

Резюме

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ СЕМЕННИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Цветкова Я.А., Свинцицкая Н.Л., Тихонова О.А.

В эксперименте на белых крысах вводили пестицид 2,4-ДА на протяжении 30 суток. Введение пестицида вызывало активацию процессов ВРПО липидов в крови и семенниках. При морфологических исследованиях обнаружено нарушение гистоструктуры тканей семенников, которое имеет свободнорадикальный механизм. Это служит основанием последующего исследования препаратов с антиоксидантным действием при длительном поступлении пестицида 2,4-ДА.

Ключевые слова: пестициды, антиоксиданты, свободнорадикальное перекисное окисления липидов.

Стаття надійшла 8.06.2011 р.

MORPHOLOGICAL AND METABOLIC CHANGES ARE IN FABRICS OF CIM'ЯНИКІВ OF EXPERIMENTAL RATS AT THE TERMS OF CHRONIC INTOXICATION

Cvetkova J.A., Svincicka N.L., Tikhonova O.O.

In experiment the pesticide 2,4-DA in dose 1/10 from LD₅₀ was administered white rats during of 30 days. The activation of the processes FRPO of lipids exists under influence of the chronic administered of the pesticide 2,4-DA in blood and in tissues of testis. At morphological researches found out violation of structure of testis, which has a free-radical mechanism. This investigation is basis for research of agents with antioxidant activity at chronic intoxication of 2,4-DA.

Key words: pesticides, antioxidant, free radical peroxide oxygenation of lipids.

УДК 615.828.3:547.828.3

О.М. Чорбак, І.Х. Кудрява, В.В. Ісаєвич, Т.О. Волков
ДН «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова АМН України», м. Харків

ЧУТЛИВІСТЬ ДРІЖДЖЕПОДІБНИХ ГРИБІВ РОДУ CANDIDA ДО НОВИХ ПОХІДНИХ 4Н-ПІРИДО [4',3':5,6]ПІРАНО [2,3-D]ПІРИМІДИНУ

За допомогою методу двократних серійних розведень встановлена висока антифунгальна активність похідних 4Н-піридо [4',3':5,6]пірано [2,3-d]піримідину щодо музейних та клінічних штамів грибів роду *Candida*. Результати дослідження свідчать про перспективність подальшого вивчення властивостей похідних 4Н-піридо [4',3':5,6]пірано [2,3-d]піримідину з метою створення на їх основі ефективних засобів для профілактики та лікування захворювань грибкової етіології.

Ключові слова: похідні 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d] піримідину, гриби роду *Candida*, протигрибкова активність.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Протимікробна активність новосинтезованих конденсованих нітрогеновмісних сполук та перспективи створення на їх основі профілактичних і лікувальних засобів» АМН 99/2011.

Серед найпоширеніших збудників мікозів одне з провідних місць займають умовно-патогенні дріжджеподібні гриби роду *Candida* [1, 4, 9]. Вони обумовлюють широкий діапазон інфекцій - від захворювань шкіри та слизових оболонок, що не загрожують життю, до інвазивних процесів, з ушкодженням внутрішніх органів [1, 3, 9]. Відомо, що найчастішим збудником кандидозу у людини є *Candida albicans* [4], що залишається головним патогеном при орофарингеальному та шкіряному кандидозі [1, 4, 5]. В той же час, non-*albicans* різновиди *Candida* все частіше стають етіологічним чинником при інвазивному кандидозі [1, 8]. За останні два десятиріччя гриби роду *Candida* стали одним з головних опортуністичних мікроорганізмів, які викликають нозокоміальні інфекції [8], та знаходяться на четвертому місці серед мікроорганізмів, які виділяють із крові хворих при септичних станах [1, 8]. Дріжджеподібні гриби роду *Candida* є збудниками 15% внутрішньолікарняних інфекцій. Більш ніж 72% усіх нозокоміальних мікозів становлять кандидози [1].

