

УДК 615.28.011:547.498

В.К. Свіжак¹,**С.Є. Дейнека¹,****В.О. Черноус¹,****В.Й. Свіжак²**¹Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці;²Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

СКРИНІНГ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 2,4-ДИЗАМІЩЕНИХ 1-АРИЛ-ІМІДАЗОЛ-5-ІЛІДЕНГІДРАЗОНІВ ІЗОНІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ

Ключові слова: імідазол-5-іліденгідрозони ізонікотинової кислоти, піразол-4-іліденгідрозони ізонікотинової кислоти, антимікробні властивості, антибактеріальна активність, протигрибкова дія

Резюме. Встановлено, що похідні 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти проявляють помірну як антибактеріальну, так і протигрибкову активність. Мінімальна бактеріостатична концентрація переважної більшості цих сполук знаходиться в межах 31,25 - 62,5 мкг/мл, а мінімальна фунгістатична концентрація - від 15,62 до 62,5 мкг/мл. Вивчення залежності "структура-активність" досліджуваних сполук дозволило встановити характери впливу замісників у положенні 2 та 4 імідазольного циклу на величину антибактеріальної та протигрибкової дії.

Отримані результати дозволяють рекомендувати продовження пошуку ефективних протимікробних засобів серед даної групи хімічних сполук, у тому числі і завдяки цілеспрямованому синтезу нових гетероциклічних систем з прогнозованими протимікробними властивостями.

Вступ

Глобальне поширення множинної лікарської стійкості бактерій є зростаючою загрозою при терапії антибіотиками [1-3]. Стійкі до антибіотиків бактерії, спричинені якими захворювання важко або неможливо лікувати, стають все більш поширеними і є причиною глобальної кризи в галузі охорони здоров'я [4]. При цьому збільшення споживання антибіотиків може не тільки підвищувати резистентність на рівні окремих пацієнтів, але також призвести до збільшення стійкості на більш високому, популяційному рівні: у суспільстві, окремих країні та регіональному рівні [5]. Тому проблема антибіотикорезистентності дуже серйозна і вимагає конкретних дій на глобальному і державному рівнях [6, 7].

Оскільки стійкість до антибіотиків є проблемою громадської охорони здоров'я, яка виходить за рамки національних кордонів, вона вимагає міжнародного співробітництва органів охорони здоров'я [8]. Однак, узгоджені дії значною мірою відсутні, особливо на національному та міжнародному рівні [9]. Тому вкрай необхідна скоординована міжнародна програма [10].

З врахуванням цього, Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) вже давно визнала стійкість до антибіотиків зростаючою загрозою глобальної охорони здоров'я та шляхом кількох

резолюцій протягом двох останніх десятиліть закликала держави-члени і міжнародне співтовариство вжити заходів, щоб скоротити виникнення і поширення стійкості до антибіотиків [11]. Більше того, враховуючи масштабність проблеми, ВООЗ розробила документ під назвою "Глобальна стратегія ВООЗ зі стримування антибіотикорезистентності" (WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance) [12]. А у вересні 2016 року світові лідери на зустрічі в Організації Об'єднаних Націй заявили про необхідність об'єднання зусиль у боротьбі зі стійкістю мікроорганізмів до протимікробних препаратів. Уперше очільники держав-членів ООН взяли зобов'язання вжити масштабних і скоординованих заходів для боротьби з першочерговими причинами розвитку стійкості до протимікробних препаратів відразу в декількох секторах, зокрема в сферах охорони здоров'я, охорони здоров'я тварин та в сільському господарстві.

Також слід наголосити, що в своїй останній щорічній доповіді про глобальні ризики Всесвітній економічний форум (ВЕФ) також прийшов до висновку, що "можливо, найбільший ризик для здоров'я людини приходить у вигляді стійких до антибіотиків бактерій" і нові розробки антибіотиків є наріжним каменем підходу суспільства до бо-

ротьби зі стійкістю [13].

