

*Yakovychuk Nina Dmitrievna,
Associate professor, Candidate of Medical Sciences,
Department of Microbiology and Virology
Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)*

*Chornous Alexander,
Associate professor, Candidate of Chemistry Sciences,
Department of Medical and Pharmaceutical Chemistry
Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
E-mail: yakovychuk.nina@mail.ru*

Antimicrobial activity of some derivatives of thiosemicarbazones [1-aryl-1H-imidazol-4-yl) thio] of acetic acid

Abstract: There has been studied the biological activity of some new chemical compounds derived of thiosemicarbazones [1-aryl-1H-imidazole-4-yl) thio] of acetic acid. There has been used a modified two-fold serial dilution method with the use of clinical strains of yeasts and spore fungi. To prepare the two-fold serial dilutions there has been used the Saburo's medium and new chemical compounds, which are poorly dissolving.

Keywords: chemical compounds, biological activity, method of serial dilutions.

*Яковичук Нина Дмитриевна,
доцент, кандидат медицинских наук, кафедра
микробиологии и вирусологии Буковинский государственный
медицинский университет г. Черновцы, Украина*

*Чорноус Александр,
доцент, кандидат химических наук, кафедра медицинской
и фармацевтической химии Буковинский государственный
медицинский университет г. Черновцы, Украина
E-mail: yakovychuk.nina@mail.ru*

Противомикробная активность некоторых производных тиосемикарбазонов [1-арил-1 H-имидазол 4-ил) тио] уксусных кислот

Аннотация: Изучено биологическую активность некоторых новых химических соединений производных тиосемикарбазонов [1-арил-1 H-имидазол 4-ил) тио] уксусных кислот. Использован модифицированный метод двукратных серийных разведений с использованием клинических штаммов дрожжевых и споровых грибов. Для приготовления двукратных серийных разведений использовали питательную среду Сабуро и новые химические соединения, которые плохо растворяются.

Ключевые слова: химические соединения, биологическая активность, метод серийных разведений.

Имидазол является одним из наиболее интересных в фармакологическом плане представителей азотсодержащих гетероциклов. Наличие ядра имидазола в ряде важных природных систем (витамин B₁₂, биотин, пурины, гистидин) предопределяет высокий биологический потенциал его соединений. Учитывая это, на протяжении последних 100 лет, в результате направленного синтеза были получены соединения с высокой противовирусной, противораковой, противотуберкулезной и анальгетической активностью [1, 1–12; 2, 1295–1317]. Однако, наиболее

результативным является их использование в качестве бактерицидных и антимикотических препаратов [3, 917–924].

В результате изучения зависимости влияния структуры производных имидазола на их биологическую активность, в ряде производных 5-нитроимидазола были найдены высокоактивные антимикробные препараты широкого спектра действия, которые применяются для лечения инфекций, вызванных облигатными анаэробными бактериями, и рядом инфекционных заболеваний, вызванных простейшими. Эта

группа препаратов также активна в отношении некоторых факультативных анаэробов (микроаэрофилов). По своим биологическим свойствам и механизму антимикробного действия представители этого ряда принципиально отличаются от фармакологических препаратов других химических групп и производных имидазола с противогрибковой активностью. Вместе с тем, учитывая появление антибиотикорезистентных форм микромицетов, поиск новых препаратов в ряду производных имидазола с высокой фунгицидной активностью является актуальным.

Цель.

Изучение биологической активности нового класса имидазолсодержащих соединений тиосемикарбазонов [(1-арил-1*H*-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот в отношении грибковых музейных штаммов.

Методы исследования.

На кафедре медицинской и фармацевтической химии Буковинского государственного медицинского университета осуществлен синтез нового класса имидазолсодержащих соединений тиосемикарбазонов [(1-арил-1*H*-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот.

