

УДК 579:61:547.555'77'853.7.057

О.І. Гаврилюк,**Н.В. Панасенко,****С.Є. Дейнека**

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ (3- АРИЛ-1-ФЕНІЛ-1Н-ПІРАЗОЛ)-4- КАРБАЛЬДЕГІД ТІОСЕМІКАРБАЗОНІВ

Ключові слова: 4-піразоліл-тіосемікарбазони, антимікробні властивості, антибактеріальна активність, протигрибкова дія.

Резюме. Шляхом конденсації доступних 4-формілпіразол-3-карбонових кислот з тіосемікарбазидом у киплячій оцтовій кислоті синтезовано 4-піразоліл-тіосемікарбазони із високими (76-91 %) виходами, склад і будова яких підтверджені результатами елементного аналізу, а також вимірів хроматомас, ІЧ- та ЯМР 1H спектрів. Встановлено, що синтезовані 4-піразоліл-тіосемікарбазони проявляють помірну антимікробну активність та володіють широким спектром антимікробної дії. При цьому показано, що похідні 4-піразоліл-тіосемікарбазонів проявляють децю вищу протигрибкову дію порівняно з такою антибактеріальною - мінімальні фунгіцидні концентрації цих сполук були меншими за їх мінімальні бактерицидні концентрації у 2-4 рази. Отримані результати вказують на те, що такого типу сполуки є привабливими синтетичними блоками для отримання циклічних біоперспективних похідних піразолу.

Вступ

Людина взаємодіє з патогенами протягом всієї людської історії, але способи, за допомогою яких вона боролася з інфекціями, докорінно змінилися з появою сучасних антибіотиків. Цей клас лікарських засобів включає в себе препарати, що діють або безпосередньо вбиваючи бактерії (бактерицидні агенти), або пригнічуючи їх ріст (бактеріостатичні агенти). Вони відкрили золотий вік, який дозволив успішне лікування мільйонів людей [1]. Антибіотики врятували незліченну кількість життів і сприяли розвитку сучасної медицини протягом останніх 70 років [2]. Ці препарати відкрили шлях для безпрецедентних медичних і соціальних подій, і сьогодні незамінні у всій системі охорони здоров'я. Цілком очевидно, що такі досягнення в галузі сучасної медицини, як оперативні втручання, трансплантація органів, лікування недоношених дітей і хімотерапія раку не були б можливими без засобів для ефективного лікування бактеріальних інфекцій [3].

Протягом багатьох років ми стали сильно залежними від антибіотиків і ці препарати сильно вкоренилися в наше життя. На жаль, призначення протимікробних препаратів не обмежується тільки тими, хто хворий; вони використовуються профілактично для запобігання виникнення інфекцій, у т.ч. і тварин, вони присутні в продуктах харчування, споживчих товарах, кормах для тварин, щоб збільшити темпи набору їх ваги [1].

Проте з часом стало очевидним, що успіх антибіотиків може бути тільки тимчасовим, оскільки наростає кількість стійких до антибіотиків бактерій [2]. Наприклад, протягом останніх 2-х десятиліть досягла пандемічного рівня множинна лікарська стійкість різних бактеріальних патогенів [4]. Крім того важливо, що збільшення споживання антибіотиків може не тільки зумовлювати більшу стійкість на рівні окремого пацієнта, але також може призвести до більш високої резистентності на регіональному рівні чи в масштабах окремої країни, що може завдати шкоди великому числу пацієнтів [5]. Тому рішення багатьох проблем, пов'язаних з ескалацією стійкості до протимікробних препаратів, вимагає стратегії на інституціональному, громадському, національному, регіональному і міжнародному рівнях [6].

Стійкість до протимікробних препаратів є наростаючою загрозою для глобальної громадської охорони здоров'я [7]. Тому зростаюче число бактеріальних патогенів, які стійкі до численних антибіотиків, є причиною для занепокоєння по всій земній кулі [1], оскільки стійкість бактеріальних патогенів до протимікробних препаратів є провідною причиною захворюваності та смертності в клінічних умовах [4].

