

УДК 547.78+547.79

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПРОТОКАРБЕНОВИХ ТА МЕТАЛОКАРБЕНОВИХ СПОЛУК РЯДУ АЗОЛІВ І ПІРИДИНУ

К.О.Марічев, Н.В.Глиняна, М.І.Коротких, О.П.Швайка, А.В.Кисельов, А.В.Кнішевицький*, Т.М.Пехтерева, Г.В. Дударенко*, О.З.Комаровська-Порохнявець**, В.І.Лубенець**, В.П.Новиков**

Інститут фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л.М.Литвиненка НАН України
83114, м. Донецьк, вул. Р.Люксембург, 70. E-mail: nkorotkikh@ua.fm

* Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України

** Національний університет "Львівська політехніка"

Ключові слова: протокарбенові і металокарбенові сполуки; антимікробна активність

Наведені дані з антимікробної активності протокарбенових- та металокарбенових сполук ряду азолів і піридину. Встановлено високу антимікробну активність макроциклічних імідазолієвих солей 2a-c і 1-цетилпіридинієвих солей 3b-d на тест-культурах E. coli, S. aureus, M. luteum, C. tenuis, A. niger.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROTOCARBENE AND METALCARBENE COMPOUNDS OF A SERIES OF AZOLES AND PYRIDINE

K.O.Marichev, N.V.Glinyana, M.I.Korotkikh, O.P.Shvaika, A.V.Kiselyov, A.V.Knishevitsky, T.M.Pekhtereva, G.V.Dudarenko, O.Z.Komarovska-Porokhnyavets, V.I. Lubenets, V.P.Novikov

The antimicrobial activity data of protocarbene and metallocarbene compounds of a series of azoles and pyridine are presented in this work. The high antimicrobial activity of macrocyclic imidazolium salts 2a-c and 1-cetylpyridinium salts 3b-d has been found on the test-cultures of E. coli, S. aureus, M. luteum, C. tenuis, A. niger.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТОКАРБЕНОВЫХ И МЕТАЛЛОКАРБЕНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЯДА АЗОЛОВ И ПИРИДИНА

К.О.Маричев, Н.В.Глиняная, М.И.Коротких, О.П.Швайка, А.В.Киселев, А.В.Книшевицкий, Т.М.Пехтерева, Г.В.Дударенко, Е.З.Комаровская-Порохнявец, В.И.Лубенец, В.П.Новиков

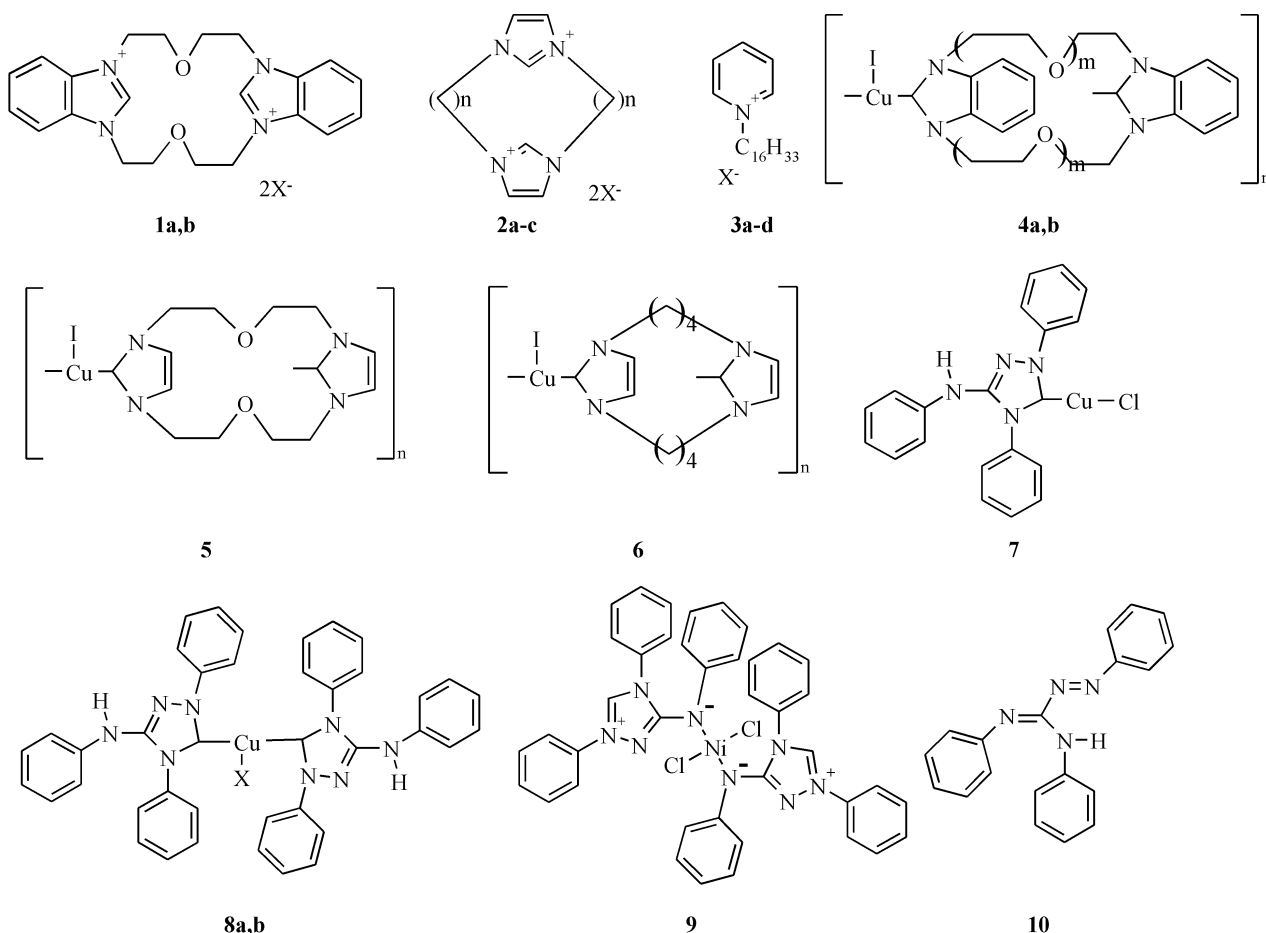
Приведены данные по антимикробной активности протокарбеновых и металлокарбеновых соединений ряда азолов и пиридина. Установлена высокая антимикробная активность макроциклических имидазолиевых солей 2a-c и 1-цетилпиридиниевых солей 3b-d на тест-культурах E. coli, S. aureus, M. luteum, C. tenuis, A. niger.

