



О.М. Щербак

Перспективи вивчення протимікробної дії нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України», м. Одеса

Ключові слова: похідні
4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]
піримідину, мікроорганізми,
протимікробна активність.

Ключевые слова: производные
4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]
пиримидина, микроорганизмы,
противомикробная активность.

Key words: derivatives
of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]
pyrimidine, microorganisms,
antimicrobial activity

Проведено експериментальне вивчення протимікробної дії нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину. Доведено високу протимікробну активність окремих сполук до тест-штамів грампозитивних, грамнегативних мікроорганізмів і грибів роду *Candida*. Обґрунтовано перспективність подальших досліджень похідних 4Н-піридо[4',3':5,6] пірано[2,3-d]піримідину з метою створення на їх основі нових антибактеріальних засобів.

Проведено експериментальное изучение противомикробного действия новых производных 4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина. Доказана высокая противомикробная активность отдельных соединений в отношении грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов и грибов рода *Candida*. Обоснованы перспективы дальнейших исследований производных 4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина с целью создания на их основе новых антибактериальных средств.

An experimental study of antimicrobial activity among the new derivatives of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine was carried out. A high antimicrobial activity of the separate studied compounds against strains of gram-positive, gram-negative bacteria and *Candida spp.* fungi was proved. The prospect of derivatives of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine and the study of their properties activities in order to develop antibacterial agents on their basis is founded.

Інфекційні захворювання належать до найпоширеніших видів патології [2,7]. Нині основними проблемами етіотропної терапії інфекцій є розширення спектру патогенів і збільшення кількості резистентних штамів, що потребує пошуку нових стратегій їх вирішення [1,2,9].

Широке й нерациональне застосування антибіотиків та антимікотиків у лікуванні інфекцій призвело до виникнення та розповсюдження резистентних штамів [1,2,5,7,9]. Щорічно у світі збільшуються витрати на лікування ускладнень антибактеріальної терапії, що викликані резистентними мікроорганізмами, тому протягом останніх років у всіх країнах світу розроблюються різні заходи боротьби з антибіотикорезистентністю [3,5]. Відновлення пошуку принципово відмінних ліків, що не матимуть структурної тотожності з уже існуючими антибіотиками, набуває все більшої актуальності [5,8]. На сьогодні в Україні й світі бракує розробок нових протимікробних засобів з антибактеріальною активністю відносно грамнегативних мікроорганізмів [1,2,10]. За останні десятиріччя в етіологічній структурі інфекційних захворювань відзначено зростання ролі грибкових інфекцій [6]. Перспективними у якості потенційних антибактеріальних і протигрибкових засобів можуть стати нові похідні 4Н-піридо [4',3':5,6] пірано[2,3-d]піримідину.

Мета роботи

Проведення первинного мікробіологічного скринінгу нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]

піримідину з метою подальшого створення на їх основі нових лікарських засобів з протимікробною дією. Дане дослідження має зв'язок з виконанням науково-дослідної роботи «Протимікробна активність новосинтезованих конденсованих нітрогеновмісних сполук і перспективи створення на їх основі профілактичних і лікувальних засобів» АМН 99/2011.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження стали 26 нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину, синтезовані в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на кафедрі органічної хімії. Досліджувані сполуки за хімічною будовою умовно розподілено на 3 групи. Досліджено 6 похідних 6-гідроксиметил-1,2-діарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагідро-2Н-піридо[4',3':5,6] пірано[2,3-d]піримідин-4-тіону (група тіонів), 11 похідних 4-алкілсульфаніл-2-арил-6-гідроксиметил-9-метил-5Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину (група 4-алкілсульфанілпохідних) та 9 похідних 2-(6-гідроксиметил-9-метил-2арил-5Н-піридо[4',3':5,6] пірано[2,3-d]піримідин-4-ілсульфаніл)ацетаміду (група ацетамідів). Сполукам надано власні коди.

Для первинного скринінгового дослідження речовин нового синтезу застосовано еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. У якості набору стандартних тест-культур взято *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia*

coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus anthracoides* ДІСК 1312, *Candida albicans* ATCC 885-653. Усі тест-штами отримано з філії музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова НАМН України». Визначення протимікробної дії досліджуваних речовин проводили за методом 2-кратних серійних розведень у рідких поживних середовищах [3]. Мікробне навантаження до музейних штамів становило 10^6 КУО/мл. Визначали мінімальні інгібуючу, бактерицидну й фунгіцидну концентрації (МІК, МБ_цК і МФ_цК). У якості контролю протимікробної дії сполук відносно досліджуваних штамів мікроорганізмів застосовано субстанції антибактеріальних препаратів, похідних піримідину – триметоприму та гексетидину. Додатково проведено контроль поживних середовищ і розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