Найбільш широко у лікуванні різних клінічних форм кандидозу застосовують азольні протигрибкові препарати [1, 3, 4, 6, 9]. В останні роки *C. albicans* залишаються досить чутливими до флуконазолу, але, у зв'язку із широким застосуванням цього препарату з профілактичною метою, накопичені численні дані щодо виділення від хворих резистентних до нього штамів *C. albicans* [1, 8, 9]. Окрім того, збільшення частоти виділення видів *Candida* non-*albicans* із властивою їм зниженою чутливістю до азолів, створює нові терапевтичні проблеми [1]. Вважається, що резистентність *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* або частини цих штамів може бути генетично детермінована [7]. У зв'язку зі зміною спектру збудників кандидозу та появою штамів *Candida*, стійких до лікарських препаратів, що найбільш широко застосовуються, виникає необхідність пошуку нових стратегічних підходів [1, 9]. У даному аспекті все більшої актуальності набуває створення нових антимікотиків, які не матимуть структурної подібності до вже існуючих протигрибкових препаратів.

Перспективними у якості потенційних протигрибкових засобів можуть стати нові конденсовані нітрогеновмісні гетероцикли, що містять піримідиновий фрагмент.

Метою роботи було визначення протигрибкової активності похідних конденсованих нітрогеновмісних гетероциклів, що містять піримідиновий фрагмент нового синтезу щодо музейних та клінічних штамів грибів роду *Candida*.

Матеріал та методи дослідження. Об'єктом дослідження стали 18 нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину, відібраних за результатами первинного мікробіологічного скринінгу за найвищою активністю щодо тест-штамів грибів роду *Candida*. Сполуки були синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного фармацевтичного університету. Речовини, що вивчалися, за хімічною будовою належали до 4-х груп похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину: 1 дослідна група – N-арилацетаміди; 2 група - тіони; 3 група – 4-алкілсульфанілпохідні; 4 група - ацетаміди. Сполукам були надані власні коди. У якості розчинника в дослідах використано диметілсульфоксид, вихідні розчини речовин доводили до концентрації 1 мг/мл.

Дослідження протигрибкової активності сполук нового синтезу було проведено на 10-ти штамх грибів роду *Candida* з колекції мікроорганізмів музею ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України»: *Candida albicans* ATCC 885-653, *Candida albicans* (Скляр-31), *Candida albicans* (Скляр-20), *Candida pseudotropicalis* ВКПГУ 601/33, *Candida kefyr* 85/2, *Candida famata* 40 б/з, *Candida famata* 18/2, *Candida rugosa* (Скляр-2/1), *Candida catenulata* (Скляр-27), *Candida parapsilosis* ВКПГУ 488/10. Мікробне навантаження становило 5×10^5 КУО/мл. При проведенні досліджень використовували однодобові культури мікроорганізмів, які вирощували на середовищі Сабуро з додаванням 1 % розчину глюкози [5].

Визначення протимікробної дії досліджуваних речовин проводили за допомогою методу серійних розведень у рідкому поживному середовищі з наступним висівом на тверде живильне середовище [2]. Визначали мінімальні інгібуючу та фунгіцидну концентрації (МІК та МФЦК).

Препаратами порівняння обрані субстанції флуконазолу та гексетидину (похідних піримідину). Всі дослідження проводили у трьох повтореннях.

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами проведених досліджень було встановлено, що по відношенню до тест-штаму *Candida albicans* ATCC 885-653 усі відібрані для поглибленого дослідження сполуки проявляли високу протигрибкову активність, значно кращу за контрольні рівні (МІК та МФЦК сполук у межах 3,3 – 31,2 мкг/мл, у порівнянні з МІК та МФЦК речовин контролю – 20,8 – 41,6 мкг/мл). Серед досліджених речовин 16,7 % проявили фунгістатичну активність відносно тест-штаму *Candida albicans* ATCC 885-653 у концентрації до 3,9 мкг/мл, решта 83,3 % - у МІК в діапазоні 4,0 – 7,8 мкг/мл. Фунгіцидну активність щодо референтного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653 у МФЦК 4,0 – 7,8 мкг/мл проявили 61,1 % відібраних сполук, решта 38,9 % речовин діяли фунгіцидно у МФЦК в межах 7,9 – 15,6 мкг/мл. Найактивнішими щодо даного тест-штаму виявилися похідні N-арилацетамідів 123, 124 та похідне ацетамідів 149. Окрім високої активності щодо *C. albicans* ATCC 885-653, було виявлено високі протигрибкові можливості речовин нового синтезу щодо штаму *C. albicans* (Скляр-20).

