

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ФУНГИСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЗАМЕЩЕННЫХ И АННЕЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КСАНТИНА

**И.В. Киреев**

*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

*Исследование влияния замещенных и аннелированных производных ксантина проведено на коллекции индикаторных тест-штаммов микроорганизмов. Антибактериальная и фунгистатическая активность оценивалась по минимальной подавляющей концентрации.*

*На спектр и силу антибактериальной и фунгистатической активности оказывает влияние введение различных заместителей в молекулу замещенных и аннелированных производных ксантина.*

*Среди 173 исследованных новых органических веществ соединение 111 обладает наиболее выраженной антимикробной активностью, которая сопоставима с действием эталонных препаратов.*

### ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения более 50% заболеваний человека вызывают микроорганизмы (вирусы, бактерии, простейшие, грибы и др.), глисты и др. паразиты. Ликвидация их в организме осуществляется системой иммунитета и химиотерапевтическими средствами. В клинической практике широкое применение для борьбы с микроорганизмами нашли антибиотики с антибактериальной, противогрибковой, противопротозойной и противоопухолевой активностью [2–4]. При лечении инфекционных болезней используются природные и полусинтетические антибиотики, изменяя структуру природных антибиотиков, а отдельные антибиотики получают путем целенаправленного химического синтеза. В процессе применения к антибиотикам может развиваться устойчивость к микроорганизмам, возможно образование перекисной резистенции [7–10]. Развитие резистентности связано в основном с выработкой микроорганизмами специфических ферментов  $\beta$ -лактамаз (пенициллиназ), гидролизующих  $\beta$ -лактамное кольцо антибиотиков, что лишает их антимикробной активности и приводит к развитию резистентных штаммов микроорганизмов [1, 5, 11–15]. Несмотря на высокую избирательность действия, антибиотики вызывают ряд побочных эффектов: аллергические реакции, суперинфекции (дисбактериоз, ослабление иммунитета) и токсические явления (диспепсию, флебиты, нарушения функции печени и почек и др.) [16–19].

В связи с этим важной проблемой остается поиск новых химиотерапевтических средств, который в настоящее время проводится среди различных классов органических веществ. В этом плане наше внимание привлекли новые синтетические производные 3-метилксантина [6].

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования была оценка антибактериальной и фунгистатической активности новых синтетических замещенных и аннелированных производных 3-метилксантина как потенциальных лекарственных средств.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценку антибактериальной и фунгистатической активности впервые синтезированных замещенных и аннелированных производных 3-метилксантина проводили в соответствии с методическими рекомендациями Фармакологического комитета.

Исследование антимикробной активности замещенных и аннелированных производных ксантина проведено на коллекции индикаторных тест–штаммов микроорганизмов, полученных из музея животных культур Государственного научно–исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Тарасевича (Москва) и Института усовершенствования врачей (Санкт–Петербург). Коллекция включала штаммы:

1) бактерий: E.Coli – кишечная палочка, Pseudomonas aureginosa – синегнойная палочка, Staphylococcus aureus–золотистый стафилококк, Shigella flexneri–дизентерийная палочка;

2) грибов: Candida spp.–дрожжеподобные грибы рода Кандида.

Для культивирования бактерий использовали бульон Хоттингера (рН 7,2–7,4), а для грибов – среду Сабуро (рН 6,0–6,8).

Антимикробная и фунгистатическая активность оценивалась по минимальной подавляющей концентрации (МПК) – наименьшему количеству вещества, которое полностью задерживало рост бактерий или грибов после выращивания [4]. Эталонными препаратами сравнения служили ампициллин, фарингосепт и нистатин [4].

Определение МПК проводили общепринятым методом серийных разведений с коэффициентом 2 в жидкой питательной среде. С этой целью готовилось исходное разведение испытуемого соединения с концентрацией 500 мкг в 1 мл питательной среды (бульон Хоттингера).

В дальнейшем проводилось последовательное двукратное разведение, в результате чего в 1 мл питательной среды содержалось 250, 125, 62,5, 31,25 и т.д. мкг вещества.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты представлены в табл.1.

