

Є. І. Сюмка, К. М. Ситнік, Д. В. Левашов, Т. В. Шпичак,
В. Д. Горячий, Л. А. Шемчук

Національний фармацевтичний університет, Україна
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: evge17smk@gmail.com

Хімічні перетворення нових моно- та біс-похідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу на основі біс-малеїнімідів та вивчення мікробіологічної активності синтезованих сполук

Мета роботи. Синтез нових похідних на основі гексаметилен(етилен)-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]-пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів) та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів шляхом модифікації NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4' (алкілювання, ацилювання, нітразування) та вивчення їх мікробіологічної активності.

Результати та їх обговорення. Розроблено шляхи подальшої хімічної модифікації похідних гексаметилен(етилен)-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) на прикладі етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-ізопропіл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону), гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону шляхом модифікації NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4' (нітразування) або NH-групи індольного фрагменту в положенні 1 (алкілювання), або ацилювання одразу за двома положеннями. Будову одержаних сполук надійно підтверджено інструментальними методами. Дані мікробіологічного скринінгу показують високу біологічну дію синтезованих сполук відносно грампозитивних (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), грамнегативних бактерій (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) і грибів (*Candida albicans*).

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

Висновки. Проведено хімічну модифікацію моно- та біс-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу: синтезовано нові функціоналізовані нітразопохідні, проведено реакцію алкілювання та досліджено перебіг реакції ацилювання. Показано, що ацилювання відбувається одразу за двома положеннями – за вторинною аміногрупою пірольного та індольного фрагментів, в той час як алкілювання перебігає за індольним фрагментом. Доведено будову отриманих сполук. Вивчено антимікробну дію синтезованих сполук.

Ключові слова: біс-спіроциклічні системи; 2-оксіндол; алкілювання; ацилювання; нітразування; антимікробна активність

Ye. I. Siumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, T. V. Shpychak, V. D. Horiachyi,
L. A. Shemchuk

National University of Pharmacy, Ukraine

Chemical transformations of new mono- and bis-derivatives of spiroindol-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole based on bis-maleiminides and the study of the microbiological activity of the compounds synthesized

Aim. To synthesize new derivatives based on hexamethylene(ethylene)-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole-2a,5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trions) and 1'-(*m*-phenylene-*N*-maleimidido)-2a',5a'-dihydro-1'*H*-spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trions by modifying the NH-group of the pyrrole moiety in position 4' (alkylation, acylation, nitrosation) and study their microbiological activity.

Results and discussion. The possibility of further chemical modification of the derivatives of hexamethylene(ethylene)-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trion) has been developed on the example of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrolo-5'-methyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trion), ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrolo-5'-isopropyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trion), hexamethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrolo-5'-benzyl-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trion) and 1'-(*m*-phenylene-*N*-maleimidido)-2a',5a'-dihydro-1'*H*-spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrolo-5'-methyl-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trion by modification of the NH-group of the pyrrole fragment in position 4' (nitrosation) or the NH-group of the indole fragment in position 1 (alkylation), or acylation at once in two positions. The structure of the compounds obtained has been reliably confirmed by instrumental methods. Data from the microbiological screening show a high biological effect of the compounds synthesized in relation to gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) and fungi (*Candida albicans*).

Experimental part. The synthesis of the initial and target compounds in classical preparative conditions was performed; instrumental methods for determining the structure of organic compounds, the agar diffusion method in the modification of wells were used.

Conclusions. The chemical modification of mono- and bis-derivatives of spiro-2-oxindole[3,3']pyrrole has been performed: new functionalized nitroso derivatives have been synthesized, the alkylation reaction has been performed, and the reaction of acylation has been studied. It has been shown that the acylation occurs immediately in two positions – by the secondary amino group of the pyrrole and indole fragments, while the alkylation proceeds by the indole fragment. The structure of the compounds obtained has been proven. The antimicrobial effect of the compounds synthesized has been studied.

Key words: bis-spirocyclic systems; 2-oxindole; alkylation; acylation; nitrosation; antimicrobial activity

Е. І. Сюмка, К. М. Сытник, Д. В. Левашов, Т. В. Шпичак, В. Д. Горячий, Л. А. Шемчук

Национальный фармацевтический университет, Украина

Химические превращения новых моно- и бис-производных спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррола на основе бис-малеинимидов и изучение микробиологической активности синтезированных соединений

Цель работы. Синтез новых производных на основе гексаметилен(этилен)-*N,N'*-бис(спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-2 α' ,5 α' -дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трионов) и 1'-(*m*-фенилен-*N*-малеинимидо)-2 α' ,5 α' -дигидро-1'*H*-спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-трионов модификацией NH-группы пиррольного фрагмента в положении 4' (алкилирование, ацилирование, нитрозирование) и изучение их микробиологической активности.

Результаты и их обсуждение. Разработаны пути дальнейшей химической модификации производных гексаметилен(этилен)-*N,N'*-бис(спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-2 α' ,5 α' -дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триона) на примере этилен-*N,N'*-бис(спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-5'-метил-2 α' ,5 α' -дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триона), этилен-*N,N'*-бис(спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-5'-изопропил-2 α' ,5 α' -дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триона), гексаметилен-*N,N'*-бис(спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-5'-бензил-2 α' ,5 α' -дигидро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триона) и 1'-(*m*-фенилен-*N*-малеинимидо)-2 α' ,5 α' -дигидро-1'*H*-спироиндол-3,3'-пирроло[3,4-с]пиррол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-триона модификацией NH-группы пиррольного фрагмента в положении 4' (нитрозирование) или NH-группы индольного фрагмента в положении 1 (алкилирование), или ацилирования сразу по двум положениям. Строение полученных соединений надежно подтверждено инструментальными методами. Данные микробиологического скрининга показывают высокую биологическую активность синтезированных соединений относительно грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) и грибов (*Candida albicans*).

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

Выводы. Проведена химическая модификация моно- и бис-производных спиро-2-оксиндол[3,3']пиррола: синтезированы новые функционализированные нитрозопроизводные, проведена реакция алкилирования и исследовано протекание реакции ацилирования. Показано, что ацилирование происходит одновременно в двух положениях: по вторичной аминогруппе пиррольного и индольного фрагментов, в то время как алкилирование происходило по индольному фрагменту. Доказано строение полученных соединений. Изучено противомикробное действие синтезированных соединений.

