

УДК 547.77'575'495.6:615.33:616-092.4

І.П. Бурденюк,

М.К. Братенко,

М.М. Барус,

В.Ф. Мислицький,

К.Г. Тащук

Буковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціАНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА
СПЕКТР АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ДЕЯКИХ
НОВИХ СИНТЕТИЧНИХ СПОЛУК
ПОХІДНИХ ПІРАЗОЛУ ЗІ СТРУКТУРНИМ
ВМІСТОМ У МОЛЕКУЛАХ
ГІДРОКСИМЕТИЛЬНОЇ ТА УРЕЇДНОЇ
УГРУПУВАНЬ *IN VITRO*

Ключові слова: синтетичні хіміо-
терапевтичні препарати, похідні
піразолу, живильні середовища
м'ясо-пептонний бульйон (МПБ),
інгібуючі концентрації мінімальна
бактеріостатична (МБСК),
мінімальна бактерицидна (МБЦК),
тест-культури мікроорганізмів,
серійні розведення препаратів.

Резюме. Проведено дослідження *in vitro* біологічної активності та спектру антимікробної дії відносно грампозитивних та грамнегативних тест-культур бактерій і грибів десяти вперше синтезованих оригінальних хімічних препаратів. Сполуки відносяться до похідних піразолу, що містять у своїй структурі гідроксиметильну та уреїдну групи.

Вступ

Широке застосування антибіотиків та анти-
мікробних хіміотерапевтичних препаратів у
лікувальних закладах різних країн світу привело
до появи та широкого розповсюдження стійких до
дії антисептиків штамів мікроорганізмів [13].

Резистентність до антимікробних препаратів,
яка негативно впливає на результати лікування
хворих, є актуальною проблемою для всіх країн
[14]. Аналогічна ситуація спостерігається також і
в Україні [15].

Останнім часом у світі спостерігається ріст
антибіотикорезистентних штамів як патогенних,
так і умовно патогенних мікроорганізмів, які є
одним із провідних збудників нозокоміальних гній-
но-запальних інфекцій [5].

Стійкі до дії антибіотиків мікроорганізми воло-
діють підвищеною вірулентністю, а викликані
ними захворювання характеризуються тяжким
перебігом, погано піддаються лікуванню. Це
свідчить про те, що для організації та проведення
ефективних засобів боротьби з інфекціями, викли-
каними резистентними мікроорганізмами, до
уваги слід брати не лише раціональні методи
хіміотерапії існуючими лікарськими засобами,
але й проводити постійний пошук високоефек-
тивних антисептичних лікарських препаратів.

Відомо, що функціональні похідні піразолу з
вмістом у своїй структурі гідроксиметиленової
або уреїдної групи належать до синтетично ціка-
вих біологічно важливих сполук. Особисто 4-
гідроксиметилпіразолу проявляють виражену ан-
тиневрологічну дію [6], а також використовуються
як синтетичні блоки для дизайну нестероїдних

протизапальних засобів [19] та антинеоплас-
тичних агентів [1].

У свою чергу, 3-уреїдопіразолу характери-
зуються протипухлинними [17], протизапальними
властивостями [7, 8] і схильністю до інгібування
деяких видів кіназ [2, 9]. Крім цього вони зна-
ходять застосування як попередники при отри-
манні фармакологічно цінних піразоло піримідинів
[2,3,4].

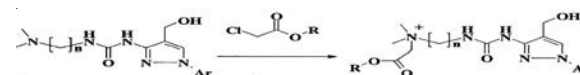
Таким чином, з врахуванням цих даних вини-
кає питання доцільності синтезу нових структур
піразольного типу, які одночасно вміщують наз-
вані фрагменти в якості потенційних біоактивних
сполук з дослідженням їхньої антимікробної ак-
тивності і спектра антимікробної дії [12, 16].

Мета дослідження

Дослідити міру антимікробної активності та
спектр антимікробної дії вперше синтезованих
хімічних сполук похідних піразолу з вмістом у
структурі молекул гідроксиметильної та уреїдної
груп на культурах музейних штамів мікрооргані-
змів. Визначити ступінь виснаженості сполук
при повторному внесенні тест-культур в живильні
розчини з препаратами та залежність "антимік-
робна активність - структура" досліджуваних со-
лей.