Десятиліттями після того, як перші пацієнти почали лікуватися антибіотиками, бактеріальні інфекції знову стають загрозою через швидку появу резистентних бактерій - кризову ситуацію як

у результаті зловживання цими препаратами, так через відсутність нових лікарських препаратів [8]. На жаль, темпи впровадження нових антибіотиків сповільнилися протягом останніх декількох десятиліть. На відміну від 1940-х, 50-х і 60-х років, коли багато нових антибіотиків було розроблено протягом відносно короткого періоду часу, ніяких нових хімічних класів антибіотиків широкого спектру дії не з'явилося протягом останніх 40 років. З урахуванням нинішніх тенденцій, наш ефективний арсенал проти зростаючої множинної лікарської стійкості бактеріальної популяції неминуче зменшується [1]. Не дивлячись на те, що групи науковців працюють над розробкою нових антибіотиків, що були б ефективними за умов множинної лікарської стійкості бактерій, ймовірність успіху, як видається, скорочується, і цілком ймовірно, що протягом певного часу і до цих препаратів виникне резистентність [1].

І хоча деякі перспективні антибактеріальні агенти знаходяться в стадії розробки, існує гостра потреба в нових антибіотичних сполуках, особливо ефективних проти множинної лікарської стійкості мікроорганізмів [7].

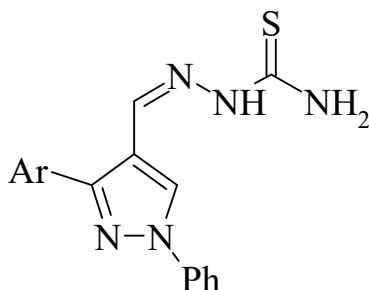
Тому спрямований синтез сполук, які б мали високу бактерицидну активність по відношенню до антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів та грибків, є актуальним та практично значимим завданням.

Мета дослідження

Для отримання циклічних біоперспективних похідних піразолу здійснити синтез нових похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів та вивчити їх антимікробні властивості.

Матеріал і методи

Для дослідження було відібрано чотири похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів, загальної формули



Синтезовані сполуки являють собою жовті кристалічні речовини, добре розчинні в полярних органічних розчинниках. Їх склад і будова підтверджені результатами елементного аналізу, а також вимірів хроматомас, ІЧ- та ЯМР 1H спектрів. ІЧ-спектри сполук у таблетках КВг за-

писані на прикладі UR-20. Спектри ЯМР 1H в ДМСО-d6 виміряні на прикладі Bruker Avance DRX-500 (500,13 МГц), внутрішній стандарт - ТМС. Хроматомас-спектри одержані на приладі PE SCXAPI 150 EX, детектори UV (250 нм) та ELSOJ.

Антимікробні властивості похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів вивчали використовуючи загальноприйнятну методику дворазових серійних розведень у рідкому живильному середовищі, а саме за допомогою мікрометоду з використанням одноразових полістиролових планшет [9]. Стандартні штами грамозитивних бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans* ATCC 885-653) використані як тест-об'єкти, а м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) та бульйон Сабуро - як рідке живильне середовище для культивування відповідно бактерій та грибів. У 96-лункові плоскодонні планшети вносили 24-годинну суспензію культури мікроорганізмів (з розрахунку 105 КУО/мл для бактерій та 104 КУО/мл для грибів). Матричний розчин досліджуваних похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів, концентрація яких дорівнювала 1000 мкг/мл, вносили в першу лунку, послідовно отримували розведення в лунках від 500 мкг/мл до 3,9 мкг/мл. Після цього планшети поміщали у вологу камеру в термостат при температурі 37° С, інкубували 24 год (для грибів - відповідно 30 °С, 48 год). Усі досліди супроводжувалися відповідними контролюми: контролем середовища на стерильність, контролем зростання культури в середовищі без хімічних сполук. Досліди проводилися тричі з кожною концентрацією похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів і досліджуваною культурою мікроорганізмів з метою отримання достовірних результатів.

