УДК 547 587.51:577.15/17

©І.Д. Андреєва

ДУ "Інститут мікробіологі та імунологі імені І.І. Мечникова АМН Укра ни"

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНО АКТИВНОСТІ ПЕРСПЕКТИВНИХ ПОХІДНИХ 7-АЗАКУМАРИНІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНО АКТИВНОСТІ ПЕРСПЕКТИВНИХ ПОХІДНИХ 7-АЗАКУМАРИНІВ – Проведено експериментальне вивчення ступеня та спектра протимікробно ді похідних 7-азакумаринів. Доведено високу протимікробну активність досліджуваних речовин щодо грамнегативних, грампозитивних мікроорганізмів та грибів роду Candida. Обґрунтовано перспективність цілеспрямованого синтезу 7-азакумаринів і дослідження х протимікробних властивостей з метою створення на х основі антибактеріальних засобів.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 7-АЗАКУМАРИНОВ – Проведено экспериментальное изучение степени и спектра противомикробного действия синтетических производных 7-азакумаринов. Доказана высокая протимикробная активность исследуемых веществ в отношении грамнегативних, грампозитивних микроорганизмов и грибов рода Candida. Обоснована перспективность целенаправленного синтеза производных 7-азакумаринов и изучение их противомикробных свойств с целью создания на их основе антибактериальных средств.

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY PERSPECTIVE DERIVATES OF 7-AZAKUMARYNES – An experimental study of the level and range of antimicrobial activity was carried out among the derivates of 7-azacumarines. A high antimicrobial activity of the studied compounds against grampositive, gramnegative pathogenic microorganisms and *Candida spp*. fungi. The prospect of direct synthesis of the derivates of 7-azacumarines and the study of their antimicrobial activities in order to develop antibacterial agents on their basis is founded.

Ключові слова: мікроорганізми, 7-азакумарини, протимікробна активність.

Ключевые слова: микроорганизмы, 7-азакумарины, противомикробная активность.

Key words: microorganisms, 7-azakumarines, antimicrobial activity.

ВСТУП Останніми десятиліттями в Укра ні, як і в більшості кра н світу, захворюваність на інфекційні хвороби залишається на високому рівні. Боротьба з ними є одним із пріоритетних напрямків охорони здоров'я [2, 12].

Провідна роль в профілактиці і лікуванні інфекційних захворювань належить антибактеріальним хіміопрепаратам (антибіотикам, сульфаніламідам, діамінопіримідинам, хінолінам тощо) [1, 7, 8]. Головним негативним явищем, що зумовлює зниження ефективності антибіотиків, є постійно прогресуюча резистентність мікроорганізмів до них [2, 3, 9]. Інфекційні та гнійно-запальні захворювання, які викликані резистентними штамами, відрізняються тривалим перебігом, частіше потребують госпіталізаці хворих та погіршують прогноз та якість життя пацієнтів [3, 9, 11].

Розповсюдження антибіотикорезистентності, відсутність препаратів, активних щодо нових збудників і природньостійких видів, незадовільна фармакокінетика та побічні реакці вже існуючих засобів спонукають до пошуку нових антибіотиків і хіміотерапевтичних препаратів з протимікробною дією, тому в сучасних умовах швидкого розвитку науки постійно триває пошук нових антимікробних препаратів та розробляються шляхи та засоби направленого синтезу антибіотичних речовин [5, 6, 10]. Перспективними в плані пошуку високоактивних сполук з протимікробними властивостями є синтетичні похідні кумаринів та х гетероаналоги, які залишаються в наш час мало вивченими [5].

