

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК З ПІРИДИНОВИМ ФРАГМЕНТОМ

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК З ПІРИДИНОВИМ ФРАГМЕНТОМ – Проведено пошук сполук з протимікробною активністю в рядах гетероциклічних речовин, що вміщують біля гетероатому азоту залишки піридину. Первинний мікробіологічний скринінг 76 нових синтетичних сполук дозволив відібрати для подальшого поглибленого вивчення 5 речовин. Мінімальна бактериостатична концентрація гетероциклічних похідних піридину щодо грампозитивних мікробів знаходиться в межах 0,5–31,2 мкг/мл, грамотригативних – від 7,8 до 125,0 мкг/мл. Зазначено гостру та хронічну токсичність окремих сполук нового синтезу.

ПРОТИМІКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПИРИДИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ – Проведен поиск соединений с противомикробной активностью в рядах гетероциклических веществ, содержащих около гетероатома азота остатки пиридина. Первичный микробиологический скрининг 76 новых синтетических соединений позволил отобрать для дальнейшего углубленного изучения 5 веществ. Минимальная бактериостатическая концентрация гетероциклических производных пиридина относительно грамположительных микробов находится в пределах 0,5–31,2 мкг/мл, грамотрицательных – от 7,8 до 125,0 мкг/мл. Указанна острая и хроническая токсичность отдельных соединений нового синтеза.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND PHARMACOLOGICAL ACTION OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS PYRIDINE FRAGMENT – A search for compounds with antimicrobial activity in the rows of heterocyclic compounds containing nitrogen heteroatoms residues of pyridine was conducted. Primary microbiological screening of 76 new synthetic compounds led to the identification of further in-depth study of five substances. Minimum bacteriostatic concentration of heterocyclic derivatives of pyridine regarding gram positive bacteria is within 0,5–31,2 ug / ml gram fregative from 7.8 to 125.0 mg / ml. Acute and chronic toxicity of the individual compounds of a new synthesis was determined.

Ключові слова: гетероциклічні похідні піридину, протимікробна активність, гостра та хронічна токсичність.

Ключевые слова: гетероциклические производные пиридина, противомикробная активность, острая и хроническая токсичность.

Key words: heterocyclic pyridine derivatives, antimicrobial activity, acute and chronic toxicity.

ВСТУП В останні десятиліття в Україні, як і у більшості країн світу, захворюваність на інфекції і гнійно-запальні хвороби реєструється на високому рівні й не має тенденції до зниження. Боротьба з ними залишається однією з найважливіших проблем медичної науки і практики. За даними ВООЗ, інфекційні хвороби та їх ускладнення посідають третє місце в структурі захворюваності, смертності та інвалідизації [1–3].

Екологічні та економічні проблеми, низький рівень соціального захисту більшості населення України призвели до зниження природної резистентності та компенсаторних можливостей імунної системи значної частини популяції. Починаючи з другої половини ХХ

ст. і на сьогодні, провідна роль в лікуванні цих хвороб належить антибіотикам, однак прогресуюча резистентність зумовлює зниження їх ефективності [4]. Інфекції, викликані резистентними штамми, відрізняються тривалим перебігом, збільшують тривалість перебування хворих на лікарняному ліжку, погіршують прогноз для пацієнтів [5]. Всесвітній консультативний орган з проблем стійкості до антибіотиків (GAARD) рекомендує підтримувати національні й міжнародні дослідження з визначення частоти випадків стійкості до протимікробних засобів й розробку нових хіміотерапевтичних препаратів з новими механізмами дії для лікування інфекційних захворювань, які викликані резистентними бактеріями [6].