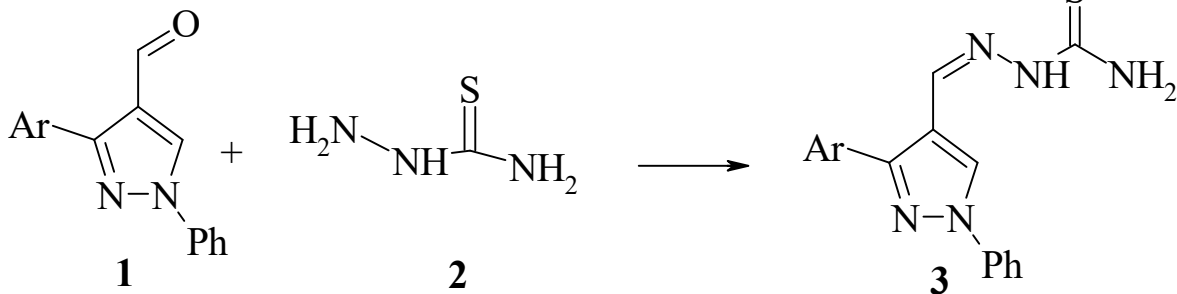
Визначали мінімальні бактериостатичні чи фунгістатичні (МБсК, МФсК) і мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні (МБцК, МФцК) концентрацій похідних тіосемікарбазонів - бактериостатичну (фунгістатичну) концентрацію за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, у присутності якої не спостерігали росту культури, а бактерицидну (фунгіцидну) концентрацію - за результатами висіву вмісту лунок планшетки з розведеннями на відповідні щільні поживні середовища.

Обговорення результатів дослідження

Наявність у структурі сполук 1 альдегідної групи створює необхідні передумови для її модифікації тіосемікарбазидними фрагментом з метою використання отриманих продуктів для по-

дальших гетероциклізацій.

Для одержання даних сполук нами запропонована конденсація доступних 4-формілпіразол-3-карбонових кислот 1а-г з тіосемікарбазидом 2. Установлено, що альдегіди 1а-г селективно взаємодіють із тіосемікарбазидом 2 у киплячій оцтовій кислоті з утворенням із виходами 76-91 % 4-піразоліл-тіосемікарбазонів 3а-г:



1, 3 Ar = Ph (а), 4-МсС₆Н₄ (б); 4-Ф₂СНС₆Н₄ (в), 3-МсОС₆Н₄ (г)

Дослідження антимікробної активності нових похідних 4-піразоліл-тіосемікарбазонів щодо грам-позитивних (*S. aureus* ATCC 25923) і грамнегативних бактерій (*E. coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів (*C. albicans* ATCC 885-653) виявило їх помірну як антибактеріальну, так і антикандидозну дію. Вказане дозволяє віднести похідні 4-піразоліл-тіосемікарбазонів до хімічних сполук із широким спектром антимікробної дії.

(3-арил-1-феніл-1Н-піразол)-4-карбальдегід тіосемікарбазони 3а-г

Суміш 0,01 моль альдегіду 1а-г та тіосемікарбазиду 2 у 10 мл крижаної оцтової кислоти кип'ятили впродовж 30 хв. Розчинник відганяли до половини початкового об'єму, осад відфільтровували, промивали холодним етанолом і кристалізували з етанолу.

При цьому слід зазначити, що похідні 4-піразоліл-тіосемікарбазонів проявляють дещо вищу протигрибкову дію порівняно з такою антибактеріальною (рис.).