Матеріали і методи

З метою пошуку біологічно активних і мало-
токсичних антимікробних хімічних препаратів на



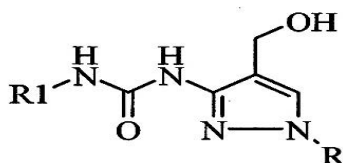
основі піразолу, сечовини, які містили диметиламіногрупу, були кватеризовані алкіловими ефірами хлороцтової кислоти у відповідні солі. Отримані солі є водорозчинними і виявили високу бактеріостатичну та бактерицидну дію.

Загальна структурна формула, хімічна будова

радикалів досліджуваних сполук приведені в таблиці 1. При звичайних умовах досліджувані солі являють собою милоподібні речовини, які добре розчиняються у воді та 0.82 % розчині хлориду натрію.

Таблиця 1

Загальна структурна формула та хімічна будова радикалів досліджуваних сполук



№	R1	R	Формула
1		-CH ₃	C ₃₃ H ₄₄ ClN ₃ O ₄ 518.2
2		-CH ₃	C ₂₉ H ₄₄ ClN ₃ O ₄ 490.15
3		-C ₆ H ₅	C ₂₉ H ₄₀ ClN ₃ O ₄ 510.14
4		-C ₆ H ₅	C ₃₉ H ₄₆ ClN ₃ O ₄ 552.22
5		-C ₆ H ₅	C ₃₃ H ₅₄ ClN ₃ O ₄ 608.33
6		-CH ₃	C ₂₈ H ₄₆ ClN ₃ O ₄ 504.17
7		-CH ₃	C ₂₉ H ₄₄ ClN ₃ O ₄ 476.15
8		-C ₆ H ₅	C ₃₃ H ₅₂ ClN ₃ O ₄ 580.27
9		-C ₆ H ₅	C ₂₉ H ₅₂ ClN ₃ O ₄ 496.11
10		-C ₆ H ₅	C ₃₅ H ₄₈ ClN ₃ O ₄ 566.24

Для дослідження антимікробної активності синтезованих препаратів застосовано методику двократних послідовних серійних розведень сполук у рідких живильних середовищах [3]. Використано різні живильні середовища в залежності від видів тест-культур мікроорганізмів. Для більшості невимоглих грампозитивних і грамнегативних бактерій брали 1% м'ясо-пептонний бульйон (МПБ рН 7.2-7.3); для стрептококів - 1% цукровий МПБ, а для дріжджеподібних грибів роду *Candida*-рідке середовище Сабуро (рН-6.8).

Виснажуваність бактеріальної активності препаратів при повторному контакті з інфекційним матеріалом досліджували за класичною методикою, запропонованою А. Cantor, М. Shelanski [18]. Для цього до 10 мл досліджуваного препарату певної концентрації (0,01 %) додавали 0.1 мл двохмільярдного завису добової агарової культури золотистого стафілококу з інтервалом 10 хвилин; через хвилину після кожного додавання робили висів 0.1 мл суміші дезінфектанта з мікробною суспензією в 10,0 мл цукрового м'ясопептонного бульйону з нейтралізатором. Посіви інкубували в термостаті при 37°C протягом семи

днів. Активність препарату оцінювали за максимальною кількістю додавань мікробного завису, що не дали росту видимого мікроорганізму в живильному середовищі. Результати дослідів враховували через 18-24 години термостатування при 37°C. Останнє розведення, при якому не відмічався видимий ріст культури, приймали за мінімальну бактеріостатичну концентрацію препарату.

Обговорення результатів дослідження

Результати дослідження антимікробної активності функціональних похідних піразолу, в структурі яких містяться гідроксиметильні та уреїдні групи, відносно окремих тест-культур грампозитивних та грамнегативних бактерій і грибів, представлені в таблиці 2:

Аналізуючи приведені в таблиці 2 дані слід відмітити наявність антимікробної активності і широкого спектру дії у кожній з досліджуваних сполук. У порівнянні більш висока чутливість до інгібуючої дії препаратів відмічається у грампозитивних мікроорганізмів, особливо в кокової групи бактерій. Мінімальні, інгібуючі ріст тест-

Таблиця 1

Антимікробна активність та спектр антимікробної дії досліджуваних сполук *in vitro*

