

Яковичук Н.Д., Дейнека С.Е., Черноус В.А., Паламар А.А.
Буковинский государственный медицинский университет
г. Черновцы, Украина

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ К5-ГИДРОКСИМЕТИЛ-1Н-ИМИДАЗОЛ- 4-ИЛ) ТИО] УКСУСНЫХ КИСЛОТ

Введение

Поиск новых противогрибковых средств обусловлен значительным распространением грибковых инфекций (микозов) у людей. Это связано с увеличением числа больных с различными иммунодефицитами, напр. ВИЧ-инфекцией, с возрастанием количества внутрибольничных инфекций, в том числе, вызванных микромицетами: *Aspergillus spp.* и *Candida spp.*, а также с широким развитием резистентности у возбудителей микозов к имеющимся на рынке лекарственным препаратам.

Кандиды чаще *C. albicans*, могут вызывать висцеральный кандидоз различных органов, системный (диссеминированный или кандидасептицемия) кандидоз, поверхностный кандидоз слизистых оболочек, кожи и ногтей, хронический (гранулематозный) кандидоз, аллергию на антигены кандид. У больных с ослабленным иммунитетом развиваются: инвазивный аспергиллез легких (обычно вызываемый *Asp. fumigatus*) с быстрым ростом аспергилл и тромбозом сосудов, аллергический бронхолегочный аспергиллез в виде астмы с эозинофилией и аллергического альвеолита, аспергиллома (аспергиллезная мицетома) - гранулема, обычно легких [2].

Проблема быстрого развития резистентности обусловлена тем, что многие противогрибковые препараты представляют собой производные одного класса соединений (в первую очередь полиены и азолы), а также их недостаточной эффективностью и высокой токсичностью. Трудность в лечении грибковых инфекций во многом обусловлена тем, что грибы являются эукариотными микроорганизмами. Данное обстоятельство значительно ограничивает потенциальный выбор мишеней, воздействие на которые позволяет эффективно подавлять рост возбудителей микозов без побочных воздействий на организм человека и животных. Большинство имеющихся в распоряжении медицины противогрибковых препаратов - полиены, азолы и алиламины, влияющие на главный компонент мембраны грибов - эргостерол, не обеспечивают должной избирательности и эффективности действия. Они весьма токсичны, к тому же многие

штаммы возбудителей микозов приобрели резистентность к препаратам группы азолов [3,4,5].

Цель

Изучение биологической активности новых производных [(5-гидроксиметил-Ш-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот в отношении резистентных клинических штаммов грибов.

Методы исследования

На кафедре медицинской и фармацевтической химии Буковинского государственного медицинского университета осуществлен синтез новых [(5-гидроксиметил-1Я-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот.

Учитывая частоту резистентных штаммов возбудителей микозов к препаратам группы азолов мы определили противогрибковую активность новых производных [(5-гидроксиметил-1Я-имидазол-4-ил) тио] уксусных кислот в отношении резистентных клинических штаммов грибов: *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*. Эксперимент проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде Сабуро микрометодом в планшетах.

Для приготовления инокулята использовали суспензию клеток дрожжей и суспензию спор грибов в стерильном физиологическом растворе (0,85 % NaCl). Концентрацию суспензий доводили до 0,5 стандарта McFarland под визуальным контролем путем добавления стерильного изотонического раствора хлорида натрия. Для получения инокулята исходные суспензии дрожжей и спор грибов разводили стандартной жидкой средой Сабуро. Конечная концентрация клеток в опыте составляла 1-5x10⁸ клеток/мл для дрожжей и 0,4-5*10⁸ клеток/мл для мицелиальных грибов [1].

Количество клеток в инокуляте проверяли путем высева на агар Сабуро и подсчета выросших колоний. Все растворы тестируемых соединений готовили непосредственно перед использованием.

Соединения производных [(5-гидроксиметил-1Я-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот: {[5-гидроксиметил-1-(4-метилфенил)-Ш-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота, {[5-гидроксиметил-1-(1-нафтил)-1#-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота, {[5-гидроксиметил-1-(3-метилфенил)-1//-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота, {[5-гидроксиметил-1-(2-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота, {[5-гидроксиметил-1-(4-хлорофенил)-1/7-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота растворяли в ДМСО, получая исходную концентрацию 1000 мг/мл.

Эксперименты проводили в стерильных 96-луночных планшетах в жидкой среде Сабуро в лунках, содержащих 200 мкл питательной среды. Каждый препарат в эксперименте присутствовал в двух повторях. В панель эксперимента в качестве контроля были включены лунки, не содержащие тестируемых соединений.

Планшеты инкубировали при температуре 35°C без встряхивания. Минимальную фунгистатическую концентрацию (МФсК) тестируемых соединений учитывали при 24 часах культивирования для *Candida albicans* и при 48 часах культивирования - для *Aspergillus fumigatus*. МФсК определяли как минимальную концентрацию соединения, полностью предотвращающую видимый рост тест-микроорганизма.

