

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ

Кафедра органічної та фармацевтичної хімії

На правах рукопису

Розум Дмитро Володимирович

Скринінг протимікробної активності серед бромідів фенацил(хлорфенацил)-6-гідрокси(бензо)імідазо[2,1-*b*][1,3]-тіазинію

Спеціальність: 226 «Фармація, промислова фармація»

Освітньо-професійна програма «Фармація»

Робота на здобуття освітнього ступеня «Магістр»

Науковий керівник:

ГОЛОТА СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ,

кандидат фармацевтичних наук,

доцент

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ

Протокол № _____

Засідання кафедри органічної

та фармацевтичної хімії

від _____ 2024 р.

Завідувач кафедри _____ проф. Сливка Н.Ю.

ЛУЦЬК – 2024

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

DMF/ДМФА – диметилформамід

Ph – феніл

Et – етил

Me - метил

Ar – арил

Спектр ЯМР (^1H) – спектр ядерного магнітного резонансу на ядрах

^1H Спектр ЯМР (^{13}C) – спектр ядерного магнітного резонансу на

ядрах ^{13}C ДМСО- d_6 – дейтерований диметилсульфоксид

CDCl_3 – дейтерований хлороформ

δ – хімічний зсув

м.ч. – мільйонна частка

J – константа спінової взаємодії

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

ν – валентні коливання

т.топл. – температура топлення

ВСТУП

Актуальність теми. Тенденції сучасного тонкого органічного синтезу тісно пов'язані із реалізацією підходів до створення нових гетероциклічних структур, які завідома містять декілька біофорних фрагментів. Ефективним варіантом вирішення такої проблеми є конструювання гібридних молекул за рахунок ефективного поєднання біоперспективних молекулярних платформ.

У XXI столітті підвищений інтерес науковців зосередився на способах синтезу та біологічній активності похідних імідазо[2,1-*b*]тіазинів. Оскільки, висока різноманітна біологічна активність конденсованих сполук з азоло-азиновим конденсованим циклом [1-9] та їх поширеність в живих організмах і природних речовинах є вагомим аргументом використання даної платформи для конструювання на їх основі нових молекул із вираженим фармакологічним профілем малих молекул з широким спектром активності.

Застосування сучасних методологій і стратегій розробки лікарських засобів дозволило виділити серед згаданих гетероциклів, ті що містять імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазиновий каркас і є потенційними агентами з трипаноцидною [10, 11], протитуберкульозною [12], антиоксидантною [13] противірусною [14], протипухлинною [15], протигрибковою [16] та протипаразитарною [17] дією.

Таким чином, розробка методів синтезу нових функціоналізованих похідних імідазо[2,1-*b*]тіазинів та скринінг їх біологічної активності є актуальним завданням.

Мета і завдання даної роботи: синтез нових функціоналізованих четвертинних солей з (бензо)імідазо[2,1-*b*]-тіазиновим скаффолдом та дослідження їх протимікробної дії.

Об'єкт дослідження – функціоналізовані похідні імідазо[2,1-*b*]тіазину: 1-фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію, 1-фенацил-2,3-дифеніл-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію, 1-фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію броміди та 1-(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію, 1-(4-хлорфенацил)-2,3-дифеніл-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіази-

нію, 1-(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію броміди.

Предмет дослідження – метод синтезу четвертинних солей, які є похідними (бенз)імідазо[2,1-*b*]тіазину; протимікробна активність *in vivo* з використанням різного типу грампозитивних, грамнегативних бактерій та грибів.

Елементи наукової новизни – вперше синтезовано четвертинні солі (бенз)імідазо[2,1-*b*]тіазину відповідні 1-фенацил(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію броміди, які було досліджено на протимікробну активність.

Практичне значення роботи: вперше одержані сполуки проявляють помірну протимікробну активність, МБСК та МФСК для яких коливається в діапазоні 62.5-125 мкг/мл. Встановлено, що синтезовані солі проявляють інгібуючу дію до штамів бактерій *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 та грибів *C. albicans* ATCC 885/653 за концентрації 62.5 мкг/мл та пригнічують ріст таких бактерій як *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 10702 та гриби *A. niger* К 9 за концентрації 125 мкг/мл. Дані сполуки є перспективними для подальшого вивчення їхніх біологічних активностей.

Структура роботи: наукова робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел, додатку, містить 46 сторінок.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ ІМІДАЗОЛЬНОГО ТИПУ

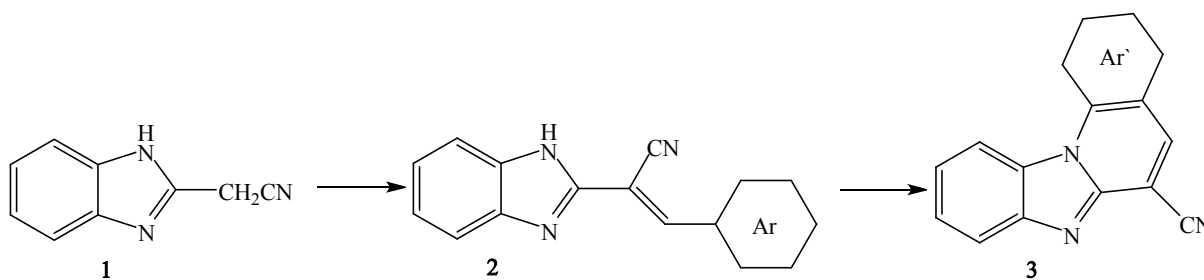
1.1. Синтез та властивості бензімідазолів а також їх похідних

Через нагальну потребу в бензімідазолах в медичній сфері, було розроблені ефективні схеми синтезу даних сполук, а також їх похідних.

У статті [12] описано синтез та оцінка біологічної активності нових похідних бензімідазолу, що містять 2,3-дизаміщені акрилонітрили, бензімідазо[1,2-*a*]хінолін-6-карбонітрили та гетероароматичні флуорени.

2-(бензімідазол-2-іл)метилціанід у реакції з арилальдегідами дають 2-бензімідазоліл, заміщені акрилонітрили, які при подальшій реакції з йодом і киснем в середовищі етанолу дають гетероароматичні флуорени (схема 1.1.1):

Схема 1.1.1



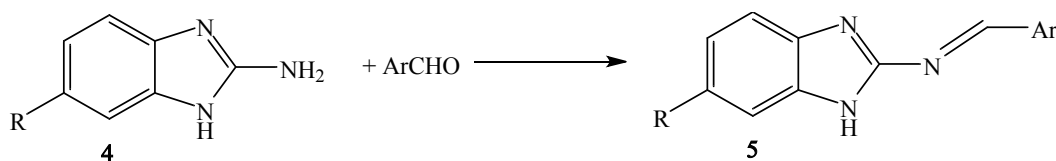
Сполука	Ar	Ar'
1		-
2	-	

Усі похідні були перевірені на їх антипроліферативну здатність п'яти ліній пухлинних клітин: карцинома шийки матки (HeLa), карцинома підшлункової залози (MiaPaCa-2), карцинома товстої кишки (SW 620), карцинома молочної залози (MCF-7) і карцинома легенів (H460). Для порівняння в якості стандартних протипухлинних препаратів використовували

цисплатин і доксорубіцин. Майже всі сполуки показали виражену антипроліферативну активність на всіх лініях пухлинних клітин.

Також була синтезована серія нових основ Шиффа бензімідазолу шляхом взаємодії ароматичних альдегідів з 6-заміщеним 1*H*-бензо[*d*]імідазол-2-аміном (Схема 1.1.2):

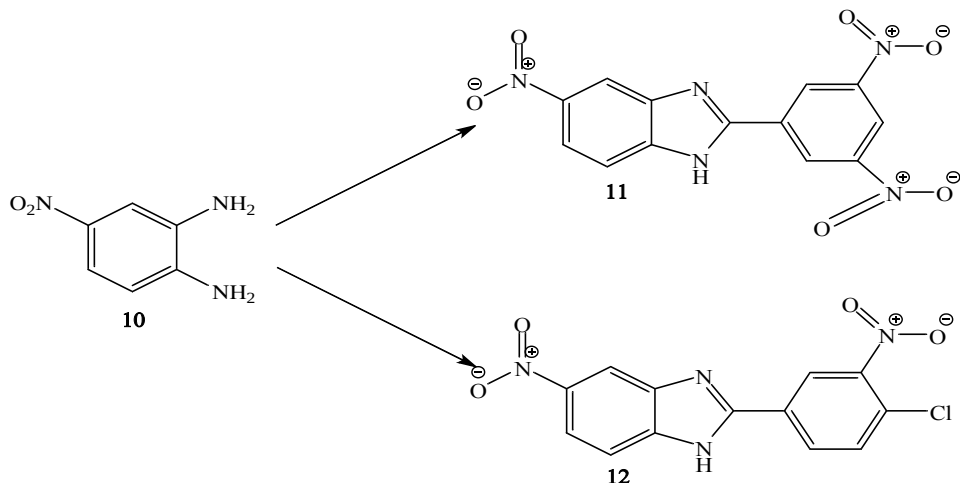
Схема 1.1.2



Похідні тіосемикарбазиду бензімідазолу показали високу дію проти клітин феохромоцитоми мозкової речовини надниркових залоз щура.

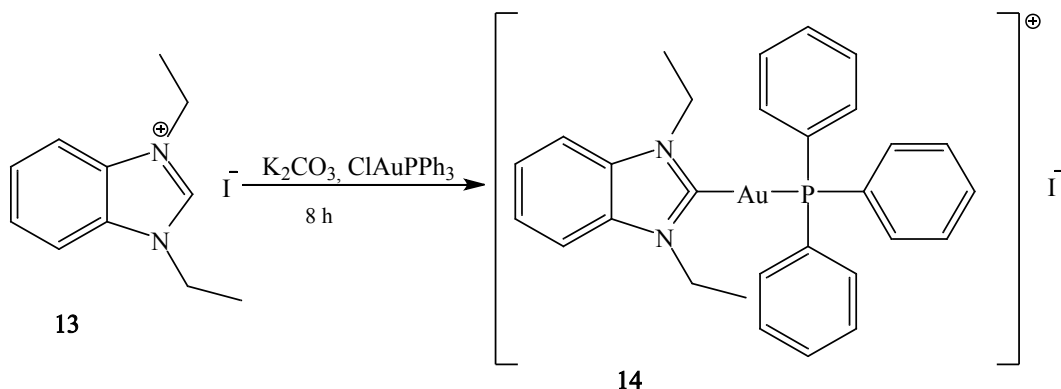
У статті [15] розглянуто синтез серії 2-заміщених-5(6)-нітро-1*H*-бензімідазолів з 4-нітробензол-1,2-діаміну (Схема 1.1.3). Кінцеві сполуки перевіряли на їх антипроліферативний потенціал за допомогою МТТ аналізу проти семи неопластичних клітинних ліній людини: A549 (карцинома легенів), K562 (кістковий мозок, хронічний мієлолейкоз), KB (контамінант HeLa), HL60 (периферична кров, гострий промієлоцитарний лейкоз), MDA231 (молочна залоза, аденокарцинома), MCF-7 (молочна залоза, аденокарцинома) та HT29 (аденокарцинома товстої кишки). Карбоплатин використовувався як стандарт. Була виявлена як протипухлинна активність деяких похідних, так і підтверджена селективність деяких сполук, що є гарною базою для подальшого вивчення.

Схема 1.1.3



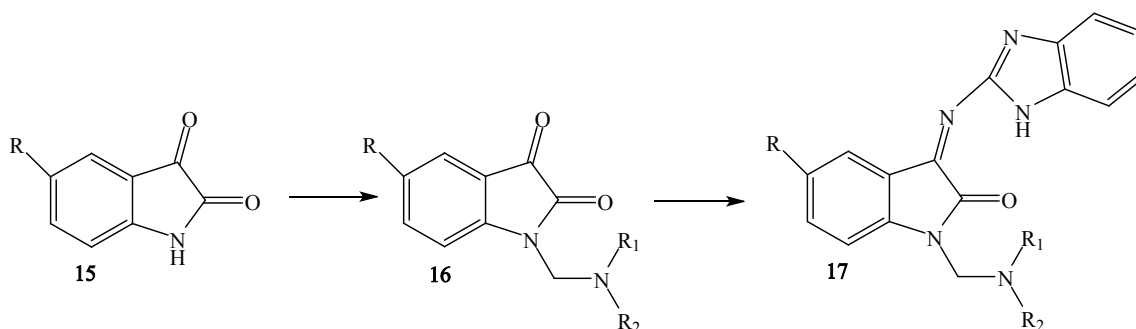
Описано синтез [16] комплексних сполук Ауруму (I), що мають 1,3-діетилбензімідазол-2-іліден N-гетероциклічний карбеновий ліганд типу NHC-Au-L (L = -Cl, -NHC або -PPh₃) (Схема 1.1.4).