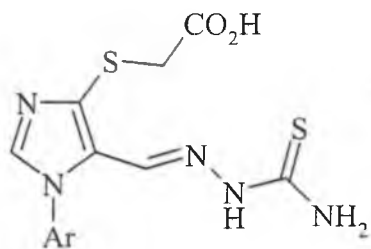
Нами изучена биологическая активность нового класса имидазолсодержащих соединений тиосемикарбазонов [(1-арил-1*H*-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот в отношении клинических штаммов дрожжевых и споровых грибов. При этом использована разновидность метода серийных разведений, основанная на плотной питательной среде Сабуро [6, 322–325]. Для оценки антибиотикочувствительности микроорганизмов к новым химическим соединениям, проводили последовательное выполнение нескольких этапов. 1. Приготовили растворы новых химических соединений для метода серийных разведений (последние готовили в концентрации 1000,0 мкг/мл). Основные рабочие растворы хранили при температуре не выше 20 °С. 2. Приготовили плотную питательную среду Сабуро, бульон Сабуро Агар разливали в чашки толщиной 4,0 ± 0,5 мм, что достигается при внесении в чашку Петри диаметром 90 мм 20 мл агара, диаметром 100 мм — 25 мл агара. Параллельно разливали питательную среду в стерильные пробирки в количестве 2,0 мл и помещали на водяную баню при 48–50 °С, где выдерживали до достижения указанной температуры, после чего в них добавляли рабочие растворы исследуемых новых химических соединений и готовили двукратные серийные разведения. Рабочий раствор в количестве 2,0 мл при помощи стерильной пипетки вносили в первую пробирку, содержащую 2,0 мл подогретой питательной среды. Незамедлительно тщательно перемешивали

и переносили 2,0 мл раствора в вторую пробирку, содержащую первоначально 2,0 мл питательной среды. Эту процедуру повторяли до приготовления всего необходимого ряда разведений. Из последней пробирки 2,0 мл удаляли. Таким образом, получали ряд пробирок с растворами химических соединений в агаре, концентрации которых отличаются в соседних пробирках в 2 раза. 3. При приготовлении суспензии исследуемых дрожжевых грибов (инокулюма) петлей для посевов отбирали несколько однотипных изолированных колоний, переносили незначительное количество материала в пробирку с 10,0 мл стерильного питательного бульона Сабуро и инкубировали 2–3 часа при 35 °С. Использовали 2–3-часовую бульонную культуру исследуемого микроорганизма в концентрации 1,5 × 10⁸ КОЕ/мл, которая при визуальном контроле соответствует стандарту мутности 0,5 по Мак-Фарланду. 4. Засевали плотную питательную среду Сабуро приготовленной грибковой суспензией. При этом инокулюм непосредственно наносили пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1–2 мл, и равномерно распределяли по поверхности покачиванием, после чего удаляли избыток инокулюма пипеткой в дез. раствор. Засеянные чашки помещали на 1 час в холодильник для охлаждения. 5. Далее наносили подогретый на водяной бане агар с двукратными серийными разведениями капельно в количестве 0,02 мл в виде «агаровых бугорков» на охлажденную, предварительно засеянную микромицетами питательную среду. Расстояние между «агаровыми бугорками» должно быть 15–20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм наносили не более 6 «агаровых бугорков» с двукратными разведениями. Инкубировали чашки при температуре 30 °С в течение 24–72 ч (продолжительность инкубации зависела от вида тестируемого микроорганизма). 6.

Учет результатов проводили визуально, при этом сравнивали рост микроорганизма в присутствии нового химического соединения с ростом культуры. Как МПК принимали минимальную концентрацию, обеспечивающую полную ингибицию и подавление видимого роста исследуемого штамма — зону полного подавления видимого роста.

Результаты.

Нами была изучена бактерицидная активность нового класса имидазолсодержащих соединений — тиосемикарбазонов [(1-арил-1*H*-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот (I) и некоторые производные, которые уже зарекомендовали себя в качестве перспективных антиоксидантных препаратов [4, 28–30].