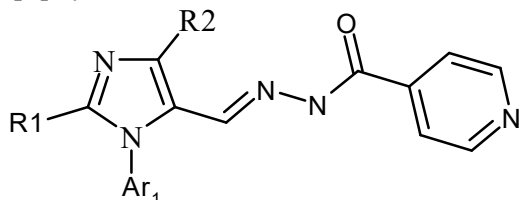
Саме з цих причин розробка нових протимікробних препаратів є надзвичайно актуальною [11].

Мета дослідження

З метою пошуку ефективних протимікробних засобів провести *in vitro* скринінгові дослідження антимікробної активності похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти.

Матеріал і методи

Для дослідження антимікробних властивостей відібрано 12 нових сполук хімічного синтезу - похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти наступної загальної формули:



Досліджені речовини є твердими, кристалічними сполуками білого або жовтувато-червоного кольору, без запаху, нерозчинні у воді, помірно розчинні у 96% спирті, добре - у диметилсульфоксиді (ДМСО), диметилформаміді (ДФМА). Будова синтезованих сполук підтверджена методами ЯМР1Н, а склад - кількісним елементним аналізом.

Для приготування розчинів синтезованих сполук використовували 0,1 мл ДМСО і стерильну дистильовану воду, доводячи матричний розчин до 1000 мкг/мл. Хімічні формули досліджуваних сполук наведені в табл.

Для вивчення антимікробних властивостей досліджуваних сполук використовували загальноприйнятту методику дворазових серійних розведень у рідкому живильному середовищі [14]. При цьому визначали мінімальні бактеріостатичні чи фунгіостатичні (МБсК, МФсК) і мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні (МБцК, МФцК) концентрацій сполук щодо референс-штамів грампозитивних бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans* ATCC 885/653). Бактеріостатичну (фунгіостатичну) концентрацію визначали за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, у присутності якої не спостерігали росту культури. Бактерицидну (фунгіцидну) концентрацію дослідних речовин встановлювали за результатами висіву вмісту лунок планшет з розведен-

нями на відповідні щільні поживні середовища.

Усі досліді супроводжували відповідними контролюми: контролем середовища на стерильність, контролем росту культури в середовищі без сполуки. З метою отримання достовірних результатів досліді проводилися тричі з кожною концентрацією сполуки і досліджуваною культурою мікроорганізмів.

Обговорення результатів дослідження

Проведені мікробіологічні дослідження дозволили встановити, що синтезовані сполуки проявляють помірну протимікробну активність. Результати дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти наведені в табл.

Як видно з даних, наведених у табл., досліджені похідні 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти проявляють помірну антимікробну активність. Так, мінімальна бактеріостатична концентрація переважної більшості похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти знаходиться в межах 31,25 - 62,5 мкг/мл.

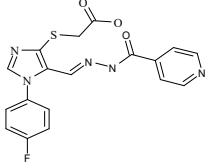
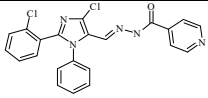
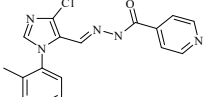
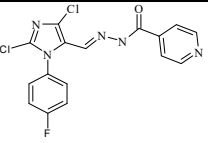
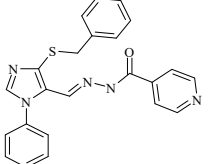
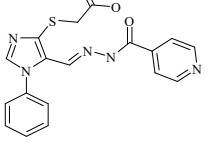
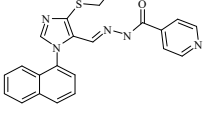
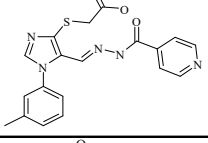
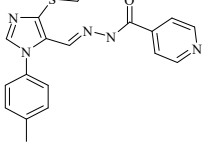
При цьому слід зазначити, що досліджені сполуки в переважній більшості випадків проявляли вищу антибактеріальну активність стосовно грамнегативної *E. coli* ATCC 25922 порівняно з грампозитивним *S. aureus* ATCC 25923. Мінімальна бактеріостатична концентрація цих сполук стосовно *E. coli* ATCC 25922 становила 31,25 - 62,5 мкг/мл (за винятком сполуки 1575, МБсК якої була на рівні 15,62 мкг/мл), а стосовно *S. aureus* ATCC 25923 - 62,5 мкг/мл (за винятком сполук 1575 та 2618, МБсК яких встановлено на рівні 31,25 мкг/мл).