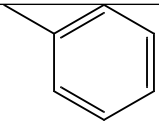
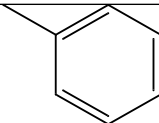
Схема 1.1.4



Синтезовано серію [17] похідних ізатину, що містить тіазолін і бензімідазол. Реакція відбувається шляхом конденсації основи Манніха ізатину з 2-амінотіазоліном або 2-амінобензімідазол (Схема 1.1.5). Протиракова активність *in vitro* вибраних синтезованих сполук оцінювали на MCF-7 (рак молочної залози людини) клітинній лінії. Речовини виявили потенційний вплив на дані клітини.

Схема 1.1.5



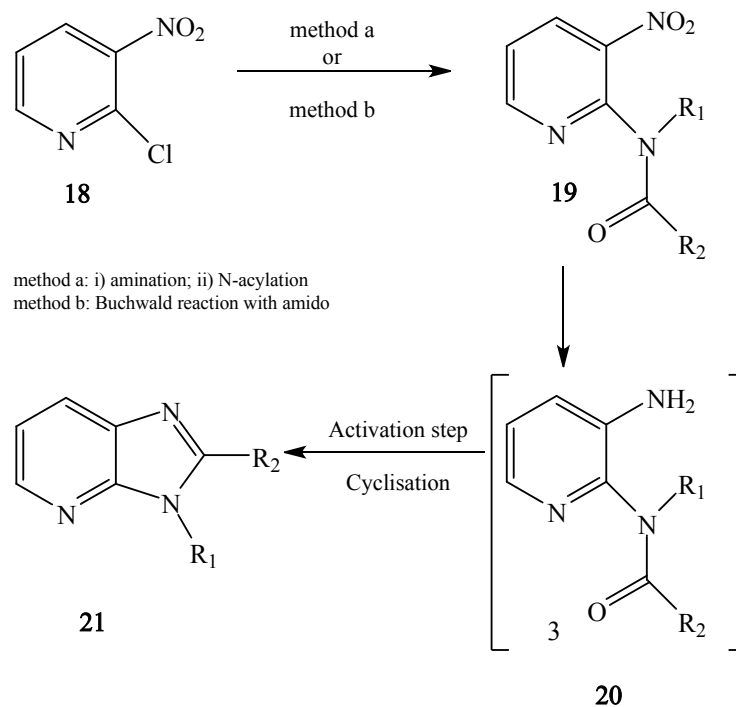
R	R ₁	R ₂
-H		

Нуклеотиди бензімідазолу є важливим фармакофором у медичній хімії, який також можна одержувати з природних сполук, наприклад, ціанокобаламін. Структурні аналоги бензімідазолу нуклеотидів, що зустрічаються у природі, дають можливість орієнтуватися на біополімери живої природи, що мають безперечно величезне значення в біологічних системах [18, 19]. Бензімідазоли мають широкий спектр біологічного та фармакомедичного застосування, в тому числі як антагоністи лейтинізуючого гормону, виявляють протипаразитарну [20], протитуберкульозну, протимікробну [21], впливаючу на ЦНС [22] та протипухлинну дію [23].

1.2. Синтез поліцикліків, що містять імідазо[4,5-*b*]піридиновий цикл

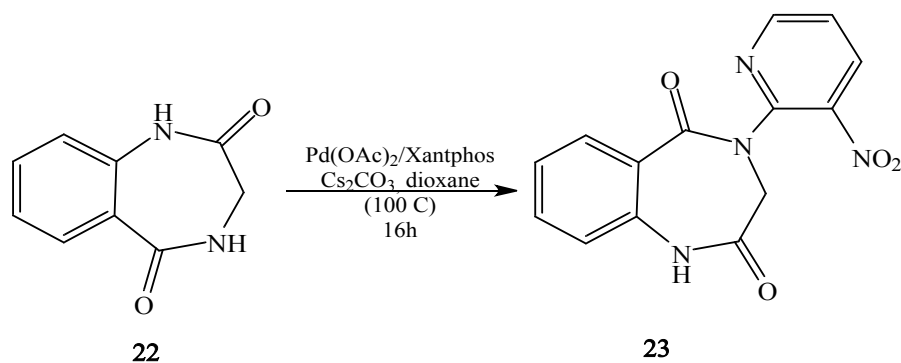
Заміщені бензімідазоли та структурно споріднені сполуки становлять фармакологічний та терапевтичний інтерес [24]. У деяких випадках біоізостерична заміна в каркасі бензімідазолу що призводить до імідазо-[4,5-*b*]піридинів, призвело до покращення властивостей у порівнянні з відповідною вихідною сполукою[25]. Їх одержання в результаті реакції первинного аміну з 2-хлор-3-нітропіридином **18**. Отримано 2-амінопіридин проміжний продукт N-ацилат (метод **a**). Нарешті, N-ацил 2-амінопіридин **19** був відновлений і підданий циклізації після стадії активації за участю каталізатора Brönsted [24, 26] або Lewis acid[27] (схема 1.2.1).

Схема 1.2.1



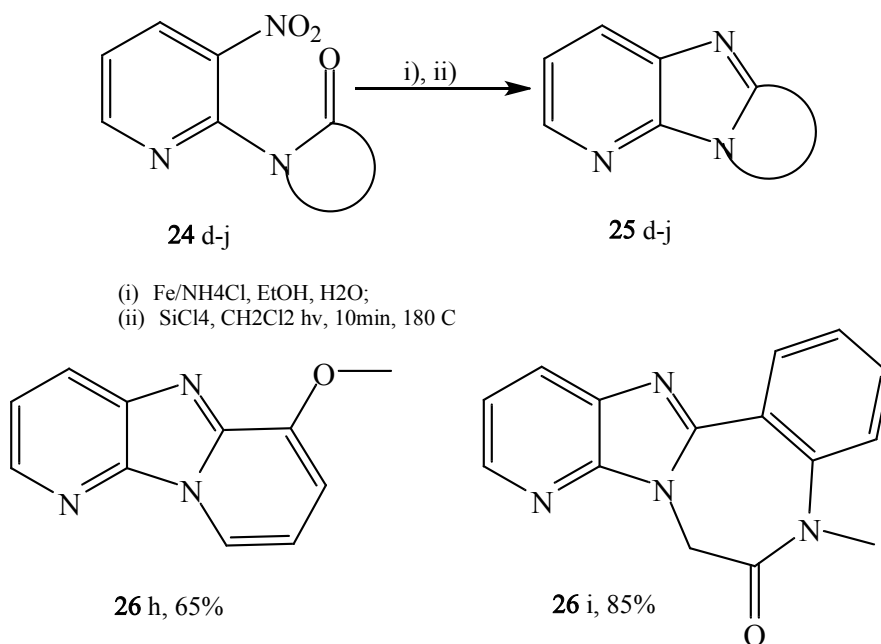
Реакція Бухвальда показала цікаву регіоселективність, як проілюстровано реакцією з вільними NH-діамідними гетероциклами (схема 1.2.2). При взаємодії з 1,1,4-бензодіазепін-2,5-діоном **22** у реакційній суміші утворювався один регіоізомер (сполука **23**). Цей результат добре узгоджується з відсутністю реакційної здатності, що спостерігається з іншим циклічним N-феніламідом [28].

Схема 1.2.2



Нітропроміжні продукти **19** кількісно відновили за допомогою заліза в присутності хлориду амонію в суміші етанолу та води. Отриманий неочищений амінопроміжний продукт був додатково підданий циклізації з використанням SiCl_4 як ефективного, недорогого каталізатора Льюїса [27]. Однак реакція потребувала тривалого часу реакції (1–4 дні), щоб завершити циклізацію. Цю реакцію також можна було провести через 10 хв після впливу мікрохвильового опромінення при 180°C . Загальний вихід (відновлення та циклізація) був задовільним або хорошим (55–90 %) [28, 29].

Нарешті, залежно від гетероциклу, що містить амід (моно або біциклічна сполука), можна було легко отримати різні поліциклічні сполуки, конденсовані імідазопіридином, в хорошому виході продукту. Як типові приклади, наведені на схемі 1.3.3, одержання трициклічного імідазопіридину **26h** представляло собою цікавий підхід, нещодавно описаної реакції Бухвальда 2-хлор-3-йодопіридину (замість **18** у нашому методі) та 2-амінопіридин, що призводить до загальної системи дипіридоімідазолу (сполука **26h**). Крім того, в іншому прикладі, що включає NH-амідний біцикл, отримана тетрациклічна сполука **26i** може бути отримана з хорошим загальним виходом. Подібну стратегію можна розповсюдити на більші поліциклічні сполуки, що мають спільне конденсоване імідазольне кільце на стику обох реагентів [28].



1.3. Синтез похідних 2-амінобензімідазолів

2-Амінобензімідазоли відіграють важливу роль у біологічній та фармацевтичній сферах завдяки їх значній та потенційній біологічній активності. Основну структуру 2-амінобензоімідазолів можна знайти в комерційних препаратах. Хіральні 2-амінобензоімідазоли можуть служити ефективним органокаталізатором в асиметричній хімії, особливо для енантіоселективного додавання Майкла. Таким чином, 2-амінобензімідазол був цільовою молекулою медичної хімії та органічної хімії. Звичайні методи одержання 2-амінобензімідазолів передбачали реакцію нуклеофільного ароматичного заміщення (S_NAr) 2-галогенбензімідазолу. Хоча це перетворення широко використовувалося при побудові 2-амінобензімідазолу, все ще залишалися деякі недоліки, такі як жорсткі умови реакції та низький вихід [30].

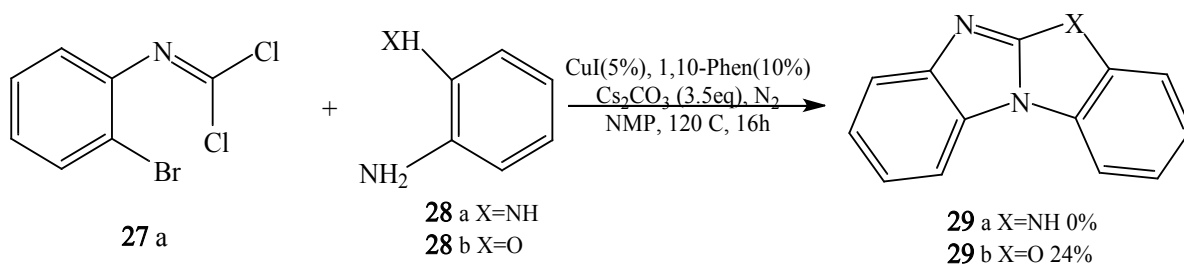
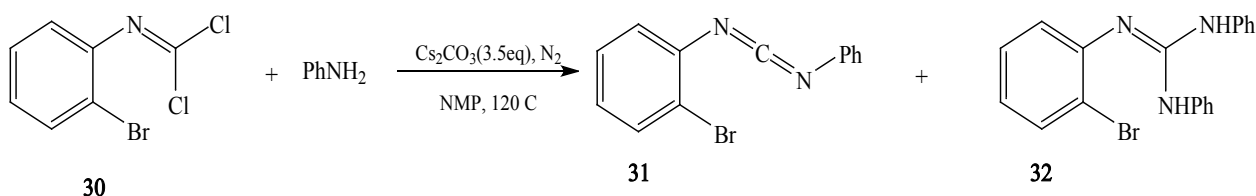


Схема 1.3.2



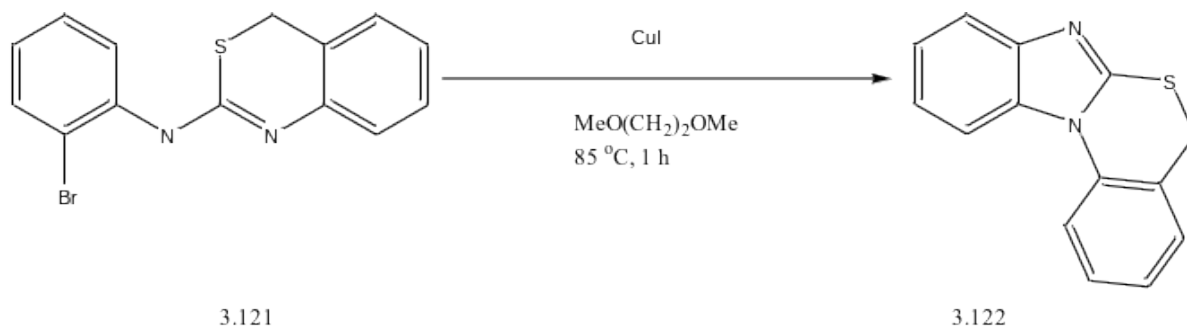
Коли в реакції замість о-діамінобензолу застосовували о-гідроксианілін **28b**, можна було отримати конденсовану кільцеву сполуку **29b** з виходом 24 % [31] (схема 1.3.1), **1a** нагрівали з 2 екв. аніліну в присутності 3,5 екв. Cs₂CO₃ при 120 С в NMP. Через 1 годину ТШХ показала споживання **27a**, потім основний продукт був ретельно виділений і ідентифікований як 2-бромфенілкарбодіміди **31** (76 %) у супроводі невеликої кількості 2-бромфенілгуанідинів **32** (12 %). Якщо час реакції продовжити до 3 год, вихід **31** зменшувався до 54 %, а вихід **32** збільшився до 32 % (схема 1.3.2) [30].