Карбенові комплекси перехідних металів тільки недавно почали вивчатися на антимікробну активність [1-7]. Раніше нами були виявлені антимікробні властивості у карбеноїдних похідних азолів і азолієвих солей, що містять адамантанові та краун-етерні структури, цвіттеріонні сполуки 1,2,4-триазольного ряду, а також карбенові комплекси срібла [1]. Але маловідомими залишалася активність карбенових комплексів з іншими перехідними металами, впливи містків та аніонів у карбеноїдних сполуках. Отже, доцільним є вивчення антимікробної активності комплексів таких металів як мідь(I) і нікель, у т.ч. краункарбенових структур, впливу містка в краункарбенових комплексах, а також природи аніона в карбеноїдних сполуках на рівень їх активності.

В цій роботі поставлено за мету вивчення антимікробних властивостей солей краунбензімідазолію **1a,b**, карбоциклічних аналогів крауназолієвих солей — солей біс(додекаметилен)імідазолію **2a-c**, 1-цетилпіридинію **3**, які містять протиіони хло-

рид, роданід і тіосульфат, та антимікробної активності комплексних солей міді(I) полімерного типу (**4-6**) і аміноазольного ряду **7-9**. Для порівняння вивчена антимікробна активність барвника на основі карбеноїдної системи 3-імідо-1,2,4-триазолію — азоамідину **10**. Сполуки **1-9** мають у молекулах карбеноїдні центри, які при певних умовах здатні генерувати карбени. Біологічна активність подібних сполук маловідома.

Краун-сіль **1a** одержано шляхом кватернізації 1,5-ди(1-бензімідазоліл)-3-оксапентану 2,2'-дихлордіетиловим етером в *o*-дихлорбензені [8]. Нову сіль біс(додекаметилен)імідазолію **2a** отримано аналогічно до краун-сполуки **1a** з 3,3'-додекаметиленді(1-імідазолу) і 1,12-дихлоррододекану в *o*-дихлорбензені. Відомий 1-цетилпіридинію хлорид **3a**, який виявляє антимікробну активність, вивчено як об'єкт порівняння. Заміну аніонів в сполуках **1a**, **2a**, **3a** на роданід, тіосульфат проводили в апротонному розчиннику (звичайно, ацетонітрилі або диметилформаміді) дією відповідної неорга-



1a X = Cl; **1b** 2X = S₂O₃; **2 a-c** n = 12, **2a** X = Cl; **2b** X = SCN; **2c** 2X = S₂O₃; **3a** X = Cl; **3b** X = SCN; **3c** X = S₂O₃Na; **3d** 2X = S₂O₃; **4a** m = 1; **4b** m = 2; **8a** X = Cl; **8b** X = I

Схема 1

нічної солі (роданідом натрію, тіосульфатом натрію) (схема 1).

Нові комплексні сполуки **4-6** отримували дією на ацетилацетонат відповідного дикатиону бісазолію йодиду міді або дією гідриду натрію на відповідні солі бісазолію в безводному диметилсульфоксиді з наступною дією йодиду міді(I). Карбенові комплекси **7,8** та бісмідний комплекс **9** отримані вперше при кип'ятінні ацетонітрильного розчину 1,4-дифеніл-1,2,4-триазолію-3-феніліміду з відповідними солями міді(I) (**7,8**) або в диметилформаміді при дії нікелю хлориду (**9**). При взаємодії 1,4-дифеніл-1,2,4-триазолію-3-феніліміду в суміші толуен — ізопропанол (3:1) з *tert*-бутоксидом калію при барботажі сухого кисню отримано барвник азоамідин **10**.

У табл. 1 наведені основні результати досліджень антимікробної активності сполук **1-10** методом дифузії речовини в агар, у табл. 2 — результати визначення мінімальної бактеріостатичної (МБСК) і бактерицидної (МБЦК) концентрацій, в табл. 3 — результати визначення мінімальних фунгістатичної (МФСК) та фунгіцидної (МФЦК) концентрацій.