Так, наприклад, мінімальні фунгіцидні концентрації (3-арил-1-феніл-1Н-піразол)-4-карбальдегід тіосемікарбазонів були меншими за їх мінімальні бактерицидні концентрації у 2-4 рази (рис.).

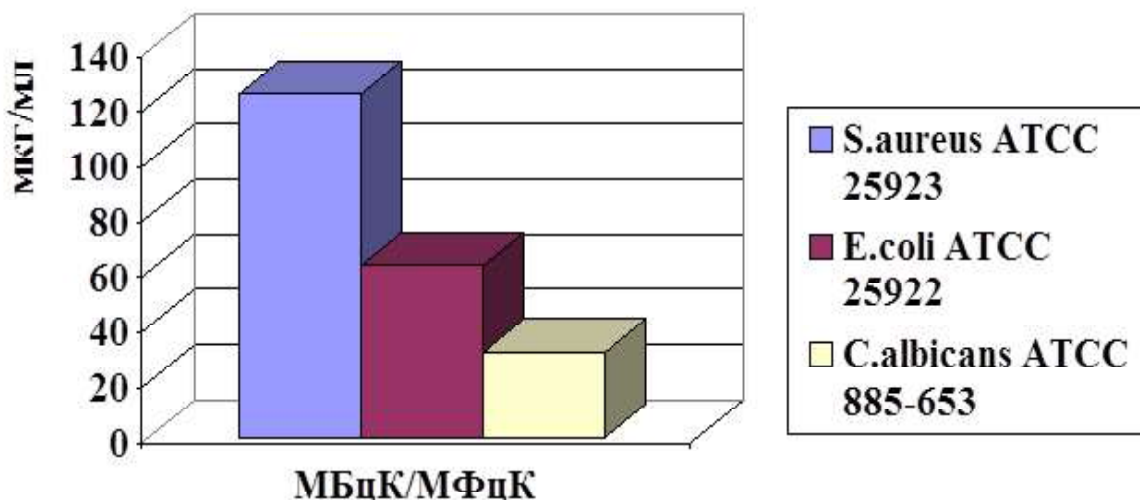


Рисунок. Величини мінімальних бактерицидних (МБЦК) та мінімальних фунгіцидних концентрацій (МФЦК) (3-арил-1-феніл-1Н-піразол)-4-карбальдегід тіосемікарбазонів стосовно штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Candida albicans* ATCC 885-653 (мкг/мл).

Висновки

1. Шляхом конденсації доступних 4-формілпіразол-3-карбонових кислот з тіосемікарбазидом у киплячій оцтовій кислоті синтезовано 4-піразоліл-тіосемікарбазони із високими виходами 76-91 %, склад і будова яких підтверджені результатами елементного аналізу, а також вимірів хроматомас, ІЧ- та ЯМР 1Н спектрів.

2. 4-Піразоліл-тіосемікарбазони проявляють помірну антимікробну активність, володіють ши-

роким спектром антимікробної дії.

роким спектром антимікробної дії, що вказує на те, що такого типу сполуки є привабливими синтетичними блоками для отримання циклічних біоперспективних похідних піразолу.

Перспективи подальших досліджень

Доцільним є дослідження противірусних властивостей нових (3-арил-1-феніл-1Н-піразол)-4-карбальдегід тіосемікарбазонів.