I

Таблица 1. – Противогрибковая (фунгиостатическая) активность некоторых производных тиосемикарбазонов [1-арил-1H-имидазол-4-ил тио] уксусных кислот (мкг/мл)

Исследуемые соединения	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichochyton rubrum</i>
тиосемикарбазон [(1-фенил-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	62,5	125	62,5	125
тиосемикарбазон [(1-(4-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	62,5	125	125	125
тиосемикарбазон [(1-(2-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	62,5	125	125	125
тиосемикарбазон [(1-(3-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	125	125	62,5	>500
тиосемикарбазон [(1-(1-нафтил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	62,5	250	62,5	125
тиосемикарбазон [(1-(4-хлорфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты	62,5	250	62,5	62,5

Результаты этого исследования показывают, что противогрибковая активность некоторых производных новых соединений тиосемикарбазонов [1-арил-1H-имидазол-4-ил тио] уксусных кислот по отношению к *Candida albicans* находится на умеренном уровне. Так, обнаружили, что соединения тиосемикарбазон [(1-фенил-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(4-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(2-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(1-нафтил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты и тиосемикарбазон [(1-(4-хлорфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты активны в минимальной фунгиостатической концентрации (МФсК) 62,5 мкг/мл.

При исследовании антигрибковой активности по отношению к *Aspergillus fumigatus*, соединения тиосемикарбазон [(1-фенил-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(4-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(2-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты и тиосемикарбазон [(1-(3-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты показали МФсК на уровне 125 мкг/мл.

Изучение антимикробных свойств этого класса соединений на примере некоторых классических штаммов бактерий [5, 55–60] свидетельствует о перспективности исследований в этом направлении. Поэтому изучение противогрибковой активности проводилось на серии клинических штаммов: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Trichochyton rubrum*. Полученные результаты изучения противогрибковой активности приведены в таблице.

В тоже время, антигрибковая активность по отношению к *Aspergillus niger*, новых соединений тиосемикарбазон [(1-фенил-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(3-метилфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты, тиосемикарбазон [(1-(1-нафтил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты и тиосемикарбазон [(1-(4-хлорфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты находились на уровне 62,5 мкг/мл.

В результате исследования антигрибковой активности по отношению к *Trichochyton rubrum* только новое соединение тиосемикарбазон [(1-(4-хлорфенил)-1H-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты активно в концентрации 62,5 мкг/мл.

Выводы.

1. Полученные результаты фунгицидной активности свидетельствуют о том, что исследуемые соединения характеризуются умеренным противогрибковым действием. Минимальные фунгиостатические концентрации находятся в диапазоне 62,5–500 мкг/мл.

2. Применения данного макрометода целесообразно проводить для оценки биологической чувствительности труднорастворимых и нерастворимых новых химических соединений по отношению к штаммам спорных грибов, которые имеют специфический рост на питательной среде — образование мицелия.

Список литературы:

1. Verma A., Joshi S., Singh D.. Imidazole: Having Versatile Biological Activities//Journal of Chemistry. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–12.
2. Aleksandrova E. V., Kravchenko A. N., Kochergin P. M. Methods for the synthesis of haloimidazoles//J. Chem. of heterocyclic compounds – 2011. – Vol. 46, –№ 11. – P. 1295–1317.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. -16-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: Новая волна, 2012. – С. 917–924.
4. Черноус В. А., Паламар А. Н., Яремий И. Н., Вовк М. В. Синтез и антиоксидантная активность [(1-арил-5-формилимидазол-4-ил)тио]уксусных кислот//Хим-фарм. журн. – 2013. – Т. 47, № 2. – С. 28–30.
5. Черноус В. А., Паламар А. А., Грозав А. Н., Яремий И. Н., Вовк М. В. Синтез и биологическое действие тиосемикарбазонов и (1,3-тиазол-2-ил)гидразонов [(1-арил-5-формилимидазол-4-ил)тио]уксусных кислот//Журн. орган. и фарм. хим. – 2013. – Т. 11, Вып. 4 (44)/ – С. 55–60.
6. Yakovychuk N. The modified method of two-fold serial dilutions for study of biological activity of new chemical compounds//British Journal of Science, Education and Culture, 2014, № 1. (5) (January-June). Volume III. "London University Press". London, 2014. – P. 322–325.