Найбільша антибактеріальна активність була встановлена для солей **2a,b**, до яких чутливі майже

всі види досліджуваних бактерій, найінтенсивніша дія цих сполук спостерігалася на ріст культури *M. luteum* та дещо менший вплив на *S. aureus* (діаметр зон затримки росту ДЗЗР при концентрації 0,5% становив 20-24 мм), причому розведення до концентрації 0,1% доволі мало впливає на активність (ДЗЗР 14,7-15,0 мм). Заміна хлорид іонів на роданід приводить до зростання антибактеріальної активності. МБСК і МБЦК суттєво знижуються при дії на *S. aureus* сполуки **2b** і становлять 3,9 і 7,8 мг/л, тоді як показники для речовини **2a** вказують на дещо нижчу активність проти цього штаму стафілококів (31,2 і 62,5 мг/л). Проте заміна на тіосульфатіон (**2c**) веде до зниження активності навіть при концентрації 0,5% (ДЗЗР 11,7-13,0 мм). На протигрибкову активність вказана заміна аніона майже не впливає.

Для сполук **3a-d** зміна аніона проявляється схоже: найактивнішими виявилися роданід **3b** і натрію тіосульфат **3c**, які проявили біоцидний ефект проти всіх досліджуваних тест-культур бактерій і грибів, окрім грамнегативної *E. coli*, яка є резистентною до дії цих сполук у досліджуваних концентраціях. При випробуванні на *S. aureus* сполук **3a-d** МБСК і МБЦК становлять 3,9 і 7,8 мг/л відповідно, тобто ці показники не змінюються

Таблиця 1

Антимікробна активність протокарбенових та металокарбенових сполук 1-10 за методом дифузії речовини в агар (метод А)

Сполука	Концентрація, %	Діаметр зон затримки росту мікроорганізмів (ДЗЗР), мм				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteum</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>A. niger</i>
1a	0,5	10,0	0	0	10,0	0
	0,1	0	0	0	6,0	0
1b	0,5	0	0	0	9,4	0
	0,1	0	0	0	0	0
2a	0,5	15,4	21,4	23,0	18,0	9,7
	0,1	7,0	15,0	14,0	12,0	6,0
2b	0,5	16,0	20,0	24,0	18,0	9,4
	0,1	11,4	14,7	15,0	11,7	0
2c	0,5	6,4	13,0	11,7	11,7	6,0
	0,1	0	8,0	10,9	6,0	0
2d	0,5	0	12,4	0	11,0	0
	0,1	0	6,7	0	9,4	0
3a	0,5	0	0	14,4	0	10,0
	0,1	0	0	12,0	0	7,0
3b	0,5	0	14,7	12,7	14,0	9,0
	0,1	0	11,4	10,4	11,0	6,0
3c	0,5	0	12,0	14,4	14,0	11,7
	0,1	0	10,7	10,7	12,0	8,0
3d	0,5	0	0	12,7	19,4	0
	0,1	0	0	10,4	16,7	0
4a	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
4b	0,5	0	9,4	12,0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
5	0,5	7,4	0	13,0	8,0	0
	0,1	0	0	0	6,0	0
6	0,5	0	12,4	0	11,0	0
	0,1	0	6,7	0	9,4	0
7	0,5	0	6,0	6,4	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
8a	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
8b	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
9	0,5	0	15,0	11,0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
10	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0

при наявності різних аніонів у сполуках. Протигрибкова активність дещо більша для тіосульфату **3d** (МФсК і МФцК — 1,9 і 7,8 мг/л на *C. tenuis*).

Сольові сполуки краун-етерного ряду **1a,b** є слабко або помірно активними як з хлоридним,

так і тіосульфатним аніонами. Проте спостерігається вибіркова дія цих речовин на ріст грамнегативних та грампозитивних бактерій. Зокрема, при дії на *E. coli* активнішим є тіосульфат **1b** з показниками МБсК і МБцК 15,6 і 31,2 мг/л від-

Таблиця 2

Показники мінімальних бактериостатичної (МБсК) та бактерицидної (МБцК) концентрацій, отриманих методом серійних розведень (метод Б)

Сполука	Культури бактерій					
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>M. luteum</i>	
	МБсК, мг/л	МБцК, мг/л	МБсК, мг/л	МБцК, мг/л	МБсК, мг/л	МБцК, мг/л
1a	62,5	125	62,5	250	3,9	7,8
1b	15,6	31,2	62,5	250	31,2	250
2a	3,9	3,9	31,2	62,5	3,9	3,9
2b	1,9	3,9	3,9	7,8	1,9	3,9
2c	15,6	62,5	15,6	62,5	1,9	3,9
3a	31,2	125	3,9	7,8	7,8	15,6
3b	500	*	3,9	7,8	7,8	31,2
3c	500	*	3,9	7,8	7,8	31,2
3d	31,2	62,5	3,9	7,8	7,8	31,2
4a	+	+	62,5	125	125	*
4b	500	*	250	500	+	+
5	500	*	+	+	125	*
6	500	*	15,6	31,2	62,5	*
7	+	+	500	*	250	250
8a	+	+	500	*	500	500
8b	+	+	+	+	+	+
9	+	+	250	500	125	250
10	+	+	+	+	62,5	500

Тут і в табл. №3 "+" - в досліджуваних концентраціях біоцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізмів); "*" - в досліджуваних концентраціях показники біоцидного ефекту не встановлені.

повідно, тоді як штамп *M. luteum* є чутливішим до хлориду **1a** (3,9 і 7,8 мг/л). МФСК і МФцК для сполуки **1b** становлять 3,9 і 7,8 мг/л при тестуванні на дріжджоподібному грибі *S. tenuis*, при цьому спостерігається лише фунгістатична дія речовин **1a,b** щодо цільового гриба *A. niger* (МФСК — 15,6 і 31,2 мг/л відповідно).