*Таблица 1 – Антибактериальная и фунгистатическая активность замещенных и аннелированных производных ксантина*

Номер соединения	Минимальная подавляющая концентрация веществ в мкг/мл				
	кишечная палочка	синегнойная палочка	золотистый стафилококк	дизентерийная палочка	дрожжеподобные грибки
1	2	3	4	5	6
1	125	125	250	125	250
2	–	–	–	–	–
3	125	250	250	125	250
4	125	250	125	125	500
5	250	500	250	500	–
6	125	250	250	250	–
7	250	125	250	250	–
8	125	250	62,5	125	125
9	62,5	62,5	125	62,5	125
10	125	125	62,5	62,5	125
11	250	125	250	500	–
12	250	125	125	250	250
13	500	125	250	125	250
14	250	250	125	250	500
15	125	250	250	125	250
16	500	125	250	500	–
17	250	250	250	500	–
18	250	250	250	250	–
19	250	500	500	–	–
20	250	250	250	250	500
21	250	250	125	125	500

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
22	250	125	–	500	500
23	500	250	125	500	–
24	500	250	250	500	500
25	250	250	125	500	500
26	–	250	125	250	500
27	250	250	125	125	500
28	125	–	125	250	125
29	250	125	250	125	–
30	250	500	250	–	–
31	–	–	–	–	–
32	250	125	250	250	–
33	250	125	250	125	250
34	62,5	125	31,25	125	250
35	250	250	125	250	500
36	500	125	250	250	500
37	62,5	125	62,5	125	125
38	500	250	250	250	500
39	250	125	250	125	250
40	250	125	125	125	250
41	500	250	250	125	125
42	–	250	500	250	–
43	500	250	250	250	500
44	–	–	–	–	–
45	500	–	500	250	–
46	–	250	–	250	–
47	250	150	125	125	250
48	62,5	125	250	250	500
49	–	–	–	–	–
50	125	125	250	250	–
51	62,5	31,25	62,5	125	250
52	31,25	31,25	62,5	31,25	125
53	125	250	250	125	250
54	125	250	125	125	500
55	62,5	31,25	62,5	125	250
56	–	–	–	–	–
57	–	–	–	–	–
58	250	500	250	125	–
59	–	–	–	–	–
60	500	250	250	250	500
61	250	125	250	–	–
62	250	125	125	–	250
63	500	125	250	–	250
64	250	250	125	250	500
65	125	250	250	125	250
66	500	125	250	500	–
67	250	250	–	500	–
68	125	250	125	125	–
69	250	250	125	250	500
70	125	250	250	125	250
71	250	250	125	125	–
72	250	125	–	–	–
73	500	250	125	–	–
74	500	250	250	–	–
75	–	–	–	–	–

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
76	–	–	–	–	–
77	–	250	250	–	–
78	125	250	250	125	250
79	125	250	125	125	500
80	–	500	250	–	–
81	125	250	250	250	–
82	250	125	250	250	–
83	250	500	250	125	–
84	–	–	–	–	–
85	250	250	125	250	500
86	125	250	250	125	250
87	250	125	125	–	250
88	500	125	250	–	250
89	250	250	125	250	500
90	125	250	250	125	250
91	500	125	250	500	250
92	250	250	–	500	250
93	250	250	–	250	500
94	–	–	–	–	–
95	–	–	–	–	–
96	–	–	–	–	–
97	250	125	–	500	250
98	–	–	–	–	–
99	500	250	250	250	250
100	250	250	125	250	500
101	–	–	–	–	–
102	–	–	–	–	–
103	–	–	–	–	–
104	–	–	–	–	–
105	–	–	–	–	–
106	–	–	–	–	–
107	250	125	250	250	250
108	250	500	250	125	500
109	250	250	125	250	500
110	125	250	250	500	250
111	62,5	15,62	31,25	62,5	62,5
112	250	125	125	250	250
113	500	125	250	250	250
114	250	250	125	500	500
115	125	250	250	125	250
116	500	125	250	500	500
117	250	250	–	500	500
118	250	250	–	250	250
119	250	250	125	250	250
120	125	250	250	125	250
121	250	250	125	125	500
122	250	125	–	500	500
123	500	250	125	500	250
124	500	250	250	250	250

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
125	250	250	125	250	–
126	125	250	125	125	500
127	–	500	250	–	500
128	125	250	250	250	500
129	250	125	250	250	250
130	250	500	250	125	250
131	250	250	125	250	500
132	125	250	250	125	250
133	250	125	250	500	–
134	250	125	125	500	250
135	500	125	250	250	250
136	250	250	125	250	500
137	125	250	250	125	500
138	500	125	250	500	500
139	250	250	–	500	250
140	250	250	–	250	250
141	250	250	125	250	500
142	125	250	250	500	500
143	250	250	125	500	500
144	250	125	–	250	250
145	500	250	125	250	250
146	–	–	–	–	–
147	–	–	–	–	–
148	–	250	125	250	250
149	250	250	125	125	250
150	125	–	125	250	125
151	–	–	–	–	–
152	250	500	250	–	–
153	250	250	125	250	250
154	250	125	250	250	–
155	250	125	250	125	250
156	62,5	125	31,25	125	250
157	250	250	125	250	500
158	500	125	250	250	500
159	125	250	250	250	250
160	500	250	250	250	250
161	250	125	250	125	250
162	–	–	–	–	–
163	500	250	250	125	125
164	–	–	–	–	–
165	–	–	–	–	–
166	–	–	–	–	–
167	–	–	–	–	–
168	–	–	–	–	–
169	–	–	–	–	–
170	–	–	–	–	–
171	–	–	–	–	–
172	–	–	–	–	–
173	–	–	–	–	–

