

УДК 547.794.3

## ХЛОРИД 2-[(1Z)-1-(3,5-ДИФЕНИЛ-1,3,4-ТИАДИАЗОЛ-2(3Н)-ИЛИДЕН)МЕТИЛ]-3,5-ДИФЕНИЛ-1,3,4-ТИАДИАЗОЛ-3-ИЯ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

А.С. Кошевенко<sup>1\*</sup>, В.Н. Юсковец<sup>1</sup>, И.П. Яковлев<sup>1</sup>, Е.П. Ананьева<sup>1</sup>,  
Т.Л. Семакова<sup>1</sup>

**Резюме.** Разработан метод получения нового гетероциклического соединения – хлорида 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия. Его строение доказано физико-химическими методами идентификации органических соединений: <sup>1</sup>H-ЯМР- и <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопией, ИК-спектроскопией, масс-спектрометрией. Определена антифунгальная активность в отношении культур *C. albicans*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *F. proliferatum*, *S. brevicaulis*. Показано, что данное соединение обладает выраженной антифунгальной активностью и потенциально может быть использовано в медицине в качестве антимикробного средства с фунгицидным действием

**Ключевые слова:** 1,3,4-тиадиазол, антифунгальная активность, минимальная подавляющая концентрация.

**CHLORIDE-2-[(1Z)-1-(3,5-DIPHENYL-1,3,4-THYADIAZOLE-2(3H)-ILIDEN)METHYL]-3,5-DIPHENYL-1,3,4-THYADIAZOLE-3 AS A PROMISING COMPOUND FOR THE DEVELOPMENT OF NEW DRUGS**

A.S. Koshevenko<sup>1\*</sup>, V.N. Yuskovets<sup>1</sup>, I.P. Yakovlev<sup>1</sup>, E.P. Ananyeva<sup>1</sup>, T.L. Semakova<sup>1</sup>

**Abstract.** The method of obtaining new heterocyclic compound – chloride 2-[(1Z)-1-(3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazol-2(3H)-ilidene)methyl]-3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazol-3-ia was developed. Its structure was proved by physicochemical methods of identification of organic compounds: <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR-, IR-spectrometry, mass spectrometry. Antifungal activity was defined against *C. albicans*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *F. proliferatum*, *S. brevicaulis*. It was shown that this compound has potent antifungal activity and can potentially be used in medicine as antimicrobial with fungicidal action.

**Keywords:** 1,3,4-thiadiazole, antifungal activity, the minimal inhibitory concentration.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФА Минздрава России), 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14

1 – Federal State Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy» of the Russian Federation Ministry of Health, 14, str. Professor Popov, St. Petersburg, 197022, Russia

\* адресат для переписки:

E-mail: anastasia.koshevenko@pharminnotech.com

Тел.: +7 (981) 185 46 74

### ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, свыше 1/3 населения Земли страдает грибковыми заболеваниями. Наблюдается рост грибковых заболеваний как поверхностных, так и тяжелых висцеральных микозов, ассоциированных с ВИЧ-инфекцией, онкогематологическими заболеваниями [1].

Среди грибковых инфекций дерматомикозы являются одной из наиболее распространенных. Проблема заболеваемости, обусловленной дерматомикозами, с каждым годом не только не теряет своей актуальности, а, наоборот, заставляет концентрировать свое внимание на этой патологии.

В структуре заболеваемости микозами у взрослого населения максимальную часть составляют микозы стоп и онихомикозы, на распространение которых в большой степени

влияет социальный и культурный уровень жизни [2].

Основными возбудителями онихомикоза являются антропофильные грибы *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes*. Поражения ногтей, вызванные грибами *Candida* spp., встречаются у 5–10% больных и могут составлять до 40% случаев онихомикоза на руках. Недерматофитные плесени, такие как *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium* spp. и некоторые другие, могут вызывать около 10–15% онихомикозов [3].

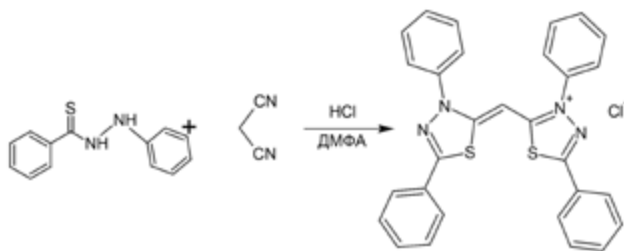
К сожалению, в современных условиях на отечественном и мировом рынке фармацевтическими компаниями представлен относительно небольшой спектр антимикотических препаратов, преимущественно зарубежного производства («Батрафен», «Лоцерил», «Ламизил»). Поэтому проблема микозов остается чрезвычайно актуальной в связи с ростом контингента боль-

ных и появлением резистентных к лечению штаммов, что требует расширения действующего арсенала за счет новых эффективных нетоксичных противогрибковых средств [4, 5].