Макроциклічні карбенокомплексні сполуки міді(І) **4-6** виявилися відносно малоактивними як на культурах бактерій, так і грибів. Найбільшу активність виявляє карбоциклічний варіант **6** (МФСК і МФцК, а також МФСК і МФцК 15,6 і 31,2 мг/л відповідно).

Серед комплексних сполук **7-9** найбільшу фунгіцидну активність виявляє сполука **9** (МФСК і МФцК становлять 3,9 і 7,8 мг/л на культурі *S. tenuis*), але загальний рівень антимікробної активності комплексів цієї групи низький.

Слід відзначити, що рівень антимікробної активності карбенових комплексів срібла [1] суттєво вищий, ніж карбенових комплексів міді(І), вивчених в даній роботі. Імовірно, введення атомів міді(І) мало перспективне для цілей досягнення антимікробної активності, хоча її рівень залежить від структури карбенового ліганду теж.

Барвник **10** є малоактивним як фунгібактерицидна сполука щодо дії на тест-культури бактерій і грибів, які використовувались у цій роботі.

Експериментальна частина

Розчинники висушені стандартними методами перед використанням. Спектри ¹H ЯМР знімали на спектрометрі Bruker Avance II (400 МГц) (Німеччина) при кімнатній температурі, внутрішні стандарти тетраметилсилан або гексаметилдисилоксан. ІЧ-спектри записували на спектрофотометрі Specord 75 IR (щілинна програма 4, швидкість реєстрації — 160 см⁻¹/хв). Хроматографування в тонкому шарі проводили на силікагелі "Silufol" (Чехія), елюент — суміш хлороформметанол, 10 : 1. Проявник — пари йоду. Молекулярні характеристики олігомерів і полімерів досліджено на комплекті обладнання для рідинної хроматографії фірми "Du Pont" (США), оснащеному комплектом біомодальних колонок Zorbax PSM-100 і 1000, кожна з яких може давати лінійну калібровку в діапазоні молекулярних мас 10²-10⁶. Хроматограф калібрували за полістирольним стандартом Du Pont PS з молекулярними масами M_w 1000, 50000 і M_w/M_n = 1,01. Вихід полімера з колонки фіксували ультрафіолетовим датчиком, настроєним на довжину хвилі 282 нм. Як елюент вибрано висушений і очищений за стандартними методами диметилформамід. Температура аналізів — 25°C.

Таблиця 3

Показники мінімальних фунгістатичної (МФск) та фунгіцидної (МФцК) концентрацій, отриманих методом серійних розведень (метод Б)

Сполука	Культури грибів			
	<i>S. tenuis</i>		<i>A. niger</i>	
	МФск, мг/л	МФцК, мг/л	МФск, мг/л	МФцК, мг/л
1a	15,6	62,5	15,6	*
1b	3,9	7,8	62,5	*
2a	1,9	3,9	3,9	62,5
2b	3,9	7,8	1,9	125
2c	1,9	3,9	1,9	125
3a	3,9	7,8	7,8	62,5
3b	7,8	15,6	31,2	62,5
3c	3,9	7,8	15,6	62,5
3d	1,9	7,8	15,6	31,2
4a	125	*	250	*
4b	250	*	500	*
5	500	*	500	*
6	15,6	31,2	62,5	500
7	500	*	500	*
8a	62,5	125	500	*
8b	31,2	62,5	+	+
9	3,9	7,8	+	+
10	250	*	125	*

1,1',3,3'-Біс-(1,12-додекаметилен)бісїмідазолію перхлорат (2a). Суміш 0,4 г (1,32 ммоль) 1,12-біс(1-їмідазоліл)додекану та 0,3 мл (1,46 ммоль) 1,12-дихлордодекану нагрівали при температурі 120°C протягом 4 год. До реакційної суміші додавали 2 мл диметилформаміду і продовжували нагрівання ще 6 год до завершення утворення біс-їмідазолієвої солі **2a**. Сіль у хлоридній формі виділяли висадженням надлишком етеру (50 мл). Олієподібний продукт переводили у перхлорат додаванням надлишку перхлорату натрію в водному розчині, промивали водою, сушили. Вихід чистої солі — 0,5 г (56%). Знайдено, %: С 53,9; Н 8,3; Cl 10,4; N 8,5. $C_{30}H_{54}Cl_2N_4O_8$. Розраховано, %: С 53,8; Н 8,1; Cl 10,6; N 8,4. Проміжний 1,12-біс(1-їмідазоліл)додекан. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 1,26 с (16H, CH_2C), 1,75 с (4H, CH_2CN), 3,91 с (4H, CH_2N), 6,89 с (2H, C^5HN), 7,04 с (2H, C^4HN), 7,45 с (2H, C^2HN). 1,1',3,3'-Біс-(1,12-додекаметилен)бісїмідазолію перхлорат **2a**. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 1,23 с (16H, CH_2C), 1,77 с (4H, CH_2CN), 4,15 с (4H, CH_2N), 7,76 с (4H, $C^{4,5}HN$), 9,14 с (2H, C^2HN).