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Ампициллин	16	31,25	62,5	31,25	–
Фарингосепт	15,6	31,25	62,5	32	–
Нистатин	250	125	125	250	62,5

*Примечание.*  
«–» – соединение не испытано;  
«+» – соединение в концентрации 500 мкг/мл не подавляет рост бактерий и грибов

Установлено, что в ряду 8-монозамещенных 3-метилксантина (соед. 1–31) большинство веществ обладают умеренной антибактериальной активностью. Наиболее активным оказалось соединение 9, которое оказывает антибактериальную активность в отношении кишечной палочки, синегнойной палочки, золотистого стафилококка, дизентерийной палочки и дрожжеподобных грибов. Минимальная подавляющая концентрация соединения 9 на указанные выше штаммы микроорганизмов находилась в интервале 62,5–125 мкг/мл. Замена хлорметильного (соед. 9) радикала на этилтиольный (соед. 29), пропилтиольный (соед. 30),  $\beta$ -гидроксиэтиламинотимильный (соед. 10), изобутильный (соед. 26), изопентилтиометильный (соед. 6) заместители приводит к уменьшению антимикробной активности.

Среди 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноаминоксантинов (соед. 32–46) выраженное антимикробное действие вызывало соединение 37. Замена гептильного (соед. 37) радикала на бензильный (соед. 33),  $\beta$ -оксиэтильный (соед. 39) и нонильный (соед. 38) приводит к уменьшению антимикробной активности.

В ряду производных 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантинов (соед. 47–60) большинство соединений обладает умеренной антимикробной активностью. Выявленное антимикробное действие оказывают соединения 51, 52 и 55, которые подавляют рост кишечной и синегнойной палочек, золотистого стафилококка, дизентерийной палочки и дрожжеподобных грибов в концентрации 31,25–125 мкг/мл.

Умеренную антибактериальную активность оказывают производные 3-метил-7-алкил-8-пиперазинноксантинов (соед. 61–76). Наиболее активным было соединение 68, которое подавляет рост кишечной и синегнойной палочек, золотистого стафилококка, дизентерийной палочки в концентрации 125–250 мкг/мл. Замена гептильного (соед. 68) на  $\gamma$ -хлорбутенил-2 (соед. 67),  $\beta$ -оксиэтильный (соед. 61) и метилпропильный (соед. 66) приводит к уменьшению антимикробных и фунгицидных свойств исследуемых веществ.

Среди производных 7,8-дизамещенных 3-метилксантина (соед. 77–88), 7-алкил-8-алкиламинноксантинов (соед. 89–117) и 3-метил-7-алкил-8-N,N-диалкиламинноксантинов (соед. 118–135) наиболее активным является соединение 111, МПК которого на указанные выше штаммы микроорганизмов находилась в интервале от 31,25 до 125 мкг/мл.

В ряду производных 1,2,3,6-тетразамещенных 8-метилимидазо(1,2-f)ксантина (соед. 136–173) выявлены соединения 142, 143, 159, 161 и 163, которые обладают умеренной антибактериальной и противогрибковой активностью, задерживая рост бактерий и грибов при концентрации в пределах от 125 до 250 мкг/мл. В данном ряду веществ наибольший антимикробный эффект оказывает 1-этил-2-фенил-6- $\beta$ ,  $\gamma$ -диацетоксипропил-8-метилимидазо(1,2-f)ксантин (соед. 156), который при минимальной подавляющей концентрации 31,25–125 мкг/мл подавляет рост золотистого стафилококка, кишечной, синегнойной и дизентерийной палочек. Спектр их антимикробной активности сопоставим с эталонными препаратами сравнения, а в некоторых случаях превосходит антимикробную активность ампициллина и фарингосепта.

На спектр и силу антибактериальной и фунгистатической активности оказывает влияние введение различных заместителей в химические структуры молекул производных 3-метилксантина. Установленная зависимость антимикробного и противогрибкового действия от химической структуры используется при дальнейшем проведении синтеза биологически активных веществ в ряду замещенных и аннелированных производных 3-метилксантина.

Таким образом, среди изученных веществ наиболее активным оказалось соединение 111, антибактериальная и фунгицидная активность которого сопоставима с эталонными препаратами сравнения, а в некоторых случаях превосходит антибактериальную активность ампициллина и фарингосепта.