Ключевые слова: бис-спироциклические системы; 2-оксиндол; алкилирование; ацилирование; нитрозирование; антимикробная активность

Конденсовані гетероциклічні системи спіропіролооксіндолу та бис-спірооксіндолів є невичерпним джерелом біологічно активних сполук [1]. Ядро спірооксіндолу лежить в основі таких алкалоїдів як горсфілін (*Horsfildea Superba*) [2], гелсемін (*Gelsemium sempervirens*) [3], птероподин (*Uncaria tomentosa*) [4], спіротрипростатини А, В (*Aspergillus fumigatus*) [5] тощо, які виявляють антибактеріальну, протипухлинну, проти-запальну активність. Серед алкалоїдів знайдено також і похідні бис-спірооксіндолів, наприклад: гелеганідини В і С [6, 7] та гелеганіміни А і В (*Gelsemium elegans*) [8], що виявляють цитотоксичну, антибактеріальну, протизапальну та болезаспокійливу активність. З іншого боку, для багатьох синтетичних похідних спірооксіндолів встановлено наявність вираженої біологічної дії різної фармакологічної спрямованості – антивірусної [9], антибактеріальної [10], протипухлинної [11] тощо, а сама спірооксіндолгетероциклічна структура є зручним об'єктом для хімічної модифікації.

Одним зі шляхів створення нових похідних спірополучених піроло-2-оксіндолів є реакція 1,3-диполярного або [3+2]-циклопрієднання азометинілідів до різноманітних диполярофілів і вивчення

впливу подібних комбінувальних на прояв їх біологічної активності. Наявність у цих сполуках груп NH у складі піролідинового або 2-оксіндольного циклів дозволяє розглянути їх перетворення у реакціях нітрузування, алкілування, ацилювання, характерних для вторинних амінів. Тому, з метою подальшого розширення рядів біологічно активних речовин серед похідних спіропіролооксіндолів ми вирішили дослідити можливість хімічної модифікації раніше синтезованих нами похідних гексаметилен(етілен)-*N,N'*-бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) [12, 13] та 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α' ,5 α' -дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону [14], які виявили виражену антимікробну активність та вивчити антимікробні властивості синтезованих сполук по відношенню до стандартних тест-штамів мікроорганізмів для виявлення їх антимікробного потенціалу.

Експериментальна частина

Синтез вихідних гексаметилен-*N,N'*-бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **1**; етилен-*N,N'*-бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2**, етилен-*N,N'*-

bis(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-ізопропіл-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **3**, етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **9**, 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **7**, 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **11** та їх хімічна структура і біологічна активність описані нами раніше [12–15]. Вихідні натрій нітрит, етилбромід, ацетатний та пропіоновий ангідриди були отримані з комерційних джерел і використовувались без додаткової очистки.

Значення температур плавлення одержано на апараті Галленкампа (модель MFB-595) у відкритих капілярах. Спектри ^1H ЯМР були записані на спектрометрі Varian WXR (400 МГц) у ДМСО- d_6 з використанням ТМС як внутрішнього стандарту (хімічний зсув, м. ч.). Елементний аналіз проводили на аналізаторі Carlo Erba CHNS-O EA 1108. ІЧ-спектри були записані на спектрометрі Brucker Tensor 27 FT-IR у межах 400–4000 cm^{-1} у таблетках КВг, концентрація речовин – 1%.

Загальна методика синтезу симетричних похідних етилен(гексаметилен)-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*, 1'*H*,5'*H*)-тріону) **4–6.** Похідні етилен(гексаметилен)-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **1–3** по 0,001 моль відповідно розчиняли при нагріванні в 50 мл ацетатної кислоти. Розчин охолоджували до 10 °С та додавали 0,004 моль натрій нітриту і залишали на 12 годин. До суміші додавали 150 мл води, одержаний осад відфільтровували, промивали водою та перекристалізували з води.

Методика синтезу 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрозо-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **8.** 0,44 г (0,001 моль) 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-метил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **7** розчиняли в 20 мл ацетатної кислоти. Отриманий розчин охолоджували до 10 °С і додавали 0,15 г (0,004 моль) натрій нітриту. Реакційну суміш залишали на 12 годин, потім розводили 100 мл води. Отриманий осад відфільтровували та перекристалізували з води.

Методика синтезу етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1-етил-5'-феніл-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **10.** 0,7 г (0,001 моль) Етилен-*N,N'*-*bis*(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-феніл-2 α ,5 α '-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **9** розчиняли в 2 мл ДМФА; додавали 0,56 г (0,004 моль) K_2CO_3 . Суміш перемішували при 50 °С впродовж 30 хвилин; давали охолонути при кімнатній температурі та додавали

0,3 мл (0,004 моль) етилброміду. Суміш перемішували за кімнатної температури впродовж 5 годин, а потім ще одну годину при нагріванні до 50 °С. Реакційну суміш виливали на лід, осад, що утворився, фільтрували та перекристалізували з суміші *i*-PrOH– H_2O (1:1).

Загальна методика синтезу 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-1,4'-діацетил(дипропіоніл)-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріонів **12, 13.** 0,52 г (0,001 моль) 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α ,5 α '-дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону **11** розчиняли у 3 мл ацетатного або пропіонового ангідриду та кип'ятили впродовж 10 хвилин або однієї години відповідно, а потім виливали на лід. Осад, що утворювався, відфільтровували та перекристалізували із суміші *i*-PrOH– H_2O –ДМФА (3:1:1).

Вивчення антимікробної активності

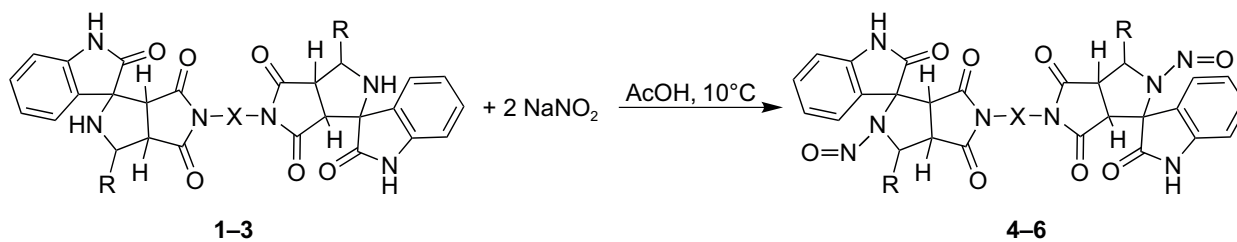
Мікробіологічний експеримент проводили на базі Державної установи «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України». Згідно з рекомендаціями ВООЗ [16] та МОЗ України [17] як тест-мікроорганізми використовували еталонні штами із типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653.

