

ВПЛИВ ЗАМІСНИКІВ 1,8-ДІОКСОДЕКАГІДРОАКРИДИНОВОГО ЦИКЛУ НА ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ВІДНОСНО КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ СТАФІЛОКОКІВ

Ключові слова: 1,8-діоксодекагідроакридини, діоксими, мікробіологічна активність

Акридиновий цикл є важливою складовою багатьох лікарських препаратів, відомих високою протимікробною [1, 10, 11], фунгіцидною [7], протипухлинною [9], противірусною [5] та іншими видами активності [2].

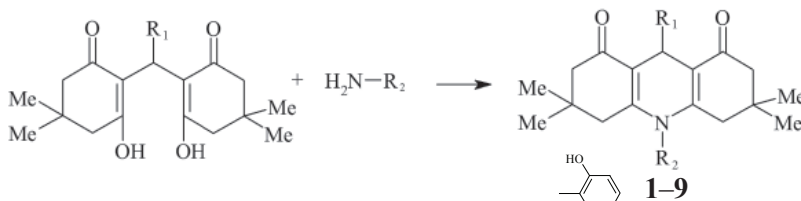
Взаємодією бісдимедонілметанів з ацетатом амонію одержують 1,8-діоксодекагідроакридини, які не містять замісників у положенні 10 акридинового фрагменту [8]. Циклоконденсацією похідних бісдимедонілметану з аліфатичними або ароматичними первинними амінами синтезують 9,10-дизаміщені 1,8-діоксодекагідроакридини [4, 6, 12].

Завданням цієї роботи є розроблення методу синтезу діоксодекагідроакридинів із різними замісниками в різних положеннях циклу і дослідження впливу замісників на антистафілокову активність таких сполук.

Матеріали та методи дослідження

Об'єкт дослідження – похідні декагідроакридинів **1–9**, які одержано за методикою [6] згідно зі схемою 1.

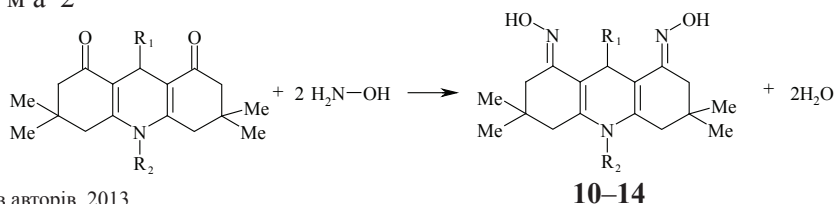
Схема 1



де **1** – $R_1 = H$, $R_2 = H$; **2** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$; **3** – $R_1 = C_6H_5$; **5** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = C_6H_5$; **6** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = n-C_6H_4-COOC_4H_9$; **7** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = n-C_6H_4-OH$; **8** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = n-C_6H_4-NO_2$; **9** – $R_1 = CH_3$, $R_2 = n-C_6H_4-Cl$

Наявність двох кетонних груп у синтезованих декагідроакридинах **1–9** робить можливим проведення реакції по цим групам. Характерними для оксосполук є реакції з похідними аміаку, наприклад з гідроксиламіном. Нами проведено взаємодію похідних діоксодекагідроакридинів **1–9** з гідроксиламіном в піридині. Як виявилось, існування в положенні 9 метильного замісника дещо дезактивує кетонні групи, тому реакція оксимування з такими діоксодекагідроакридинами відбувається в жорсткіших умовах [3]. Синтез діоксимів проходить за схемою 2.

Схема 2



де **10** – R₁ = CH₃, R₂ = C₆H₅; **11** – R₁ = H, R₂ = C₆H₅; **12** – R₁ = CH₃, R₂ = *n*-C₆H₄-Cl;
13 – R₁ = CH₃, R₂ = *n*-C₆H₄-COOC₄H₉; **14** – R₁ = CH₃, R₂ = *n*-C₆H₄-OH

Сполуки **10–14** одержували таким чином.