№	Тест-культури досліджуваних мікроорганізмів													
	Інгібуючі ріст мікроорганізмів концентрації препаратів (в ммоль/л)													
	Staphylococcus aureus		Streptococcus pyogenes		Escherichia coli		Proteus vulgaris		Pseudomonas aeruginosa		Bacillus anthracoides		Candida albicans	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
1	0.241	0.482	0.121	0.241	0.482	0.965	0.965	1.930	0.482	0.965	0.241	0.482	0.121	0.241
2	0.255	0.510	0.128	0.255	1.020	2.040	2.040	2.040	1.020	2.040	0.510	1.020	0.255	0.510
3	0.490	0.980	0.245	0.490	1.960	1.960	1.960	1.960	1.960	1.960	0.490	0.980	0.245	0.490
4	0.028	0.057	0.007	0.014	0.113	0.226	0.226	0.453	0.226	0.905	0.113	0.226	0.057	0.113
5	1.644	1.644	0.822	1.644	1.644	1.644	1.644	1.644	1.644	1.644	0.822	1.644	0.822	1.644
6	0.496	0.992	0.248	0.496	0.992	1.983	1.983	1.983	1.983	1.983	0.496	0.992	0.248	0.496
7	0.131	0.263	0.066	0.131	0.525	1.050	0.525	2.100	0.525	2.100	0.253	0.525	0.263	Г 0.525
8	0.054	0.108	0.013	0.027	0.108	0.215	0.215	0.862	0.215	0.862	0.215	0.431	0.215	0.431
9	0.126	0.252	0.063	0.126	0.504	500,0	0.504	1.008	0.504	1.008	0.252	0.504	0.252	0.504
10	0.221	0.442	0.110	0.221	0.883	1.766	1.766	1.766	1.766	1.766	0.442	0.883	0.442	0.883

культур β-гемолітичного стрептокока та стафілокока концентрації сполук знаходилися в межах 0.007-0.014 ммоль/л. Культура дріжджоподібних грибів роду *Candida* проявляла дещо меншу чутливість до дії досліджуваних похідних піразолу. Мінімальні вангистатичні концентрації препаратів відповідали 0.054-0.992 ммоль/л.

Слід відмітити чутливість вегетативної форми споруутворюючого тест-мікроорганізма - антракоїдної бацили, для якої бактеріостатична дія препаратів не перевищувала 0.992 ммоль/л.

Значно нищу інгібуючу активність проявили досліджувані солі відносно грамнегативних бактерій ентеральної групи - ешеріхій, протеїв та псевдомонад. Мінімальні пригнічуючі рiст цих мікроорганізмів концентрації сполук становили 0.113-1.766 ммоль/л.

Отримані результати прояву антимікробної активності досліджуваних препаратів щодо грам позитивних та грамнегативних мікроорганізмів узгоджуються з літературними даними ряду авторів [10]. Така закономірність властива як похідним піразолу, так і похідним моно- та біс-четвертинним амонієвим та фосфонієвим солям (препарати декамін, етоній, декаметоксин), що знайшли широке застосування в медицині та ветеринарії [11].

Вірогідно взаємодіючи з трьохшаровою рихлою, пронизаною поринами, глікопротеїновою клітинною оболонкою грам позитивних мікроорганізмів, катіоніти даних класів хіміопрепаратів шляхом полегшеної дифузії з розчинів проникають в параплазматичний простір цих мікроорганізмів і, взаємодіючи з ферментними системами мезосом цитоплазматичної мембрани, пригнічують процеси метаболізму мікробних клітин.

Ліпополісахаридним клітинним оболонкам грамнегативних бактерій у більшій мірі властива гідрофобність і, володіючи значно нижчим коефіцієнтом дифузії, вони проявляють стійкість до інгібуючої дії антисептичних препаратів.

Антимікробна активність досліджуваних сполук різна і залежить від хімічної будови речовин. Структури досліджуваних препаратів відрізняються лише:

1) довжиною алкоксиацетильного фрагмента біля амонійного центру;

2) природою радикала в 1-му положенні піразольного центру;

3) довжиною алкільного радикала між амонієм та уреїдним атомами нітрогену.

Аналіз залежності "структура - активність" дозволяє зробити наступні висновки. Найбільший вплив на активність має довжина алкоксиацетильного фрагмента, причому найвищою активністю для всіх видів мікроорганізмів володіють сполуки з кількістю атомів карбону алкоксильного радикала рівного десяти. Також сполуки з фенільним радикалом в положенні 1-піразольного ядра мають значно вищу активність, ніж сполуки з метильним радикалом.

Що стосується довжини алкільного радикала між атомами азоту, то вона практично не впливає на активність сполук.