В усіх досліджених сполук виявлена висока фунгістатична активність щодо даного штаму (МІК в діапазоні 4,0 – 31,2 мкг/мл, у порівнянні МІК флуконазолу та гексетидину відповідно 52,0 та 20,8 мкг/мл). У 83,3 % досліджених сполук МФЦК знаходилась у межах 7,9 – 31,2 мкг/мл; серед відібраних для поглибленого дослідження речовин нового синтезу 38,9 % діяли фунгіцидно у МФЦК 7,9 – 15,6 мкг/мл, решта 44,4 % - у МФЦК 15,7 – 31,2 мкг/мл (у порівнянні з МФЦК флуконазолу 125 та гексетидину 41,6 мкг/мл). Найактивнішими щодо тест-штаму *C. albicans* (Скляр-20) виявились 4-алкілсульфанілпохідні, тіони та ацетаміди. Найкращі антифунгальні властивості відносно штаму *C. albicans* (Скляр-20) встановлено у речовини 136 з групи 4-алкілсульфанілпохідних.

Високу фунгістатичну активність відносно штаму *C. albicans* (Скляр-31) виявили 94,4 % досліджених сполук (МІК 3,3 – 31,2 мкг/мл, МІК препаратів порівняння 20,8 мкг/мл). Серед них у 5,6 % МІК не перевищувала 3,9 мкг/мл, у 16,7 % МІК знаходились у межах 4,0 – 7,8 мкг/мл, та у такої ж кількості сполук – в діапазоні 15,7 – 31,2 мкг/мл. Фунгістатичну активність щодо даного штаму проявили більш, ніж половина досліджених сполук (55,6 %) у концентраціях в межах 7,9 – 15,6 мкг/мл. Високо фунгіцидно відносно штаму *C. albicans* (Скляр-31) діяли 88,9 % досліджених речовин (МФЦК у межах 4,0 – 31,2 мкг/мл, МФЦК препаратів контролю - 41,6 мкг/мл). Найкращою за антифунгальними властивостями щодо даного тест-штаму були: 4-алкілсульфанілпохідне 136, похідне ацетамідів 149 та сполуки з групи N-арилацетамідів 124 та 125.

За результатами проведених досліджень було встановлено, що досліджені сполуки проявляли високу фунгістатичну активність (МІК у межах 7,9 – 31,2 мкг/мл) та 72,2 % сполук – високу фунгіцидну активність (МФЦК у інтервалі 15,7 – 31,2 мкг/мл) щодо тест-штаму *C. pseudotropicalis* ВКПГУ 601/33. Фунгістатична дія усіх досліджених сполук перевищувала показники флуконазолу (МІК 41,6 мкг/мл). За фунгістатичною активністю більш, ніж третина сполук (38,9 %) була кращою за препарат порівняння гексетидин (МІК 20,8 мкг/мл), решта - співвідносилась з ним. Фунгіцидна активність щодо штаму *C. pseudotropicalis* ВКПГУ 601/33 усіх досліджених речовин нового синтезу була вища за таку у препаратів порівняння (МФЦК сполук у межах 15,7 – 31,2 мкг/мл, МФЦК контролю 41,6 – 52,0 мкг/мл). Найбільш чутливим тест-штам *C. pseudotropicalis* ВКПГУ 601/33 виявився до похідних ацетамідів 149 та 150, 4-алкілсульфанілпохідних 136 та 141, похідного тіонів 133 і похідних N-арилацетамідів 125 та 126.