На основі експериментальних результатів запропонований механізм реакції наведеної на схемі 1.3.3. Реакція N-(2-галофеніл)карбонімідоїлдигалогенідів **27** та аміну утворила 2-галогенарилкарбодіміди **34**, які піддалися надлишку аміну з утворенням 2-галоарилгуанідин **35** [32, 33, 34].

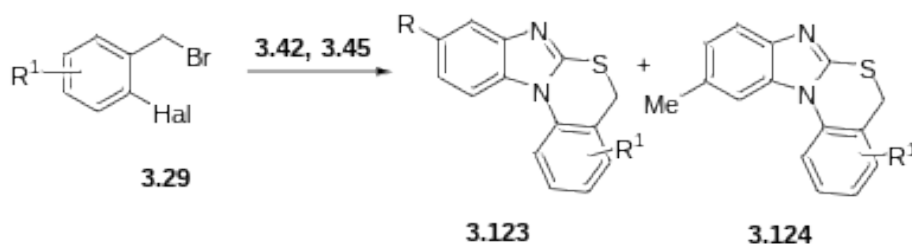
Схема 1.3.3

3.1.3. Методи синтезу поліциклічних бенз[4,5]імідазо[2,1-*b*]тіазинів

2-Аміно-2-тіазоліни відрізняються значним синтетичним потенціалом як будівельні блоки для конструювання конденсованих гетероциклів. Так, при каталізі CuI 2-бромфенільне похідне **3.121** легко зазнає внутрішньомолекулярного C-N-приєднання і з високим виходом дає 5*H*-бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазин **3.122** [Synlett, 2017, 28, 20, 2845-2850].



Ефективний однореакторний синтез, що каталізується системою CuI-L-пролін, був розроблений для отримання бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазинів. При цьому реакція бензімідазол-2-тіону **3.42** з бромбензилбромідами **3.29** призводить до утворення тільки похідних **3.123**, проте у випадку 5-метилбензімідазол-2-тіону **3.45** дає суміш ізомерних продуктів **3.123** та **3.124** [Tetrahedron Lett, 2012, 53, 4, 442-445]. Бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазиновий цикл одержували реакцію між *o*-галогенбензилбромідами **3.29** і тіонами **3.42**, **3.45** в системі KOH/CuI/TBAB/DMF [Heterocyclic Lett, 2012, 2, 182-191]. А в роботі [Tetrahedron, 2017, 73, 15, 2139-2150] показано отримання 5-*H*-бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазину **3.123** при проведенні процесу в умовах мікрохвильового опромінення. Описаний і некаталітичний варіант синтезу похідних **3.123** із бензімідазол-2-тіонів **3.42**, **3.45** та *ortho*-галогенбензилгалогенідів **3.29**, мотивований лише слабкою основою [Fresenius Environmental Bulletin, 2013, 22, 12c, 3857-3859, Monatshefte fuer Chemie, 2014, 145, 12, 1925-1931].

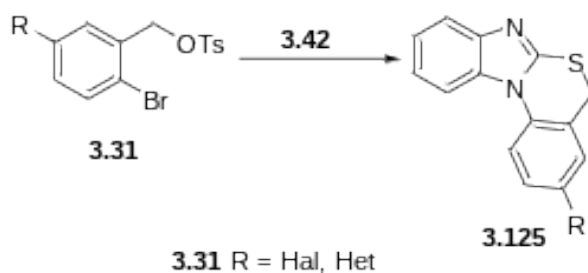


3.29 R¹ = H, Hal, Alk, AlkO; Hal = Br, Cl, I; **3.42** R = H;

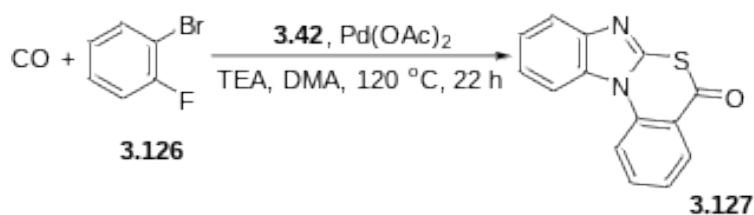
3.45 R = Hal, Alk, AlkO, NO₂

Для отримання бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазинів **3.125** як субстрати використовували 2-галогенбензилтозилати **3.31** в каталізованих CuI процесах тандемного міжмолекулярного заміщення/внутрішньомолекулярного

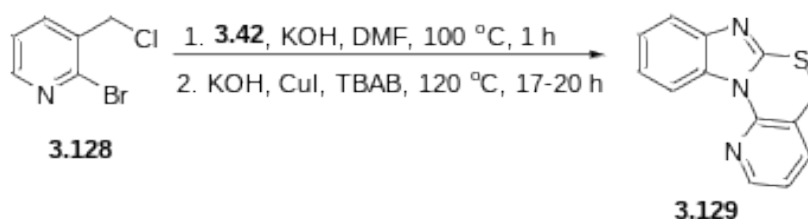
арилування з бензімідазол-2-тіону **3.42** [Tetrahedron, 2014, 70, 35, 5682-5695, Frontiers in Chemistry, 2020, 8, 61].



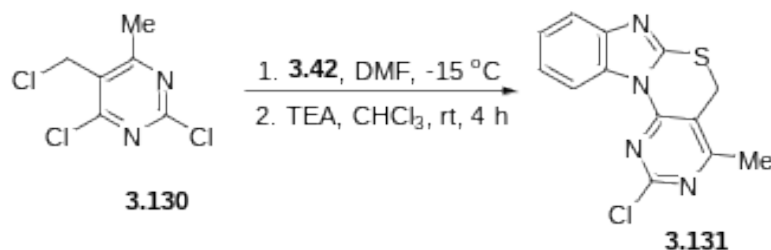
5H-бензо[*d*]бензімідазо[2,1-*b*]тіазин-5-он **3.127** одержували каталізованим паладієм карбонілюючим приєднанням 1-бром-2-фторбензолу **3.126** до бензімідазол-2-тіону **3.42** [Chem - A Eur J, 2014, 20, 49, 16107-16110].



Для побудови *5H*-бензімідазо[2,1-*b*]піридо[2,3-*d*]тіазину **3.129** виявилася зручною реакція бензімідазол-2-тіону **3.42** з 2-бром-3-хлорметилпіридином **3.128** у системі KOH/CuI/ТВАВ/DMF [Heterocyclic Lett, 2012, 2, 2, 182-191].

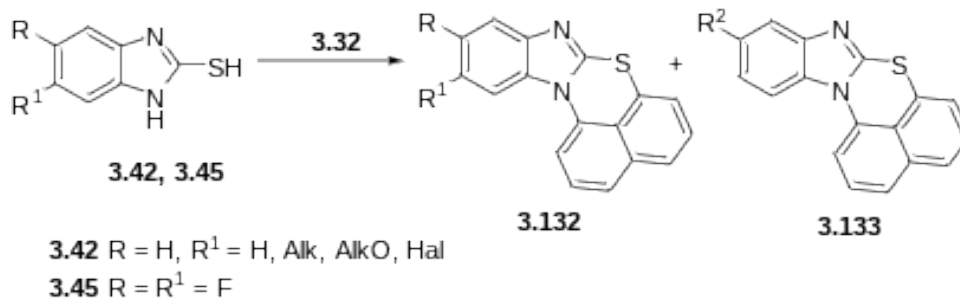


5H-Бензімідазо[2,1-*b*]піримідо[4,5-*d*]тіазин **3.131** синтезований циклоконденсацією бензімідазол-2-тіону **3.42** з 2,4-дихлор-5-(хлорметил)-6-метилпіримідином **3.130** [J Chem Research, 2017, 41, 12, 730-733].

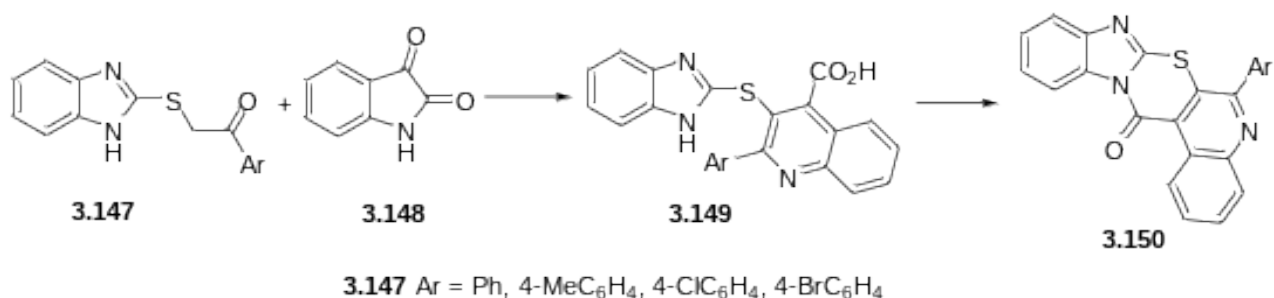


В умовах мідь-каталізованого крос-сполучення Ульмана було вдало синтезовано бензімідазо[2,1-*b*]нафто[1,8-*de*][1,3]тіазини, при чому взаємодією бензімідазол-2-тіону **3.42** або його 5,6-дифторзамещеного аналога **3.45** з 1,8-

дийодонафталіном **3.32** отримані тільки похідні **3.132**, в той час як з 5-заміщеними аналогами **3.42** – нероздільні суміші **3.132** та **3.133** [Synthetic Commun, 2019, 49, 8, 1076-1082].



Авторами [Zeitschrift fuer Naturforschung, B, A J Chem Sciences, 2009, 64, 7, 826-830] описаний двостадійний синтез 14*H*-бенз[4',5']імідазо[2',1':2,3][1,3]тіазино[6,5-*c*]хінолін-14-онів **3.150**. Взаємодією 2-(1*H*-бензімідазол-2-ілтіо)-1-арилетанонів **3.147** з ізатином **3.148** в умовах мікрохвильового опромінення або звичайного нагрівання отримані хінолін-4-карбонові кислоти **3.149**, циклізація яких призводить до продуктів **3.150**.



Висновки до розділу 1: Вивчено та проаналізовано літературу, що стосується методів одержання гетероциклічних систем з імідазольним скафолтом та їх анельованих похідних.

РОЗДІЛ 2

Синтез та модифікація нових функціонально заміщених імідазо[2,3-*b*]тіазинів та їх бензоаналогів (обговорення результатів)

Тенденції останнього часу пов'язані із реалізацією підходів до створення нових гетероциклічних структур, які завідома містять декілька біофорних фрагментів. Ефективним варіантом вирішення такої проблеми є конструювання гібридних молекул за рахунок ефективного поєднання біоперспективних молекулярних платформ. Чільне місце серед останніх займають азоло-азинові системи, до яких відносяться і функціональні похідні імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазину, привабливі для конструювання гібридних структур.

Аналіз літературних джерел наглядно показує, що методи одержання частково гідрованих імідазо[2,1-*b*]тіазинів у більшості випадків обмежені їх нефункціоналізованими у тіазиновому ядрі сполуками. Недостатньо вивченими є хімічні перетворення і біологічна активність основних представників даного типу сполук. Тому важливим етапом їх системних досліджень є синтез імідазо[2,1-*b*]тіазинових структур із різноплановими функціональними групами, зручними для їх подальшої модифікації, в тому числі і фармакоформними угрупованнями.

З іншого боку не менш цікавими з позицій пошуку біологічно активних молекул є бензенове ядро, яке входить до складу великого масиву сполук із різноплановою біологічною активністю, зокрема протимікробною [33] та гербіцидною [34]. Так, *N*-бензиламід ізоксазолу показав 100 % інгібування по відношенню до бур'янів *Portulaca oleracea* і *Abutilon theophrasti* при концентрації 10мг/л [35], а піразолілфенілкетон з хлорофеноксильним фрагментом продемонстрував чудову гербіцидну активність проти *Chenopodium serotinum*, *Stellaria media* and *Brassica juncea* [36].