Наведені в табл. дані також вказують, що мінімальна бактерицидна концентрація похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти була в два - вісім разів більшою від відповідної мінімальної бактеріостатичної концентрації і знаходилася в межах 62,5 - 500 мкг/мл для *S. aureus* ATCC 25923 та 62,5 - 250 мкг/мл для *E. coli* ATCC 25922.

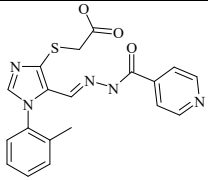
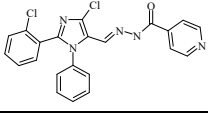
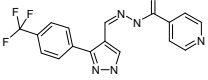
Дослідження антикандидозної активності синтезованих похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти виявило їх дію дещо вищу порівняно з антибактеріальною - мінімальна фунгіостатична концентрація вказаних сполук знаходилася у межах від 15,62 до 62,5 мкг/мл, а мінімальна фунгіцидна концентрація - від 15,62 до 250 мкг/мл. При цьому мінімальна фунгіцидна концентрація переважної більшості досліджених сполук була в два рази

Таблиця

Структура та антимікробна активність похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліден- та піразол-4-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти (мкг/мл)

№ сполуки	Хімічна формула сполуки	<i>S.aureus</i> ATCC 25923		<i>E.coli</i> ATCC 25922		<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	
		МБсК	МБцК	МБсК	МБсК	МБцК	МБсК
1853		62,5	125	31,25	125	62,5	125
1861		62,5	250	31,25	250	31,25	250
1575		31,25	62,5	15,62	62,5	15,62	31,25
1587		62,5	125	62,5	250	31,25	31,25
1604		62,5	500	31,25	125	15,62	31,25
1848		62,5	250	31,25	125	15,62	31,25
1849		62,5	125	31,25	125	15,62	31,25
1850		62,5	125	31,25	125	15,62	31,25
1851		62,5	125	31,25	125	15,62	31,25

Продовження таблиці

1854		62,5	125	62,5	125	15,62	31,25
1862		62,5	250	31,25	250	31,25	250
2618		31,25	62,5	31,25	125	15,62	15,62

Примітки: МБсК – мінімальна бактериостатична концентрація

МБцК – мінімальна бактерицидна концентрація

МФсК – мінімальна фунгістатична концентрація

МФцК – мінімальна фунгіцидна концентрація

більшою від мінімальної фунгістатичної концентрації. Винятком були лише сполуки 1861 та 1862 (у них перевищення склало вісім разів), а також сполука 2618, мінімальні фунгістатична та фунгіцидна концентрації якої знаходились на рівні 15,62 мкг/мл.

Встановлено, що на величину антимікробної дії більшою мірою впливає присутність певних замісників у положенні 2 та 4 імідазольного циклу, ніж замісників в ароматичному заміснику положення 1 імідазолу. Зокрема, найвищу бактерицидну активність виявляє сполука 1575, що містить у положенні 4-імідазольного циклу атом Хлору. Заміна Хлору на фрагмент тіогліколевої кислоти призводить до зниження активності вдвічі. Аналогічний результат отримано і при заміні атома Гідрогену в положенні 2 імідазольного циклу на арильний фрагмент або атом Хлору (сполуки 1861 та 1587). Ймовірно, причиною такого впливу є зниження біодоступності досліджуваних сполук внаслідок збільшення молекулярної маси і, як наслідок, зниження розчинності у воді та ліпідах. Слід зауважити, що заміна імідазольного циклу на піразольний (сполука 2618) не приводить до значного посилення активності, що свідчить про переважачий вплив фрагменту ізонікотинової кислоти на антибактеріальну та протигрибкову дію досліджуваних сполук.