1-Цетилпіридинію роданід (3b). До розчину 0,5 г (1,4 ммоль) 1-цетилпіридиній хлориду в 2,5 мл метанолу додавали при перемішуванні розчин 0,14 г (1,4 ммоль) роданіду калію в 2,5 мл метанолу, через 5 хв 5 мл ацетонітрилу. Утворений хло-

рид калію відфільтровували. Розчинник випарувували досуха. Залишок розтирали з 5 мл етеру. Вихід солі — 0,34 г (67%). Т.пл. — 68°C. Знайдено, %: С 73,0; Н 10,5; N 7,6; S 8,9. $C_{22}H_{38}N_2S$. Обчислено, %: С 72,9; Н 10,6; N 7,7; S 8,8. 1H ЯМР спектр солі **3b** близький до спектра хлориду **3a**. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 0,85 с (3H, CH_3C), 1,23 с (26H, CH_2C), 1,92 с (2H, CH_2C), 4,63 с (2H, CH_2N), 8,18 с (2H, $C^{3,5}H$), 8,63 с (1H, C^4H), 9,14 д (2H, $C^{2,6}HN$, J 4,0 Гц).

1-Цетилпіридинію натрій тіосульфат (3c). До розчину 0,6 г (1,77 ммоль) 1-цетилпіридинію хлориду в 2 мл диметилформаміду додавали 0,28 г (1,77 ммоль) тіосульфату натрію, перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хв. Утворений хлорид калію відфільтровували. До маточного розчину додавали 10 мл етеру і осад, що утворився, відфільтровували, промивали етером, сушили. Вихід солі **3c** — 0,36 г (46%). Т.пл. — 90°C. Знайдено, %: С 57,6; Н 8,5; N 3,3; Na 5,1; S 14,4. $C_{21}H_{38}NNaO_3S_2$. Обчислено, %: С 57,4; Н 8,7; N 3,2; Na 5,2; S 14,6. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 0,84 с (3H, CH_3C), 1,22 с (26H, CH_2C), 1,91 с (2H, CH_2C), 4,68 с (2H, CH_2N), 8,19 с ($C^{3,5}H$), 8,64 с (1H, C^4H), 9,28 с (2H, $C^{2,6}HN$).

1-Цетилпіридинію тіосульфат (3d). До розчину 0,4 г (1,18 ммоль) 1-цетилпіридинію хлориду в 2 мл диметилформаміду додавали 0,09 г (0,56 ммоль) тіосульфату натрію, перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хв. Утворений хлорид калію відфільтровували. До маточного розчину додавали 10 мл етеру і утворений осад відфільтровували, промивали етером, сушили. Вихід солі **3d** — 0,25 г (62%). Т.пл. — 112°C. Знайдено, %: С 70,2; Н 10,4; N 3,8; S 9,0. $C_{42}H_{76}N_2O_3S_2$. Обчислено, %: С 70,0; Н 10,6; N 3,9; S 8,9. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 0,85 с (3H, CH_3C), 1,23 с (26H, CH_2C), 1,92 с (2H, CH_2C), 4,63 с (2H, CH_2N), 8,18 с ($C^{3,5}H$), 8,62 с (1H, C^4H), 9,18 с (2H, $C^{2,6}HN$).

Полімер йодиду 1,1',3,3'-біс(3-окса-1,5-пентилен)бісбензімідазол-2-їліденміді(I) (4a). До розчину 2,0 г (0,0034 Моль) ацетилацетонату 1,1',3,3'-біс(3-окса-1,5-пентилен)бісбензімідазолію в 30 мл абсолютного ацетонітрилу при кімнатній температурі додавали крапельно розчин 0,66 г (0,0034 Моль) йодиду міді(I) в 15 мл абсолютного ацетонітрилу в атмосфері азоту при постійному перемішуванні. Продукт одразу ж починав кристалізуватися з розчину. Після додавання всієї кількості йодиду міді(I) суміш витримували протягом 40 хв при кімнатній температурі. Осад відфільтровували і промивали на фільтрі діетиловим етером в атмосфері азоту. Були отримані кристали зеленуватого кольору **4a**. Вихід — 1,6 г (82%). Т.пл. — 164-165°C. Знайдено, %: С 46,9; Н 4,3; N 9,4; I 22,4. $C_{22}H_{24}N_4O_2ICu$. Розраховано, %: С 46,5; Н 4,2; N 9,9; I 22,4. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 3,36 с (8H, CH_2O); 3,92 м, 4,6 м (8H, CH_2N); 6,60 м, 7,30 м, 7,95 м (8H, Ar). PX: M_w 43800; M_n 42400 (M_w/M_n = 1,04).

1,1',3,3'-Біс(3,6-діокса-1,8-октилен)бісбензімідазол-2-іліденміді(I) йодид (46). До розчину 0,2 г (0,30 ммоль) перхлоратної солі 1,1',3,3'-біс(3,6-діокса-1,8-октилен)бісбензімідазолію в 5 мл ацетонітрилу додавали 0,026 г (0,60 ммоль) 55%-ного гідриду натрію. Реакційну суміш нагрівали при 60°C протягом 20 хв. Кінець реакції контролювали за об'ємом водню, що виділився. Суспензію 0,057 г (0,30 ммоль) йодиду міді(I) в 6 мл ацетонітрилу додавали до реакційної суміші і кип'ятили протягом 30 хв. Олієподібний продукт відділяли від ацетонітрилу декантацією, промивали 2 рази по 10 мл ацетонітрилу; при охолодженні продукт кристалізувався. Розтирали з діетиловим етером. Продукт розчиняли в 10 мл диметилформаміду при кип'ятінні з активованим вугіллям та фільтрували. Продукт як світло-зелений порошок висаджували 100 мл води, фільтрували й сушили при 60°C. Вихід — 0,12 г (61%). Т.пл. — 175-178°C (розкл.). Знайдено, %: С 47,5; Н 5,0; Cu 9,6; I 19,2; N 8,7. $C_{26}H_{32}CuIN_4O_4$. Обчислено, %: С 47,7; Н 4,9; Cu 9,7; I 19,4; N 8,6. РХ: M_w 47100; M_n 35500 ($M_w/M_n = 1,32$). 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 3,40 м, 3,79 м, (16H, CH_2O), 4,59 м (8H, CH_2N), 6,98 м, 7,31 м, 7,62 м (8H, Ar).