Діоксим 1,8-діоксо-3,3,6,6,9-пентаметил-10-(*N*-феніл)-1,2,3,4,5,6,7,8-9,10-декагідроакридину (**10**). Суміш 0,4 г (1 ммоль) 1,8-діоксо-3,3,6,6,9-пентаметил-10-(*N*-феніл)-1,2,3,4,5,6,7,8,9,10-декагідроакридину **5** з 0,2 г (3 ммоль) гідроксиламіну солянокислого у 5 мл піридину нагрівали впродовж 1 год. на водяній бані, потім осаджували водою і сушили. Перекристалізували з етанолу. Одержували 0,428 г (68%) жовтих кристалів.

Будову діоксимів **10, 12, 13** підтверджено даними мас-спектроскопії та ЯМР¹H. Спектри ЯМР¹H реєстрували на спектрофотометрі Mercury-400 (Varian) з робочою частотою 400 МГц, розчинник ДМСО – D6. Хімічні зсуви виражено в δ-шкалі відносно тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

Хромато-мас-спектри отримано на приладі PE SCIEX API 150 EX [детектори UV (254 нм) та ELSID].

Контроль за ходом реакції та індивідуальністю одержаних сполук здійснювали за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol UV-254, елюент – 1-бутанол-вода-оцтова кислота, 5:4:1.

Вивчення протимікробної активності синтезованих похідних 1,8-діоксодекагідроакридинів здійснювали методом дифузії в агар. В лунки агару на чашці Петрі вносили по 20 мкл розчину досліджуваних сполук (концентрація 1 000 мкг/мл) в етанолі або 12,5%-му водному розчині DMSO. Як тест-мікроорганізми використовували клінічні ізоляти стафілококів з різними детермінантами антибіотикорезистентності: 2 штами *Staphylococcus aureus* (метіцилінчутливий MSSA та штам з пограничною метіцилінрезистентністю – BSSA, зумовленою гіперпродукцією β-лактамази) і метіцилінрезистентний штам *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH). Видову ідентифікацію тест-штамів виконували на основі морфологічних і культуральних властивостей, а також за допомогою біохімічних мікротестів «STAPHYtest 16» (Lachema, Чехія).

З метою оцінки антибактеріальної активності сполук **1–14** визначали діаметри зон затримки росту стафілококів. Одержували цифрові зображення посівів на чашках, оброблення яких здійснювали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995–1996) [13]. Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики.

Результати дослідження та обговорення

Виходи та деякі фізико-хімічні константи синтезованих діоксимів 1,8-діоксодекагідроакридинів наведено в табл. 1, спектри ЯМР¹H – в табл. 2.

Т а б л и ц я 1

Виходи та деякі фізико-хімічні константи діоксимів **10, 12, 13**

| Сполука | Т. топл., °С | Вихід, % | Мас-спектр [M ⁺], m/z | Знайдено, % нітрогену | Формула | Обчислено, % нітрогену |
|-----------|--------------|----------|-----------------------------------|-----------------------|---|------------------------|
| 10 | 200–202 | 68 | 394,4 | 10,22 | C ₂₄ H ₃₁ N ₃ O ₂ | 10,67 |
| 12 | 218–220 | 61 | 428,1 | 9,63 | C ₂₄ H ₃₀ ClN ₃ O ₂ | 9,81 |
| 13 | 225–226 | 62 | 493,6 | 8,24 | C ₂₉ H ₃₉ N ₃ O ₄ | 8,51 |

Спектри ядерного магнітного резонансу ^1H сполук 10, 12, 13

| Сполука | CH_2 -2,2 CH_2 -7,7 | CH_2 -4,4 CH_2 -5,5 | CH -9 | $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ | Інші сигнали |
|---------|--|--|----------------|---------------------------|---|
| 10 | 2-2,5(м) | 1,66(д) | 3,84(1H,кв) | 0,8-1,1(15H, м) | 7,12-7,48 (5H, м, H_{Ph}), 10,47 (1H, с, NOH), 10,73 (1H, с, NOH) |
| 12 | 2-2,5(м) | 1,66(д) | 3,88(1H,кв) | 0,8-1,1(15H, м) | 7,4;7,63 (4H, д-д, H_{Ar}), 10,43 (1H, с, NOH), 10,87 (1H, с, NOH) |
| 13 | 2-2,5(м) | 1,66(д) | 3,89(1H,кв) | 0,8-1,1(15H, м) | 7,5;8,13(4H, д-д, H_{Ar}), 8,56(1H, с, COOH), 10,35 (1H, с, NOH), 10,736 (1H, с, NOH) |