У 88,9 % сполук, що вивчались, виявлено високу фунгістатичну активність щодо штаму *C. kefyr* 85/2 (МІК у межах 7,9 – 31,2 мкг/мл, МІК препаратів порівняння 20,8 – 62,5 мкг/мл). Половина досліджених сполук проявила фунгістатичний ефект щодо даного штаму у МІК 7,9 – 15,6 мкг/мл, 38,9 % речовин – у інгібуючій концентрації 15,7 – 31,2 мкг/мл. Високу фунгіцидну активність щодо штаму *C. kefyr* 85/2 проявили 66,7 % досліджених сполук у концентрації 7,9 – 31,2 мкг/мл (у порівнянні з МФЦК контролю 41,6 – 125,0 мкг/мл). У решти досліджених речовин нового синтезу встановлено помірну фунгіцидну активність щодо даного штаму, співвідносну або кращу за показники контролю (МФЦК сполук 41,6 – 52,0 мкг/мл). Найкращими за антифунгальними властивостями щодо штаму *C. kefyr* 85/2 були: сполука 149 з групи ацетамідів та ряд сполук (123 – 126 та 128) з групи похідних *N*-арилацетамідів (МІК та МФЦК відповідно 10,4 мкг/мл та 13,0 мкг/мл).

Високочутливим до відібраних для поглибленого вивчення нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук був тест-штам *C. famata* 40 б/з. Експериментальним шляхом встановлено, що МІК усіх досліджених сполук знаходилась у діапазоні 4,0 – 31,2 мкг/мл і суттєво перевищувала контрольні показники (МІК флуконазолу та гексетидину відповідно 52,0 мкг/мл та 41,6 мкг/мл).

Близьким за ступенем чутливості до сполук нового синтезу виявився і штам *C. famata* 18/2. Високу фунгістатичну активність, співвідносну або значно кращу за контроль, щодо даного штаму виявили 94,4 % досліджених сполук (МІК сполук у межах 3,3 – 31,2 мкг/мл, МІК препаратів порівняння 20,8 мкг/мл). Четверть досліджених речовин нового синтезу (27,8 %) проявляли фунгістатичну активність у концентраціях в межах 4,0 – 7,8 мкг/мл. За антифунгальними властивостями щодо штаму *C. famata* 18/2 найкращими була низка сполук різних вивчаємих груп, а саме: 4-алкілсульфанілпохідне 136, похідні ацетамідів 149 і 150 та похідне тіонів 134.

Високу фунгістатичну активність щодо штамів *C. rugosa* (Скляр-2/1), *C. catenulata* (Скляр-27) та *C. parapsilosis* ВКПГУ 488/10 виявлено у 94,4 % досліджених сполук, МІК знаходилась у межах 7,9 – 31,2 мкг/мл, що значно переважала контрольні рівні (МІК флуконазолу у межах 41,6 – 52,0 мкг/мл, МІК гексетидину у діапазоні 20,8 – 41,6 мкг/мл). Близько половини досліджених речовин нового синтезу здійснювали фунгістатичний ефект у концентраціях 7,9 – 15,6 мкг/мл, інша частина речовин пригнічувала ріст штамів *C. rugosa* (Скляр-2/1), *C. catenulata* (Скляр-27) та *C. parapsilosis* ВКПГУ 488/10 у концентраціях 15,7 – 31,2 мкг/мл. Високу фунгіцидну дію щодо зазначених штамів виявлено у 70,0 % сполук (МФЦК у межах 7,9 – 31,2 мкг/мл), решта досліджених речовин проявила помірну фунгіцидну активність, співвідносну з показниками контролю (МФЦК сполук у межах 41,6 – 52,0 мкг/мл).

Найбільш чутливими штами *C. rugosa* (Скляр-2/1), *C. catenulata* (Скляр-27), *C. parapsilosis* ВКПГУ 488/10 виявилися до сполук 133 з групи тіонів та 149, 150 – з групи похідних ацетамідів.

При порівнянні антифунгальних властивостей похідних різних груп між собою щодо досліджених штамів грибів роду *Candida* максимальну антикандидозну активність встановлено у груп 4-алкілсульфанілпохідних та похідних ацетамідів.

Висновки

1. Отримані дані свідчать про високу чутливість грибів роду *Candida* до нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук, що містять піримідиновий фрагмент.
2. Нові похідні 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину виявили високу фунгістатичну та фунгіцидну дію в концентраціях від 3,3 мкг/мл до 31,2 мкг/мл, що значно перевищила показники речовин контролю.
3. У переважній більшості досліджених сполук (від 66,7 % до 100 %) встановлено високу антифунгальну активність як по відношенню до штамів *Candida albicans*, так і щодо штамів *Candida non-albicans*.
4. Проведені мікробіологічні дослідження визначили найвищу антикандидозну активність ряду сполук: речовини 125 з групи *N*-арилацетамідів, 133 - похідного тіонів, 136 з групи 4-алкілсульфанілпохідних та 149 - похідного ацетамідів.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Результати дослідження протимікозної активності нових похідних нітрогеновмісних сполук, що містять піримідиновий фрагмент, довели перспективність подальшого поглибленого вивчення властивостей відібраних сполук з метою створення на їх основі нових протигрибкових засобів.