Література. 1. Gill E.E. Antibiotic adjuvants: diverse strategies for controlling drug-resistant pathogens / E.E. Gill, O.L. Franco, R.E.W. Hancock // *Chem Biol Drug Des.* - 2015. - Vol. 85. - P. 56-78. 2. Alternatives to antibiotics - a pipeline portfolio review / L. Czaplewski, R. Bax, M. Clokie et al. // *The Lancet Infectious Diseases.* - 2016. - Vol. 16, № 2. - P. 239-251. 3. Antibiotic resistance-the need for global solutions / R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal et al. // *Lancet Infect Dis.* - 2013. - Vol. 13. - P. 1057-1098. 4. Akova M. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections // *Virulence.* - 2016. - Vol. 7, №3. - P. 252-266. 5. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance / B.G. Bell, F. Schellevis, E. Stobberingh et al. // *BMC Infect Dis.* - 2014. - Vol. 14. - P. 13. 6. Al-Tawfiq J.A. Inappropriate antimicrobial use and potential solutions: a Middle Eastern perspective / J.A. Al-Tawfiq, G. Stephens, Z.A. Memish // *Expert Rev Anti Infect Ther.* - 2010. - Vol. 8. - P. 765-774. 7. ESKAPEing the labyrinth of antibacterial discovery / R. Tommasi, D.G. Brown, G.K. Walkup et al. // *Nat Rev Drug Discov.* - 2015. - Vol. 14. - P. 529-542. 8. Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats // *P T.* - 2015. - Vol. 40. - P. 277-283. 9. Методичні вказівки 9.9.5-143-2007 "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - К.: МОЗ України, 2007. - 63 с.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ (3-АРИЛ-1-ФЕНИЛ-1Н-ПИРАЗОЛ)-4-КАРБАЛЬДЕГИД ТИОСЕМИКАРБАЗОНОВ

А.И. Гаврилюк, Н.В. Панасенко, С.Е. Дейнека

Резюме. Путем конденсации доступных 4-формилпиразол-3-карбоновых кислот с тиосемікарбазидом в кипящей уксусной кислоте синтезированы 4-пиразолил-тиосемікарбазоны с высокими (76-91%) выходами, состав и строение которых подтверждены результатами элементного анализа, а также измерений хроматомас, ИК и ЯМР ¹H спектров. Уста-

новлено, что синтезированные 4-пиразолил-тиосемікарбазоны проявляют умеренную антимікробную активность и обладают широким спектром антимікробного действия. При этом показано, что производные (3-арил-1-феніл-1Н-піразол)-4-карбальдегід тиосемікарбазонів проявляють більше високе противоградковое действие по сравнению с антибактеріальным - минимальные фунгицидные концентрации этих соединений были меньше их минимальных бактерицидных концентраций в 2-4 раза. Полученные результаты указывают на то, что такого типа соединения являются привлекательными синтетическими блоками для получения циклических биоперспективных производных пиразола.

Ключевые слова: 4-пиразолил-тиосемікарбазоны, антимікробные свойства, антибактеріальная активность, противоградковое действие

SYNTHESIS AND STUDY OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES (3-ARYL-1-PHENYL-1H-PYRAZOL)-4-CARBALDEHYDE TIOSEMIKARBAZON

O.I. Gavryliuk, N.V. Panasenko, S.Ye. Dejneka

Abstract. By condensing the available 4-formilpirazol-3-carboxylic acid with tiosemicarbazid in boiling acetic acid synthesized 4-pyrazolyl-tiosemikarbazon with high (76-91%) obtaining, the composition and structure of which are confirmed by the results of elemental analysis, and measurement of hromatomas, IR and NMR ¹H spectra. It was established that the synthesized 4-pyrazolyl tiosemikarbazon show moderate antimicrobial activity and a broad spectrum of antimicrobial activity. This shows that derivatives 4-pyrazolyl tiosemikarbazon show slightly higher antifungal effect compared with the antibiotic - the minimum fungicidal concentrations of these compounds were lower than their minimum bactericidal concentration at 2-4. The results indicate that compounds of this type are attractive synthetic blocks for cyclic bioperspectives pyrazole derivatives.

Key words: 4-pyrazolyl tiosemikarbazon, antimicrobial properties, antibacterial activity, antifungal action.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2017. - Vol.16, №1 (59).-P.53-56.

Надійшла до редакції 7.02.2017

Рецензент – доц. О.В. Геруш

© О.І. Гаврилюк, Н.В. Панасенко, С.Є. Дейнека, 2017