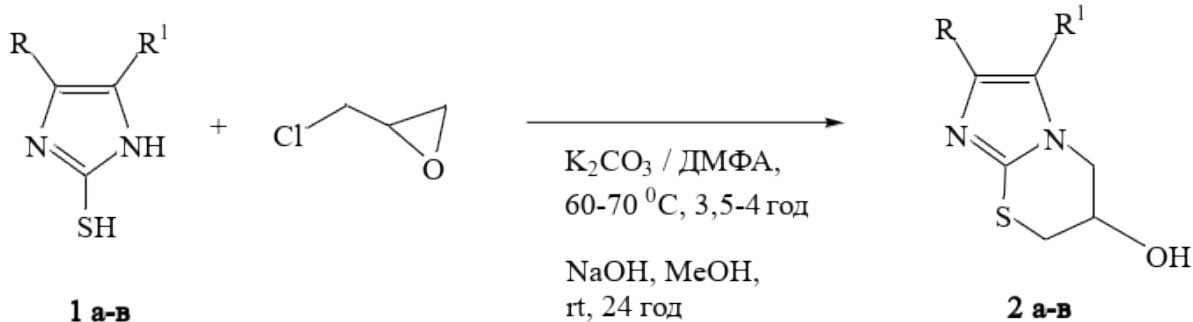
Зважаючи на це, нам видавалось доцільним зосередити свої зусилля на деяких зручних варіантах добування та синтетичних трансформаціях функціоналізованих похідних імідазо[2,1-*b*]тіазинових систем. Зокрема, поєднання таких фармакофорів як імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазиновий каркас та

феноцильний фрагмент можна розглядати як ефективний варіант конструювання нових гібридних структур із потенційним біологічним ефектом. Враховуючи наведені вище аргументи, метою цієї роботи було створити нові функціоналізовані четвертинні солі з (бензо)імідазо[2,1-*b*]тіазиновим скаффолдом та дослідити їх на антимікробну активність.

2.1. Синтез 3-гідрокси(бензо)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинів

При дослідженні взаємодії 2-тіоімідазолів **1a,b** та їх бензанельованих похідних **1в** із 2-(хлорометил)оксираном виявилось, що значний вплив на регіохімію реакції чинить не тільки присутність сильної основи, але і структура діючого реагенту. Використання NaOH як основи в розчині MeOH і перемішування реакційних сумішей 2-тіоімідазолів **1a,b** із 2-(хлорометил)оксираном при кімнатній температурі протягом 24 год приводить до утворення не продуктів алкілювання, а продуктів циклізації – (2,3-дифеніл)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-олів **2a,b** із виходами 89-90 %. Утворення аналогічних продуктів у випадку 2-тіобензімідазолу базувалося на використанні модифікованих методів одержання, раніше описаних в роботах [31, 37]. Нами показано, що препаративно ефективнішими умовами реакції 2-тіобензімідазолу **1в** із 2-(хлорометил)оксираном є використання K₂CO₃ як основи у розчині DMF. Така взаємодія проходить при нагріванні до температури 60-70 °C та перемішуванні протягом 3 год і приводить до отримання відповідного 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазину **2в** з виходом 93%.

Схема 2.1.1

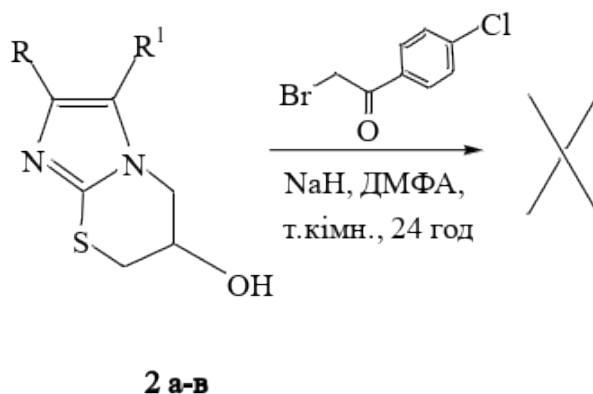


1, 2: R = R¹ = H (а); R = R¹ = Ph (б); RR¹ = (CH=CH)₂ (в)

2.2. Одержання солеподібних замішених 3-гідрокси(бенз)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинів

Одним із потужних інструментів структурної модифікації гетероциклічних сполук є реакції нуклеофільного заміщення у базових скафолдах, яка дозволяє урізноманітнити будову гетероциклів. Таким чином одержані сполуки **2a-в** були введені в реакцію заміщення з галогеновмісними ацетофенонами. Реакцію проводили при кімнатній температурі в умовах перемішування в присутності NaN як основи. Проте виділити цілісний продукт заміщення нам не вдалося, так як утворюються продукти деструкції тіазинового ядра.

Схема 2.2.1.

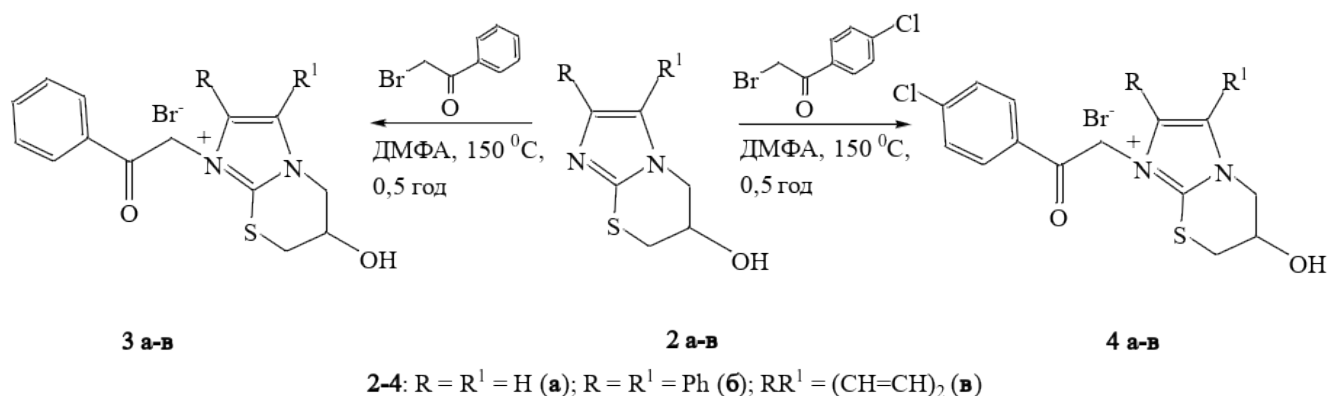


2: R = R¹ = H (а); R = R¹ = Ph (б); RR¹ = (CH=CH)₂ (в)

Нами встановлено, що заємодія (2,3-дифеніл)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-олів **2a,б** та 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазину **2в** з

бромпохідними ацетофенону та *p*-хлорацетофенону без присутності основи NaH призводить до утворення четвертинних імідазолієвих солей **3а-в** та **4а-в**.

Схема 2.2.2.



Будову синтезованих сполук підтверджено результатами вимірів ¹H ЯМР, ¹³C ЯМР та хроматомас-спектрометрії, які наведені в експериментальній частині. Зокрема, для імідазотіазинових похідних **3а**, **4а** показовим є поява сигналів протонів бензенового циклу, які ідентифікуються в інтервалі 7.80 - 8.12 м.ч., а для дифенільних заміщених **3а**, **4а** та їх бензоаналогів **3а** та **4а** накладаються із сигналами фенільних протонів. Двопротонний квартет метиленової групи CH₂C=O для сполук з імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазиновим та 2,3-дифенілімідазо[2,1-*b*][1,3]тіазиновим скаффолдом ідентифікується при 5.79 – 5.96 м.ч., а для бензімідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинових похідних зміщених у слабке поле і проявляється при 6.26 – 6.38 м.ч., що надійно підтверджує наявність фенацильного замісника в структурі новосинтезованих солей.

Рис. 1. Спектр ЯМР ^1H . 1-Фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-бензо[4,5]імідазо[2,1-b][1,3]тіазинію бромід **Зв**.

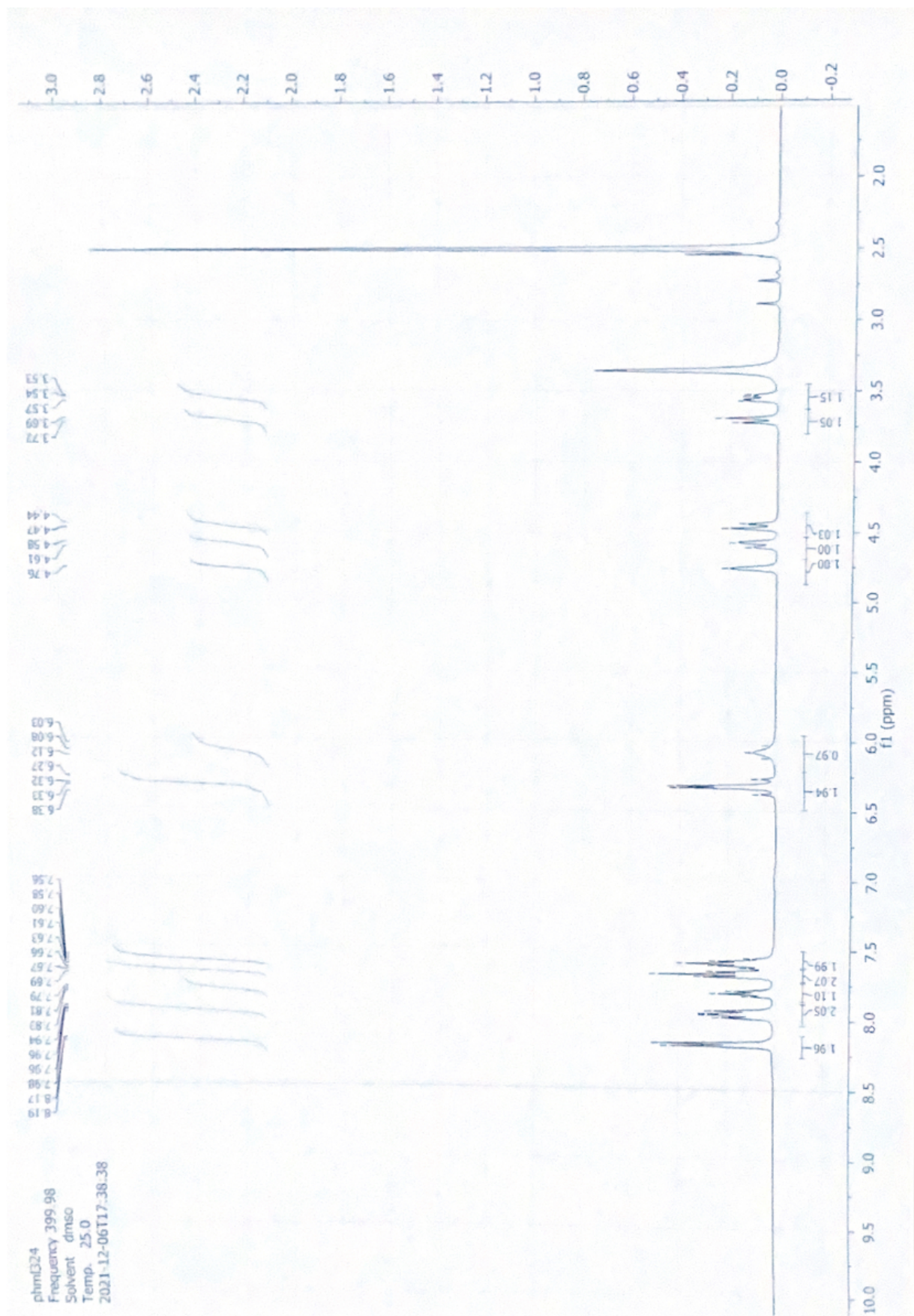


Рис. 2. Спектр ЯМР ^{13}C . 1-Фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-бензо[4,5]імідазо[2,1-b][1,3]тіазинію бромід **Зв**.