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

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

Дослідження проводили на двох шарах щільного поживного середовища. В лунки у чашках Петрі поміщали досліджувані речовини з урахуванням їх об'єму (0,25–0,3 мл). Чашки підсушували впродовж 30–40 хвилин за кімнатної температури та витримували в термостаті впродовж 18–24 годин за температури 37 °С.

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



4 X = (CH₂)₆; R = Bn

5, 6 X = (CH₂)₂; 5 R = CH₃; 6 R = i-Pr

Схема 1

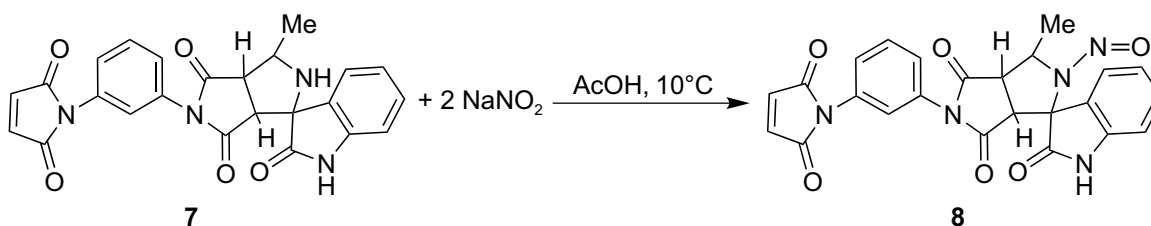


Схема 2

Результати та їх обговорення

Синтезовані нові симетричні нітрозопохідні гексаметилен(етилен)-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрито-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) 4–6 (схема 1) та несиметричний 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2 α' ,5 α' -дигідро-1'*H*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрито-5'-метил-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріон 8 (схема 2).

Порівняння ІЧ-спектрів сполук 1–3, 7 та 4–6, 8 дало змогу легко виявити нітрозогрупи у синтезованих сполуках (рис. 1–2). Сигнал валентних коливань N=O зв'язків помірної інтенсивності спостерігається близько 1430 см⁻¹ (табл. 1).

Будову і склад одержаних сполук доведено також методом ¹H ЯМР-спектроскопії (табл. 2) та елемен-

тним аналізом (табл. 3). Приклад ¹H ЯМР-спектра синтезованих нітрозосполук наведено на рис. 3.

Далі ми вирішили провести алкілювання біс-похідного етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу на прикладі сполуки 9 (схема 3). Взаємодія сполуки 9 з надлишком етилброміду у присутності K₂CO₃ приводила до утворення продукту 10 з виходом 82%, алкілювання проводили без нагрівання, за даних умов реакція відбувалась за індольними N¹-фрагментами біс-сполуки. В результаті нами було отримане біс-похідне етилен-*N,N'*-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу з двома фенільними та двома алкільними залишками 10. Пірольні фрагменти біс-сполуки за даних умов не алкілювались. Про це свідчать дані ¹H ЯМР-спектроскопії (табл. 2).

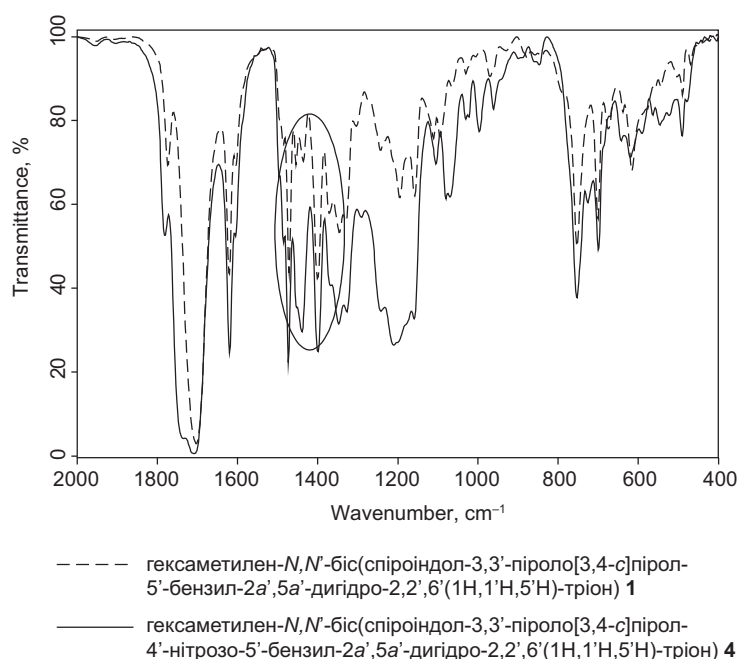


Рис. 1. ІЧ-спектри гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-5'-бензил-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) 1 та гексаметилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]пірол-4'-нітрито-5'-бензил-2 α' ,5 α' -дигідро-2,2',6'-(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) 4

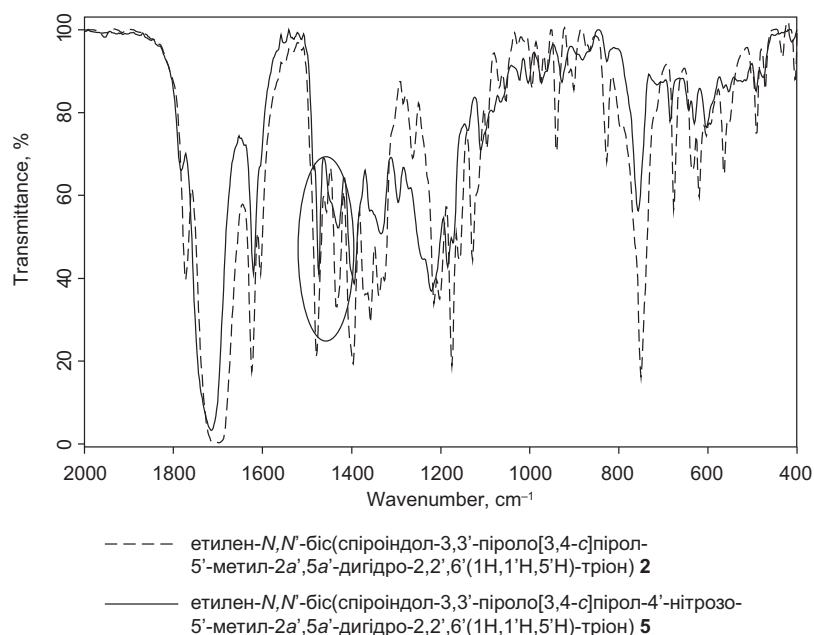


Рис. 2. ІЧ-спектри етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-метил-2*a'*,5*a'*-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **2** та етилен-*N,N'*-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітросо-5'-метил-2*a'*,5*a'*-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **5**