Метою роботи стало дослідження спектра та ступеня протимікробно активності перспективних похідних 7-азакумаринів і мікробіологічне обґрунтування доцільності створення на х основі нових лікарських засобів з протимікробною дією.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Об'єктом дослідження стали 23 похідні 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-піра-но[2,3-c]піридин-3-N-арикарбоксамідів, які були синтезовані в Харківському національному фармацевтичному університеті МОЗ Укра ни на кафедрі органічно хімі . Залежно від радикалу, що вони містять, сполукам було надано власні коди. У якості розчинника в дослідженнях було використано поліпропіленгліколь, вихідні розчини якого доводили до концентраці 1 мг/мл. Для первинного мікробіологічного скринінгу сполук нового синтезу застосовано еталонні штами тест-культур мікроорганізмів, які належать за морфофункціональними властивостями до груп збудників інфекційних та гнійно-запальних захворювань: S. aureus ATCC 25923, E. coli ATCC 25922, P. aeruginosa ATCC 27853, P. vulgaris ATCC 4636, B. anthracoides 1312, C. albicans ATCC 885-653. Для поглибленого дослідження ступеня та спектра протимікробно активності похідних 7-азакумаринів було використано 25 музейних та клінічних референтних тест-штамів грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів: S.aureus № 16580, S.aureus № 16581, S.aureus № 16583, S.aureus № 16586, S.aureus № 16588, S.epidermidis № 16589, S.aureus № 16590, S.haemolyticus № 16591, S.aureus № 16592, S.epidermidis № 16593, S.aureus № 16594, S.haemolyticus № 16595, S.aureus № 16561, S.flexneri ГІСК 170, S.sonnei ГІСК 5772, P.vulgaris X 19 4137 "H", E.aerogenes 418, B.cereus ATCC 10702, S.pneumoniae ATCC 49619, S.enteritidis, гр. P, Y/ ratin № 27, K.pneumoniae K-7 NCTC 9127, R.aquatilis ATCC 33071, R.aquatilis ATCC 33989, R.aquatilis 3-88, R.aquatilis 2-87. Мікробне навантаження до штамів, що вивчаються, становило 10^6 та 10^7 КУО/мл.

Визначення протимікробно ді досліджуваних речовин проводили за допомогою методу серійних розведень у рідких поживних середовищах. Результати враховували за відсутністю росту в останній пробірці, що відповідає мінімальній бактеріостатичній концентраці (МБстК). Для визначення мінімально бактерицидно концентраці (МБцК) з двох-трьох останніх пробірок ряду здійснювали висів 0,1 мл в чашки Петрі з твердим живильним середовищем. Після 18-24 год інкубування при t = 37 °C відмічали ту мінімальну концентрацію, яка не давала росту на агарі, вона відповідала значенню МБцК. При проведенні досліджень використовували однодобові культури мікроорганізмів, які вирощували на відповідних поживних середовищах, заз-

начених у Державній Фармакопе Укра ни [4]. Всі дослідження проводили у п'яти повтореннях. У якості контролю протимікробно ді сполук відносно досліджуваних штамів мікроорганізмів було застосовано антибактеріальний препарат "Триметоприм". Додатково було проведено контролі поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Первинний мікробіологічний скринінг 23 похідних 7-азакумаринів у відношенні до грампозитивних, грамнегативних мікроорганізмів та грибів роду Candida виявив значну та помірну протимікробну активність окремих сполук щодо S.aureus ATCC 25923 сполук, E.coli AECC 25922, B.anthracoides ATCC 1312 та C. albicans ATCC 885-653 (МБстК у межах 12,5 – 50,0 мкг/мл), що довело доцільність подальшого вивчення спектра та рівня протимікробно активності відібраних в процесі первинного скринінгу сполук щодо музейних та клінічно значущих штамів мікроорганізмів – збудників інфекційних та гнійно-запальних захворювань. Для поглибленого дослідження протимікробно активності стосовно розширеного кола музейних та клінічних штамів було відібрано 13 сполук – похідних 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-c]піридин-3-N-арикарбоксамідів. Для вивчення протистафілококово активності були обрані сполуки 1(7), 1(8), 1(18) – 1(20), 1(22), які виявили досить високу протистафілококову активність на етапі скринінгового дослідження. У ході експерименту було встановлено, що серед відібраних речовин найбільш активними виявились сполуки 1(18) та 1(19). По відношенню до більшості досліджених штамів S.aureus МБстК та МБцК вищезазначених сполук знаходились у інтервалі 25,0 – 50,0 мкг/мл (МБстК контролю у межах 50,0 – 100,0 мкг/мл, МБцК контролю – 100,0 мкг/мл).

Для поглибленого вивчення протимікробно активності на розширеному колі музейних та клінічних грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів були обрані сполуки 1(1), 1(3) – 1(5), 1(7) - 1(9), які при первинному мікробіологічному скринінгу проявили достатньо високу активність у відношенні мінімального набору тест-штамів грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів (МБстК у межах 12,5 – 50,0 мкг/мл). При дослідженні протимікробно активності на розширеному колі музейних та клінічних штамів мікроорганізмів було з'ясовано, що похідні 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-c]піридин-3-N-арикарбоксамідів, окрім високого бактеріостатичного та помірного бактерицидного ефекту щодо E.coli ATCC 25922 (МБстК та МБцК відповідно 25,0 – 50,0 мкг/мл, МБстК та МБцК контролю – відповідно 25,0 та 100,0 мкг/мл) та помірного бактеріостатичного ефекту щодо P.*aeruginosa* ATCC 27853 та *B.anthracoides* ATCC 1312, майже всі проявляли досить високу бактеріостатичну активність відносно S.pneumoniae ATCC 49619 (МБстК – в діапазоні 25,0 - 50,0 мкг/мл) та помірну бактеріостатичну активність щодо B. cereus ATCC 10702 (МБстК – 50,0 мкг/мл). Бактеріостатична активність відібраних сполук співвідносилась або була вищою за таку у препараті порівняння (МБстК контролю у межах 50,0 -100,0 мкг/мл).