Профілі антибіотикорезистентності встановлено на основі результатів визначення чутливості до антибіотиків дискодифузійним методом (табл. 3). На основі порівняння чутливості штамів до цефоперазону і комбінації цефоперазон/сульбактам виявляли β -лактамазну активність. Обидва клінічні штами *S. aureus* характеризувалися, крім того, резистентністю до 14-членних макролідів (еритроміцину і кларитроміцину), але відрізнялися між собою за феноменом індукцибельної резистентності до лінкозамідів (кліндаміцину). Докладнішу інформацію про рівень чутливості тест-штамів до антибіотиків основних груп наведено в табл. 3.

Чутливість тест-штамів стафілококів до антибіотиків за даними дискодифузійного тесту

| Антибіотики | Порогові значення | <i>S. aureus</i> MSSA | <i>S. aureus</i> BSSA | <i>S. haemolyticus</i> MRSH |
|------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Оксацилін | 16–19 | 15 | 6 | 6 |
| Цефазолін | 15–18 | 21 | 8 | 6 |
| Цефотаксим | 15–20 | 12 | 6 | 9 |
| Цефтріаксон | 15–20 | 10 | 6 | 6 |
| Еритроміцин | 18–21 | 7 | 13 | 6 |
| Кларитроміцин | 14–17 | 11 | 12 | 6 |
| Кліндаміцин | 20–23 | 27 | 23 | 6 |
| Індукцибельна резистентність | | + | – | |
| Тетрациклін | 17–21 | 16 | 10 | 19 |
| Гентаміцин | $S \geq 16$ | 30 | 12 | 6 |
| Пефлоксацин | 16–20 | 25 | 6 | 6 |
| Офлоксацин | 13–16 | 34 | 14 | 9 |
| Норфлоксацин | 13–16 | 28 | 8 | 6 |
| Фуразолідон | 16–18 | 21 | 13 | 11 |

В табл. 4 наведено результати антибактеріальної активності сполук 1–14.

Протимікробна активність сполук 1–14

| Сполука | R ₁ | R ₂ | Діаметри зон пригнічення росту, мм | | |
|----------|---|---|------------------------------------|-----------------------|-------------|
| | | | MSSA Ind ⁺ | BSSA Ind ⁻ | MRSH |
| 1 | H | H | 4,65 | 4,7 | 4,0 |
| 2 | CH ₃ | H | 4,8 | 3,7 | 3,6 |
| 3 |  | H | 5,5 | 4,0 | 3,4 |
| 4 | H | C ₆ H ₅ | 3,5 | 3,4 | 3,58 |
| 5 | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 4,1 | 4,1 | 3,5 |
| 6 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -COOC ₄ H ₉ | 4,2 | 3,48 | 3,78 |
| 7 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -OH | 4,7 | 3,5 | 3,58 |
| 8 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -NO ₂ | 3,7 | 3,3 | 3,4 |
| 9 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -Cl | 4,2 | 3,35 | 3,45 |
| 10 | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 12,5 | 12,1 | 11,7 |
| 11 | H | C ₆ H ₅ | 4,2 | 3,65 | 3,8 |
| 12 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -Cl | 3,8 | 4,45 | 3,9 |
| 13 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -COOC ₄ H ₉ | 10,9 | 7,35 | 7,7 |
| 14 | CH ₃ | <i>n</i> -C ₆ H ₄ -OH | 4,4 | 4,65 | 3,6 |
| контроль | | | 3,6 | 3,4 | 3,4 |

В контрольних лунках, в які вносили розчинники – етанол і 12,5% диметилсульфоксиду, пригнічення росту тест-культур не спостерігали. Встановлено, що вид розчинника практично не впливає на протимікробну активність досліджуваних сполук.