Таблиця 1

Характеристичні частоти поглинання в ІЧ-спектрах сполук **1–8**

Сполука	ІЧ, см ⁻¹ , віднесення					
	ν_{NH}	$\nu_{\text{CH(аром)}}$	$\nu_{\text{CH(аліф)}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{N=O}}$	$\nu_{\text{C=C(аром)}}$
1	3325	3062, 3029	2940, 2862	1702	–	1620, 1453
4	3365	3062, 3030	2941, 2861	1708	1439	1619, 1473
2	3269, 3177	3030	2933, 2870	1703	–	1624, 1473
5	3362	3030	2947, 2853	1715	1430	1620,
3	3298, 3146	3086, 3036	2964, 2870	1712	–	1603, 1474
6	3363	3030	2969, 2880, 2940	1782, 1717	1435	1620,
7	3472, 3329	3096	2971, 2934, 2881	1779, 1714	–	1620, 1603
8	3364	3090	2990	1721	1437	1617

Таблиця 2

Дані ¹H ЯМР-спектрів синтезованих сполук **4–6, 8, 10, 12, 13**

Сполука	¹ H ЯМР-спектр (δ, м.ч., J, Гц)
4	1,17 (4H, с, (N–CH ₂ –CH ₂ –CH ₂) ₂), 1,35 (4H, м, (N–CH ₂ –CH ₂ –CH ₂) ₂), 3,19–3,10 (2H, м, CH ₂ Ph), 3,29–3,20 (4H, м, (N–CH ₂ –CH ₂ –CH ₂) ₂), 3,71 (2H, д, J = 9,2 Гц, 5'-H), 3,81–3,73 (2H, м, CH ₂ –Ph), 4,27 (2H, т, J = 9,3 Гц, 5 <i>a'</i> -H), 5,59 (2H, дд, J = 14,7 Гц, J = 8,5 Гц, 2 <i>a'</i> -H), 6,75 (2H, д, J = 7,5 Гц, Ar-H), 6,85 (4H, т, J = 7,4 Гц, Ar-H), 7,28–7,09 (8H, м, Ar-H), 7,33 (4H, д, J = 7,1 Гц, Ar-H), 10,93 (2H, с, 2×NH)
5	1,82 (6H, д, J = 6,6 Гц, 2×CH ₃), 3,19 (2H, м, CH ₂ –CH ₂), 3,41 (2H, м, CH ₂ –CH ₂), 3,67 (2H, м, 2×5'-H), 4,26–4,02 (2H, дд, J = 21,0 Гц, J = 9,6 Гц, 2×5 <i>a'</i> -H), 5,30 (2H, м, 2×2 <i>a'</i> -H), 6,92–6,57 (6H, м, Ar-H), 7,32–7,06 (2H, т, Ar-H), 10,95 (2H, с, 2×NH)
6	1,04 (6H, м, 2×CH ₃ –CH–CH ₃), 1,20 (6H, м, 2×CH ₃ –CH–CH ₃), 2,81 (2H, м, 2×CH ₃ –CH–CH ₃), 3,17 (2H, м, CH ₂ –CH ₂), 3,47–3,34 (2H, м, CH ₂ –CH ₂), 3,61 (2H, м, 2×5'-H), 4,18 (2H, м, 2×5 <i>a'</i> -H), 5,18–4,98 (2H, м, 2×2 <i>a'</i> -H), 6,56 (2H, дд, J = 11,1 Гц, J = 7,7 Гц, Ar-H), 6,91–6,65 (4H, м, Ar-H), 7,20 (2H, т, J = 7,6 Гц, Ar-H), 10,91 (2H, с, 2×NH)
8	1,98–1,77 (3H, м, CH ₃), 3,80 (1H, д, J = 9,4 Гц, 5'-H), 4,52–4,30 (1H, м, 5 <i>a'</i> -H), 5,56–5,30 (1H, м, 2 <i>a'</i> -H), 6,79–6,68 (1H, м, Ar-H), 7,00–6,80 (3H, м, Ar-H+2H _{малеїнімід}), 7,15 (2H, м, Ar-H), 7,43–7,22 (2H, м, Ar-H), 7,73–7,44 (2H, м, Ar-H), 10,98 (1H, с, NH)
10	1,14 (6H, т, J = 7,1 Гц, 2×CH ₂ –CH ₃), 3,21 (2H, дд, J = 16,8 Гц, J = 7,8 Гц, 2×NH), 3,50–3,33 (4H, м, CH ₂ –CH ₃), 3,72–3,54 (6H, м, CH ₂ –CH ₂ +2×5 <i>a'</i> -H), 4,08 (2H, с, 2×2 <i>a'</i> -H), 5,43–5,33 (2H, м, 2×5'-H), 6,98 (6H, м, Ar-H), 7,20 (6H, м, Ar-H), 7,29 (6H, м, Ar-H)
12	1,21 (3H, с, CH ₃), 2,61 (3H, с, CH ₃), 2,82 (1H, д, J = 61,8 Гц, 5'-H), 3,14 (1H, дд, J = 23,2 Гц, J = 13,6 Гц, 5 <i>a'</i> -H), 4,47–4,07 (2H, м, CH ₂ –Ph), 5,17 (1H, м, 2 <i>a'</i> -H), 7,50–7,07 (12H, м, Ar-H+2H _{малеїнімід}), 7,74–7,50 (2H, м, Ar-H), 8,17 (1H, д, J = 7,9 Гц, Ar-H)
13	0,48 (3H, м, CH ₂ –CH ₃), 1,05–0,95 (1H, м, 5'-H), 1,10 (3H, м, CH ₂ –CH ₃), 1,89 (1H, м, 5 <i>a'</i> -H), 3,19–2,83 (4H, м, CH ₂ –CH ₃), 4,40–4,02 (2H, м, CH ₂ –Ph), 5,14 (1H, с, 2 <i>a'</i> -H), 7,46–7,10 (11H, м, Ar-H+2H _{малеїнімід}), 7,66–7,47 (3H, м, Ar-H), 8,17 (1H, м, Ar-H)