Література

1. Васкес, Х. А. Эпидемиология, лечение и предупреждение инвазивного кандидоза [Электронный ресурс] / Х. А. Васкес // Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz9.htm>.
2. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Методичні рекомендації [Текст] / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; ДФЦ МОЗ України. - К, 2004. - 38с.
3. Климко, Н. Н. Перспективы использования новых системных противогрибковых препаратов в педиатрии (обзор литературы) [Текст] / Н. Н. Климко, А. С. Колбин // Проблемы медицинской микологии. - 2005. - Т.7. - №3. - С.3-11.
4. Лесовой, В. С. Кандидоз ротовой полости (обзор) [Электронный ресурс] / В. С. Лесовой, А. В. Липницкий, О. М. Очкурова // Проблемы медицинской микологии. –2003. - т. 5. - №1 // Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz7.htm>.
5. Сміянов, В. А. Проблема кандидозно-бактеріальних асоціацій при захворюваннях ЛОР-органів [Текст] / В. А. Сміянов, Т. В. Іванюк // Новости медицины и фармации. - № 17. – 2007. – С. 22–23.

6. Частная медицинская микробиология [Текст] / Под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. – М. «Медицина». – 2005. – 480 с.
7. Шевяков, М. А. Стандартные подходы к диагностике и лечению кандидоза слизистых оболочек пищеварительного тракта [Текст] / М. А. Шевяков // Проблемы медицинской микологии. -2000.-Т.2, №2.- С.53.
8. Moran, J. P. Identification and expression of multidrug transporters responsible for fluconazole resistance in *Candida dubliensis* [Text] / , J. P. Moran, D. Sanglard, S. M. Donnelly et al. //Antimicrob. Agents Chemother.-1998. -Vol.42. - №7.-P.1819-1830.
9. Pappas, P. G. Практическое руководство по лечению кандидоза. [Электронный ресурс] /P. G. Pappas, J. H. Rex, J. D. Sobel et al. // Clinical Infection Diseases. – 2004. - Vol. 38. - P. 161-189. // Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz8.htm>.

/// Реферати ///

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* К
НОВЫМ ПРОИЗВОДНЫМ 4Н-ПИРИДО
[4',3':5,6]ПИРАНО [2,3-D]ПИРИМИДИНА**

**Щербак О. Н., Андреева И. Д., Казмирчук В.
В., Волков Т.А.**

Методом двукратных серийных разведений установлена высокая антифунгальная активность производных 4Н-пиридо [4',3':5,6] пирано [2,3-d]пиримидина в отношении музейных и клинических штаммов грибов рода *Candida*. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения свойств производных 4Н-пиридо [4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина с целью создания на их основе эффективных средств для профилактики и лечения заболеваний грибковой этиологии.

Ключевые слова: производные 4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d] пиримидина, грибы рода *Candida*, противогрибковая активность.

Стаття надійшла 1.08.2011 р.

**SENSITIVITY OF *CANDIDA* SPP.
FUNGI TO NEW DERIVATIVES OF 4Н-
PYRIDO [4',3':5,6] PYRANO [2,3-d]
PYRIMIDINE**

**Shcherbak O. N., Andrieva I. D.,
Kazmirchuk V. V., Volkov T.A.**

The significant antifungal activity of the derivatives of 4H-pyrido [4',3':5,6] pyrano [2,3-d]pyrimidine against museum and clinical strains of *Candida* spp. fungi by double serial dilutions method was established. The results of studies of the properties of the derivatives of 4H-pyrido [4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine and development of the compounds on their basis for prophylaxis and treatment of diseases of mycotic etiology could be promising.

Key words: the derivatives of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine, *Candida* spp. fungi, antifungal activity.