Як виявилось, наявність замісників практично не впливає на протимікробну активність 1,8-діоксодекагідроакридинів, водночас активність їхніх діоксимів суттєво зростає, якщо замісників в *n*-положенні фенільного кільця нема (R₂ = H) або є електронноакцепторна група (R₂ = C₆H₄-COOC₄H₉). Введення в положення 9 акридинового фрагмента метильного замісника практично не змінює мікробіологічну активність 1,8-діоксодекагідроакридинів (1 і 2, 4 і 5), а для діоксиму 10 спостерігають значне зростання активності порівняно з діоксимом 11, у якого відсутній замісник у положенні 9. Протимікробна активність сполуки 10 поширювалася на всі тест-штами стафілококів, незалежно від механізму їх резистентності до β-лактамних антибіотиків, макролідів і лінкозамідів. Тому діоксим 10 можна розглядати як потенційний протимікробний препарат для потреб клінічної медицини.

В и с н о в к и

1. Вперше синтезовано похідні 1,8-діоксодекагідроакридинів та їхні діоксими.
2. Проведені протимікробні дослідження виявили достатню активність діоксимів 1,8-діоксодекагідроакридинів, незамішених в *N*-арильному кільці або таких, які містять електронноакцепторну групу COOC₄H₉.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Волянський Ю. Л., Крестецька С. Л. Перспективи створення протимікробних препаратів на основі похідних акридину і фенантридину // Мед. хімія. – 2002. – № 3. – С. 92–97.

2. *Исаев С. Г., Яременко В. Д., Русакова Н. П.* Синтез, будова та біологічна активність 9-N'-[пара-(диметиламіно)бензиліден]гідразино-5-нітроакридинів // Фармац. журн. – 2000. – № 1. – С. 72–74.
3. *Калин Т., Мельник М., Гуцуляк Б.* Синтез діоксимів 9-метил-10-(N-арил)-1,8-діоксодекагідроакридинів // Вісник Львів. ун-ту. Сер. хім. – 2010. – Вип. 51. – С. 243–246.
4. *Колос Н. Н., Юрченко Е. Н., Орлов В. Д., и др.* Исследование продуктов взаимодействия циклических diketонов с азотсодержащими 1,4-бинуклеофилами // ХГС. – 2004. – Т. 40, № 12. – С. 1798–1808.
5. *Ляхов С. А., Ляхова Е. А., Панченко Н. Н. и др.* Синтез и противовирусная активность новых бис-акридинилгидразидов арилоксиуксусных кислот // Хим.-фарм. журн. – 2001. – Т. 35, № 12. – С. 10–13.
6. *Мельник М. В., Туров О. В., Калин Т. І.* Дослідження циклізації первинних ароматичних амінів з ацетальдегідом і димедоном // Доп. НАНУ. – 2003. – № 5. – С. 142–145.
7. *Андреева Е. И., Смирнова Г. К., Рожкова Н. Г. и др.* Фунгицидная активность тетрагидроакридиниевых солей // Физиол. акт. вещества. – 1985. – № 17. – С. 84–87.
8. *Ванаг Г. Я., Станкевич Э. И.* Многоядерные гетероциклические соединения. 4. Взаимодействие бис-димедонилметанов с ацетатом аммония // ЖОХ. – 1960. – Т. 10, Вып. 10. – С. 3287–3292.
9. *Чаганова Н. Т., Буянов В. Н. Суворов Н. Н. и др.* Синтез и противоопухолевая активность некоторых 9-(1'-N-индолил)- и 9-(1'-N-индолинил)акридинов // Хим.-фарм. журн. – 1991. – № 12. – С. 27–30.
10. *Щекотихин Ю. М., Николаева Т. Г., Шуб Г. М. и др.* Синтез и антимикробная активность замещенных 1,8-диоксодекагидроакридинов // Там же. – 2001. – Т. 35, № 4. – С. 206–208.
11. *Al-Ashmawi Mohamed I., El-Sadek Mahamed A., El-Bermawy Mohamed A. K. et al.* Structure-activity investigation of atypical acridine derivatives as antimicrobial agents // J. Pharm. Sci. – 1994. – N 3. – P. 144–150.
12. *Pandi A. Subbiah, Velmurugan D., Raj S. Shanmuga Sundara et al.* 10-(4-Fluorophenyl)-3,3,6,6,9-pentamethyl-3,4,6,7,9,10-hexahydroacridine-1,8-(2H,5H)-dione and 10-(4-fluorophenyl)-3,3,6,6-tetramethyl-9-propyl-3,4,6,7,9,10-hexahydroacridine-1,8(2H,5H)-dione // Acta Crystallogr. Section C: Crystal Structure Communications. – 2001. – V. 57, N 5. – P. 821–824.
13. UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996. – Режим доступу: <http://ddsdx.uthscsa.edu/>