Таблиця 3

Виходи, температури плавлення та результати елементного аналізу синтезованих сполук **4–6, 8, 10, 12, 13**

Сполука	Вихід, %	Т. пл., °C	Знайдено, %			Брутто-формула	Розраховано, %		
			C	H	N		C	H	N
4	80	170–172	66,21	5,09	13,45	C ₄₆ H ₄₂ N ₈ O ₈	66,18	5,07	13,42
5	88	298–300	57,52	4,16	17,91	C ₃₀ H ₂₆ N ₈ O ₈	57,51	4,18	17,88
6	63	205–206	59,84	5,04	16,42	C ₃₄ H ₃₄ N ₈ O ₈	59,82	5,02	16,41
8	89	260–262	61,16	3,65	14,87	C ₂₄ H ₁₇ N ₅ O ₆	61,15	3,63	14,86
10	82	180–182	69,71	5,03	11,68	C ₄₂ H ₃₆ N ₆ O ₆	69,99	5,03	11,66
12	90	210–212	67,75	4,36	9,32	C ₃₄ H ₂₆ N ₄ O ₇	67,77	4,35	9,30
13	91	168–170	68,58	4,77	8,90	C ₃₆ H ₃₀ N ₄ O ₇	68,56	4,79	8,88

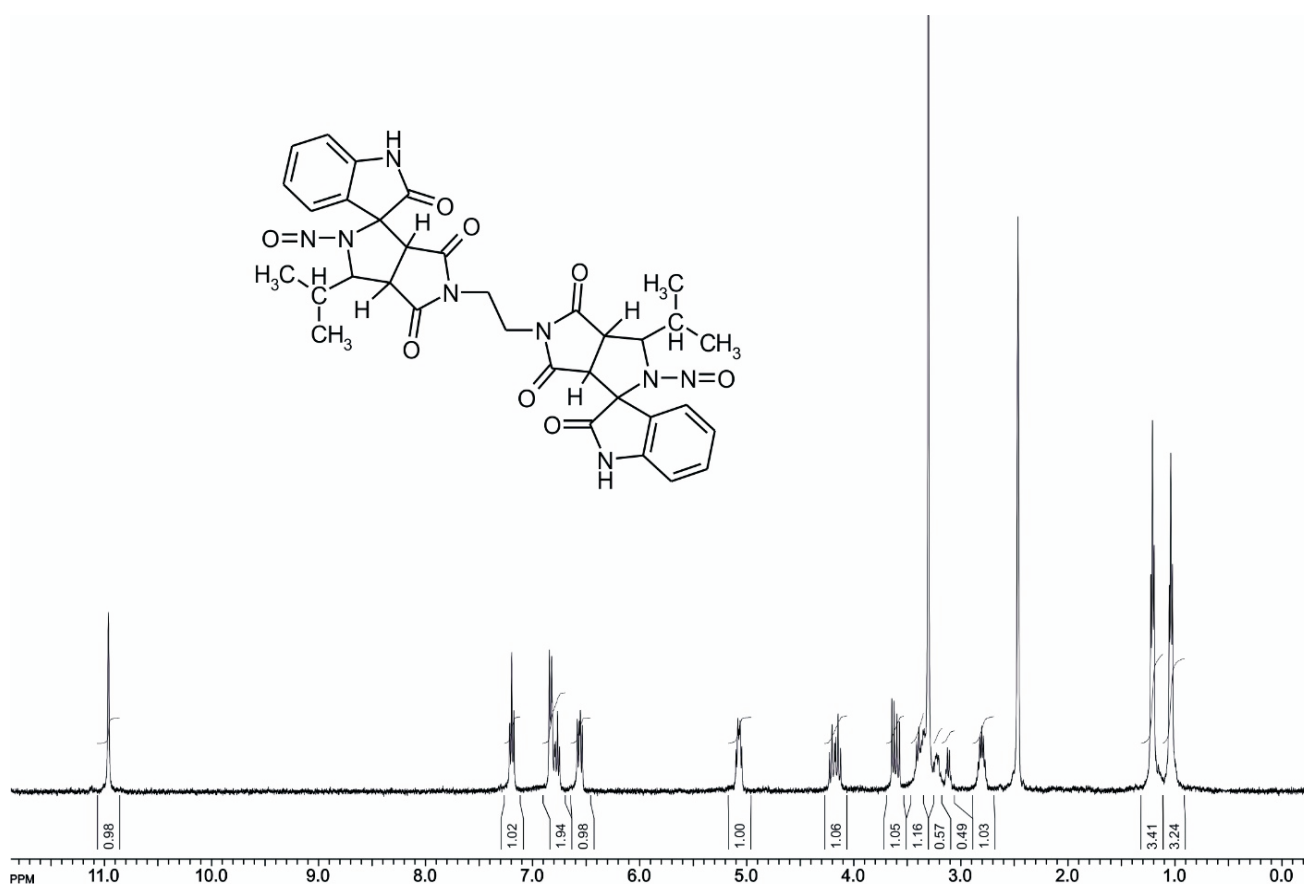


Рис. 3. ¹H ЯМР-спектр етилен-*N,N'*-бис(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітросо-5'-ізопропіл-2*a*',5*a*'-дигідро-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-тріону) **6**