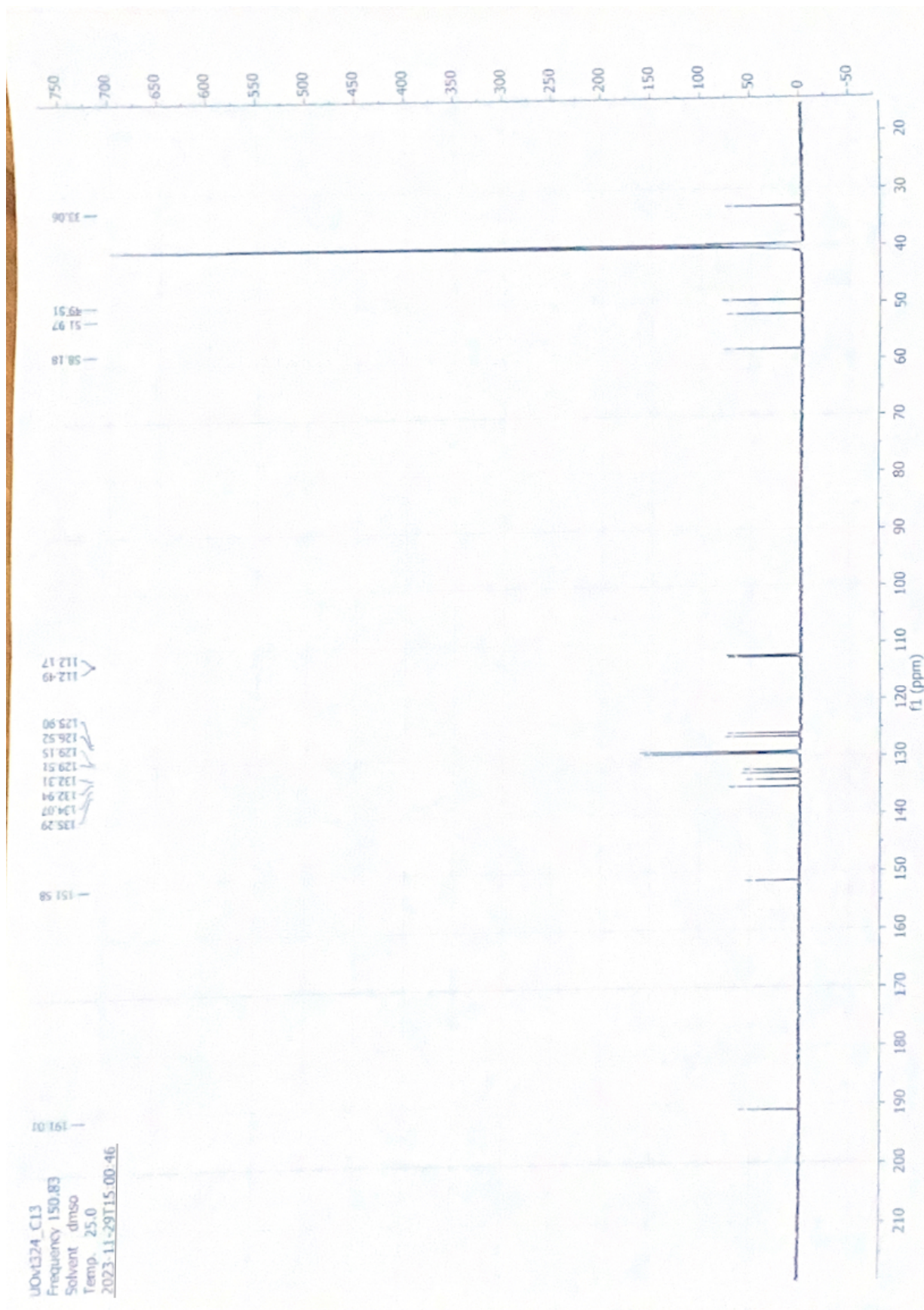


Рис. 3. Спектр ЯМР ^1H . 1-(4-Хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-бензо[4,5]імідазо[2,1-b][1,3]тіазинію бромід **4в.**

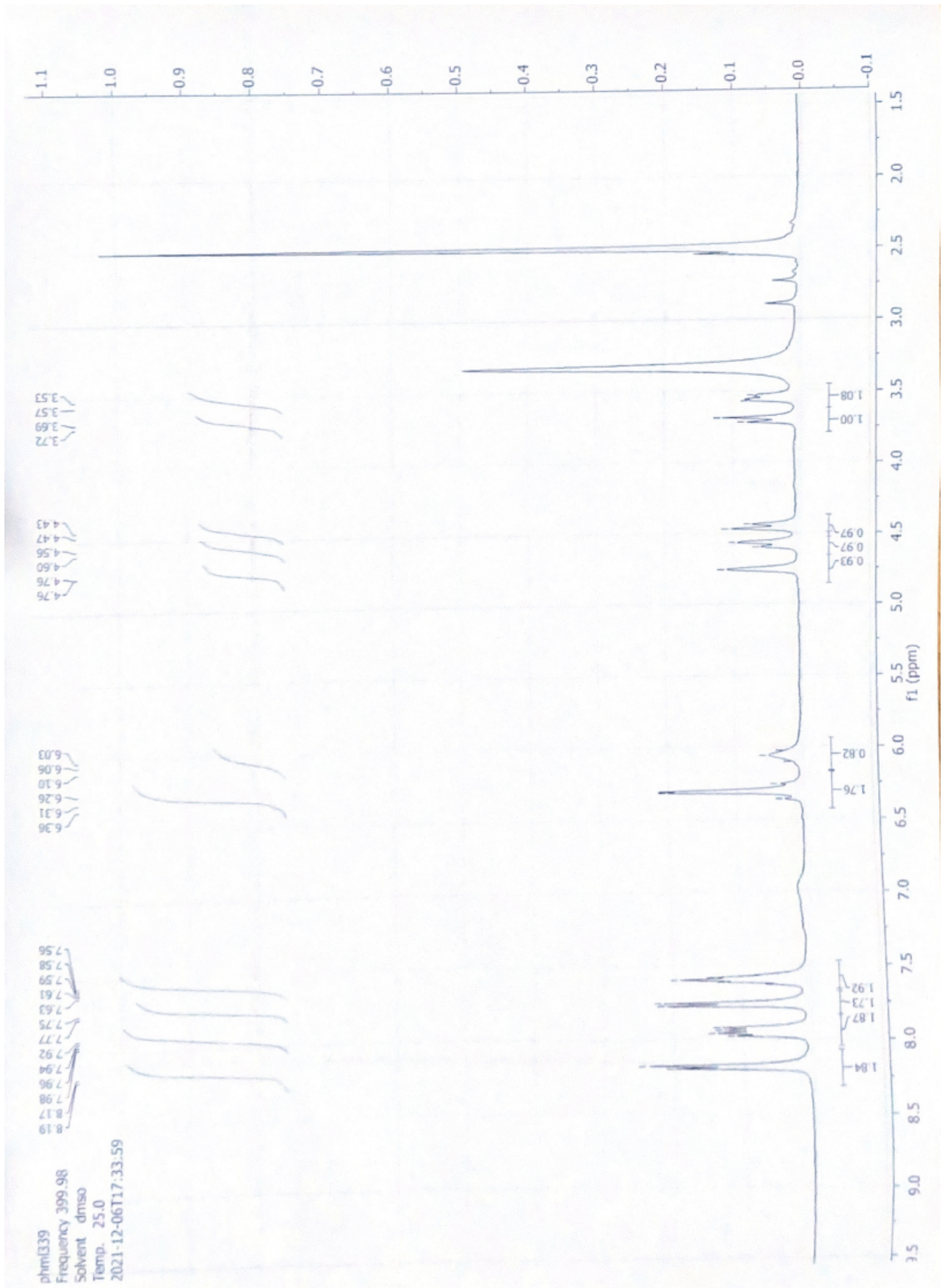
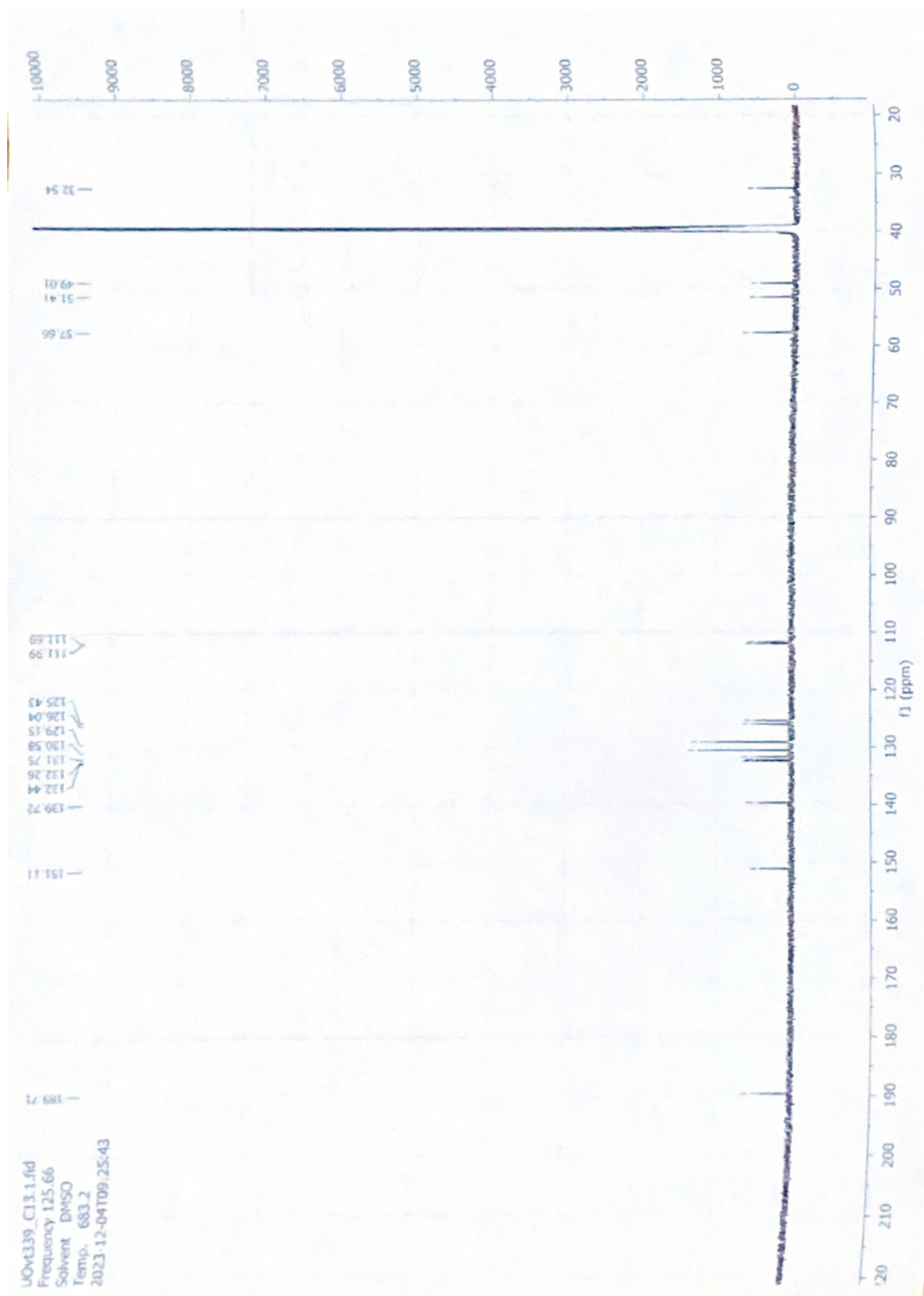


Рис. 4. Спектр ЯМР ^{13}C . 1-(4-Хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-бензо[4,5]імідазо[2,1-b][1,3]тіазинію бромід **4в**



Висновки до розділу 2: Описано процес синтезу (бензо)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-олів **2а-в** із вихідних заміщених імідазол-2-тіолів за модифікованою методикою. Встановлено, що дані речовини реагують з галогенопохідними ацетофенонів за певних умов, в результаті чого вперше синтезовано серію солей 3-гідрокси-3,4-дигідро-2Н (бенз)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазолію з виходами 53-87%. Їх будову підтверджено результатами вимірів ЯМР ¹H, ЯМР ¹³C та хроматомас-спектрометрією.