Целью данной работы является синтез и изучение противогрибковой активности нового производного хлорида 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия в отношении клинических штаммов основных возбудителей онихомикоза: грибов *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Fusarium proliferatum*, *Scopulariopsis brevicaulis*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На кафедре органической химии путем взаимодействия замещенного N'-фенилтиобензгидразида с малондинитрилом в соотношении 2:1 в среде полярного органического растворителя (диметилформамида) и хлористого водорода был получен хлорид 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия:



Выход продукта в виде ярко-желтых мелких игольчатых кристаллов составил 85–87% от теоретического из расчета на N'-фенилтиобензгидразид.  $T_{пл}$  варьирует в пределах 269–271 °С. Продукт хроматографически однороден:  $R_f=0.87$  (хлороформ : метанол – 2:1).

Состав синтезированного соединения подтвержден элементным анализом. Брутто-формула:  $C_{29}H_{21}ClN_4S_2$ . Найдено, %: С – 66,6, Н – 4,06, Cl – 6,78, N – 10,71, S – 12,29. Вычислено, %: С – 66,33, Н – 4,03, Cl – 6,75, N – 10,67, S – 12,21.

Строение синтезированного вещества было доказано физико-химическими методами идентификации органических соединений:  $^1H$ - и  $^{13}C$ -ЯМР-спектроскопией (прибор Avance III, Bruker, США), ИК-спектроскопией (прибор ФСМ-1201, «Инфраспек», Россия), масс-спектрометрией (прибор micrOTOF, Bruker, США).

В ИК-спектрах вещества (таблетки KBr) наиболее характеристической является область 1540–1440  $cm^{-1}$ , где наблюдаются полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям связей C=C и C=N сопряженной системы. Аналогичные колебания

C–H-связей бензольных колец находятся в диапазоне 3100–3000  $cm^{-1}$ .

В спектре  $^1H$ -ЯМР полученного соединения в  $DMCO-d_6+CDCl_3$  1:3 присутствуют сигналы протонов бензольных колец [ $\delta$  7,59–7,73 (м, 16H), 8,04 (д, 4H,  $J=6,9Hz$ )] и протона метинового мостика между 1,3,4-тиадиазольными циклами ( $\delta$  6,01 с 1H).

Спектр  $^{13}C$ -ЯМР этого соединения характеризуется сигналами ядер углерода бензольных колец ( $\delta$  125,4–136,2 м.д.), тиадиазольных циклов ( $\delta$  162,9 и 168,5 м.д.) и метинового мостика между 1,3,4-тиадиазольными циклами ( $\delta$  79,26 м.д.).

Также строение полученного вещества было доказано с помощью масс-спектрометрии. Рассчитанная молекулярная масса полностью совпала с экспериментально полученной ( $M^+=525$ ).

Противогрибковую активность определяли методом двукратных серийных разведений на жидкой питательной среде Сабуро с последующим высевом на плотную питательную среду для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) исследуемых соединений. Исходные растворы производных 1,3,4-тиадиазола готовили в 50% водном диметилсульфоксиде из-за их ограниченной растворимости в воде.

Для приготовления взвеси дрожжевой культуры *S. albicans* использовали 2-суточные культуры, выращенные на плотной питательной среде Сабуро. Готовили взвесь по стандарту Мак-Фарланда ( $2 \cdot 10^8$  КОЕ/мл), затем полученную суспензию разводили в 100 раз 0,85% стерильным раствором хлорида натрия. Количество вносимой рабочей взвеси в каждую пробирку ряда составляло 0,1 мл.

Для приготовления взвеси тест-культуры грибов *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *F. proliferatum*, *S. brevicaulis* выращивали в течение 2 недель на плотной питательной среде Сабуро. Готовили взвесь по стандарту Мак-Фарланда ( $2 \cdot 10^8$  КОЕ/мл), затем полученную суспензию разводили в 100 раз 0,85% стерильным раствором хлорида натрия. Количество вносимой рабочей взвеси в каждую пробирку ряда составляло 0,1 мл.

В каждом исследовании ставили 3 контроля:

- 1) культуры (1 мл питательной среды + 0,1 мл рабочей взвеси тест-культуры);
- 2) питательной среды (1 мл питательной среды);
- 3) раствора образца (1 мл питательной среды + 0,1 мл исходного разведения образца)

Посевы выращивали в течение 2 суток для *S. albicans* и 7–10 суток (до появления роста гриба в первом контроле) для грибов *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *F. proliferatum*, *S. brevicaulis*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве препаратов сравнения были выбраны препараты из группы азолов – кетоконазол и флуконазол.