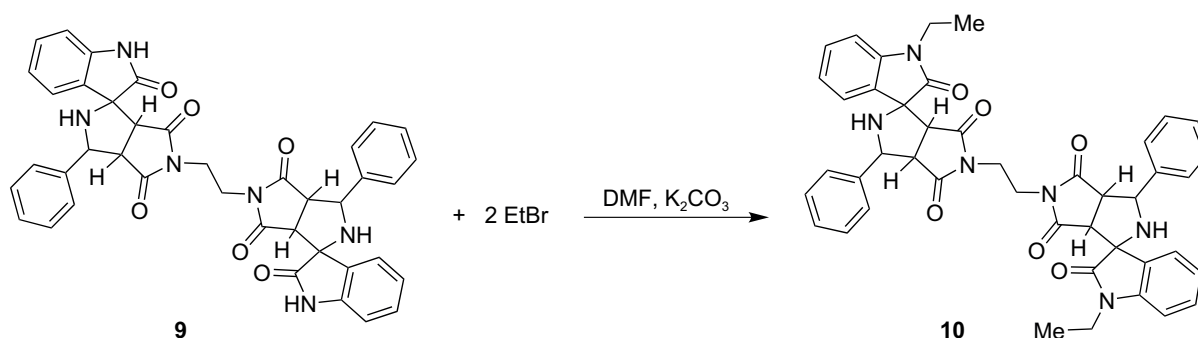


Схема 3

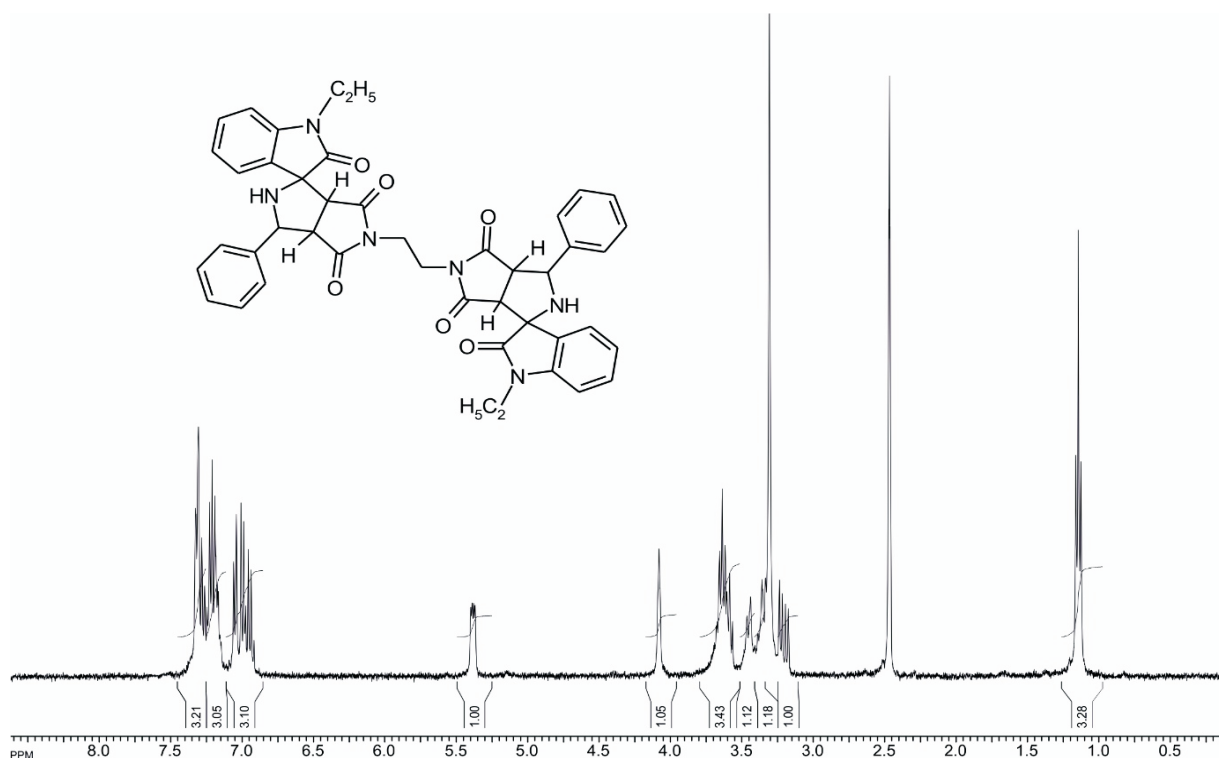


Рис. 4. ^1H ЯМР-спектр етилен- N,N' -біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1-етил-5'-феніл-2а',5а'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріону) **10**

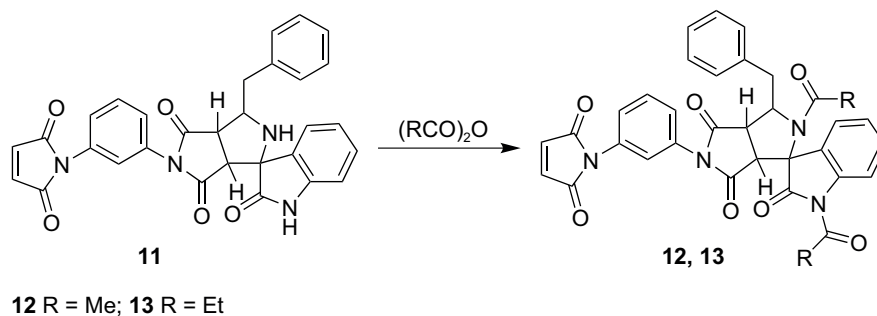
У спектрі сполуки **10** (рис. 4) з'являються сигнали алкільних залишків у вигляді відповідних мультиплетів з подвійною інтегральною інтенсивністю. Це свідчить про перебіг реакції лише за одним реакційним центром. Відсутність сигналу NH-протону оксіндольного циклу близько 10 м. ч. і наявність сигналу NH-протону пірольного циклу близько 3,3 м. ч. переконливо доводить напрямок реакції. На нашу думку селективне алкілювання за оксіндольним фрагментом можна пояснити додаванням K_2CO_3 та можливими стеричними перешкодами для алкілювання пірольного фрагменту.

Проведено ацилювання 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'Н-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-5'-бензил-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріону **11** та отримано 1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'Н-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-1,4'-діацетил-5'-бензил-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріони **12** або **13** з високими виходами – 90 % та 91 % відповідно (схема 4). Ацилювання відбувалось одразу за двома положеннями: по вторинній

аміногрупі пірольного та індольного фрагментів (табл. 2, 3).

Результати дослідження антибактеріальних властивостей синтезованих сполук проти різних типів бактерій (грампозитивних та грамнегативних) і грибів *Candida albicans* подано у табл. 4.