Результаты

Некоторые изученные соединения [(5-гидроксиметил-1Я-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот показали высокую активность в отношении резистентных клинических штаммов грибов - *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*. Результаты определения противогрибковой активности изученных соединений по отношению к резистентным клиническим штаммам грибов представлены в таблице.

Таблица Противогрибковая активность изученных производных [(5-гидроксиметил-Ш-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот (мкг/мл)

Исследуемые соединения	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>	
	МФсК	МФпК	МФсК	МФпК
{[5-Гидроксиметил-1-(4-метилфенил)-1//-имидазол-4-ил]тио}уксусная кислота	31,25	125	62,5	250
{[5-Гидроксиметил-1-(1-нафтил)-1#-имидазол-4-ил]тио}уксусная кислота	125	250	125	>500
{[5-Гидроксиметил-1-(3-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио}уксусная кислота	125	250	125	>500
{[5-Гидроксиметил-1-(2-метилфенил)-1//-имидазол-4-ил]тио}уксусная кислота	31,25	125	31,25	250
{[5-Гидроксиметил-1-(4-хлорофенил)-1/7-имидазол-4-ил]тио}уксусная кислота	62,5	250	62,5	>500

В результате экспериментального исследования антимикробной активности новых соединений [(5-гидроксиметил-1Я-имидазол-4-ил)тио] уксусных кислот по отношению к *Candida albicans* обнаружили, что соединения {[5-гидроксиметил-1-(4-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота и {[5-гидроксиметил-1-(2-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота активны в минимальной фунгистатической концентрации 31,25 мкг/мл, а соединение {[5-гидроксиметил-1-(4-хлорофенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота активное в концентрации 62,5 мкг/мл. В тоже время {[5-гидроксиметил-1-(1-нафтил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота и {[5-

гидрокси-метил-1-(3-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота проявили менее выраженную фунгиостатическую активность - их МФСК находились на уровне 125 мкг/мл. Фунгиоцидная активность описанных выше соединений по отношению к *Candida albicans* находились на уровне 125 - 250 мкг/мл (таблица).

При исследовании антигрибковой активности по отношению к *Asp. fumigatus* соединение {[5-гидрокси-метил-1-(2-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота показало максимальную активность - его МФСК находилась на уровне 31,25 мкг/мл, а фунгиоцидная активность отмечена в концентрации 250 мкг/мл. Соединения {[5-гидрокси-метил-1-(4-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота и {[5-гидрокси-метил-1-(4-хлорофенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота активны в концентрации 62,5 мкг/мл, их фунгиоцидная активность - отмечена на уровне 250 и >500 мкг/мл. Другие соединения этой группы, а именно {[5-Гидрокси-метил-1-(1-нафтил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота и {[5-Гидрокси-метил-1-(3-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота оказались умеренно активными - "их минимальная фунгиостатическая концентрация равна 125 мкг/мл, фунгиоцидной активностью эти вещества не обладают (МФСК >500).

Выводы

1. Наибольшим противогрибковым эффектом среди новых соединений [(5-гидрокси-метил-1Яимидазол-4-ил]тио] уксусных кислот по отношению к *Candida albicans* обладают соединения {[5-гидрокси-метил-1-(4-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота и {[5-гидрокси-метил-1-(2-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусная кислота, минимальная фунгиостатическая концентрация которых составляет 31,25 мкг/мл, а фунгиоцидная активность - 125 мкг/мл.

2. В отношении мицелиальных грибов *Aspergillus fumigatus* максимальное фунгиостатическое действие обнаружено у {[5-гидрокси-метил-1-(2-метилфенил)-1Я-имидазол-4-ил]тио} уксусной кислоты (МФСК находится на уровне 31,25 мкг/мл).

3. Полученные результаты позволяют обосновать дальнейшие рекомендации для целенаправленного синтеза новых противогрибковых препаратов среди производных [(5-гидрокси-метил-1Яимидазол-4-ил]тио] уксусных кислот.

Литература

1. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А., С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ешиной. - М.: Медицина, 2004. - 576с.

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: том 2 : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко, М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 474.

V.Makarov, O.Riabova, A.Yuschenko, N.Urlyapova, A.Daudova, P.F.Zipfel, U.Mollmarm, Synthesis and Antileprosy Activity of Some Dialkydithiocarbamates, J. Antimicrobial Chemother., Apr 2006, 57, H34-1138;

Mohamed GG, Ibrahim NA, Attia HA. Synthesis and antifungicidal activity of some transition metal complexes with benzimidazole dithiocarbamate Hgand. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2009 Apr; 72(3): 610-5;

Nogueira U, de Resende MA, Oliveira SR, de Araujo MH, Magalhaes TF, de Oliveira MB, Martins CV, Lopes MT, Araujo e Silva AC, Donnici CL. In vitro susceptibility of *Aspergillus* spp. to dithiocarbamate organoruthenium compounds. Mycoses. 2011 Sep; 54(5): e: 323-9.