Результати та їх обговорення

У ході первинного скринінгового дослідження протимікробної активності похідних групи тіонів відносно референтних штамів грамполозитивних, грамнегативних мікроорганізмів і грибів роду *Candida* встановлено, що серед 6 досліджених речовин найбільш активною виявилась сполука 133. Вона виявила високу протимікробну активність до усіх референтних тест-штамів у МІК у межах 7,8–31,2 мкг/мл і була активнішою за препарати порівняння. Найчутливішим до цієї сполуки виявився тест-штам *C. albicans* ATCC 885-653 (МІК та МБ_цК – 7,8 мкг/мл, у порівнянні з МІК обох препаратів контролю – 62,5 мкг/мл і МБ_цК триметоприму та гексетидину – відповідно 125,0 і 62,5 мкг/мл). Високоактивною сполука 133 виявилась до тест-штамів грамполозитивних мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923 і *B. anthracoides* ДІСК 1312) – МІК 15,6 мкг/мл та МБ_цК у межах 15,6–31,2 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у межах 31,2–62,5 мкг/мл, МБ_цК контрольних препаратів в інтервалі 62,5–125,0 мкг/мл). Щодо тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів, сполука 133 була активнішою за контрольні препарати відносно штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 і співвідносила за протимікробною активністю з контролем відносно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922. Таку ж високу протигрибкову дію, як і сполука 133, до тест-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 виявили сполуки 134 і 135. У всіх 3 сполук з високими антифунгальними властивостями з даної групи спостерігався збіг МІК та МФ_цК на рівні 7,8 мкг/мл. Щодо референтних штамів грамнегативних мікроорганізмів сполуки цієї групи були активнішими, ніж відносно штамів грамполозитивних. Серед них 83,3% інгібували ріст штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 у діапазоні МІК 31,2–62,5 мкг/мл та 66,7% діяли бактерицидно у МБ_цК 62,5 мкг/мл і були кращими за препарати порівняння.

За результатами первинного мікробіологічного скринінгу 11 речовин групи 4-алкілсульфанілпохідних встановлено, що серед них за протимікробною активністю безперечним лідером виявилась сполука 136 (МІК у межах 7,8–31,2 мкг/мл, МБ_цК – 7,8–62,5 мкг/мл). Вона була активнішою за решту препаратів цієї дослідної

групи та препарати порівняння (МІК триметоприму та гексетидину у межах 31,2–62,5 мкг/мл, МБ_цК – 62,5–125,0 мкг/мл). Найчутливішим до сполуки 136 виявився еталонний штам *C. albicans* ATCC 885-653 (МІК та МФ_цК – 7,8 мкг/мл, у порівнянні з МІК обох препаратів контролю – 62,5 мкг/мл і МФ_цК триметоприму та гексетидину – відповідно 125,0 і 62,5 мкг/мл). Достатньо високу активність сполука 136 виявила до тест-штамів грамполозитивних мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923 і *B. anthracoides* ДІСК 1312) – МІК у межах 15,6–31,2 мкг/мл та МБ_цК 31,2 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у межах 31,2–62,5 мкг/мл, МБ_цК – 62,5–125,0 мкг/мл). Щодо тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів, активність сполуки 136 була аналогічною активності сполуки 133 – лідера попередньої досліджуваної групи. Вона була активнішою за контрольні препарати відносно штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 та співвідносила за протимікробною активністю з контролем відносно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922.

Щодо решти речовин групи 4-алкілсульфанілпохідних відносно тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 – третина з них (36,4%) проявила помірну бактериостатичну активність (МІК – 62,5 мкг/мл), співвідносно або дещо нижчу за показники контролю. Третина сполук цієї групи (36,4%) виявили інгібуючу дію відносно еталонного штаму *B. anthracoides* ДІСК 1312 (МІК у межах 15,6–62,5 мкг/мл). Відносно референтних тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів необхідно зазначити, що більшість похідних цієї групи були помірно активними. Встановлено помірну бактериостатичну дію у 72,7% речовин і помірну бактерицидну активність у 63,6% речовин відносно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922, тобто більшість речовин даної групи за інгібуючими властивостями дещо поступались препаратам порівняння, а за бактерицидними властивостями співвідносились з ними. У 9,1% речовин II групи відзначено збіг МІК і МБ_цК на рівні 31,2 мкг/мл та у 63,6% – на рівні 62,5 мкг/мл. Особливістю цієї групи була висока або помірна активність щодо тест-штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 усіх досліджених речовин. У 18,2% сполук групи виявлено достатньо високу інгібуючу активність щодо даного тест-штаму (МІК 31,2 мкг/мл), решта 81,8% речовин виявляла бактериостатичну дію у МІК 62,5 мкг/мл, що збігалась або була кращою за препарати порівняння.

Головною особливістю сполук групи 4-алкілсульфанілпохідних можна вважати їх високу антифунгальну активність щодо референтного штаму *C. albicans* ATCC 885-653. За результатами досліджень встановлено, що 90,9% речовин групи виявляли високу фунгістатичну та 81,8% – високу фунгіцидну активність відносно цього тест-штаму (МІК та МФ_цК – у межах 7,8–31,2 мкг/мл), що була значно вищою за показники контролю (МІК препаратів порівняння 62,5 мкг/мл, МФ_цК у межах 62,5–125,0 мкг/мл). Більша частина речовин групи (63,6%), зокрема сполуки 136, 139–145, виявили фунгістатичну активність відносно тест-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 у МІК

7,8 мкг/мл. Найвищу фунгіцидну активність у МФ_цК 7,8 мкг/мл у цій групі виявили сполуки 136, 141 та 145 (27,3%). Майже половині сполук групи була властива висока антифунгальна активність щодо тест-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 зі збігом МІК і МФ_цК у межах 7,8–31,2 мкг/мл.