Вищезазначене приводить до необхідності пошуку синтетичних лікарських субстанцій з новою структурою або з новим механізмом дії. Особливої уваги в цьому плані заслуговують нові гетероциклічні системи на основі нітрогеновмісних структур, які мають всі підстави розглядатися як джерело перспективних молекул для прикладних досліджень в медичній і фармацевтичній галузі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Для вивчення протимікробної активності гетероциклічних похідних піридину обрано еталонні тест-штами мікроорганізмів відповідно до існуючих методичних рекомендацій з вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів (Київ, 2004). Музейні та клінічні штами мікроорганізмів виявили типові морфологічні. Тинкторіальні та культуральні властивості, вони депоновані в Музеї мікроорганізмів ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України”. Поживні середовища для культивування мікроорганізмів готували згідно з існуючими методичними розробками, нормативами і рекомендаціями (наказ МОЗ України № 167 “Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів” від 05.04.2007).

В якості контролю протимікробної активності сполук щодо досліджуваних штамів мікроорганізмів було застосовано антибактеріальний препарат “Невіграмон” – похідне налідиксової кислоти (аналог за структурою та дією) – контроль “1” (K1), для контролю протигрибкової активності – субстанції флуконазолу – контроль “2” (K2) та ністатину – контроль “3” (K3). Додатково контролювали якість поживних середовищ та чистоту мікробних культур.

Адгезивні властивості грибів роду *Candida* вивчали з використанням формалізованих еритроцитів людини 0(I) Rh(+) групи крові за методом В. І. Бріліса (1986). Вплив на адгезивні властивості грибів роду *Candida* найбільш активних сполук ряду 2Н-пірано[2,3-с]піридину вивчали згідно з методичними рекомендаціями Адгезивні властивості мікроорганізмів та методи їх визначення (Київ, 2009). У виготовлених мазках-препаратах розраховували індекс адгезивності (ІА).

Експериментальним шляхом виключено вплив розчинника ДМФА на адгезивні властивості досліджених штамів грибів роду *Candida*.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснено з використанням загальноприйнятих комп'ютерних програм "Microsoft Office Excel 2003" та "Biostat".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Наведено дані протимікробної активності шести рядів 2Н-пірано[2,3-с]піридину по відношенню до музейних та клінічних штамів мікроорганізмів. Враховуючи масив сполук, які вивчають (117), дослідження проведено у два етапи. На першому етапі проводили скринінг із застосуванням стандартного набору еталонних тест-штамів як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій (*S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633), що належать до основних клінічно значущих груп збудників інфекційних та гнійно-запальних захворювань людини, і визначали найбільш активні сполуки. Протигрибкову дію вивчали на тест-культури дріжджоподібного гриба роду *Candida* – музейному тест-штамі *C. albicans* ATCC 885-653. Результати враховували за відсутністю видимого росту мікроорганізму в останній пробірці, що відповідає мінімальній інгібуючій концентрації (МІК). Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК) з трьох останніх пробірок ряду здійснювали висів 0,1 мл бульйону з хімічною речовиною і вивчаємим мікроорганізмом на чашки Петрі з щільним поживним середовищем (МПА, Сабуро та ін.). На другому етапі для поглибленого вивчення протимікробної дії щодо розширеного спектра музейних та клінічних штамів мікроорганізмів відібрано сполуки, які виявили високу протимікробну та протигрибкову активність.

При дослідженні протистафілококової активності 2Н-пірано[2,3-с]піридину встановлено, що найбільшу активність відносно *S. aureus* ATCC 29213 проявили сполуки групи 2-N²-ариліміно-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-N¹-арилкарбоксамідів (сполуки 2{1-29}, МІК 25,0 - 50,0 мкг/мл); та естери на їх основі (сполуки 3{1-30}, МІК 12,5 - 50,0 мкг/мл). По відношенню до *E. coli* всі сполуки з групи діарилпохідних проявили високу та помірну протимікробну активність (МІК 25,0–50,0 мкг/мл). Також високу та помірну протимікробну активність проявили сполуки рядів 1{1-24}, 3{1-30} та 6{1-13} (МІК 25,0–50,0 мкг/мл). По відношенню до *P. aeruginosa* більшість речовин з групи естерів 3{1-30} пропели протимікробну активність на рівні 25,0 мкг/мл, а сполуки групи діарилпохідних – помірну (МІК 50,0 мкг/мл). Дещо меншу активність відносно даного збудника визначено у 7-азакумаринів з тіоамідною функцією 6{1-13} (МІК 25,0–50,0 мкг/мл). У відношенні до еталонного штаму *B. subtilis* найбільш активними визначилися групи 2-іміно-3-N-арилкарбоксамідів 1{1.-24}; діарилпохідних 2{1-29} та естерів 3{1-30}, в яких більшість сполук проявила значну та помірну протимікробну активність (у межах МІК 12,5–50,0 мкг/мл).