1,1',3,3'-Біс(3-окса-1,5-пентилен)бісмідазол-2-іліденміді(I) йодид (5). До розчину 1 г (2,1 ммоль) перхлорату 1,1',3,3'-біс(3-окса-1,5-пентилен)бісмідазолію у 8 мл диметилсульфоксиду додавали при перемішуванні 0,18 г (4,2 ммоль) 55%-ного гідриду натрію. Після виділення теоретичної кількості водню додавали 0,4 г (2,1 ммоль) йодиду міді(I). Перемішували протягом 2 год. Розчин фільтрували і продукт висаджували у 30 мл води. Осад комплексу відфільтровували та промивали 15 мл води. Сушили і потім переосаджували водою з диметилформаміду. Вихід — 0,6 г (62%). Т.пл. — 180-182°C (розкл.). Знайдено, %: С 35,9; Н 4,4; I 27,0; N 12,1; Cu 13,4. $C_{14}H_{20}CuIN_4O_2$. Обчислено, %: С 36,0; Н 4,3; I 27,2; N 12,0; Cu 13,6. РХ: M_w 164800; M_n 100000 ($M_w/M_n = 1,65$). 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 3,45 м, 3,80 м, (16H, CH_2O), 4,41 м (8H, CH_2N), 6,60 м, 7,30 м, 7,76 м (4H, CHN).

1,1',3,3'-Біс(1,4-тетраметилен)бісмідазол-2-іліденміді(I) йодид (6).

А) 1,1',3,3'-Біс-(1,4-тетраметилен)бісмідазолію перхлорат. Суміш 13,0 г (0,068 ммоль) 1,4-біс-(1-імідазоліл)бутану і 7,9 мл (0,068 ммоль) 1-хлор-4-бромбутану і нагрівали протягом 3 год при 120°C. До реакційної суміші додавали 2 мл диметилформаміду і продовжували нагрівання ще 6 год до завершення утворення бісмідазолієвої солі **6**. Сіль у хлоридній формі виділяли висадженням надлишком етеру (50 мл). Олієподібний продукт переводили у перхлорат додаванням надлишку перхлорату натрію (9,8 г, 0,08 Моль) у воді, осад відфільтровували, сушили. Перекристалізовували з води. Вихід чистої солі — 22,3 г (49%). Т.пл. — 78-82°C (вода). Знайдено, %: С 38,0; Н 5,1; Cl 15,7; N 12,7. $C_{14}H_{22}Cl_2N_4O_8$. Розраховано, %: С 37,8; Н

5,0; Cl 15,9; N 12,7. Вихідний 1,4-біс-(1-імідазоліл)бутан. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 1,60 с (4H, CH_2C), 3,94 с (4H, CH_2N), 6,87 с (1H, C^5HN), 7,12 с (1H, C^4HN), 7,60 с (1H, C^2HN). 1,1',3,3'-Біс-(1,4-тетраметилен)бісмідазолію перхлорат. 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 1,81 с (8H, CH_2C), 4,19 с (8H, CH_2N), 7,75 с (4H, $C^{4,5}HN$), 9,09 с (2H, C^2HN).

Б) До розчину 0,2 г (0,45 ммоль) 1,1',3,3'-біс(1,4-тетраметилен)бісмідазолію перхлорату у 6 мл ацетонітрилу додавали 0,04 г (0,90 ммоль) 55%-ного гідриду натрію. Реакційну суміш нагрівали при 60°C протягом 20 хв. Завершення реакції контролювали за об'ємом водню, що виділився. Суспензію 0,086 г (0,45 ммоль) йодиду міді(I) в 8 мл ацетонітрилу додавали до реакційної суміші, перемішували при 60°C протягом 1 год. Осад продукту **6** сірого кольору відфільтровували і промивали 20 мл ацетонітрилу. Переосаджували діетиловим етером з диметилформаміду. Вихід — 0,16 г (82%). Т.пл. — 230-235°C (розкл.). Знайдено, %: С 38,9; Н 4,5; Cu 14,5; I 29,1; N 12,8. $C_{14}H_{20}CuIN_4$. Обчислено, %: С 38,7; Н 4,6; Cu 14,6; I 29,2; N 12,9. РХ: M_w 225000; M_n 76800 ($M_w/M_n = 2,93$). 1H ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.ч.: 1,49 м (4H, CH_2C), 1,75 м, (4H, CH_2C), 3,38 м, (4H, CH_2N), 4,18 м (4H, CH_2N), 6,47 м (2H, CHN), 7,35 м (1H, CHN), 7,78 с (1H, CHN).