РОЗДІЛ 3

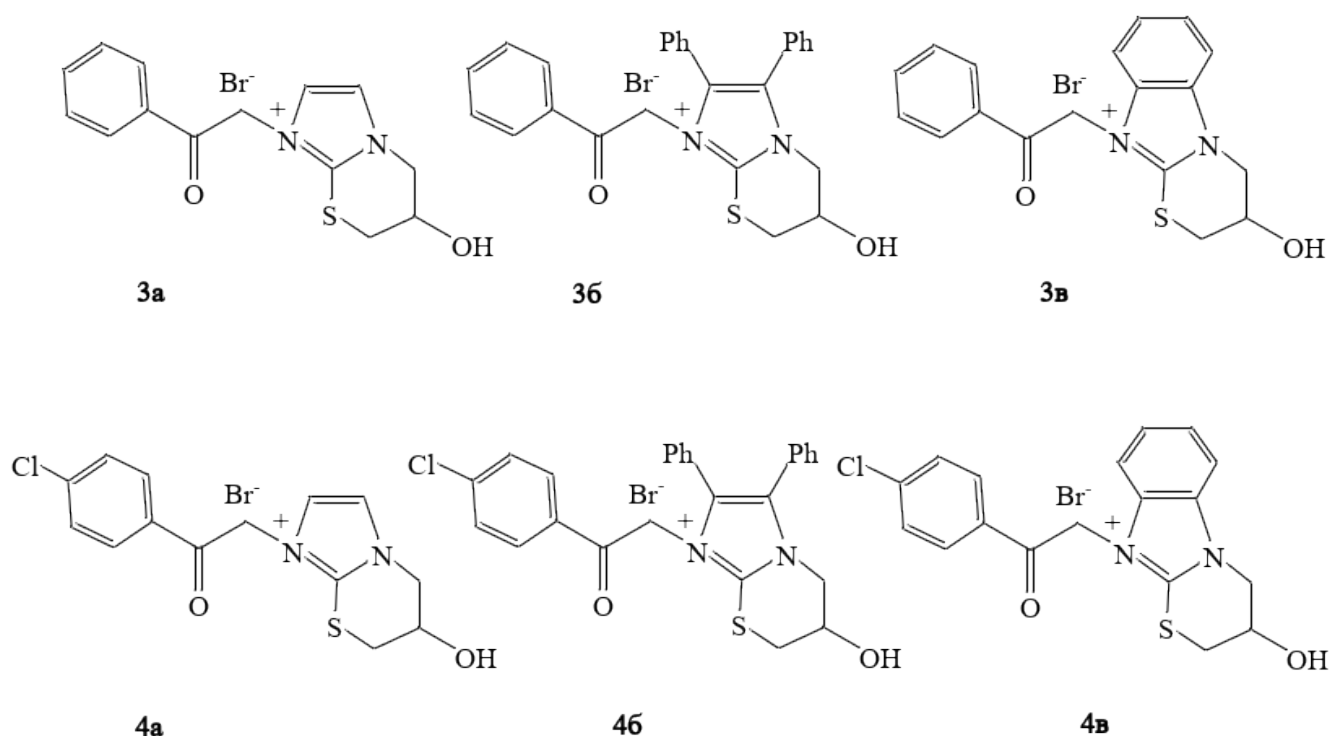
ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ

3.1. Визначення протимікробної активності

Протибактеріальні та протигрибкові засоби є одними з найбільш часто призначуваними препаратами у сучасній медицині та представляють різноманітні класи хімічних сполук. В останні роки зросла кількість мікозів, спричинених дріжджовими грибами, дерматоміцетами та мікроміцетами. Ці та інші збудники є достатньо стійкими до сучасних протигрибкових препаратів [38]. Таким чином, 76,9% і 82,2% штамів *Candida albicans* є нечутливі до кетоконазолу та флуконазолу [39]. Частота виділення *Cryptococcus neoformans*, резистентних до флуконазолу, також зростає [40]. Збільшується кількість інфекційних та інфекційно-запальних захворювань, цьому сприяє ослаблення імунного стану людини в результаті несприятливих факторів зовнішнього середовища, неконтрольоване застосування протимікробних препаратів, використання цитостатиків та багато іншого [41]. Формування збудників, стійких до антибіотиків, і інтенсивне поширення мультирезистентних штамів сприяють зниженню ефективності антибіотиків. Все це свідчить про необхідність продовження відкриття нових активних сполук і створення високоактивних, ефективних та безпечних протимікробних препаратів на їх основі [42-44]. Ведеться пошук таких сполук серед природних і синтетичних речовин. Імідазол та його похідні представляють особливий інтерес як фармакологічно привабливі гетероцикли в медичній хімії. Ці сполуки демонструють широкий спектр біологічної активності. Важливо відзначити їх антимікробну та протигрибкову дію, яка є однією з пріоритетних для цього класу гетероциклів [33]. З іншого боку, комбінація імідазольного кільця з іншими гетероциклічними частинами в конденсовану гетероциклічну систем є одним із успішних напрямків у створенні нових молекул з антибактеріальною та протигрибковою активністю. Сполуки з

протимікробними активностями були ідентифіковані серед імідазо[2,1-*b*]-1,3,4-тіадіазолів [45], імідазо[1,2-*a*]піримідинів [46], імідазо[1,5-*a*]хіноксалінів [47], піроло[1,2-*c*]імідазолів [48], імідазо[2,1-*b*][1,3]бензотіазолів[49] та ін. Таким чином, скринінг вперше синтезованих солей 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-(бенз)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазолію на протимікробну активність, як сполук, що об'єднують кілька фармакофорів – мета даного біологічного дослідження.

Схема 3.1.1.



Отож, для синтезованих солей **3а-в** та **4а-в** була досліджена антибактеріальна та протигрибкова активності, які оцінювали за величинами мінімальної бактеріостатичної (МБСК) та фунгістатичної (МФСК) концентрацій щодо референс-штамів бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* 410) та грибів (*Aspergillus niger* К 9, *Candida albicans* ATCC 885/653).

У результаті скринінгових досліджень з'ясовано, що тестовані сполуки проявляють помірну протимікробну активність, МБСК та МФСК для яких коливається в діапазоні 62.5-125 мкг/мл. Встановлено, що похідні **3а-в** та **4а-в**

проявляють інгібуючу дію до штамів бактерій *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 та грибів *C. albicans* ATCC 885/653 за концентрації 62.5 мкг/мл, а ріст таких бактерій як *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 10702 та гриби *A. niger* К 9 пригнічують за концентрації 125 мкг/мл. Так, протимікробна активність солей **3а-в** та **4а-в** майже не залежить від характеру замісників у положенні 1. Проте, слід зазначити, що найбільша інгібуюча активність спостерігалася в 4-хлорфенацилзаміщеного похідного бензімідазо[2,1-*b*][1,3]тіазину **4в** щодо грампозитивних бактерій *S. aureus* ATCC 25923 за концентрації 125 мкг/мл, а в солей з імідазотіазиним та бензімідазотіазиним скаффолдом **3а**, **3в**, **4в** до штамів грамнегативних бактерій *P. aeruginosa* ATCC 27853 за концентрації 62.5 мкг/мл. В той же час присутність в імідазольному циклі синтезованих сполук **3б** та **4б** двох об'ємних фенільних груп сприяє зниженню протибактеріальної активності відносно різного типу грампозитивних та грамнегативних бактерій.

Висновки до розділу 3: Отже, проаналізовано протибактеріальну та протигрибкову активність солей 1-фенацил(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію. Результати досліджень показали їх помірну дію на ряд грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також грибів типу *Aspergillus niger* і *Candida albicans*.

Таблиця 1.

Протибактеріальна активність солей 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-(бенз)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазолію

Сполука	Грампозитивні бактерії				Грамнегативні бактерії						Гриби			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>B. cereus</i> ATCC 10702		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>P. mirabilis</i> 410 (BSMU)		<i>C. albicans</i> ATCC 885/653		<i>A. niger</i> K9	
	МБсК	МБц К	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МФс К	МФц К	МФсК	МФцК
3а	125	500	125	250	62.5	125	62.5	62.5	125	125	62.5	125	125	250
3б	125	500	125	250	62.5	125	62.5	125	125	125	62.5	125	125	250
3в	125	500	125	250	62.5	125	62.5	62.5	125	125	62.5	125	125	250
4а	125	250	125	250	62.5	125	62.5	125	125	125	62.5	125	125	250
4б	125	500	125	250	62.5	125	62.5	125	125	125	62.5	125	125	250
4в	125	125	125	250	62.5	125	62.5	62.5	125	125	62.5	125	125	250
ДМСО*	+		+		+		+		+		+		+	
К**	0.48	0.97	0.97	1.95	1.95	3.9	31.25	31.25	15.625	31.25	3.9	7.81	7.81	7.81

* спостерігається ріст мікроорганізмів

** Декасан (розчин декаметоксину 0,2 мг/мл) виробництва «Юрія-Фарм».

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ІЧ спектри зареєстровані на приладі Bruker Vertex 70 в таблетках KBr. Спектри ЯМР ^1H і ^{13}C записані на спектрометрі Varian VXR-400 (400 і 126 МГц відповідно) в імпульсному Фур'є-режимі в $\text{DMSO-}d_6$ і в CDCl_3 , внутрішній стандарт TMS. Мас-спектри записані на приладі Agilent LC/MSD SL, колонка Zorbax SB-C18, 4.6×15 мм, 1.8 мкм (PN 82(c)75-932), розчинник $\text{DMSO-}d_6$, іонізація електророзпиленням при атмосферному тиску. Елементний аналіз виконаний на приладі PerkinElmer ЧН Analyzer серії 2400 в аналітичній лабораторії Інституту органічної хімії НАН України. Температури топлення усіх синтезованих речовин визначалися на приладі Сиволобова.

4.1. Експериментальна частина до підрозділу 2.1.

Загальна методика синтезу 6,7-дигідро-5H-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-олів 2а,б.

До розчину відповідного імідазол-2-тіолу **1а,б** (5 ммоль) та NaOH (5 ммоль) в MeOH (25 мл) додавали 2-(хлорометил)оксиран (5 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 24 год. Розчинник випарювали у вакуумі, до залишку додавали 30 мл льодяної води, осад відфільтровували і сушили на повітрі.

6,7- Дигідро-5H-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-ол 2а.

Вихід 90 %; $T_{\text{топл.}}$ 202-204 °C. ЯМР ^{13}C спектр, CDCl_3 , δ , м.ч.: 135.63 (C^{8a}), 127.68 (C^2), 121.26 (C^3), 61.52 (C^6), 50.45 (C^5), 31.73 (C^7). Мас-спектр, m/z . 157 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 46.28; H 5.11; N 18.04. $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$. Вирахувано, %: C 46.13; H 5.16; N 17.93.

2,3-Дифеніл-6,7-дигідро-5H-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазин-6-ол 2б.

Вихід 89 %; $T_{\text{топл.}}$ 218-219 °C. ЯМР ^{13}C спектр, CDCl_3 , δ , м.ч.: 137.20 ($\text{C}^{8\text{a}}$), 136.74 (C^3), 134.84, 131.08, 130.49 (Ar), 129.77 (C^2), 129.48, 129.07, 128.50, 126.55, 126.43 (Ar), 61.79 (C^6), 49.71 (C^5), 31.50 (C^7). Мас-спектр, m/z . 309 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 70.25; H 5.19; N 9.17. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OS}$. Вирахувано, %: C, 70.10; H, 5.23; N, 9.08.

Загальна методика синтезу 3-гідрокси-3,4-дигідро-2H-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазину 2в.

До розчину бензімідазол-2-тіолу **1в** (10.5 г, 7 ммоль) та K_2CO_3 (9.7 г, 7 ммоль) в сухому DMF (30 мл) додавали 2-(хлорометил)оксиран (5.5 мл, 7 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при температурі 60-70 °C та перемішуванні протягом 3-х год. По закінченню реакції розчин виливали на лід, отриманий осад відфільтровували, промивали 50 мл води і сушили на повітрі.

Вихід 93 %; $T_{\text{топл.}}$ 215-217 °C. ЯМР ^{13}C спектр, CDCl_3 , δ , м.ч.: 142.64 ($\text{C}^{10\text{a}}$), 138.96 ($\text{C}^{9\text{a}}$), 134.23 ($\text{C}^{5\text{a}}$), 123.87 (C^8), 123.01 (C^7), 115.29 (C^9), 110.15 (C^6), 55.26 (C^3), 49.01 (C^4), 31.35 (C^2). Мас-спектр, m/z . 207 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 58.35; H 4.94; N 13.44. $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$. Вирахувано, %: C 58.23; H 4.89; N 13.58.

4.2. Експериментальна частина до підрозділу 2.2.

Загальна методика синтезу солей 3-гідрокси-3,4-дигідро-2H (бенз)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазолію 3а-в, 4а-в.

Сполуку **2** (1,0 ммоль), алкілюючий агент (1,2 ммоль) змішували в 1 мл ДМФА. Суміш нагрівали при 150°C протягом 40 хв. Після охолодження осад, що утворився відфільтровували, промивали ДМФА (0,5 мл) і діетиловим ефіром (1 мл) і сушили. Отримали солі **3а-в**, **4а-в** у вигляді білих та жовтих порошоків. Вихід 53-87%.