Всі досліджувані групи похідних 2Н-пірано[2,3-с]піридину містять сполуки, високоактивні по відношенню до *C. albicans*. Найбільша кількість активних сполук виявлена в групах 2-іміно-3-N-арилкарбоксамідів 1{1-24} (МІК 12,5-25,0 мкг/мл), діарилпохід-

них 2{1-29} (МІК 12,5-50,0 мкг/мл), естерів 3{1-30}, МІК 12,5-50,0 мкг/мл. Сполуки з групи 2-N-ариліміно-3-карбоксамідів 4{1-13} 2-оксо-3-N-арилкарбоксаміди 5{1-8} та 3-тіоамідів 6{1-13} також виявили високу та помірну протимікробну активність по відношенню до кандид у концентраціях МІК 12,5-50,0 мкг/мл. За результатами проведеного дослідження активності сполук щодо *C. albicans* ATCC 885-653 у більшості вивчаємих речовин встановлено значну та помірну фунгістатичну активність. Значну фунгістатичну активність виявлено у 50 % сполук, а значну фунгіцидну – у 27 % речовин. Помірну фунгістатичну активність визначено у 39 %, а 31 % сполук проявили помірну фунгіцидну дію відносно дріжджоподібних грибів.

Аналізуючи взаємозв'язок між структурою хімічних речовин та їх дією можна відзначити, що найбільш вагомий вплив на прояв протимікробної активності має наявність в молекулі двох арильних фрагментів з електроннодонорними замісниками, особливо в положенні 2 і 4, що можна пояснити значною конформаційною рухливістю цільової молекули і можливістю більш щільного закріплення ліганду в активному сайті ферменту. Принциповим, з точки зору усунення небажаної донорно-акцепторної взаємодії, є естерифікація гідроксиметильного замісника та відсутність стерично доступних атомів з неподіленими парами електронів (іміно-, амідної або тіоамідної груп).

За результатами первинного скринінгу для подальшого поглибленого мікробіологічного дослідження відібрано 31 сполуку з п'яти досліджуваних груп. Наступним етапом стало визначення ступеня і спектра протимікробної активності відібраних речовин відносно мікроорганізмів різних груп, сімейств, родів і видів.

Було проведено вивчення протимікробної активності на 14 музейних та клінічних штамів стафілокока. Всього досліджено 10 штамів *S. aureus* та 4 штами коагулазонегативних стафілококів – *S. enteritidis* та *S. haemolyticus*. Серед досліджених тест-штамів *S. aureus* було 5 метициліночутливих (MSSA) та 5 метицилінрезистентних (MRSA), серед коагулазонегативних стафілококів – 1 MSSE та 3 – MRSE. Майже усі сполуки з груп діарилпохідних 2{1-29} (МІК 25,0–50,0 мкг/мл) та їх естерів 3{1-30} проявили значну і помірну протимікробну активність (МІК 12,5–50,0 мкг/мл).

В ході досліджень встановлено, що достатньо виражену активність до Gr⁺ мікроорганізмів (*Streptococcus*, *Bacillus*) проявили похідні 2-N²-ариліміно-3-N¹-арилкарбоксамідів 2{1-29} їх МІК складала 12,5–25,0 мкг/мл. Відносно роду *Bacillus* усі сполуки, за винятком похідних 4 групи, виявили високу протимікробну активність МІК в межах 12,5–25,0 мкг/мл.