Надійшла до редакції 20. 06. 2013.

Р. В. Куцык¹, М. В. Мельник¹, Т. И. Калын², В. В. Засидко¹, М. О. Галушко²

¹Ивано-Франковский национальный медицинский университет

²Ивано-Франковский национальный технический университет нефти и газа

ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ 1,8-ДИОКСОДЕКАГИДРОАКРИДИНОВОГО ЦИКЛА НА ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ОТНОСИТЕЛЬНО КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ

Ключевые слова: 1,8-диоксодекагидроакридины, диоксимы, микробиологическая активность

А Н Н О Т А Ц И Я

Соединения, содержащие акридиновый цикл, имеются во многих лекарственных препаратах, которые обладают высокой противомикробной, фунгицидной, противоопухолевой, противовирусной и другими видами биоактивности. Синтез и исследование биоактивности новых соединений с различными заместителями, содержащихся в акридиновом цикле, имеет важное значение для получения новых лекарственных препаратов.

Целью работы была разработка методов синтеза производных 1,8-диоксодекагидроакридинов и их диоксимов и исследование их активности относительно штаммов *Staphylococcus aureus* (MSSA и BSSA) и *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH).

В качестве объектов исследования использованы производные 1,8-диоксодекагидроакридинов и их диоксимы, полученные кипячением соответствующих 1,8-диоксодекагидроакридинов с гидросиламином в пиридине. Изучение противомикробной активности синтезированных соединений выполнено методом диффузии в агар.

Установлено, что наличие заместителей в производных 1,8-диоксодекагидроакридинов практически не влияет на их антимикробные свойства, в то же время активность их диоксимов существенно увеличивается в случае отсутствия в *n*-положении фенильного кольца любых заместителей либо при наличии электронноакцепторной группы.

R. V. Kucyk¹, M. V. Melnyk¹, T. I. Kalyn², V. V. Zasadko¹, M. A. Halushko²

¹Ivano-Frankivsk National Medical University

²Ivano-Frankivsk National Technical University of Oil and Gas

EFFECT OF SUBSTITUTES OF 1,8-DIOXODECAHYDROACRIDINE CYCLE ON ANTIMICROBIAL PROPERTIES TO CLINICAL STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS

Key words: : 1,8-dioxodecahydroacridines, dioximes, microbiological activity

А B S T R A C T

Compounds containing acridine cycle exist in many medicines that have high antimicrobial, antifungal, antitumor, antiviral and other types of bioactivity. Synthesis and study on the bioactivity of new compounds with a variety of substituents contained in acridine the cycle, is essential for the preparation of new medication.

The aim of the work is to develop synthesis methods of 1,8-dioxodecahydroacridines and its dioximes and to study its activity to strains of *Staphylococcus aureus* (MSSA and BSSA) and *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH).

The derivatives of 1,8-dioxodecahydroacridines and its dioximes obtained by boiling the corresponding 1,8-dioxodecahydroacridines with hydroxylamine in pyridine were used as the test objects. The study of antimicrobial activity of the synthesized compounds was conducted by the agar diffusion test.

It was found that the presence of substituents in derivatives of 1,8-dioxodecahydroacridines has virtually no effect on its antimicrobial properties, while activity of its dioximes increases substantially in the case of absence of any substituents or the presence of an electron acceptor group in a *p*-position of the phenyl ring.

Електронна адреса для листування з авторами: kalyn_tatyana@mail.ru