Висновки

1. Похідні 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти проявляють помірну антимікробну активність (мінімальна бактериостатична концентрація їх переважної більшості знаходиться в межах 31,25 - 62,5 мкг/мл, а мінімальна фунгістатична концентрація - від 15,62 до 62,5 мкг/мл), що дозволяє рекомендувати продовження пошуку ефективних

протимікробних засобів серед даної групи хімічних сполук, у тому числі і завдяки цілеспрямованому синтезу нових сполук з прогнозованими протимікробними властивостями.

2. Дослідження залежності "структура-активність" похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти виявило, що, у цілому, на величину антибактеріальної дії суттєво впливає тип замісника в положенні 2 та 4 імідазольного циклу, а також молекулярна маса досліджуваних сполук.

Перспективи подальших досліджень

Доцільним є пошук ефективних протимікробних засобів серед даної групи хімічних сполук, у тому числі і завдяки цілеспрямованому синтезу нових сполук з прогнозованими протимікробними властивостями.

Література. 1. Rodríguez-Rojas A. Antibiotics and antibiotic resistance: a bitter fight against evolution / A. Rodríguez-Rojas, J. Rodríguez-Beltrán, A. Couce, J. Blazquez // International Journal of Medical Microbiology. - 2013. - Vol. 303, Issue 6-7. - P. 293-297. 2. King A.M. Aspergillomarasmine A overcomes metallo- β -lactamase antibiotic resistance / A. King, S. Reid-Yu, W. Wang, D. King, G. De Pascale et al. // Nature. - 2014. - Vol. 510, Issue 7506. - P. 503-506. 3. Li X.-Z. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria / X.-Z. Li, P. Plesiant, H. Nikaido // Clinical Microbiology Reviews. - 2015. - Vol. 28. № 2. - P. 337-418. 4. Blair J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance / J. Blair, M. Webber, A. Baylay, D. Ogbolu, L. Piddock // Nature Reviews Microbiology. - 2015. - Vol. 13. - P. 42-51. 5. Bell B. G. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance / B. Bell, F. Schellevis, E. Stobberingh, H. Goossens, M. Pringle // BMC Infectious Diseases. - 2014. - Vol. 14. - P. 13. 6. Wellington E. M. H. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria / E. M. H. Wellington, A. B. A. Boxall, P. Cross, E.J. Feil, W. H. Gaze, P. M. Hawkey, A. S. Johnson-Rollings, D. L. Jones, N. M. Lee, W. Otten, C. M. Thomas, A. P. Williams // Lancet Infect. Dis. - 2013. - V. 13. - P. 155-165. 7. Laxminarayan R. Antibiotic resistance - the need for global solutions / R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal et al. // The Lancet Infectious Diseases Commission. - 2013. - Vol. 13, Issue 2. - P. 1057-1098. 8. Johnson A. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM)-