1-Фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію бромід 3а. Вихід: 73 %, т. пл. 264-265 °C. ЯМР ^1H спектр, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч. (КССВ, J , Гц): 3.56-3.60 м (2H, SCH_2), 4.23-4.34 м (2H, NCH_2), 4.56-4.59 м (1H, CH), 5.94-

5.96 м (3H, CH₂+OH), 7.71-7.74 м (3H, 2CH_{імідазол.}+Ar), 7.80-7.82 м (1H, Ar), 8.09-8.12 м (2H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C, DMSO-*d*₆, δ, м.ч.: 32.4 (C⁷), 52.1 (C⁵), 54.3 (CH₂), 58.5 (C⁶), 123.4 (C²), 123.9 (C³), 129.6, 130.8, 132.7, 140.0 (C_{аром.}), 142.3 (C^{8a}), 190.2 (C=O). Мас-спектр, *m/z*. 276 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 67.37; Н 4.46; N 7.75. C₁₄H₁₆BrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 47.19; Н 4.49; N 7.86.

**1-Фенацил-2,3-дифеніл-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*]
[1,3]тіазинію бромід 3б.**

Вихід: 55 %, т. пл. 175-177 °С. ЯМР ¹H спектр, DMSO-*d*₆, δ, м.ч. (КССВ, *J*, Гц): 3.61-3.66 м (2H, SCH₂), 3.88-3.94 м (1H, NCH₂), 4.24-4.29 м (1H, NCH₂), 4.61-4.65 м (1H, CH), 5.79-5.82 м (2H, CH₂), 5.97 с (1H, OH), 7.42-7.49 м (6H, Ar), 7.63-7.66 м (4H, Ar), 7.95-8.05 м (5H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C, DMSO-*d*₆, δ, м.ч.: 32.4 (C⁷), 50.9 (C⁵), 51.6 (CH₂), 58.1 (C⁶), 124.7 (C²), 125.0 (C³), 128.3, 128.9, 129.0, 129.2, 129.6, 130.1, 130.3, 130.4, 130.6, 131.0, 131.4, 132.3 (C_{аром.}), 142.7 (C^{8a}), 190.2 (C=O). Мас-спектр, *m/z*. 428 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 61.70; Н 4.69; N 5.41. C₂₆H₂₄BrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 61.41; Н 4.72; N 5.51.

**1-Фенацил-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*]
[1,3]тіазинію бромід 3в.**

Вихід: 87 %, т. пл. 253-254 °С. ЯМР ¹H спектр, DMSO-*d*₆, δ, м.ч. (КССВ, *J*, Гц): 3.53-3.57 м (1H, SCH₂), 3.69-3.72 (1H, SCH₂), 3.44-3.47 м (1H, NCH₂), 4.58-4.61 м (1H, NCH₂), 4.73-4.75 м (1H, CH), 6.08 с (1H, OH), 6.27-6.38 м (2H, CH₂), 7.56-7.63 м (2H, Ar), 7.66-7.69 м (2H, Ar), 7.79-7.83 м (2H, Ar), 7.94-8.19 м (2H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C, DMSO-*d*₆, δ, м.ч.: 33.1 (C²), 49.5 (C⁴), 52.0 (CH₂), 58.2 (C³), 112.2 (C⁶), 112.5 (C⁹), 125.9 (C⁷), 126.5 (C⁸), 129.2 (C^{5a}), 129.5 (C^{9a}), 132.3, 132.9, 134.1, 135.3 (C_{аром.}), 151.6 (C^{8a}), 190.0 (C=O). Мас-спектр, *m/z*. 326 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 53.42; Н 4.39; N 7.04. C₁₈H₁₈BrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 53.20; Н 4.43; N 6.90.

**1-(4-Хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію
бромід 4а.**

Вихід: 78 %, т. пл. 259-261 °С. ЯМР ^1H спектр, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч. (КССВ, J , Гц): 3.55-3.59 м (2H, SCH₂), 4.23-4.28 м (2H, NCH₂), 4.56-4.58 м (1H, CH), 5.93-5.96 м (3H, CH₂+OH), 7.70-7.74 м (3H, 2CH_{имідазол.}+Ar), 7.80-7.83 м (1H, Ar), 8.09-8.11 м (2H, Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч.: 32.3 (C⁷), 52.1 (C⁵), 54.2 (CH₂), 58.5 (C⁶), 123.4 (C²), 123.9 (C³), 129.7, 130.8, 132.7, 140.0 (C_{аром.}), 142.3 (C^{8a}), 190.2 (C=O). Мас-спектр, m/z : 310 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 43.27; Н 3.80; N 7.25. C₁₄H₁₅ClBrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 43.02; Н 3.84; N 7.17.

1-(4-Хлорфенацил)-2,3-дифеніл-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію бромід 4б.

Вихід: 53 %, т. пл. 169-170 °С. ЯМР ^1H спектр, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч. (КССВ, J , Гц): 3.61-3.66 м (2H, SCH₂), 3.88-3.96 м (1H, NCH₂), 4.25-4.31 м (1H, NCH₂), 4.62-4.64 м (1H, CH), 5.79-5.81 м (2H, CH₂), 5.99 с (1H, OH), 7.44-7.49 м (6H, Ar), 7.64-7.66 м (4H, Ar), 7.95-8.04 м (4H, Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч.: 32.1 (C⁷), 50.4 (C⁵), 51.8 (CH₂), 58.2 (C⁶), 124.5 (C²), 124.6 (C³), 128.3, 128.7, 129.1, 129.2, 129.5, 130.1, 130.2, 130.3, 130.6, 131.1, 131.8, 132.1 (C_{аром.}), 142.5 (C^{8a}), 190.1 (C=O). Мас-спектр, m/z : 462 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 57.77; Н 4.20; N 5.29. C₂₆H₂₃ClBrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 57.56; Н 4.24; N 5.16.

1-(4-Хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5H-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію бромід 4в.

Вихід: 81 %, т. пл. 227-228 °С. ЯМР ^1H спектр, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч. (КССВ, J , Гц): 3.53-3.57 м (1H, SCH₂), 3.69-3.72 (1H, SCH₂), 4.43-4.47 м (1H, NCH₂), 4.56-4.60 м (1H, NCH₂), 4.73-4.76 м (1H, CH), 6.06 с (1H, OH), 6.26-6.36 м (2H, CH₂), 7.56-7.63 м (2H, Ar), 7.75-7.77 м (2H, Ar), 7.92-7.98 м (2H, Ar), 8.17-8.19 м (2H, Ar). Спектр ЯМР ^{13}C , $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.ч.: 32.5 (C²), 49.1 (C⁴), 51.4 (CH₂), 57.7 (C³), 111.7 (C⁶), 112.0 (C⁹), 125.4 (C⁷), 126.0 (C⁸), 129.2 (C^{5a}), 130.6 (C^{9a}), 131.8, 132.3, 132.4, 139.7 (C_{аром.}), 151.1 (C^{8a}), 189.7 (C=O). Мас-спектр, m/z : 360 [M+H]⁺. Знайдено, %: С 48.86; Н 3.90; N 6.20. C₁₈H₁₇ClBrN₂O₂S. Вирахувано, %: С 49.09; Н 3.86; N 6.36.

4.3. Експериментальна частина до розділу 3.

Методика визначення протигрибкової та протибактеріальної активності сполук 3а-в та 4а-в. Дослідження протигрибкової та антибактеріальної дії отриманих сполук проводили із використанням мікрометоду дворазових серійних розведень у рідкому поживному середовищі [50, 51]. Визначали мінімальні бактеріостатичні (МБсК) та бактерицидні (МБцК) чи фунгістатичні (МФсК) та фунгіцидні (МФцК) концентрації солей імідазотіазинів **3а-в та 4а-в** щодо референс-штамів бактерій (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 4698, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів роду *Candida* (*C. albicans* ATCC 885-653 та *C. krusei* ATCC 6258). До стерильних 96 лункових полістиролових планшетів носили по 0,05 мл 4-годинної культури мікроорганізмів (для грибів використовували 103 КУО/мл у рідкому середовищі Сабуро, а для бактерій в 1 мл м'ясо-пептонного бульйону містилося 105 КУО/мл). Суспензію досліджуваних мікроорганізмів (інокулюму) готували з добової культури. Петлею для посівів відбирали кілька однотипних ізольованих колоній, переносили незначну кількість матеріалу в пробірку із стерильним фізіологічним розчином і за допомогою денситометра (DEN-1 Biosan) отримували суспензію мікроорганізмів у концентрації $1,5 \times 10^8$ КУО/мл, яка відповідає стандарту мутності 0,5 за МакФарландом. Потім не пізніше 15 хв десятикратними розведеннями в поживному середовищі отримували необхідну робочу мікробну суспензію. Готували розчини досліджуваних сполук **3а-в та 4а-в** для мікрометоду серійних розведень (у концентрації 1000 мкг/мл), використовуючи як розчинник ДМСО. Основні робочі розчини зберігали при температурі не вище 20°C. В першу лунку вносили 0,05 мл матричного розчину дослідної речовини, після перемішування переносили по 0,05 мл у наступні лунки першого ряду, в такий спосіб отримували розведення від 500 мкг/мл до 0,24 мкг/мл. Після перемішування переносили по 0,05 мл у наступні лунки першого ряду, таким чином отримували розведення від 500 мкг/мл до 0,24 мкг/мл. Після цього планшети з посівами бактерій поміщали у вологу камеру в термостат при температурі

37°C, інкубували впродовж 24 год (для грибів – відповідно при 28°C впродовж 48 год).

Найменшу концентрацію досліджуваної речовини, у присутності якої не спостерігали росту культури, приймали за бактеріостатичну чи фунгістатичну (МБсК, МФсК) концентрацію, а мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні (МБцК, МФцК) визначали шляхом висіву вмісту лунок планшету з розведеннями на відповідні щільні поживні середовища (для бактерій – м'ясопептонний агар, для дріжджоподібних грибів – щільне середовище Сабуро). За результатами росту на відповідних середовищах встановлювали мінімальну бактерицидну (фунгіцидну) концентрацію дослідних сполук. Усі дослідні супроводжувались відповідними контролями (контролем середовища на стерильність, контролем росту культури в середовищі без сполуки, контролем росту культури в середовищі з розчинником), а з метою отримання достовірних результатів експерименти проводилися тричі з кожною концентрацією сполуки та досліджуваною культурою мікроорганізмів.

ВИСНОВКИ

1. Взаємодією 2-меркаптоімідазолів з епіхлоргідрином синтезовано вихідні сполуки 3-гідроксиімідазо[2,1-*b*][1,3]тіазини з виходом 89-93%.
2. Структурною модифікацією 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-(бензо)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинів із галогеновмісними ацетофенонами синтезовано серію солей 1-фенацил(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію з виходами 53-87%.
3. Склад та структуру отриманих солей похідних імідазо[2,1-*b*]тіазину надійно підтверджено комплексним фізико-хімічним аналізом. Зокрема, даними ЯМР ¹H-, ¹³C- та хроматомас-спектрометрії, а також даними елементного аналізу.
4. Дослідження *in vivo* на протимікробну активність показали, що 1-фенацил(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію броміди проявляють помірну протимікробну дію.
5. Встановлено, що будова фенацильного замісника солей 3-гідрокси-3,4-дигідро-2*H*-(бензо)імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинів не характеризується визначальним впливом на біологічну активність сполук.
6. Найвищу протибактеріальну активність проявляє 1-(4-хлорфенацил)-6-гідрокси-6,7-дигідро-5*H*-бензо[4,5]імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазинію бромід **4в** до штаму грампозитивних бактерій *S. aureus* ATCC 25923 за концентрації 125 мкг/мл та солі **3а**, **3в**, **4в** до штамів грамнегативних бактерій *P. aeruginosa* ATCC 27853 за концентрації 62.5 мкг/мл.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Tales A.C.; Goulart T.A.C.; Kazmirski J.A.G.; Back D.F., Zeni G. Cyclization of Thiopropargyl Benzimidazoles by Combining Iron(III) Chloride and Diorganyl Diselenides. *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 14113-14126.
2. Gong J.-X.; Cui Y.; He Z.-L.; Guo Y.-W. Synthesis, spectral characterization, and antituberculosis activity of thiazino[3,2-a]benzimidazole derivatives. *Phosphorus, Sulfur, Silicon.* **2016**, 191, 1036-1041.
3. Kim P.; Kang S.; Boshoff H.I.; Jiricek J.; Collins M.; Singh R.; Manjunatha U.H.; Niyomrattanakit P.; Patel S., Zhang L.; Goodwin M.; Dick T.; Keller T.H.; Dowd C.S.; Barry C.E. Structure–Activity Relationships of Antitubercular Nitroimidazoles. 2. Determinants of Aerobic Activity and Quantitative Structure–Activity Relationships. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1329-1344.
4. Thompson A.M.; Marshall A.J.; Maes L.; Yarlett N.; Bacchi C.J. Assessment of a pretomanid analogue library for African trypanosomiasis: Hit-to-lead studies on 6-substituted 2-nitro-6,7-dihydro-5H-imidazo[2,1-b][1,3]thiazine-8-oxides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28, 207-213.
5. Schoeder C.T.; Kaleta M.; Mahardhika A.B.; Olejarz-Maciej; A., Łażewska D.; Kieć-Kononowicz K.; Müller C.E. Structure-activity relationships of imidazothiazinones and analogs as antagonists of the cannabinoid-activated orphan G protein-coupled receptor GPR18. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 155, 381-397.
6. Thompson A.M.; O'Connor P.D.; Marshall A.J.; Francisco A.F.; Kelly J.M.; Riley J.; Read K.D.; [Perez C.J.](#); Cornwall S.; [Thompson R.C.A.](#); [Keenan M.](#); White K.L.; Charman S.A.; Zulfıqar B.; Sykes M.L.; Avery V.M.; Chatelain E.; Denny W.A. [Re-evaluating pretomanid analogues for Chagas disease: Hit-to-lead studies reveal both in vitro and in vivo trypanocidal efficacy.](#) *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 207, 112849.
7. Zhao L.X.; Hu J.J.; Wang Z.-X.; Yin M.-L.; Zou Y.-L.; Gao S.; Fu Y.; Ye F. Novel phenoxy-(trifluoromethyl)pyridine-2-pyrrolidinone-based inhibitors of protoporphyrinogen oxidase: Design, synthesis, and herbicidal activity. [Pesticide](#)

[Biochem. Physiol.](#) **2020**, 170, 104684.

