

УДК 547.77'575'495.6:615.33:616-092.4

**I.П. Бурденюк,**  
**М.К. Братенко,**  
**М.М. Барус,**  
**В.Ф. Мислицький,**  
**К.Г. Тащук**

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці

**Ключові слова:** синтетичні хіміотерапевтичні препарати, похідні піразолу, живильні середовища м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), інгібуючі концентрації мінімальна бактеріостатична (МБсК), мінімальна бактерицидна (МБцК), тест-культури мікроорганізмів, серійні розведення препаратів.

### Вступ

Широке застосування антибіотиків та антимікробних 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 гнійно-запальних інфекцій [5].

Стійкі до дії антибіотиків мікроорганізми володіють підвищеною вірулентністю, а викликані ними захворювання характеризуються тяжким перебіgom, погано піддаються лікуванню. Це свідчить про те, що для організації та проведення ефективних засобів боротьби з інфекціями, викликаними резистентними мікроорганізмами, до уваги слід брати не лише раціональні методи хіміотерапії існуючими лікарськими засобами, але й проводити постійний пошук високоефективних антисептических лікарських препаратів.

Відомо, що функціональні похідні піразолу з вмістом у своїй структурі гідроксиметиленою або уреїдною групи належать до синтетично цікавих біологічно важливих сполук. Особисто 4-гідроксиметилпіразоли проявляють виражену антиневрологічну дію [6], а також використовуються як синтетичні блоки для дизайну нестероїдних

## АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА СПЕКТР АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ДЕЯКИХ НОВИХ СИНТЕТИЧНИХ СПОЛУК ПОХІДНИХ ПІРАЗОЛУ ЗІ СТРУКТУРНИМ ВМІСТОМ У МОЛЕКУЛАХ ГІДРОКСИМЕТИЛЬНОЇ ТА УРЕЇДНОЇ УГРУПУВАНЬ IN VITRO

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

протизапальних засобів [19] та антineопластичних агентів [1].

У свою чергу, 3-уреїдопіразоли характеризуються протипухлинними [17], протизапальними властивостями [7, 8] і схильністю до інгібування деяких видів кіназ [2, 9]. Крім цього вони знаходять застосування як попередники при отриманні фармакологічно цінних піразоло пиримідинів [2,3,4].

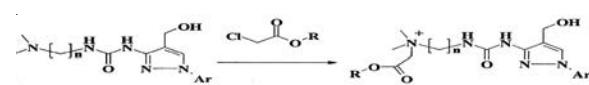
Таким чином, з врахуванням цих даних виникає питання доцільності синтезу нових структур піразольного типу, які одночасно вміщують названі фрагменти в якості потенційних біоактивних сполук з дослідженням їхньої антимікробної активності і спектра антимікробної дії [12, 16].

### Мета дослідження

Дослідити міру антимікробної активності та спектр антимікробної дії вперше синтезованих хіміческих сполук похідних піразолу з вмістом у структурі молекул гідроксиметильної та уреїдної груп на культурах музейних штамів мікроорганізмів. Визначити ступінь виснажуваності сполук при повторному внесенні тест-культур в живильні розчини з препаратами та залежність "антимікробна активність - структура" досліджуваних сполук.

### Матеріали і методи

З метою пошуку біологічно активних і малотоксичних антимікробних хіміческих препаратів на

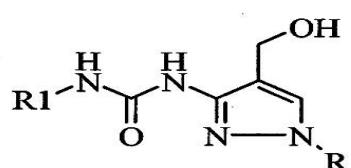


основі піразолу, сечовини, які містили диметиламіногрупу, були кватеризовані алкіловими ефірами хлороцтової кислоти у відповідні солі. Отримані солі є водорозчинними і виявили високу бактеріостатичну та бактерицидну дію.

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.

**Загальна структурна формула та хімічна будова радикалів досліджуваних сполук**



№	R1	R	Формула
1		-CH <sub>3</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 518.2
2		-CH <sub>3</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 490.15
3		-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 510.14
4		-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 552.22
5		-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 608.33
6		-CH <sub>3</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 504.17
7		-CH <sub>3</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 476.15
8		-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 580.27
9		-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 496.11
10		-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 566.24

**Таблиця 1**

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 невимогливих грампозитивних і грамнегативних бактерій брали 1% м'ясо-пептонний бульйон (МПБ pH 7.2-7.3); для стрептококів - 1% цукровий МПБ, а для дріжджеподібних грибів роду *Candida*-рідке середовище Сабуро (pH-6.8).

Виснажуваність бактеріальної активності препаратів при повторному контакті з інфекційним матеріалом досліджували за класичною методикою, запропонованою A. Cantor, M. 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'ясо-пептонного бульйону з нейтралізатором. Посіви інкубували в терmostаті при 37°C протягом семи

діб. 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 кожної з досліджуваних сполук. У порівнянні більш висока чутливість до інгібуючої дії препаратів відмічається у грампозитивних мікроорганізмів, особливо в кокової групі 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 ммол/л)													
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus pyogenes</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Bacillus anthracoides</i>		<i>Candida albicans</i>	
	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	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  $\beta$ -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 фангістичні концентрації препаратів відповідали 0.054-0.992 ммоль/л.

Слід відмітити чутливість вегетативної форми спороутворюючого тест-мікроорганізма - антра-коїдної бацилі, для якої бактеріостатична дія препаратів не перевищувала 0.992 ммоль/л.

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

Отримані результати прояву антимікробної активності досліджуваних препаратів щодо грампозитивних 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 грампозитивних 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.

**Бактерицидна активність 0.01% водних розчинів препарата 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	(-)

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 амонійним та уреїдним атомами нітрогену.

Аналіз залежності "структурна - 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 тест-культур золотистого стафілокока показали комулятивно високу бактерицидну активність препаратів табл. 3.

Отже, володіючи, згідно даних літератури, рядом корисних для медицини фармакологічних властивостей, а саме: антіневрологічною, антінеопластичною, 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**

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 структуру 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 поглиблene 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, клинике и эпидемиологии 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/\(mages\)EARSS%202007-FINAL-tcm61-55933.pdf](http://www.rivm.nl/earss/(mages)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., Wolton S. G. J. Xie. Pat. WO 200537797. 8.Nakayama T., Kena K., Nomoto Y., Matsumoto Y., Yano H., Nakaniishi 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) С2C07B231/00. Способ 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 антимикробных и фармакологических свойств аммониевых солей, производных гекса- и гептаметилендиамина//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 циклогексана//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 клін. медицина. - 2010. - 3 (48). - С. 137-142. 16. Братенко М. К., Барус М. М., Вовк М. В./Поліфункциональні пира-золи 6. удобний метод синтеза 1-ацил/Н-піразол-3,4-дикарбонових кислот//ХГС. - 2010. - №2. - С.243-247. 17. Cherrier M.-P., Parmantier E., Minaux H., Clerc F., Angoulian O., Brollo M., Schio L., US Pat. 2009197866. 18.Cantar A., Schelanski M./Jodophor iodine sampoos//Sac. 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. Милицкий, К.Г. Тащук**

**Резюме.** Проведено исследование *in vitro* биологической активности и спектра antimикробного 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 препарата.

### ANTIMIKROBIAL ACTIVITY AND SPECTRUM OF ANTIMICROBIAL 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, MM. Barus, V.F. Myslitsky, K.G. Taschuk**

**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 oregeno 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*

*© I.P. Бурденюк, М.К. Братенко, М.М. Барус,*

*В.Ф. Милицький, К.Г. Тащук, 2014*