H. Moore J.A., Pekhtereva T.M., Shvaika O.P. ARKIVOC.– 2008 (submitted). 6. Коротких Н.И., Раенко Г.Ф., Пехтерева Т.М., Швайка О. П., Каули А. Г., Джонс Дж. Н. Журн. орг. хим.– 2006.– Т. 43, в.12.– С. 1833. 7. Коротких М.И., Кисельов А.В., Пехтерева Т.М., Швайка О.П. Укр. хім. ж.– 2001.– № 11–12.– С. 97. 8. Коротких М.И., Марічев К.О., Кисельов А.В., Пехтерева Т.М., Швайка О.П. Доп. НАН України, 2008 (представлено). 9. Korotkikh N.I., Knishevitsky A.V., Shvaika O.P. Rep. at the International Confer. “Chemistry of Nitrogen containing heterocycles”, Kharkiv (Ukraine), September 30 – October 3, 2003, p. 207. 10. Коротких М.И., Кнішевицький А.В., Раенко Г.Ф., Пехтерева Т.М. Доп. НАН України.– 2003.– № 1.– С. 139. 11. Korotkikh N.I., Cowley A.H., Moore J.A., Glinyayana N. V., Panov I.S., Rayenko G.F., Pekhtereva T.M., Shvaika O.P. Org. Biomol. Chem.– 2008.– № 1.– P. 155–159. 12. Wang H.M.J., Lin I.J.B. Organometallics. – 1998. – Vol. 17. – P. 972–975.