Нові хімічно модифіковані похідні моно- та біс-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу **4–6**, **8**, **10**, **12**, **13** проявили широкий спектр антимікробної активності. Усі мікроорганізми виявили чутливість до синтезованих сполук. Так, зони затримки росту *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* у даному експерименті були у середньому на рівні референс-препарату Synthomycine. Зони затримки росту грибів *Candida albicans* виявились у середньому на 6 мм більшими, ніж для препарату порівняння Metronidazole. Найактивнішою виявилась сполука **8** – мононітрозопохідне (1'-(*m*-фенілен-*N*-малеїнімідо)-2а',5а'-дигідро-1'Н-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрузо-5'-метил-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріон, яка показала активність



Таблиця 4

Антимікробна активність синтезованих сполук 4–6, 8, 10, 12, 13

Сполука	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм ($n = 3$)					
	Грамположитивні бактерії		Грамнегативні бактерії			Гриби
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>
4	20 ± 0,58	19 ± 0,15	18 ± 0,65	19 ± 0,98	21 ± 0,23	20 ± 0,32
5	20 ± 0,17	20 ± 0,38	20 ± 0,56	20 ± 0,42	20 ± 0,67	21 ± 0,27
6	23 ± 0,19	20 ± 0,19	17 ± 0,50	18 ± 0,51	21 ± 0,88	20 ± 0,18
8	24 ± 1,15	19 ± 0,21	17 ± 0,57	21 ± 0,19	24 ± 0,45	21 ± 0,34
10	21 ± 0,11	19 ± 0,19	21 ± 0,58	19 ± 0,23	23 ± 0,57	21 ± 0,87
12	20 ± 0,51	18 ± 0,17	19 ± 1,10	19 ± 0,45	20 ± 0,54	20 ± 0,90
13	21 ± 0,56	19 ± 0,52	21 ± 0,53	20 ± 0,35	21 ± 0,33	20 ± 0,45
Контроль	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Streptomycine	20 ± 0,55	21 ± 0,37	21 ± 0,24	21 ± 0,35	21 ± 0,51	0
Metronidazole	14 ± 0,46	16 ± 0,67	14 ± 0,35	0	0	14 ± 0,34

вищу, ніж у препаратів порівняння стосовно грам-положитивних бактерій *Staphylococcus aureus*, грам-негативних бактерій *Proteus vulgaris* та грибів *Candida albicans*.

Висновки

Проведено хімічну модифікацію моно- та біс-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу: синтезовано нові функціоналізовані нітрозопохідні, про-

ведено реакцію алкілування та досліджено перебіг реакції ацилювання. Показано, що ацилювання відбувається одразу за двома положеннями: по вторинній аміногрупі пірольного та індольного фрагментів, в той час як алкілування перебігало по індольному фрагменту. Доведено будову отриманих сполук. Вивчено антимікробну дію синтезованих сполук.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

- Ball-Jones, N. R. Strategies for the enantioselective synthesis of spirooxindoles / R. B. Ball-Jones, J. J. Badillo, A. K. Franz // Org. Biomol. Chem. – 2012. – Vol. 10, Issue 27. – P. 5165–5181. <https://doi.org/10.1039/c2ob25184a>
- Horsfieldine, an oxindole alkaloid from *Horsfieldia superba* / A. Jossang, P. Jossang, H. A. Hadi et al. // J. Org. Chem. – 1991. – Vol. 56, Issue 23. – P. 6527–6530. <https://doi.org/10.1021/jo00023a016>
- Steroids, alkaloids, and coumarins from *Gelsemium sempervirens* / Z. Zhang, P. Wang, W. Yuan, S. Li // Planta Med. – 2008. – Vol. 74, Issue 15. – P. 1818–1822. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088327>
- Pteropodine and isopteropodine positively modulate the function of rat muscarinic M₁ and 5-HT₂ receptors expressed in *Xenopus* oocyte / T.-H. Kang, K. Matsumoto, M. Tohda et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 444, Issue 1–2. – P. 39–45. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(02\)01608-4](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(02)01608-4)
- Cui, C.-B. Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins A and B, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G₂/M phase / C.-B. Cui, H. Takeya, H. Osada // Tetrahedron. – 1996. – Vol. 52, Issue 39. – P. 12651–12666. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(96\)00737-5](https://doi.org/10.1016/0040-4020(96)00737-5)
- Geleganidines A–C, unusual monoterpenoid indole alkaloids from *Gelsemium elegans* / W. Zhang, X.-J. Huang, S.-Y. Zhang et al. // J. Nat. Prod. – 2015. – Vol. 78, Issue 8. – P. 2036–2044. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00351>
- Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from *N*-methylisatin and methyl propiolate / S. Y. Kim, H. J. Roh, D. Y. Seo et al. // Tetrahedron Lett. – 2017. – Vol. 58, Issue 10. – P. 914–918. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.01.055>
- Bisindole alkaloids with neural anti-inflammatory activity from *Gelsemium elegans* / J. Qu, L. Fang, X.-D. Ren et al. // J. Nat. Prod. – 2013. – Vol. 76, Issue 12. – P. 2203–2209. <https://doi.org/10.1021/np4005536>
- Synthesis, characterization and biological activity of novel spiroheterocycles from isatin derivatives / P. Ramu, T. A. P. Arul, S. M. Vithiyac, S. A. Arul // Der Pharma Chem. – 2014. – Vol. 6, Issue 4. – P. 30–36.
- Catalytic asymmetric synthesis of spirooxindoles by a Mannich-type reaction of isothiocyanato oxindoles / S. Kato, T. Yoshino, M. Shibasaki et al. // Angew. Chem. – 2012. – Vol. 124, Issue 28. – P. 7113–7116. <https://doi.org/10.1002/ange.201203005>
- Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from *N*-methylisatin and methyl propiolate / S. Y. Kim, H. J. Roh, D. Y. Seo, // Tetrahedron Lett. – 2017. – Vol. 58, Issue 10. – P. 914–918. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.01.055>
- Synthesis and antimicrobial activity of bis-derivatives of 3*a*,6*a*-dihydro-2*H*-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole]-2,4',6'(1*H*,3'*H*,5'*H*)-trione / R. G. Redkin, E. I. Syumka, L. A. Shemchuk, V. P. Chernykh // J. App. Pharm. Sci. – 2017. – Vol. 7, Issue 06. – P. 069–078. <https://doi.org/10.7324/japs.2017.70610>
- Дослідження трикомпонентної взаємодії між ізатином, α -амінокислотами і *N,N'*-ди(3-карбоксипропеноїл)-1,2-етилендіаміном та встановлення будови одержаних сполук / Є. І. Сюмка, Л. А. Шемчук, В. П. Черних, Р. Г. Редькін // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2018. – Т. 16, вип. 1 (61). – С. 34–41. <https://doi.org/10.24959/ophcj.18.932>
- Synthesis and chemical transformations of *m*-phenylene-*N*-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole / Ye. I. Syumka, K. M. Sytnik, D. V. Levashov, L. A. Shemchuk // Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov: book of abstracts of 8th International Conference, 12–16 November, 2018, Kharkov. – Kharkiv: Ekskluziv, 2018. – P. 145.
- The study of the antimicrobial activity of ethylene-*N,N'*-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-*c*]pyrrole-2*a*',5*a*'-dihydro-2,2',6'(1*H*,1'*H*,5'*H*)-trione) derivatives / Ye. I. Syumka, T. P. Osolodchenko, V. P. Chernykh, L. A. Shemchuk // Вісн. фармації. – 2018. – № 2 (94). – P. 57–62. <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2202>

