

Антибактеріальні властивості азотовмісних бісфосфонатів як інгібіторів фарнезилдифосфатсинтази

І.М. Коперник*, Л.Є. Калашнікова, Л.П. Голод, Л.О. Метелиця

*Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
вул. Мурманська, 1, Київ, 02660, Україна*

Резюме. Встановлено антибактеріальну активність нових азотовмісних бісфосфонатів (АБФ) як інгібіторів фарнезилдифосфатсинтази (ФДС). Вираженість бактеріостатичного ефекту досліджених сполук визначали рівнем їх здатності інгібувати ФДС мікроорганізму. Досліджені АБФ-бактеріостатики як інгібітори ФДС є перспективними для подальшого раціонального конструювання нових антибактеріальних агентів, ефективних у тому числі й проти резистентної бактеріальної мікрофлори.

Ключові слова: азотовмісні бісфосфонати, фарнезилдифосфатсинтаза, антибактеріальна активність.

Вступ. Проблема наростаючої антибіотико-резистентності патогенної мікрофлори у наш час є актуальною. В охороні здоров'я всього світу такий стан асоціюється з важким перебігом, складністю діагностики, терапії й надмірним удорожчанням лікування цілого ряду захворювань, обумовлених активністю мікроорганізмів з множинною медикаментозною стійкістю, коли навіть найсучасніші препарати не є ефективними.

Останнім часом розповсюдження резистентності бактерій до антибіотиків відбувається дуже швидко, причому це спостерігається по відношенню до більшості ліків. Тому розробка нових лікарських засобів є надзвичайно актуальною [1].

У зв'язку з цим отримання інформації щодо нових класів хімічних речовин як потенційних антимікробних агентів є важливим, оскільки це дасть змогу визначити ще один клас сполук для дослідження в області боротьби з лікарською резистентністю бактерій.

У цьому плані значний інтерес представляє такий клас хімічних сполук, як азотовмісні бісфосфонати.

Спектр біологічної активності бісфосфонатів дуже широкий. Їх застосовують для лікування захворювань кісткової резорбції — остеопорозу, хвороби Педжета, гіперкальцемії [2]. Крім того, АБФ є стимуляторами Т-клітин імунної системи [3], їх застосовують в імунотерапії метастазів [4], для лікування раку молочної залози [5], гормон-рефрактерного раку передміхурової залози [6], вони ефективні при множинній мієломі [7], проявляють антипаразитарну активність [8], мають гербіцидні властивості [9].

Нещодавно нами під час експериментальних досліджень було встановлено й високу фунгістатичну активність ряду АБФ, синтезованих на основі прогнозу їх антикандидозної активності методами QSAR моделювання [10].

На основі проведених експериментів та аналізу літературних даних щодо механізму антипаразитарної активності сполук цього класу нами було висунуто гіпотезу про можливий молекулярний механізм фунгістатичної дії АБФ як інгібіторів ФДС.

Беручи до уваги відомий широкий спектр біологічної активності АБФ, а також раніше отримані нами експериментальні дані про залежність вказаної біологічної активності від різності їх інгібувальних властивостей, доцільно було дослідити й антибактеріальну актив-

* Corresponding author.

Tel.: +38044-2957152

E-mail address: kopernik1@ua.fm

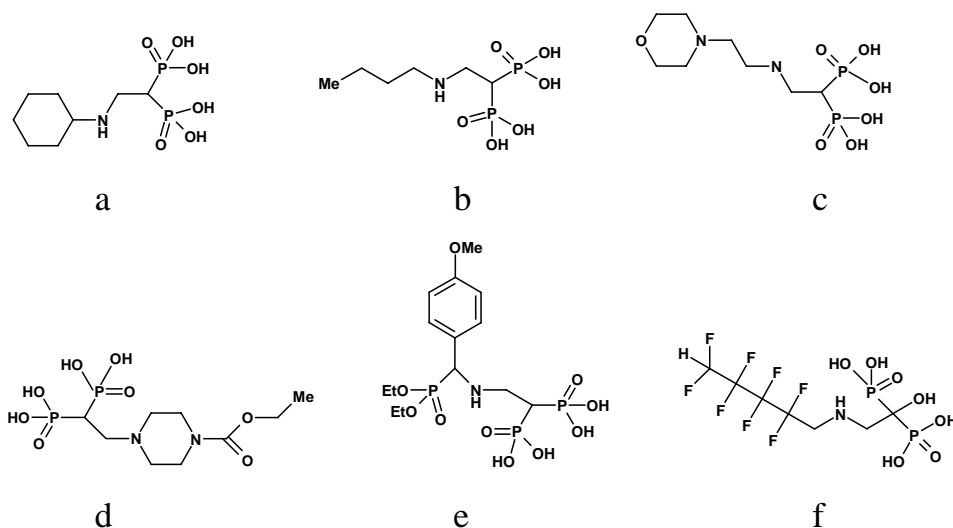


Рис. 1. Структурні формули досліджуваних АБФ.