8. Sun X.-L.; Ji Z.-M.; Wei S.-P.; Ji Z.-Q. Design, Synthesis, and Herbicidal Activity of N-Benzyl-5-cyclopropylisoxazole-4-carboxamides. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, 68,15107-15114.
9. Fu Q., Cai P.-P.; Cheng L.; Zhong L.-K.; Tan C.-X.; Shen Z.-H.; Han L.; Xub T.-M.; Liua X.-H. Synthesis and herbicidal activity of novel pyrazole aromatic ketone analogs as HPPD inhibitor. *Pest Management Science.* **2020**, 76, 868-879.
10. Xu C.; Zhou Y.; Qi R.; Dai G.; Tan X.; He H. Synthesis and herbicidal activity of optically active α -(substituted phenoxyacetoxy) (substituted phenyl) methylphosphonates. [Pesticide Biochem. Physiol.](#) **2017**, 143, 298-305.
11. Hranjec, M.; Pavlovic, G.; Marjanovic, M.; Kralj, M.; KarminskiZamola, G. Benzimidazole derivatives Related to 2,3-acrylonitriles, benzimidazo[1,2-a]quinolines and fluorenes: Synthesis, antitumor evaluation in vitro and crystal structure determination. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45(6), 2405-2417.
12. Hranjec, M.; Starcevic, G.; Pavelic, S.K.; Lucin, P.; Pavelic, K.; Zamola, G.K. Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation in vitro of novel Schiff bases related to benzimidazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46(6), 2274-2279.
13. Nofal, Z.M.; Soliman, E.A.; El-Karim, S.S.A.; El-Zahar, M.I.; Srour, A.M.; Sethumadhavan, S.; Maher, T.J. Novel benzimidazole derivatives as expected anticancer agents. *Acta Pol. Pharm.* **2011**, 68(4), 519-534.
14. Romero-Castro, A.; Leon-Rivera, I.; Avila-Rojas, L.C.; NavarreteVazquez, G.; Nieto-Rodriguez, A. Synthesis and preliminary evaluation of selected 2-aryl-5(6)-nitro- 1H-benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Arch. Pharm. Res.* **2011**, 34(2), 181-189.
15. Rubbiani, R.; Can, S.; Kitanovic, I.; Alborzina, H.; Stefanopoulou, M.; Kokoschka, M.; Mönchgesang, S.; Sheldrick, W.S.; Wolf, S.; Ott, I. Comparative in vitro evaluation of N-heterocyclic carbene gold(I) complexes of the benzimidazolylidene type. *J. Med. Chem.* **2011**, 54(24), 8646-8657.
16. Taher, A.T.; Khalil, N.A.; Ahmed, E.M. Synthesis of novel isatinthiazoline and isatin-benzimidazole conjugates as anti-breast cancer agents. *Arch. Pharm. Res.*

2011, 34(10), 1615-1621.

17. Haque, R.A.; Iqbal, M.A.; Khadeer Ahamed, M.B.; Abdul Majeed, A.M.S.; Hameed, Z.A.A. Design, synthesis and structural studies of meta-xylyl linked bis-benzimidazolium salts: Potential anticancer agents against human colon cancer. *Chem. Cent. J.* **2012**, 6(68), 1-14.
18. Harkala, K.; Eppakayala, L.; Maringanti, T.C. Synthesis and biological evaluation of benzimidazole-linked 1,2,3-triazole congeners as agents. *Org. Med. Chem. Lett.* **2014**, 4, 14-18.
19. Lata S.; Narasimhan B. 21st Century: The era of heterocyclic compounds in medicinal chemistry. Narasimhan Balasubramanian. *Ed.; Lap Lambert Academic Publishing.* **2014**, 2, 176-259.
20. El Rashedy, A.A.; Aboul Enein, H.Y. Benzimidazole derivatives as potential chemotherapeutic agents. *Curr. Drug Ther.* **2013**, 8, 1-14.
21. Aboul-Enein, H.Y.; El Rashedy, A.A. Benzimidazole derivatives as centrally acting agents. *Curr. Drug Ther.* **2013**, 8, 145-154.
22. El Rashedy, A.A.; Aboul-Enein, H.Y. Benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Mini Rev. Med. Chem.* **2013**, 13, 399- 407.
23. Arvanitis, A.; Rescinito, J. T.; Arnold, C. R.; Wilde, R. G.; Cain, G. A.; Sun, J. H.; Yan, J.-S.; Teleha, C. A.; Fitzgerald, L. W.; McElroy, J.; Zaczek, R.; Hartig, P. R.; Grossman, S.; Arneric, S. P.; Gilligan, P. J.; Olson, R. E.; Robertson, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 125–128.
24. Janssens, F.; Torremans, J.; Janssen, M.; Stokbroekx, R.; Luyckx, M.; Janssen, P. *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 1943–1947.
25. Chang, L. C. W.; von Frijtag Drabbe Kunzel, J. K.; Mulder-Krieger, T.; Westerhout, J.; Spangenberg, T.; Brussee, J.; IJzerman, A. P. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 828–834.
26. Désaubry, L.; Wermuth, C.; Bourguignon, J.-J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4249–4252.
27. Salomé, C.; Schmitt, M.; & Bourguignon, J.-J. . Rapid synthesis of imidazo[4,5-b]pyridine containing polycyclics by means of palladium-catalyzed amidation of 2-chloro-3-nitropyridine. *Tetrahedron Letters.* **2009**, 50(27), 3798–3800.

28. Loones, K. T. J.; Maes, B. U. W.; Dommissie, R. A.; Lemière, G. *Chem. Commun.* **2004**, 2466–2467.
29. Yu, H.; Liu, Q.; Li, Y.; & Ni, C. Copper-catalyzed synthesis of 2-aminobenzimidazoles from carbonimidoyl dichlorides and amines. *Tetrahedron Letters.* **2012**, 53(39), 5253–5256.
30. Martineau, A.; DeJongh, D. C. J. *Anal. Appl. Pyroi.* **1983**, 5, 39.
31. Li, Q.; Wang, S.; Zhou, S.; Yang, G.; Zhu, X.; Liu, Y. J. *Org. Chem.* **2007**, 72, 6763.
32. Wang, F.; Cai, S.; Liao, Q.; Xi, C. J. *Org. Chem.* **2011**, 76, 3174.
33. Szczepankiewicz, B. G.; Rohde, J. J.; Kurukulasuriya, R. *Org. Lett.* **1833**, 2005, 7.
34. Zhang Y.; Meng X.; Tang H.; Cheng M.; Yang F.; Xu W. Design, synthesis, and biological evaluation of novel substituted thiourea derivatives as potential anticancer agents for NSCLC by blocking K-Ras protein-effectors interactions. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, 35, 344–353.
35. Sun X.-L., Ji Z.-M., Wei S.-P., Ji Z.-Q. Design, Synthesis, and Herbicidal Activity of N-Benzyl-5-cyclopropylisoxazole-4-carboxamides. *J. Agric. Food Chem.* 2020, Vol.68, 15107-15114.
36. Fu Q., Cai P.-P., Cheng L., Zhong L.-K., Tan C.-X., Shen Z.-H., Han L., Xub T.-M., Liua X.-H. Synthesis and herbicidal activity of novel pyrazole aromatic ketone analogs as HPPD inhibitor. *Pest Management Science.* 2020, 76, 868-879.
37. Alper H, Keung ECH. New synthesis of the 1,3-thiazine ring system. *J Org Chem.* 1972;37(9):1464–6. doi: 10.1021/jo00974a047.
38. Badiee, P.; Alborzi, A. Susceptibility of clinical Candida species isolates to antifungal agents by E-test, Southern Iran: A five year study. *Iran. J. Microbiol.* 2011, 3, 183–188.
39. Novikova, V.V.; Ezov, S.G. Assessment of the Candida spp. composition isolated from various biotopes and their sensitivity to antifungal drugs. *Russ. Med. J.* 2019, 4, 67–71.
40. Bongomin, F.; Oladele, R.; Gago, S.; Moore, C.; Richardso, M. A Systematic Review of Fluconazole Resistance in Clinical Isolates of Cryptococcus Species

Review. *Mycoses* 2018, 61, 290–297.

41. Marchenko, V.F.; Mahaneva, L.G.; Tyndikevych, V.L. Frequency of microorganisms allocation from different biological materials and comparative analysis of its antibioticograms. *Mod. Pediatr.* 2010, 1, 52–56.
42. Prestinaci, F.; Pezzotti, P.; Pantosti, A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health* 2015, 109, 309–318.
43. Chimenti, F.; Bizzarri, B.; Bolasco, A.; Secci, D.; Chimenti, P.; Carradori, S.; Granese, A.; Rivanera, D.; Lilli, D.; Scaltrito, M.M.; et al. Synthesis and in vitro selective anti-*Helicobacter pylori* activity of N-substituted-2-oxo-2H-1-benzopyran-3-carboxamides. *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 208–212.
44. Saeed, A.; Bosch, A.; Bettioli, M.; Nossa González, D.L.; Erben, M.F.; Lamberti, Y. Novel Guanidine Compound against Multidrug-Resistant Cystic Fibrosis-Associated Bacterial Species. *Molecules* 2018, 23, 1158.
45. Atta, K.F.M.; Farahat, O.O.M.; Ahmed, A.Z.A.; Marei, M.G. Synthesis and Antibacterial Activities of Novel Imidazo[2,1-*b*]-1,3,4-thiadiazoles. *Molecules* 2011, 16, 5496–5506.
46. Rival, Y.; Grassy, G.; Michel, G. Synthesis and antibacterial activity of some imidazo[1,2-*a*]pyrimidine derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* 1992, 40, 1170–1176.
47. Kalinin, A.A.; Voloshina, A.D.; Kulik, N.V.; Zobov, V.V.; Mamedov, V.A. Antimicrobial activity of imidazo[1,5-*a*]quinoxaline derivatives with pyridinium moiety. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 66, 345–354.
48. Mollanejad, K.; Asghari, S.; Jadidi, K. Diastereoselective synthesis of pyrrolo[1,2-*c*]imidazoles using chiral thiohydantoin, malononitrile, and aldehydes and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *J. Heterocycl. Chem.* 2020, 57, 556–564.
49. Al-Tel, T.H.; Al-Qawasmeh, R.A.; Zaarour, R. Design, synthesis and in vitro antimicrobial evaluation of novel Imidazo[1,2-*a*]pyridine and imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazole motifs. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, 1874–1881.

50. Yakovychuk ND, Deyneka SY, Grozav AM, Humenna AV, Popovych VB, Djuiriak VS. Antifungal activity of 5-(2-nitrovinyl)imidazoles and their derivatives against the causative agents of vulvovaginal candidiasis. *Regul Mech Biosyst.* 2018;9(3):369–73. doi: 10.15421/021854.
51. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: метод. вказівки 9.9.5–143–2007. – К. : МОЗ України, 2007. – 63 с.