

Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, О.М. Камишний, Н.М. Поліщук, М.І. Романенко

## ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ ТА ПРОТИГРИБКОВОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ КСАНТИНІЛ-7-АЦЕТАТНИХ І КСАНТИНІЛ-8-ТІОАЦЕТАТНИХ КИСЛОТ

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** ксантиніл-7-ацетатні, ксантиніл-8-тіоацетатні кислоти, протимікробна та протигрибкова активність.

Досліджено протимікробну та протигрибкову активності ксантиніл-7-ацетатних, ксантиніл-8-тіоацетатних кислот та їх функціональних похідних на бактеріях *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та грибах *C. albicans*. Показано залежність активності, що виявляється, від структури молекули.

### Изучение противомикробной и противогрибковой активности новых производных ксантинил-7-ацетатных и ксантинил-8-тиоацетатных кислот

Д.Н. Юрченко, Е.В. Александрова, А.М. Камышный, Н.Н. Полищук, Н.И. Романенко

Исследована противомикробная и противогрибковая активности ксантинил-7-ацетатных, ксантинил-8-тиоацетатных кислот и их функциональных производных на бактериях *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и грибах *C. albicans*. Показана зависимость проявляемой активности от структуры молекулы.

**Ключевые слова:** ксантинил-7-ацетатные, ксантинил-8-тиоацетатные кислоты, противомикробная и противогрибковая активность.

### Studying of antimicrobial and antifungal activity of new derivatives of xanthinyl-7-acetic and xanthinyl-8-thioacetic acids

D.M. Yurchenko, K.V. Aleksandrova, A.M. Kamyshnyy, N.M. Polishchuk, M.I. Romanenko

Antimicrobial and antifungal activity of xanthinyl-7-acetic, xanthinyl-8-thioacetic acids and their functional derivatives was investigated on bacteria *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and fungi *C. albicans*. The dependence of shown activity on the structure of the molecule was studied.

**Key words:** xanthinyl-7-acetic, xanthinyl-8-thioacetic acids, antimicrobial and antifungal activity.

З даними ВООЗ, інфекційні захворювання є серйозною загрозою людству [1]. У зв'язку зі зростанням резистентності мікрофлори, сучасний арсенал протимікробних лікарських засобів потребує постійного розширення й оновлення. Зважаючи на поширення стійкості мікроорганізмів, ефективність лікування стрімко знижується, смертність від багатьох інфекційних хвороб зростає. Врешті, широке необгрунтоване, масове та безконтрольне застосування протимікробних препаратів призводить до селекції резистентних штамів, зумовлює підвищення витрат на медичну допомогу, становить пряму загрозу населенню. У багатьох країнах відзначають стійку кореляцію між обсягами продажів протимікробних препаратів і розповсюдженням резистентності до них патологічних збудників [2–4].

Відомо, що природні й синтетичні похідні пурину й ксантину характеризуються широким спектром біологічної дії, в тому числі протимікробної. Так, антибіотик пуроміцин пригнічує ріст багатьох грамнегативних і грампозитивних бактерій, порушуючи синтез білка, зокрема є інгібітором трансляції [5,6].

Тому пошук і створення нових високоефективних протимікробних засобів серед похідних ксантину є актуальним.

#### МЕТА РОБОТИ

Вивчення протимікробної та протигрибкової активності серед функціональних похідних ксантиніл-7-ацетатних кислот і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот.

Перспективним напрямком для реалізації запланованого синтезу нових сполук є використання комп'ютерного про-

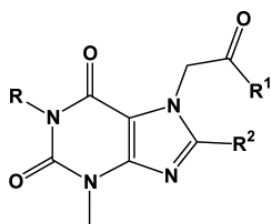
гнозування біологічної активності сполук за допомогою програми PASS C&T [7,8]. Комп'ютерний прогноз спектра біологічної активності синтезованих похідних ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот показав перспективні напрямки досліджень синтезованих сполук, зокрема їх протимікробної (Ра 0,310–0,579), протигрибкової (Ра 0,362–0,784) дії, що стало основою для пошуку серед них ефективних протимікробних біологічно активних речовин.