ність ряду АБФ із встановленим ступенем їх інгібувальної активності проти бактеріальних культур *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Усі ці мікроорганізми відіграють важливу роль у розвитку й перебігу інфекційних захворювань людини і тварин.

Матеріали і методи. На рис. 1 представлено хімічні структури АБФ, що досліджувалися.

Антибактеріальну активність сполук визначали диско-дифузійним методом [11] на твердому поживному середовищі Мюллера-Хінтона. Як референс-препарат використовували офлоксацин (1,4 мкМ на диску). Мікробне навантаження бактеріальної культури становило 10^4 колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 мл культуральної рідини і контролювалося за оптичним стандартом мутності (СОС 42-28-85-01 П). Вміст сполук на диску становив від 2,0 до 20,0 мкМ.

Отримані експериментальні дані оброблено за допомогою статистичних методів [12].

Результати й обговорення. Дані, наведені в табл. 1, свідчать про те, що зареєстрована бактеріостатична активність досліджених сполук значно поступається активності референс-препарату як за вираженістю ефекту, так і за кількістю мкМ сполуки на диску.

Однак, незважаючи на очевидні переваги офлоксацину, заслуговують на увагу і результати порівняльного аналізу активності досліджених АБФ як інгібіторів ФДС. Інгібувальна активність, раніше встановлена нами за допо-

могою QSAR моделювання, для сполук **a** і **b** була передбачена в межах 1 мкМ, а для **c**, **d**, **e**, **f** — у межах 10 мкМ.

Зареєстрована бактеріостатична активність досліджених сполук **c**, **d**, **e**, **f** суттєво поступається антибактеріальній активності **a** і **b** та спостерігається лише при високому вмісті на диску — 20,0 мкМ. Активність сполук **c**, **d**, **e**, **f** та **a**, **b** за зонами затримки росту культури *St.aureus* визначалася як 9,1 мм, н/а, 7,1 мм, н/а та 15,4, 10,0 мм відповідно; проти культури *E.coli* — 7,0 мм, н/а, н/а, н/а та 22,6, 18,3 мм відповідно; проти культури *Ps.aeruginosa* — 10,1 мм, н/а, 8,1 мм, н/а та 21,5, 26,4 мм відповідно (табл. 1).

Зареєстрований бактеріостатичний ефект АБФ як двох груп інгібіторів ФДС (**a**, **b** і **c**, **d**, **e**, **f**) представлено на рис. 2.

Варто зазначити, що проти культури

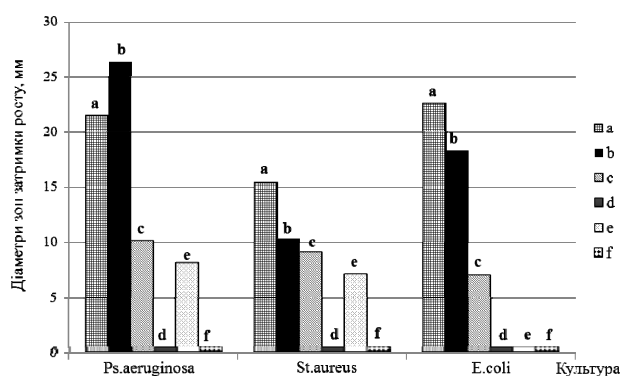


Рис. 2. Антибактеріальна активність АБФ (20 мкМ) як інгібіторів фарнезилдифосфатсинтази.

Бактеріостатична активність АБФ за діаметрами зон затримки росту досліджуваних бактеріальних культур (мм), $M \pm m$, $n=3$

Сполука	Вміст на диску, мкМ	10^4 КУО/мл		
		<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
a	20,0	15,4±0,3	22,6±0,5	21,5±0,6
	2,0	н/а	н/а	17,4±0,3
b	20,0	10,0±0,4	18,3±0,5	26,4±0,5
	2,0	н/а	н/а	17,5±0,3
c	20,0	9,1±0,4	7,0±0,3	10,1±0,5
	2,0	7,0±0,3	н/а	н/а
d	20,0	н/а	н/а	н/а
	2,0	н/а	н/а	н/а
e	20,0	7,1±0,4	н/а	8,1±0,6
	2,0	н/а	н/а	н/а
f	20,0	н/а	н/а	н/а
	2,0	н/а	н/а	н/а
ОФ	1,4	32,1±0,6	33,6±0,5	34,4±0,7

Примітка: ОФ — референс-препарат офлоксацин; н/а — сполука неактивна.

Ps. aeruginosa (грам «-») сполуки **a** і **b** навіть при вмісті на диску 2 мкМ виявили значну активність (зони затримки росту становили 17,4 і 17,5 мм відповідно), на відміну від решти сполук, що виявилися неактивними.

Таким чином, порівняльний аналіз отриманих результатів із високою ймовірністю дає змогу припустити, що у бактерій, які належать до класу мікроорганізмів-еукаріотів і мають подібний метаболічний шлях біосинтезу холестеролу, ФДС має також подібні функціональні властивості, що визначаються видом мікроорганізму і складністю будови його клітинної оболонки (грам «+», грам «-» мікроорганізми).