mediated carbapenem resistance / A. Johnson, N. Woodford // Journal of Medical Microbiology. - 2013. - Vol. 62. - P. 499-513. 9. Pei R. Revised Model for Antibiotic Resistance in a Hospital / R. Pei, M. Joyner, J. Knisley // East Tennessee state university. - 2015. - 39 p. 10. Carlet J. Ready for a world without antibiotics? The pensière antibiotic resistance call to action / J. Carlet, V. Jarlier, S. Harbarth A. Voss, H. Goossens et al. // Antimicrobial Resistance and Infection Control. - 2012. - Vol. - P. 36-41. 11. Sengupta S. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature / Saswati Sengupta, Madhab K. Chattopadhyay, Hans-Peter Grossart // Frontiers in microbiology. - 2013. - V. 4, Article 47. - P. 1-13. 12. Leibovici L. Addressing resistance to antibiotics in systematic reviews of antibiotic interventions / L. Leibovici, M. Paul, P. Garner, D. J. Sinclair, A. Afshari, N. Leon Pace et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. - 2016. - Vol. 71, № 9. - P. 2367-2369. 13. Spellberg B. The Future of Antibiotics and Resistance / Brad Spellberg, John G. Bartlett, David N. Gilbert // N. Engl. J. Med. - 2013. - V. 368. - P. 299-302. 14. Методичні вказівки 9.9.5-143-2007 "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - К.: МОЗ України, 2007. - 63 с.

СКРИНИНГ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2,4-ДИЗАМЕЩЕННЫХ 1- АРИЛ-ИМИДАЗОЛ-5-ИЛИДЕНГИДРАЗОНОВ ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

В.К. Свижак, С.Е. Дейнека, В.А. Черноус, В.Й. Свижак

Резюме. Установлено, что производные 2,4-дизамещенных 1-арил-имидазол-5-илиденгидразонов изоникотиновой кислоты проявляют умеренную как антибактериальную, так и противогрибковую активность. Минимальная бактериостатическая концентрация подавляющего большинства этих соединений находится в пределах 31,25 - 62,5 мкг/мл, а минимальная фунгистатическая концентрация - от 15,62 до 62,5 мкг/мл. Изучение зависимости "структура-активность" исследуемых соединений позволило установить характер влияния заместителей в положении 2 и 4 имидазольного цикла на величину антибактериального и противогрибкового действия. Полученные результаты позволяют рекомендовать продолжение поиска эффективных противомикробных

средств среди данной группы химических соединений, в том числе и благодаря целенаправленному синтезу новых гетероциклических систем с прогнозируемыми противомикробными свойствами.

Ключевые слова: имидазол-5-илиденгидразоны изоникотиновой кислоты, пиразол-4-илиденгидразоны изоникотиновой кислоты, антимикробные свойства, антибактериальная активность, противогрибковое действие

SCREENING OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES OF 2,4-DI-SUBSTITUTED 1-ARYL- IMIDAZOLE-5-YLIDENE-HYDRAZONES OF ISONICOTINIC ACID

V.K. Svizhak, S.E. Deyneka, V.A. Chornous, V.J. Svizhak

Abstract. There has been found that derivatives of 2,4-disubstituted 1-aryl-imidazole-5-ylidene-hydrazones of isonicotinic acid show a moderate antibacterial and antifungal activity. Minimal bacteriostatic concentration of vast majority of these compounds was in the range 31,25 - 62,5 mg/ml, and the minimal fungistatic concentration - from 15,62 to 62,5 mg/ml. The study of dependence "structure-activity" of the investigated compounds revealed the impact of the substituents in position 2 and 4 of imidazole cycle by the value of antibacterial and antifungal action.

The obtained results allow to recommend continuing search for effective antimicrobial agents among this group of chemicals, including through targeted synthesis of new heterocyclic systems with predictable antimicrobial properties.

Keywords: imidazole-5-ylidene-hydrazones of isonicotinic acid, pyrazol-4-ylidene-hydrazones of isonicotinic acid, antimicrobial properties, antibacterial activity, antifungal action

HSEE of Ukraine "Bukovinian State Medical University"
(Chernivtsi)

Bogomolets National Medical University (Kyiv)

Clin. and experim. pathol. - 2017. - Vol. 16, №1 (59). - P.135-139.

Надійшла до редакції 10.01.2017

Рецензент – проф. І.І. Зпморський

© В.К. Свижак, С.Е. Дейнека, В.О. Черноус, В.Й. Свижак,
2017