Сполуки 1(4), 1(7), 1(9) проявляли високу бактеріостатичну активність щодо S.pneumoniae ATCC 49619 (МБстК 25,0 мкг/мл, МБстК контролю 50,0 мкг/мл). Половина сполук ціє групи, що досліджувались на розширеному колі мікроорганізмів, здійснювали помірний бактеріостатичний ефект щодо S.flexneri ГІСК 170, S.sonnei ГІСК 5772, S.enteritidis, гр. P, Y/ ratin № 27 та K.pneumoniae K-7 NCTC 9127.Звертає на себе увагу висока бактеріостатична активність майже всіх відібраних для поглибленого вивчення сполук ціє групи на тест-штами R.aquatilis і особливо на штам R.aquatilis 3-88 (МБстК - в діапазоні 12,5 – 25,0 мкг/мл, МБстК контролю – 50,0 мкг/мл), що свідчать про перспективність подальшого дослідження в цьому напрямку. За результатами дослідження активності сполук по відношенню до C.albicans ATCC 885-653 для більшості з них встановлена значна та помірна фунгістатична активність. Крім того, сполуки 1(1) – 1(10) проявили значну, а сполука 1(11) - помірну фунгіцидну активність (МБстК та МБцК - відповідно 12,5 - 25,0 мкг/мл та 50,0 мкг/мл). Порівняно з контролем фунгістатична активність у всіх досліджених речовин та фунгіцидна – у 95 % речовин була кращою, ніж у препараті порівняння (МБстК та МБцК контролю відповідно 50,0 та 100,0 мкг/мл).

ВИСНОВКИ При дослідженні протимікробно активності 23 похідних 7-азакумаринів на 25 музейному та клінічному штамах мікроорганізмів встановлено широкий спектр та високий ступінь х протимікробно активності. Проведені дослідження вказують на перспективність подальшого вивчення властивостей відібраних сполук з метою створення на х основі ефективних протимікробних засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антибактериальная терапия [Текст] / Л.С. Страчунский, Ю.Б. Белоусов, С.Н. Козлов. – М., 2000. – С. 3-47, 85-90.

2. Березняков И.Г. Инфекции и антибиотики [Текст] / И.Г. Березняков. – Х.: Константа, 2004. – 448 с.

3. Березняков И.Г. Резистентность к антибиотикам: причины, механизмы, пути преодоления [Текст] / И.Г. Березняков / / Клин. антибиотикотер. – 2001. – № 4. – С. 18-22.

4. Державна Фармакопея Укра ни [Текст] / Державне підприємство "Науково-експериментальний центр". – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

5. Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов [Текст] : у 2 т. / Ред. В.Г Карцева. – М.: IBS PRESS, 2003. – Т. 2 – С. 159-192.

6. Поройков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного [Текст] / В.В. Поройков // Химия в России. – 1999. – № 2. – С. 8.

7. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии [Текст] / Л.С. Страчунский, Ю.Б. Белоусов, С.Н. Козлов. – М. : Боргес, 2002. – 384 с.

8. Рациональная антимикробная терапия [Текст] : рук. для практикующих врачей / Под ред. В.П. Яковлева, С.В. Яковлева. – М.: Литтера, 2003. – 1008 с.

9. Страчунский Л.С. Состояние резистентности к антиинфекционным химиопрепаратам в России [Текст] / Л.С. Страчунский, Т.М. Богдонович, С.Н. Козлов // Практическое руководство по антиифекционный химиотерапии. – М.: Боргес, 2002. – С. 32-39.

10. Финкельштейн Е.Е. Исследование биологической активности структурных аналогов адамантана [Текст] / Е.Е. Финкельштейн, С.В. Курбатова, Е.А. Колосова // Вестник СанГУ. – Естественно-научная серия. – 2002. – № 4 (26). – С. 121-128.

11. Towner K.J. The problem of resistance. In: Greenwood D., editor. Antimicrobial chemotherapy. 4th ed. – Oxford, New York: Oxford University Press, 2001. – P. 137-155.

12. WHO Global Burden of Disease project, 2002, version 1 : [Електрон. ресурс. – Режим доступу: http://www.who.int.

Отримано 27.04.10