

ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ЖОВЧІ ТА ЇЇ КОМПОНЕНТІВ: ТЕОРЕТИЧНІ ПЕРЕДУМОВИ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДАНІ

І.Л.Дикий, Н.Ю.Шевельова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: жовч; жовчні кислоти; поверхнево-активні речовини; шлунково-кишковий тракт; антибіотики

Продукти тваринного походження як вихідні біосубстрати для одержання препаратів різноманітного клінічного призначення мають ряд переваг перед синтетичними за рівнем біосумісності для організму, за відсутністю токсичних ефектів, кумулятивних властивостей. Досліджена антибактеріальна і протигрибкова активність отриманих сполук. Проведено аналіз зв'язку хімічної структури і дії жовчних кислот та їх синтетичних похідних. Жовчні кислоти продемонстрували антибактеріальну та антикандидозну активність у концентраціях 31,25-500 мкг/мл. Найбільш високу антимікотичну активність, що перевищує рівень вихідних сполук, виявили: метиламід жовчних кислот, їх натрієві, калієві солі та ефіри, що містять активні фрагменти сульфаніламідів і беталактамів. Показано перспективність створення на базі природної сировини з жовчі з наступною хімічною модифікацією нових антимікробних препаратів, що поєднують кращі якості природних продуктів з багатofакторністю біологічної дії та високим цілеспрямованим ефектом ксенобіотиків.

Продукти тваринного і рослинного походження як вихідні біосубстрати для одержання препаратів різноманітного клінічного призначення мають ряд переваг перед синтетичними. Передусім за рівнем біосумісності для організму, атоксичності, через відсутність кумулятивних властивостей, нарешті, через їх доступність для ферментативної обробки до кінцевих продуктів, які виводяться з організму фізіологічними шляхами. Одним з достатньо вивчених біооб'єктів є жовч, яка здавна застосовувалася в народній медицині. Жовч становить собою секрет полігональних клітин, який постійно виробляє печінка хребетних тварин. Органотерапевтичні препарати, до яких відноситься медична жовч і препарати з неї, завдяки широкому спектру біологічної дії і чималій лікувальній ефективності знаходять широке застосування у практичній медицині при захворюваннях системи крові, печінки, під-

шлункової залози, а також ураженнях опорно-рухового апарату [7]. Жовч великої рогатої худоби і свиней використовується як знеболюючий, місцевий протизапальний та розсмоктувальний засіб, а також входить до складу декількох вітчизняних жовчогінних препаратів: "Любіл", "Холензим", "Аллохол". Жовчні кислоти знайшли застосування у препаратах виробництва Німеччини: "Хенофальк" та "Урсофальк" (містять відповідно хенодезоксихолеву та урсохолеву кислоти), "Літофальк" (їх суміш). У СНД виробляють напівсинтетичний жовчогінний препарат "Хологон", що містить дегідрохолеву кислоту.

В останні роки завдяки детальному дослідженню хімічного складу жовчі стало очевидно, що вона є складним у біохімічному, фізико-хімічному і фізіологічному аспектах продуктом діяльності печінки. Будучи не тільки секретом, але й екстрактом, вона містить ряд сполук, що визначають

її якісну своєрідність: ліпіди жовчі (холестерин і його ефіри, жовчні кислоти, нейтральні жири, жирні кислоти, фосфоліпіди) і жовчні пігменти. Біологічна активність ліпідів жовчі висока і різноманітна, особливий інтерес у плані перспективних розробок нових препаратів представляють фосфоліпіди, стероїди і жовчні кислоти. Останні є сполуками з 24 атомами вуглецю з однією карбоксильною групою і однією, двома, трьома повторними спиртовими групами. При омиленні жовчі у вихідному продукті знаходяться: холола, дезоксихолева кислоти, в меншій кількості — хенодезоксихолева та літохалева кислоти. Відомо, що жовчні кислоти мають різнобічну фармакологічну дію, а також сприяють транспорту різноманітних речовин із ШКТ. Але зазначеними властивостями не вичерпуються фармакологічні можливості цих біологічних продуктів.