(1,4-Дифеніл-3-феніламіно-1,2,4-тріазол-5-іліден)міді(I) хлорид (7). Суміш 0,4 г (1,28 ммоль) 1,4-дифеніл-1,2,4-тріазолій-3-феніліміду 7 та 0,13 г (1,28 ммоль) хлориду міді(I) ретельно розтирали, додавали 3 мл безводного ацетонітрилу. Осад, що утворився при охолодженні реакційної суміші (до 12°C), відфільтровували, промивали ацетонітрилом і діетиловим етером, сушили. Вихід — 0,53 г (96%). Т.пл. — 198-199°C (ацетонітрил). Знайдено, %: С 59,2; Н 4,7; Cl 8,4; Cu 14,6; N 13,3. $C_{21}H_{20}ClCuN_4$. Обчислено, %: С 59,0; Н 4,7; Cl 8,3; Cu 14,9; N 13,1. Спектр 1H ЯМР (в DMSO- d_6), δ , м.ч.: 6,99-8,07 м (15H, Ar), 8,96 с (1H, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (в DMSO- d_6), δ , м.ч.: 118,0, 118,4, 121,7, 122,2, 127,2, 128,3, 128,9, 129,5, 129,9 (Ar), 134,8, 139,4, 139,7 (*ipso-C*) (Ar), 150,6 (C^3), 176,3 (C^5).

Біс-(1,4-дифеніл-3-феніламіно-1,2,4-тріазол-5-іліден)міді(I) хлорид (8a). Суміш 0,4 г (1,28 ммоль) 1,4-дифеніл-1,2,4-тріазолій-3-феніліміду 7 та 0,064 г (0,64 ммоль) хлориду міді(I) ретельно розтирали, додавали 3 мл безводного ацетонітрилу, короткочасно нагрівали при 85°C до розчинення обох компонентів суміші. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали діетиловим етером, перекристалізовували з ацетонітрилу, сушили. Вихід — 0,41 г (88%). Т.пл. — 260-262°C (ацетонітрил). Знайдено, %: С 66,7; Н 4,4; Cl 4,9, Cu 8,7, N 15,4. $C_{40}H_{32}ClCuN_8$. Обчислено, %: С 66,4; Н 4,5; Cl 4,9, Cu 8,8, N 15,5. Спектр 1H ЯМР (в DMSO- d_6), δ , м.ч.: 6,95 м (3H), 7,33 м (19H), 7,55 м (6H), 8,07 с (2H) (Ar), 8,60 с, 8,74 с (2H, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (в DMSO- d_6), δ , м.ч.: 117,4, 117,6, 121,0, 121,4, 126,4, 126,8, 128,3, 128,5, 128,9 (Ar), 134,0,

134,3 (*ipso-C^{N1}*), 138,6 (*ipso-C^{Nim.}*), 139,1, 139,4 (*ipso-C^{N4}*) (Ar), 149,4, 149,6 (C³), 182,5 (C⁵).

Біс-(1,4-дифеніл-3-феніламіно-1,2,4-триазол-5-ліден)міді(I) йодид (8b). Отримано аналогічно сполуці **9a** з 0,5 г (1,6 ммоль) 1,4-дифеніл-1,2,4-триазолій-3-феніліміду **7**, 0,15 г (0,8 ммоль) йодиду міді(I) в 5 мл ацетонітрилу. Вихід комплексу — 0,61 г (93%). Т.пл. — 123-25°C (ацетонітрил). Знайдено, %: С 59,1; Н 4,1; І 15,4; Cu 7,7; N 13,9. C₄₀H₃₂CuIN₈. Обчислено, %: С 58,9; Н 4,0; І 15,6; Cu 7,8; N 13,8. Спектр ¹H ЯМР (в DMSO-d₆), δ, м.ч.: 5,88 с (2H, NH), 6,99 дд (2H, J 7,2 Гц), 7,14 дд (4H, J 7,2 Гц), 7,20 дд (2H, J 7,2 Гц), 7,27 дд (4H, J 8,0 Гц), 7,36 д (4H, J 8,0 Гц), 7,43 д (4H, J 7,2 Гц), 7,44 д (2H, J 7,2 Гц), 7,50 д (4H, J 7,2 Гц), 8,01 д (4H) (Ar). Спектр ¹³C ЯМР (CDCl₃), δ, м.ч.: 117,4, 122,3, 122,8, 127,3 (два сигн.), 128,8, 129,2, 130,2, 130,3 (Ar), 133,8 (*ipso-C^{N1}*), 138,1 (*ipso-C^{Nim.}*), 140,0 (*ipso-C^{N4}*), 149,2 (C³), 181,2 (C⁵).

Біс-(1,4-дифеніл-1,2,4-триазолій-3-фенілімід)нікелю хлорид (9). 3,0 г (9,6 ммоль) 1,4-дифеніл-1,2,4-триазолій-3-феніліміду **7** та 0,63 г (4,8 ммоль) хлориду нікелю ретельно розтирали, додавали 6 мл диметилформаміду, короткочасно нагрівали при 150°C до розчинення обох компонентів суміші. Продукт рясно випадає при охолодженні розчину. Осад відфільтровували, промивали діетиловим етером, перекристалізували з диметилформаміду, сушили. Т.пл. — 262-264°C (диметилформамід). Вихід — 2,9 г (80%). Знайдено, %: С 63,9; Н 4,2; N 14,9, Cl 9,5, Ni 7,8. C₄₀H₃₂Cl₂N₈Ni. Обчислено, %: С 63,7; Н 4,3; N 14,9, Cl 9,4, Ni 7,8.