Проведено первинний мікробіологічний скринінг 9 похідних групи ацетамідів. За результатами досліджень, ступінь чутливості тест-штамів грамположитивних мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923 і *B. anthracoides* ДІСК 1312) до сполук даної дослідної групи виявився невисоким. МІК усіх речовин цієї групи і МБ_цК 88,9 % сполук – у межах 125–250 мкг/мл, що гірше за показники контролю (МІК препаратів порівняння 62,5 мкг/мл, МБ_цК – у межах 62,5–125,0 мкг/мл). Дещо більш чутливими до сполук цієї дослідної групи були референтні штами грамнегативних мікроорганізмів (*E. coli* ATCC 25922 і *P. aeruginosa* ATCC 27853), відносно яких визначався помірний інгібуєчий ефект. Відносно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922 – 44,4% сполук, а до штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 – усі речовини цієї групи виявляли інгібуєчу дію у МІК 62,5 мкг/мл. Бактерицидна активність речовин цієї групи щодо тест-штамів грамнегативних

мікроорганізмів здебільшого була невисокою (МІК і МБ_цК у межах 125–250 мкг/мл). Відносно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922 протимікробна активність сполук була нижче за препарати порівняння, а відносно штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 співвідносилась з ними.

Похідні групи ацетамідів виявили високу антифунгальну активність, зокрема 100% сполук групи виявляли високу фунгістатичну та фунгіцидну активність (МІК і МФ_цК сполук у межах 3,9–31,2 мкг/мл, у порівнянні з показниками контролю – 62,5–125,0 мкг/мл). Найбільш чутливим тест-штам *C. albicans* ATCC 885-653 виявився до сполук 149 і 150 (МІК – 3,9 мкг/мл, МФ_цК – 7,8 мкг/мл).

Висновки

1. Первинний мікробіологічний скринінг 26 речовин нового синтезу в ряді похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину дозволив виявити сполуки-лідери з високим рівнем антибактерійної та антиканцерогенної активності.

2. Проведені дослідження свідчать про перспективність подальшого вивчення властивостей відібраних сполук для створення на їх основі нових протимікробних засобів.

Література

1. *Беляев А.В.* Механізми антибактеріальної резистентності [Текст] / А.В. Беляев // Клиническая антибиотикотерапия. – 2003. – №2 (22). – С. 4–7.
2. *Березняков И.Г.* Инфекции и антибиототики [Текст] / И.Г. Березняков. – Х.: Константа, 2004. – 448 с.
3. *Вікторів О.П.* Антибіотики: проблеми безпеки під час медичного застосування [Текст] / О.П. Вікторів // Здоров'я України. – 2008. – №21. – С. 42.
4. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. [Текст] / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; ДФЦ МОЗ України. – К, 2004. – 38 с.
5. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам [Електрон. ресурс] / WHO/CDS/CSR/DRS/ 2001.2a. – Режим доступу: <http://www.antibiotic.ru/files/pdf/execsumr.pdf>
6. *Мазо Е.Б.* Современные проблемы диагностики и лечения грибковых инфекций мочевыводящих путей [Електрон. ресурс] / Е.Б. Мазо, С.И. Попов, И.Ю. Шмельков – Режим доступу: <http://medafarm.ru/php/content.php?id=18309>.
7. *Рачинский И.Д.* / Проблемы инфекции в современной клинике внутренних болезней [Текст] / И.Д. Рачинский // Вісник СумДУ. – 2001. – №11 (32). – С. 79–84.
8. *Солдатенков А.Т.* Основы органической химии лекарственных средств [Текст] / А.Т. Солдатенков, Н.М. Колядина, И.В. Шендрик. – М.: Химия, 2001. – С. 5–13, 150–157.
9. *Тихомиров А.Л.* Проблемы и пути решения этиотропной терапии ВЗОМТ [Електрон. ресурс] / А.Л. Тихомиров, С.И. Сарсания // Трудный пациент. – 2010. – №8. // Режим доступу: http://www.t-patient.ru/archive/tp8-10/tp8-10_682.htm
10. *Arias C.A.* Emergence and management of drug / resistant enterococcal infections [Text] / C.A. Arias, B.E. Murray // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2008. – №6. – P. 637–655.

Відомості про автора:

Щербак О.М., аспірант ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України», лабораторія протимікробних засобів.

Адреса для листування:

Щербак Ольга Миколаївна. 61001, м. Харків, пр-т Гагаріна, буд. 45-А, кв. 182.

Тел.: (066) 788 34 32.

E-mail: medkrim76@mail.ru