Об'єктом дослідження стали 31 нове похідне ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот, синтезованих на кафедрі біохімії та лабораторної діагностики з загальною формули (схема 1).

Досліджувані сполуки за хімічною структурою розподілено на групи (кислоти – 1–4, аміді – 5–8, естери – 9–13, іліденгідрозиди – 14–30, тіосемикарбазиди – 31).

Вивчення протимікробної активності здійснено на базі мікробіологічної лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології ЗДМУ під керівництвом д. мед. н. О.М. Камишного.

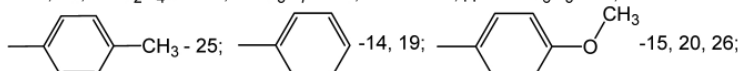
Для первинного скринінгового дослідження речовин застосовано еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. У якості набору стандартних тест-культур взято штами мікроорганізмів: грампозитивні (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грамнегативні (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) і грибів (*Candida albicans* ATCC



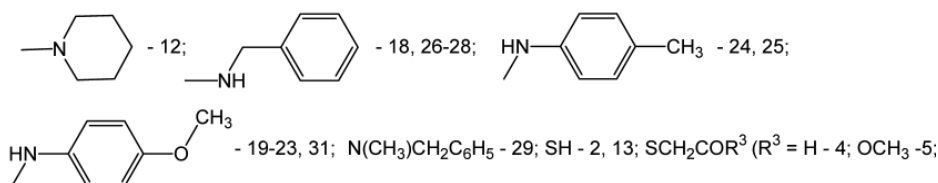
R = H - 1, 2, 7, 8, 9, 11, 12, 13; CH<sub>3</sub> - 3, 4, 5, 6, 10, 15-31;

R<sup>1</sup> = OH - 1, 2, 3; NH<sub>2</sub> - 4, 5, 6; OC<sub>3</sub>H<sub>7-H</sub> - 9; OC<sub>3</sub>H<sub>7-i</sub> - 10, 11; OC<sub>5</sub>H<sub>11-H</sub>

- 12, 13; NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>OH - 7; NHC<sub>3</sub>H<sub>7-H</sub> - 8; NH-NH=X, де X = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> - 24;



R<sup>2</sup> = H - 1, 9, 10, 14-16; NH-циклогексил - 3; NHCH<sub>3</sub> - 11; NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>OH - 7; NHC<sub>3</sub>H<sub>7-n</sub> - 8;



SCH(CH<sub>3</sub>)CR<sup>4</sup> (R<sup>4</sup> = OOCCH<sub>3</sub> - 6; NH-N=CH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-OH-o - 30).

885-653). Визначення протимікробної дії досліджуваних речовин проводили за методом 2-кратних серійних розведень у рідких поживних середовищах [9]. Мікробне навантаження до музейних штамів становило 10<sup>5</sup> КУО/мл. Визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК), мінімальну бактерицидну концентрацію (МБЦК) та мінімальну фунгіцидну концентрацію (МФЦК). У якості контролю протимікробної активності сполук відносно до досліджуваних штамів мікроорганізмів застосовано субстанцію антибактеріального препарату – триметоприм (через наявність у його структурі піримідинового кільця). Додатково виконано контроль поживних середовищ і розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході первинного скринінгового дослідження протимікробної активності ксантиніл-7-ацетатних, ксантиніл-8-тіоацетатних кислот та їх функціональних похідних виявилось, що всі вони виявляють помірну активність відносно до референтних штамів грампозитивних, грамотригативних мікроорганізмів (25–200 мкг/мл) і грибів роду

*Candida* (50–100 мкг/мл). За результатами дослідження сполук першої групи встановлено, що серед 4 синтезованих речовин найактивнішою виявилась сполука **3** (8-циклогексиламінотеофілініл-7-ацетатна кислота). Вона виявила протимікробну активність до усіх референтних тест-штамів у МІК 50 мкг/мл і була активнішою за контрольний препарат відносно до *S. aureus* й *C. albicans* і співвідносились з протимікробною активністю з контролем відносно *E. coli* й *P. aeruginosa*. Найчутливішим до цієї сполуки виявився тест-штам *S. aureus* ATCC 25923 (МІК 25 мкг/мл, МБЦК 50 мкг/мл, порівняно з МІК і МБЦК триметоприму – 31,2 та 62,5 мкг/мл відповідно). Активною виявилась сполука **3** й до тест-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 (МІК 50 мкг/мл, МФЦК 100 мкг/мл, порівняно з МІК та МФЦК триметоприму – 62,5 та 125 мкг/мл відповідно).