Позитивним в характеристиці різних класів антимікробних хіміопрепаратів є здатність їх розчинів багаторазово згубно діяти на мікроорганізми, нейтралізуючи протидію захисних факторів бактерій. Дослідження міри виснаження антимікробної активності препаратів №4 та №8 при 10-ти разовому додаванні посівних доз культур золотистого стафілокока показали комунікативно високу бактерицидну активність препаратів табл. 3.

Отже, володіючи, згідно даних літератури, рядом корисних для медицини фармакологічних властивостей, а саме: антиневрологічною, антинеопластичною, протипухлинною та протизапальною діями і будучи попередниками при отриманні фармакологічно цінних піразолпіримідинів, досліджені сполуки, крім того, проявили в достатній мірі виражену антимікробну активність.

Таблиця 3

Бактерицидна активність 0.01% водних розчинів препарату при повторному контакті з інфекційним матеріалом

№ препаратів	Тест-мікроорганізм	Кількість повторних добавок мікроорганізмів	Наявність (+) або відсутність (-) росту тест-мікроорганізма
№4	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	(-)
№8	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	(-)

Виявлені позитивні властивості сполук цього класу вказують на доцільність подальшого синтезу нових похідних піразолу, відбору найбільш біоактивних сполук для їх поглибленого вивчення.

Висновки

1. Функціональні похідні піразолу з вмістом у структурі молекул гідроксиметиленової або уреїдної угруповань володіють вираженою активністю та спектром антимікробної дії *in vitro*.

2. Антибактеріальна і антигрибкова активність препаратів залежать як від виду тест-мікроорганізму, так і від хімічної будови досліджуваних сполук.

Перспективи подальших досліджень

Зважаючи на корисні фармакологічні властивості похідних піразолу з вмістом у структурі молекул гідроксиметильних груп та похідних уреїдопіразолів, володіючих антинеопластичними, протизапальними, антиневрологічними властивостями, здатністю інгібувати певні види кіназ, а також виявлені в даній роботі високу активність та широкий спектр антимікробної дії препаратів доцільним є подальше поглиблене дослідження даного класу сполук і їхніх аналогів.

Література. 1. Andersan W. K., Janes A. N. J. *Mad. Chem.* 27.1559 (1984). 2. Anikin V., Gantla V. P., Greguz V. E., Jiang L., Liu Y., Me Gee D. P. C., Mikel C. C., Pickent J. C., Webb T. R., Cheug J., Zhu T., Kadushkin A., Zaruly S., Chuchalowski A., Me Grath D. E., Sviridov. *Pat WO 2007056155*. 3. Ведьмины Е. А., Фурер Н. М. *Лабораторные исследования антибиотиков/Руководство по микробиологии, клиника и эпидемиология инфекционных болезней//Изд-во "Медицина", М., 1964. Т. 4, 602-625.* 4. Hirota K., Sajiki H., Isabe Y., Ohba Y., Morita H., Takatu h., Chibo N. *US Pat. 5849779*. 5. European Centre for Disease Prevention and Central (2007). *The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2007* ([www.rivm.nl/earss/\(images\)EARSS%202007-FINAL-tcm61-55933.pdf](http://www.rivm.nl/earss/(images)EARSS%202007-FINAL-tcm61-55933.pdf)). 6. Jamieson C., Maclean L. K. F., Brown C. J., Campbell R. A., Gillen K.L., Gillespie L., Kazemier B., Kiczam M., Lamont Y., Lyans A., Moir E., Mazzaw L.A., Pantling L., Rankovic Z., Smith L., Bioorg. Med. Chem. Lett., 21, 805 (2011). 7. Clare M., Fletcher T. R., Hamper B. C., Hanson G. A., Heier R. F., Huang H., Lennon P., Oburn D. S., Redding M. T., Stealay M. A., Woltson S. G. J. Xie. *Pat. WO 200537797*. 8. Nakayama T., Kena K., Nomoto Y., Matsumoto Y., Yano H., Nakanischi S., Kotaro T., Kusaki H., *Pat. EP 1637532*. 9. Nauen D., Kelly H., Moffett K., Michelotti E. L., Lui B., *US Pat. 2001041642*. 10. Пат. 89004 Україна МПК (2009) С2С07В231/00. Спосіб одержання 1-акрил-3,4-піразол-дикарбонових кислот/Вовк М. В., Братенко М. К., Барус М. М. *інститут органічної хімії НАН України. - № 200813927; заявл. 03.12.2008; опубл. 12.10.2009, Бюл. №19.* 11. Палий Г. К., Троян Г. А., Денисенко В. П., Невская Т. Л. *Изучение ан-тимикробных и фармакологических свойств аммониевых солей, производных гекса- и гептаметилендиаминна//Сб. Антибиотика, Киев, 1967. - №2., С. 156-162.* 12. Палий Г. К., Удавицкая В. В., Лапушинский А. И., Бурденюк И. П. *Синтез и антимикробная активность производных циклогекса-на//Хим. фарм. журн. - 1970. - 1. - С. 17-20.* 13. Салманов А. Г., Хабзей М. К., Марієвський В.