16. Balouiri, M. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review / M. Balouiri, M. Sadiki, S. K. Ibsouda // J. Pharm. Anal. – 2016. – Vol. 6, Issue 2. – P. 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jppha.2015.11.005>
17. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек. МОЗ України / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов та ін. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2004. – 38 с.
18. Coyle, M. B. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing / M. B. Coyle. – Washington: American Society for Microbiology, 2005. – P. 236.

References

1. Ball-Jones, N. R., Badillo, J. J., & Franz, A. K. (2012). Strategies for the enantioselective synthesis of spirooxindoles. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10 (27), 5165–5181. <https://doi.org/10.1039/c2ob25184a>
2. Jossang, A., Jossang, P., Hadi, H. A., Sevenet, T., Bodo, B. (1991). Horsfiline, an oxindole alkaloid from *Horsfieldia superba*. *The Journal of Organic Chemistry*, 56 (23), 6527–6530. <https://doi.org/10.1021/jo00023a016>
3. Zhang, Z., Wang, P., Yuan, W., & Li, S. (2008). Steroids, alkaloids, and coumarins from *Gelsemium sempervirens*. *Planta Medica*, 74 (15), 1818–1822. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088327>
4. Kang, T.-H., Matsumoto, K., Tohda, M., Murakami, Y., Takayama, H., Kitajima, M., Aimi, N., Watanabe, H. (2002). Pteropodine and isopteropodine positively modulate the function of rat muscarinic M1 and 5-HT₂ receptors expressed in *Xenopus* oocyte. *European Journal of Pharmacology*, 444 (1–2), 39–45. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(02\)01608-4](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(02)01608-4)
5. Cui, C.-B., Kakeya, H., Osada, H. (1996). Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins A and B, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G2/M phase. *Tetrahedron*, 52 (39), 12651–12666. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(96\)00737-5](https://doi.org/10.1016/0040-4020(96)00737-5)
6. Zhang, W., Huang, X.-J., Zhang, S.-Y., Zhang, D.-M., Jiang, R.-W., Hu, J.-Y., Zhang, X.-Q., Ye, W.-C. (2015). Geleganidines A–C, unusual monoterpenoid indole alkaloids from *Gelsemium elegans*. *Journal of Natural Products*, 78 (8), 2036–2044. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00351>
7. Kim, S. Y., Roh, H. J., Seo, D. Y., Ryu, J. Y., Lee, J., Kim, J. N. (2017). Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from N-methylisatin and methyl propiolate. *Tetrahedron Letters*, 58 (10), 914–918. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.01.055>
8. Qu, J., Fang, L., Ren, X.-D., Liu, Y., Yu, S.-S., Li, L., Bao, X.-Q., Zhang, D., Li, Y., Ma, S.-G. (2013). Bisindole alkaloids with neural anti-inflammatory activity from *Gelsemium elegans*. *Journal of Natural Products*, 76 (12), 2203–2209. <https://doi.org/10.1021/np4005536>
9. Ramu, P., Arul, T. A. P., Vithiyac, S. M., Arul, S. A. (2014). Synthesis, characterization and biological activity of novel spiroheterocycles from isatin derivatives. *Der Pharma Chemica*, 6 (4), 30–36.
10. Kato, S., Yoshino, T., Shibasaki, M., Kanai, M., Matsunaga, S. (2012). Catalytic asymmetric synthesis of spirooxindoles by a Mannich-type reaction of isothiocyanato oxindoles. *Angewandte Chemie*, 124 (28), 7113–7116. <https://doi.org/10.1002/ange.201203005>
11. Kim, S. Y., Roh, H. J., Seo, D. Y., Ryu, J. Y., Lee, J., Kim, J. N. (2017). Base-catalyzed one-pot synthesis of dispiro-1,3-dioxolane bisoxindoles from N-methylisatin and methyl propiolate. *Tetrahedron Letters*, 58 (10), 914–918. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.01.055>
12. Redkin, R. G., Syumka, E. I., Shemchuk, L. A., Chernykh, V. P. (2017). Synthesis and antimicrobial activity of bis-derivatives of 3a',6a'-dihydro-2'H-spiro[indole-3,1'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole]-2,4',6'(1H,3'H,5'H)-trione. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7 (6), 069–078. <https://doi.org/10.7324/japs.2017.70610>
13. Syumka, Y. I., Shemchuk, L. A., Chernykh, V. P., Redkin, R. G. (2018). The study of the three-component interaction between isatin, α -amino acids and N,N'-di(3-carboxypropenoyl)-1,2-ethylenediamine and determination of the structure of the compounds obtained. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*, 16 (61), 34–41. <https://doi.org/10.24959/ophcj.18.932>
14. Syumka, Ye. I., Sytnik, K. M., Levashov, D. V., Shemchuk, L. A. (2018). Synthesis and chemical transformations of m-phenylene-N-maleimide derivatives of spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov: book of abstracts of 8th International Conference, 12–16 November, 2018*. Kharkiv: Ekskluziv, 2018, 145.
15. Syumka, Y. I., Osolodchenko, T. P., Chernykh, V. P., Shemchuk, L. A. (2018). The study of the antimicrobial activity of ethylene-N,N'-bis(spiroindole-3,3'-pyrrolo[3,4-c]pyrrole-2a',5a'-dihydro-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-trione) derivatives. *News of Pharmacy*, 2 (94), 57–62. <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2202>
16. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6 (2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jppha.2015.11.005>
17. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., Shyrobokov V. P. (2004). *Vyvchennia spetsyficnoi aktyvnosti protymikrobnykh likarskykh zasobiv*. Kyiv, 38.
18. Coyle, M. B. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Washington: American Society for Microbiology, 236.

Надійшла до редакції 18.09.2019 р.