До групи амідів кислот ввійшли 4 сполуки (сполуки **5–8**). Слід зазначити, що відносно грампозитивного тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 75% речовин виявились активніше за препарат порівняння (МІК препарату порівняння триметоприму 31,2 мкг/мл, МБЦК 62,5 мкг/мл). Проте лідером



## Протимікробна та протигрибкова активність похідних ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот

Шифр сполуки	E.coli		S.aureus		P.aeruginosa		C.albicans	
	МІК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФцК, мкг/мл
1	50	100	50	100	50	200	50	100
2	50	100	50	100	50	200	50	100
3	50	100	25	50	50	200	50	100
4	50	100	50	100	50	200	50	100
5	50	100	25	50	50	200	50	100
6	50	100	25	50	50	100	100	100
7	100	100	50	100	50	200	100	100
8	50	50	25	50	50	100	50	100
9	50	100	25	50	50	100	50	100
10	100	200	50	100	50	200	50	100
11	50	100	50	100	50	200	50	100
12	50	50	50	100	50	200	50	100
13	50	100	25	100	50	200	50	100
14	50	100	50	100	50	100	50	100
15	50	100	50	100	50	200	50	100
16	50	200	50	100	50	100	100	100
17	100	200	25	100	50	200	50	100
18	50	50	25	50	50	200	50	100
19	50	100	25	25	50	100	50	100
20	50	100	50	100	50	100	50	100
21	50	100	25	50	50	200	50	100
22	50	100	25	25	50	100	50	100
23	50	100	25	50	50	100	50	100
24	50	100	50	100	50	200	50	100
25	50	100	50	100	50	200	50	100
26	50	100	25	50	50	100	50	100
27	50	100	25	50	50	200	50	100
28	50	100	50	100	50	100	50	100
29	50	100	50	100	50	200	50	100
30	50	50	50	50	50	200	50	100
31	50	100	25	50	50	200	100	100
Тримето-прим	50	50	31,2	62,5	62,5	125	62,5	125

стала сполука **8** (8-пропіламіно-3-метилксантиніл-7-N-пропілацетамід), що перевершує значення контрольних препаратів відносно еталонних штамів *S. aureus* (МІК 25 мкг/мл, МБцК 50 мкг/мл) й *C. albicans* (МІК 50 мкг/мл, МФцК 100 мкг/мл) та проявляє активність на рівні контролю відносно кишкової палички *E. coli* ATCC 25922 (спостерігається збіг МІК та МБцК 50 мкг/мл).

При дослідженні групи естерів ксантиніл-7-ацетатних кислот (сполуки **9–13**) виявилось, що всі синтезовані сполуки проявляють помірний протимікробний ефект на більшість досліджених штамів мікроорганізмів. 80% сполук мають бактерицидну активність на рівні триметоприму відносно до *E. coli* (МІК 50 мкг/мл), проте бактерицидну дію, що співвідносилась з контролем, проявляла лише сполука **12** (аміловий естер 8-піперидин-3-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти). Сполуки **9** і **13** були активніші за решту препаратів цієї групи відносно *S. aureus* (МІК 25 мкг/мл сполук проти 31,2 мкг/мл триметоприму). Проте значення МБцК перевищувало еталонний препарат тільки у сполуки

**9** (50 мкг/мл). Відносно синьогнійної палички її активність також перевищує триметоприм (МІК 50 мкг/мл, МБцК 100 мкг/мл сполуки **9** проти МІК 62,5 мкг/мл, МБцК 125 мкг/мл еталону).

Четверта група досліджених речовин (іліденгідрозиди ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот) є найчисленнішою та вміщує 17 сполук (сполуки **14–30**). Вплив на кишкову паличку та синьогнійну паличку мало виражений (ріст затримується сполуками в дозах 50–200 мкг/мл). Найактивнішими виявились сполуки **18** та **30**, чий показники МІК і МБцК відповідають показникам еталонних препаратів (50 мкг/мл).