Ф./Антибіотикорезистентність клінічних штамів *Escherichia coli* в хірургічних стаціонарах України у 2010 р.//Укр. мед. часопис, - 2011. - 4(84), - С.124-128. 14. Салманов А. Г., Марієвський В. Ф., Поліщук О. І., Покас О. В. *Порівняльний аналіз основних збудників інфекцій ділянки хірургічного втручання у стаціонарах м. Києва/Хірургія України. - 2009. -1(29). - С.30-35.* 15. Салманов А. Г., Марієвський В. Ф., Доан С. І. *Антибіотикорезистентність клінічних штамів Escherichia coli в хірургічних стаціонарах України у 2009 р.//Експеримент. і клініч. медицина. - 2010. - 3 (48). - С. 137-142.* 16. Братенко М. К., Барус М. М., Вовк М. В. *Полифункциональные пиразолы 6. удобный метод синтеза 1-арил/Н-пиразол-3,4-дикарбоновых кислот//ХГС. - 2010. - №2. - С.243-247.* 17. Cherrier M.-P., Parmantier E., Minaux H., Clerc F., Angouliant O., Brollo M., Schio L., *US Pat. 2009197866*. 18. Cantar A., Schelanski M. *Jodophor iodine sampoos//Sach. Casmet. Chem. 1956, 7, 419.* 19. Elkody M., Nieb K., Schaible M., Bauer J., Luderer S., Ambrosi G., Werz O., Laufer S. A., *J. Med. Chem., 55, 8958 (2012).*

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И СПЕКТР АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛА СО СТРУКТУРНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ В МОЛЕКУЛАХ ГИДРОКСИМЕТИЛЬНОГО И УРЕИДНОЙ ГРУППИРОВОК *IN VITRO*

И.П. Бурденюк, М.К. Братенко, М.М. Барус, В.Ф. Мыслицкий, К.Г. Ташук

Резюме. Проведено исследование *in vitro* биологической активности и спектра антимикробного действия в отношении грамположительных и грамотрицательных тест-культур бактерий и грибов, десяти впервые синтезированных оригинальных химических препаратов. Соединения относятся к производным пиразола, содержащих в своей структуре гидроксиметильную и уреидную группы.

Ключевые слова: синтетические химпрепараты, производные пиразола, питательные среды МПБ и МПА, ингибирующие концентрации МБсК, МБцК, тест-культуры микроорганизмов, серийные разведения препаратов.

ANTIMIKROBIAL ACTIVITY AND SPECTRUM OF ANTIMIKROBIAL ACTION OF CERTAIN NEW SYNTHETIC COMBINATIONS PYRAZOLE DERIVATIVES WITH STRUCTURAL CONTENTS IN THE MOLECULES AND THE HYDROXYMETHYL AND UREID GROUPING *IN VITRO*

I.P. Burdenyuk, M.K. Bratenko, M.M. Barus, V.F. Myslitsky, K.G. Tashuk

Abstract. The investigation *in vitro* of biological activity and range of antimicrobial action against gram-positive and gram-negative test-cultures of bacteria and fungi, ten first synthesized original chemical drugs has been carried out. The compounds are derivatives of pyrazole containing in its structure hydroxymethyl and ureid group.

Key words: synthetic chemicals, derivatives of pyrazole, medium BCH and MPA, inhibiting concentration Mbsc, Mbck, the test-culture of microorganisms, the serial cultivation of drugs.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №3 (49). - P.28-32.

Надійшла до редакції 01.08.2014

Рецензент – проф. І.І.Заморський

© І.П. Бурденюк, М.К. Братенко, М.М. Барус,

В.Ф. Мыслицкий, К.Г. Ташук, 2014