2-Фенілазо-1,3-дифеніламідин (10). До 2 г (6,4 ммоль) 1,4-дифеніл-1,2,4-триазолій-3-феніліміду додавали 0,72 г (6,4 ммоль) *трет*-бутоксиду калію (95%), 3 мл ізопропілового спирту і 9 мл толуену (1:3) та перемішували суміш протягом 10 хв. Потім у реакційний розчин барботували кисень протягом 2,5 год, при цьому розчин набував яскраво-червоного кольору. Суміш розчинників відганяли і залишок розтирали з петролейним етером, осад відфільтровували і сушили. До осаду додавали толуен (3 мл), перемішували впродовж 1 год, неорганічну сіль відфільтровували. З маточника відганяли розчинник. Продукт кристалізувався, його розтирали з петролейним етером, відфільтровували, кілька разів промивали петролейним етером, сушили. Вихід — 1,31 г (77%). Т.пл. — 98-99°C. Знайдено, % 76,1; Н 5,3; N 18,6. C₁₉H₁₆N₄. Обчислено, % С 76,0; Н 5,4; N 18,6. Спектр ¹H ЯМР (в DMSO-d₆), δ, м.ч.: 6,87 д (2H, J 7,5 Гц), 6,97 т (1H, J 7,5 Гц), 7,07 т (1H, J 7,5 Гц), 7,22 т (2H, J 7,5 Гц), 7,37 т (2H, J 7,5 Гц), 7,61-7,65 м (3H), 7,75 д (2H, J 7,5 Гц), 7,91 д (2H, J 7,5 Гц) (Ar), 9,12 с (1H, NH). ІЧ-спектр (KBr), см⁻¹: 1525 с, 1592 с (N=N), 1640 с (C=N), 3360 ср (NH).

Антимікробну активність синтезованих сполук 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 МПА — для бактерій, сусло-агар СА — для грибів). Мікробне навантаження 10⁹ клітин (спор) на 1 мл. Тривалість інкубації бактерій — 24 год при температурі 35°C, грибів — 48-72 год при 28-30°C.

Ступінь активності досліджуваних сполук оцінювали за величиною 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. Повторюваність кожного досліду трикратна.

Визначення мінімальної бактеріостатичної концентрації (МБсК) або мінімальної фунгістатичної концентрації (МФсК) проводили методом серійних розведень. Досліджувану речовину розчиняли у ДМСО, досягаючи необхідної концентрації. Далі певний об'єм розчину речовини вносили у поживне середовище (м'ясо-пептонний бульон для бактерій та неохмелене пивне сусло для грибів). У поживне середовище інокулювали посівний матеріал бактерій і грибів (мікробне навантаження — 10⁶ клітин (спор) на 1 мл). Засіяні пробірки витримували в термостаті при відповідній температурі (37°C для бактерій; 30°C для грибів) протягом 24-72 год. Результати оцінювали за наявністю чи відсутністю росту мікроорганізмів (за ступенем мікробної мутності поживного середовища).

Визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБцК) або мінімальної фунгіцидної концентрації (МФцК) проводили також методом серійних розведень. Для цього здійснювали подальші дослідження: з пробірок, в яких розчини середовища виявилися візуально прозорими, відбирали по 0,02 мл середовища і наносили на стерильні МПА (для бактерій) або СА (для грибів) у стерильних чашках Петрі, які інкубували в термостаті. Оцінку результатів здійснювали для тест-бактерій через 24 год, а для тест-грибів — через 48-72 год. За відсутністю росту колоній мікроорганізмів на інкубованих чашках Петрі визначали МБцК чи МФцК досліджуваної речовини. Повторюваність досліду трикратна.

Висновки

Встановлено високу антимікробну активність макроциклічних солей **2a-c**, 1-цетилпіридинієвих солей **3a-d**, помірну або низьку активність краун-азолієвих солей **1a,b**, полімерного комплексу міді(I) **6**, низьку активність комплексів **4-5**, **7-9** і азоамідину **10**.

Література

1. Коротких М.І., Швайка О.П., Кисельов А.В. та ін. // Вісник Національного університету "Львівська політехніка". — 2008. — №622. — С. 3-6.
2. Melaiye A., Simons R.S., Milsted A. et al. // *J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 47. — P. 973-977.
3. Ray S., Mohan R., Singh J.K.J. et al. // *Amer. Chem. Soc.* — 2007. — Vol. 129, №48. — P. 15042-15053.
4. Hindi K.M., Siciliano T.J., Durmus S. et al. // *J. Med. Chem.* — 2008. — Vol. 51, №6. — P. 1577-1583.
5. Lin I.J.B., Vasam C.S. // *Can. J. Chem.* — 2005. — Vol. 83, №6. — P. 812-825.
6. Ray L., Katiyar V., Raihan M.J. et al. // *Eur. J. Inorg. Chem.* — 2006. — №18. — P. 3724-3730.
7. Kascatan N.A., Panzner M.J., Tessier C.A. et al. // *Coord. Chem. Rev.* — 2007. — Vol. 251, №5-6. — P. 884-895.
8. Коротких М.І., Марічев К.О., Кисельов А.В. та ін. // *Ukr. bioorg. acta.* — 2008. — Т. 6, №2. — С. 22-27.

Надійшла до редакції 22.12.2010 р.