Відносно до музейного штаму стафілококу активність, що перевищує контроль виявили 41,1% сполук. На показники протимікробної активності впливає наявність нітрофурильного радикалу у положенні 7 гідразинного залишку та радикали у 8 положенні. Речовини мають МІК 25 мкг/мл, МБцК – 25–50 мкг/мл (МІК і МБцК триметоприму – 31,2 та 62,5 мкг/мл відповідно), що пе-

ревищує контроль. Проте безумовними лідерами виявились сполуки **19** ([8-(3-метоксифеніламіно)геофілініл-7]ацетатної кислоти 2-гідроксибензиліденгідразид) та **22** [8-(3-метоксифеніламіно)геофілініл-7]ацетатної кислоти 3-етокси-4-гідроксибензиліденгідразид), чий значення перевершують триметоприм (відбувається збіг МІК і МБЦК – 25 мкг/мл). Майже всі речовини четвертої групи призупиняли ріст грибів роду *Candida*, тобто чіткої залежності від структури не виявлено.

Сполука **31** (1,3-диметил-8-[(3-метоксифеніл)аміно]ксантиніл-7-N-[(фенілкарбамотіол)аміно]ацетамід) була активна відносно до музейного штаму стафілококу, його МІК склала 25 мкг/мл, а МБЦК 50 мкг/мл (МІК і МБЦК триметоприму 31,2 та 62,5 мкг/мл відповідно). Інші тест-штами виявились нечутливими до сполуки.

Слід зазначити, що всі синтезовані речовини були активними відносно до тест-штаму *P. aeruginosa* (МІК 50 мкг/мл синтезованих сполук проти 62,5 мкг/мл триметоприму).

### ВИСНОВКИ

Згідно до прогнозу програми PASS C&T синтезовано нові похідні ксантиніл-7-ацетаних і ксантиніл-8-гіоацетатних кислот.

Вивчено протимікробну та протигрибкову дії речовин. За результатами скринінгу виявлено сполуки, що перевершують еталон порівняння.

Для оцінки можливості створення протимікробних препаратів на основі похідних ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-гіоацетатних кислот необхідно розширити спектр дії

щодо музейних і клінічних штамів збудників інфекційних захворювань і вивчити токсичність. Робота в окресленому напрямку продовжується.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. World health statistics 2012 [Electronic resource]. – Mode of access: [http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/2012/en/index.html](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/index.html).
2. Глобальна стратегія 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>.
3. *Викторов О.П.* Антибиотики: проблемы безопасности под час медичного застосування / *О.П. Викторов* // Здоров'я України. – 2008. – №21. – С. 42.
4. *Arias Cesar A.* Антибиотикорезистентность – вызов клинической медицине XXI века / *Cesar A. Arias, Barbara E. Murray* // New England Journal of medicine. – 2009. – Vol. 360, №5. – P. 439–443. – Режим доступу: <http://mazg.com.ua/cgi-bin/articles.pl/288.html?choice=view&art=288.html>.
5. Клінічна та лабораторна імунологія: Національний підручник / За загальною редакцією д.м.н., професора *Кузнецової Л.В.*; д.м.н., професора *Фролова В.М.*; д.м.н., професора *Бабаджана В.Д.* – К.: ООО «Полиграф плюс», 2012. – 922 с.
6. <http://www.puromycin.com>.
7. *Poroykov V.V.* Computer prediction of the substances biological activity: the limits of the possible / *V.V. Poroykov* // Chemistry in Russia. – 1999. – №2. – P. 8.
8. <http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline>.
9. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. МОЗ України / *Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов [та ін.]* – К., 2004. – 38 с.

### Відомості про авторів:

Юрченко Д.М., аспірант каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Александрова К.В., д. хім. н., професор, зав. каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Камишний О.М., д. мед. н., доцент, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології ЗДМУ.

Поліщук Н.М., к. мед. н., асистент каф. мікробіології, вірусології та імунології ЗДМУ.

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Поступила в редакцію 24.01.2013 г.