## ВЫВОДЫ

1 Соединение 111 (7-гептил-8-циклогексиламиноксантин) при МПК 15,62 мкг/мл подавляет рост синегнойной палочки, при МПК 31,25 мкг/мл подавляет рост золотистого стафилококка, при МПК 62,5 мкг/мл подавляет рост кишечной и дизентерийной палочек. Антибактериальная и фунгицидная активность соединения 111 сопоставима с ампициллином, фарингосептом и нистатином.

2 Дальнейшее проведение целенаправленного синтеза и изучения антимикробных свойств в ряду замещенных и аннелированных производных ксантина является перспективным направлением для изучения антибактериальной и фунгистатической активности и создания на их основе химиотерапевтических средств.

## SUMMARY

*The study of impact of substituted and annelated derivatives of xantina, held in the collections of indicator test strains of microorganisms was held. Antibacterial and fungistatic activity was estimated by minimal inhibitory concentration.*

*Among the 173 surveyed new organic substituted 111 has the most apparent anti-microbial activity, which is comparable to the operation of standard drugs.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березняков И.Г. Резистентность микробов к антибиотикам // Клини. антибиотикотерапия. – 1999.– С. 27–31.
2. Бухарин О.В., Усвянцов Б.Я., Хуснутдиева Л.М. Межбактериальные взаимодействия // Журн. микробиол.–2003.–№4.– С.3–8.
3. Крюков А.И., Туровский А.Б. Этиотропная терапия бактериального синусита Consilium medicum // Пульмонология. – 2005. –Т. 7, № 1.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Издательство Новая волна», 2005. – 1200 с.
5. Методы экспериментальной химиотерапии: Практ. руководство / Под ред. Г.Н. Першина.–М., 1971.– 1971– 537 с.
6. Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Самура І.Б. та ін. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 8-амінопохідних 1-бензилтеоброміну // Запорозький мед. журнал.–2006.–№3 (36).–С.142–146.
7. Antibiotic resistance of urinary tract pathogens and evaluation of empirical treatment in Turkish children with urinary tract infections / S. Yuksel, B. Ozturk, A. Kavaz et al. // Int. J. Antimicrob .Agents. – 2006.– Vol. 28, № 5. – P. 413–416.
8. Bidault P., Chandad F., Grenier D. Risk of bacterial resistance associated with systemic antibiotic therapy in periodontology // J. Can. Dent. Assoc. – 2007. – Vol. 73, № 8. – P. 721–725.
9. Changing patterns in neonatal Escherichia coli sepsis and ampicillin resistance in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis / M.J. Bizzarro, L.M. Dembry, R.S. Baltimore, P.G. Gallagher // Pediatrics. – 2008. – Vol. 121, № 4. – P. 689–696.
10. Ciofu O. Pseudomonas aeruginosa chromosomal beta-lactamase in patients with cystic fibrosis and chronic lung infection. Mechanism of antibiotic resistance and target of the humoral immune response // APMIS. – 2003. – Vol. 116. – P. 1–47.
11. Edwards M.S. Issues of antimicrobial resistance in group B streptococcus in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis // Semin. Pediatr. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 17, № 3. – P. 149–152.
12. Effect of antibiotic pretreatment on resistance / Paradisi F., Corti G., Sbaragli S., Benedetti M. // Semin. Respir. Infect. – 2002. – Vol. 17, № 3. – P. 240–245.
13. Gould C.V., Rothenberg R., Steinberg J.P. Antibiotic resistance in long-term acute care hospitals: the perfect storm // Infect. Control Hosp. Epidemiol. – 2006. – Vol. 27, № 9. – P. 920–925.

14. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 171. – P. 388–416.
15. Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in Enterobacter species / S.E. Cosgrove, K.S.Kaye, G.M. Eliopoulos, Y.Carmeli // Arch. Intern. Med. – 2002. – Vol. 162. – P. 185–190.
16. Health care Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing health-care associated pneumonia, 2003: recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee / O.C. Tablan, L.J. Anderson, R. Besser et al. // MMWR Recomm. Rep. – 2004. – Vol. 53, № 3. – P. 1–36.
17. Kish M.A. Guide to development of practice guidelines // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 32. – P. 851–854.
18. Pallasch T.J. Global antibiotic resistance and its impact on the dental community. Medscape Newsletters // J. N. J. Dent. Assoc. – 2000. – Vol. 71, № 2. – P. 14–15.
19. Stelling J.M., O'Brien T.F. Surveillance of antimicrobial resistance: the Whonet program // Clinical Infections Diseases. – 1997. – Vol. 24, Suppl. 1. – P. 157–168.

**Киреев И.В.**, д-р мед. наук, доцент

*Поступила в редакцию 21 ноября 2008 г.*