Виходячи з наведеного вище, можна зазначити: а) вираженість бактеріостатичного ефекту досліджених АБФ визначається в значній мірі рівнем їх здатності інгібувати ФДС мікроорганізму; б) фарнезилдифосфатсинтаза може слугувати мішенню для пошуку нових антибактеріальних агентів як у самостійних, так і в комбінованих хімотерапевтичних формах.

Висновки.

1. Встановлено антибактеріальну активність нових азотовмісних бісфосфонатів як інгібіторів фарнезилдифосфатсинтази.

2. Експериментально встановлено залежність між ступенем прояву бактеріостатичної дії АБФ та їх здатністю інгібувати ФДС. Це дає змогу припустити, що одним із молекулярних механізмів їх антибактеріальної активності може бути пригнічення ФДС у процесі біосинтезу холестеролу бактерій.

3. Досліджені АБФ-бактеріостатики є перспективними як сполуки-лідери для подальшого раціонального конструювання нових антибактеріальних агентів, ефективних у тому числі і проти резистентної бактеріальної мікрофлори.

Автори висловлюють щирі вдячність співробітникам Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України проф. В.Д. Романенко і к.х.н. М.В. Шевчуку за зразки сполук, надані для досліджень.

Antibacterial properties of nitrogen-containing bisphosphonates as farnesyl diphosphate synthases inhibitors

I.M. Kopernyk, L.E. Kalashnikova, L.P. Golod, L.O. Metelytsia

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine
1, Murmanska Str., Kyiv-94, 02660, Ukraine

Summary. Were established new nitrogen-containing bisphosphonates with antibacterial activity as farnesyl diphosphate synthases inhibitors. Demonstration of bacteriostatic effect in researched compounds generally defined by the level of their ability to inhibit microorganisms farnesyl diphosphate synthase. Researched NCB-bacteriostatics as FDFS inhibitors is perspective for future rational designing of new antibacterial agents. They are effective against resistant bacterial microorganisms too.

Keywords: nitrogen-containing bisphosphonates, farnesyl diphosphate synthase, antibacterial activity.

Перелік літератури

1. Козлов Р.С. Резистентность к антимикробным препаратам как реальная угроза национальной безопасности // Независимое издание практикующих врачей. — 2014. — № 4. — С. 321.
2. Stuart H. Ralston, M.D. Paget's disease of bone // The New England Journal of Medicine. — 2013. — Vol. 368, No. 7. — P. 644-650.
3. Das H., Wang L.S., Kamath A., Bukowski J.F. Vgamma 2Vdelta2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobisphosphonates // Blood. — 2001. — Vol. 98. — P. 1616-1618.
4. Wilhelm M., Kunzmann V., Eckstein S., Reimer P., Weissinger F., Ruediger T., Tony H.P. Gamma delta T-cells for immune therapy of patients with lymphoid malignancies // Blood. — 2003. — Vol. 102. — P. 200-206.
5. Колеман Р.Е. Бисфосфонаты при лечении больных ранним и диссеминированным раком молочной железы. Настоящее и будущее // Третья ежегодная Российская онкологическая конференция. — 1999. — Сборник статей. — С. 47-49.
6. Brown J., Neville-Webbe H., Coleman R.E. The role of bisphosphonates in breast and prostate cancers // Endocrine — Related Cancer. — 2004. — Vol. 11. — P. 207-210.
7. Berenson J., Lichtenstein A., Porter L. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma // The New England Journal of Medicine. — 1996. — Vol. 334. — P. 488.
8. Martin M.B., Grimley J.S., Lewis J.C., Heath H.T. 3rd, Bailey B.N., Kendrick H., Yardley V., Caldera A., Lira R., Urbina J.A., Moreno S.N., Docampo R., Croft S.L., Oldfield E. Bisphosphonates inhibit the growth of *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, and *Plasmodium falciparum*: a potential route to chemotherapy // J. Med. Chem. — 2001. — Vol. 44. — P. 909-916.
9. Пат. 2309945 Россия, МПК C07C229/14/ Композиция для доставки бисфосфонатов. Бойд Мария А.П. (US), Динх Стив (US). Заявл. 01.03.2002; Оpubл. 10.11.2007. — Бюл. № 31.
10. Prokopenko V., Kovalishyn V., Shevchuk M., Kopernyk I., Metelytsia L., Romanenko V., Mogilevich S., Kukhar K. Design and synthesis of new potent inhibitors of farnesyl pyrophosphate synthase // Current Drug Discovery Technologies. — 2014. — Vol. 11, No. 2. — P. 1-12 (In press).
11. Дьяченко С.В., Слободенюк Е.В., Дьяченко В.Г. Современные методы определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам // Организация антибактериальной терапии распространенных заболеваний. — Хабаровск: ГОУ ВПО ДВГМУ, 2010. — С. 475.
12. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии: Руководство. В 2-х томах / Под ред. Ю.М. Комарова. — Москва: Медицина, 2000. — С. 412.