Кетоконазол имеет широкий спектр действия. Средняя МПК для дерматофитов составляет около 0,1–0,2 мкг/мл, для *S. albicans* – около 0,5 мкг/мл. Фунгицидный эффект достигается при очень высоких концентрациях препарата, редко получаемых при лечении. Многие плесневые грибы – возбудители недерматофитного онихомикоза – устойчивы к кетоконазолу.

Флуконазол имеет относительно широкий спектр действия, включающий большинство видов *Candida*, дерматофиты, *Malassezia furfur* и «классических» диморфных возбудителей. Среди грибов рода *Candida* наиболее чувствительными к флуконазолу являются *S. albicans* (МПК составляет в среднем 1,0–16,0 мкг/мл). Активность флуконазола в отношении разных плесневых грибов меньше, чем в отношении дрожжевых [3].

Установлено, что исследуемое соединение обладает фунгицидным действием в отношении *S. albicans*. Минимальная подавляющая концентрация производного хлорида 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил)-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия составляла 1,57 мкг/мл, что превышает минимально подавляющую концентрацию антифунгального препарата – флуконазола.

В отношении грибов *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* хлорид 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил)-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия проявил фунгистатическую активность в концентрациях 1,57 и 3,14 мкг/мл и фунгицидное действие – в концентрациях 3,14 и 6,25 мкг/мл соответственно.

Исследуемое соединение также проявило фунгистатическую активность в отношении штамма *S. brevicaulis* в концентрации 25 мкг/мл и фунгицидную активность – в концентрации 100 мкг/мл.

В отношении штамма *F. proliferatum* наблюдали фунгицидный эффект при концентрации соединения 100 мкг/мл.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами синтезировано новое производное 1,3,4-тиадиазола – хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифенил)-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3-(3,5-дифенил)-5-(4-арил)-1,3,4-тиадиазол-3-ия, обладающее высокой активностью в отношении дрожжей рода *Candida*, превышающей активность флуконазола.

Фунгицидный эффект соединения в отношении грибов *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* достигается при значительно меньших концентрациях, чего нельзя сказать о препарате сравнения – кетоконазоле.

Хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифенил)-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3-(3,5-дифенил)-5-(4-арил)-1,3,4-тиадиазол-3-ия, в отличие от препаратов сравнения – флуконазола и кетоконазола, обладает фунгистатическим действием в отношении возбудителя недерматофитного онихомикоза *S. brevicaulis*.

Полученные результаты позволяют потенцировать соединение хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифенил)-5-(4-арил)-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3-(3,5-дифенил)-1,3,4-тиадиазол-3-ия как перспективное лекарственное средство, обладающее антифунгальной активностью на уровне существующих на рынке противогрибковых препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А.Ю. Сергеев, О.Л. Иванов, Ю.В. Сергеев. Исследование современной этиологии онихомикоза в России // Российский журнал кожных и венерологических болезней. 2002. Т. 5. С. 42–46.
2. Н.Н. Клишко, Я.И. Козлова, О.В. Шадривова и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LifeProgram // Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16. № 1. С. 3–7.
3. А.Ю. Сергеев. Системная терапия онихомикозов: пособие для врачей. 2-е изд. – М.: Национальная академия микологии. 2007. С. 3–17.
4. А.Г. Довнар, Е.С. Носонова. Характеристика множественной резистентности клинических штаммов энтеробактерий, ацинетобактер и кандид // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2011. № 4. С. 53–54.
5. Д.А. Донгак, О.Г. Карноухова, Г.Ю. Коган и др. Частота выделения и лекарственная резистентность грибов рода *Candida* от больных ВИЧ-инфекцией в Иркутске // Сибирский медицинский журнал. 2013. № 5. С. 57–59.

Таблица 1.

Антифунгальная активность, мкг/мл

	<i>C. albicans</i>		<i>T. mentagrophytes</i>		<i>T. rubrum</i>		<i>F. proliferatum</i>		<i>S. brevicaulis</i>	
	ФС действие	ФЦ действие	ФС действие	ФЦ действие	ФС действие	ФЦ действие	ФС действие	ФЦ действие	ФС действие	ФЦ действие
Исследуемое соединение	–	1,57	1,57	3,14	3,14	6,25	–	100	25	100
Флуконазол	–	12,5	–	50	–	100	–	–	–	–
Кетоконазол	0,78	–	0,19	–	0,19	–	–	–	–	–