По відношенню до Gr⁻ мікроорганізмів (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*) найбільш активними були сполуки з групи естерів 3{1-30}, протимікробна активність яких складала МІК 25,0 мкг/мл. Лише представники збудників кишкових інфекцій (*Shigella*, *Salmonella*) проявили значно меншу чутливість до дії сполук цієї групи похідних, МІК яких дорівнювала 50,0 мкг/мл. Всі інші сполуки досліджуваних груп 7-азакумаринів проявили помірну протимікробну активність до грамнегативних мікроорганізмів. При дослідженні чутливості *R: aquatilis* до похідних 2Н-пірано[2,3-с]піридину визначено майже у

всіх сполуках високу протимікробну активність у широкому діапазоні МІК 12,5–50,0 мкг/мл, МБЦК 12,5–25,0 мкг/мл.

ВИСНОВКИ В останні роки в Україні відзначається неухильний ріст захворюваності на кандидоз, у виникненні якого провідна роль належить *C. albicans*. Проведені мікробіологічні дослідження похідних 7-азакумаринів виявили їх високу протигрибкову активність до музейних та клінічних штамів грибів роду *Candida*. Встановлено, що синтезовані сполуки виявили високу фунгістатичну та фунгіцидну дії в концентраціях від 6,25 до 25,0 мкг/мл, що майже у 4 рази перевищували показники речовин контролю, фунгістатична та фунгіцидна дія яких була в межах 50,0–100,0 мкг/мл. Отримані дані свідчать про високу здатність сполук, що вивчались, пригнічувати ріст грибів роду *Candida*, найбільшою мірою вона характерна для сполук, що за хімічною будовою відносяться до естерів. Майже половина досліджених сполук виявила високу фунгістатичну активність до штамів *C. parapsilosis*, *C. catenulate*, *C. rugosa*. Фунгіцидна активність щодо штамів *C. pseudotropicalis*, *C. kefyr*, *C. famata*, *C. albicans* виявлена більше ніж у 70 % сполук, які вивчають.

Результати виконаних досліджень підтверджують перспективу конструювання на основі похідних піридину ефективних протимікробних засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Перспективи розробки лікарських засобів на основі конденсованих гетероциклічних сполук для застосування в акушерстві та гінекології / В. Ю. Євсюкова, І. Д. Андреева, О. М. Щербак, Т. О. Волков / Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского государственного медицинского университета им. С. И. Георгиевского. – 2009. – Т. 145, Ч. III. – С. 75–76.
2. The antibacterial properties of condensed heterocyclic compounds (review) / V. Y. Evsukova, I. D. Andreieva, V. V. Kazmirchuk, O. A. Maslyanchuk // Анали Мечниковского інституту. – 2010. – № 1. – С. 5–9. – Режим доступу: www.imiamn.org/journal.htm.
3. Синтез та протимікробна дія похідних 2Н-пірано[2,3-с]піридину / І. О. Журавель, П. Є. Шинкаренко, С. М. Коваленко, В. Ю. Євсюкова // Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів : Міжнародна науково-практична конференція. – Вінниця, 2006. – С. 246.
4. Изучение реакционной способности 2-N-арилиминокумарин-3-тиокарбо-ксамидов и их 7-азааналогов / А. В. Борисов, И. А. Журавель, А. В. Плехов // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок : II Міжнародна науково-практична конференція, 12–13 жовтня 2006 р. – Харків, 2006. – С. 7.
5. Антитрансдукційний ефект четвертинних солей акридину / С. Л. Крестецька, В. Ю. Євсюкова, Д. Л. Волянський, В. В. Казмирчук // Актуальні проблеми екології мікроорганізмів : матеріали науково-практичної конференції, 7–8 вересня 2007 р. – Тернопіль, 2007. – С. 44.
6. Пошук речовин протимікробної дії серед похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-D]піримідину / І. О. Журавель, А. В. Борисов, С. М. Коваленко та ін. // Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів : Міжнародна науково-практична конференція. – Вінниця, 2008. – С. 190.

Отримано 17.04.13