З даних літератури відомо, що жовч змінює морфологічні і біохімічні властивості багатьох видів мікроорганізмів. Опубліковані відомості про зниження *in vitro* концентрованою бичачою жовч-

І.Л.Дикий — доктор мед. наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

чу стійкості протею до бензилпеніциліну в 130 разів [1]. Відомо також, що деякі жовчні кислоти володіють чіткою здатністю позбавляти R-плазміди антибіотикорезистентності; в 10-1000 разів підсилювати специфічну дію антибіотиків із групи аміноглікозидів на стафілококи, кишкову паличку, протей [2, 4, 6]. У дослідженнях [3] показана бактеріостатична і бактерицидна активність вільних і сполучених жовчних кислот у відношенні стафілококів. У доступній нам літературі відсутні відомості про протигрибкові властивості жовчі і жовчних кислот. Деякі закордонні публікації свідчать про дослідження в галузі створення нових сполук на базі жовчних кислот, однак вітчизняних публікацій останніх років на цю тему немає [8-14]. У той же час перспективність досліджень у цьому напрямку не підлягає сумніву, тому що це може відкрити новий напрямок пошуку підвищення специфічної активності хімотерапевтичних препаратів за допомогою поверхнево-активних речовин тваринного походження та їх модифікацій.

Матеріали та методи

Для дослідження використали референс-штами чотирьох видів грампозитивних і грамнегативних бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 25293; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853; *Bacillus subtilis* ATCC 6633 і клінічний штам дріжджоподібного гриба *Candida albicans*.

Визначення антимікробної активності похідних холевої та дегідрохолевої кислот проводили методом серійних розведень в агаризованому середовищі відповідно до методичних вказівок [5]. Поживним середовищем для вивчення антибактеріальної активності служив м'ясопептонний агар, а для дослідження протигрибкових властивостей сполук — агар Сабуро. Всі сполуки розводили в диметилсульфоксиді. Облік результатів здійснювали через 18-24 год інкубації при 37°C для бактерій та 48-72 год — для *C. albicans*. Антимікробну активність речовин оцінювали за показником МСК

(мінімальна стримувальна концентрація).

Результати та їх обговорення

Холева та дегідрохолева кислоти проявили антимікробну активність у відношенні всіх тест-культур. Найбільш чутливими виявилися культури: сінної палички та кандиди (31,25-62,5 мкг/мл); найменш чутливими — кишкової палички, синьогнійної палички і золотистого стафілокока (500 мкг/мл).

При вивченні зв'язку структури з дією визначено, що введення в 24-е положення таких замісників як рештки фосфорної кислоти, калієвих солей фосфорної кислоти і діетиламіну знижували фунгіцидну активність холевої кислоти вдвічі. Введення по 3-му положенню нітрогрупи знижувало протигрибкову активність у 8 разів. Таку ж активність у відношенні *S. albicans* виявив 24-фосфорний ефір-3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти, показник МСК якого був вище за МСК холевої кислоти у 8 разів. Цинкова сіль 3а, 7а,12а-триоксихоланової кислоти мала в 4 рази менш сильний фунгіцидний ефект, ніж вихідна холева кислота.

Введення до 24-го положення радикалів: 6-[D-(-)- α -амінофенілацетаніду]-пеніциліну, ампіоксу, а також дифосфорного ефіру тіаміну, 2-(пара-амінобензолсульфацилу)-тіазолу, 2-(пара-амінобензолсульфамідо)-5-етил-1,3,4-тіадіазолу, пара-2-амінобензолсульфаміду знижує активність по відношенню до дріжджоподібного гриба *Candida albicans* більш ніж у 3 рази. У той же час 24-N-малозовий ефір-3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти не володіє явними протигрибковими властивостями.

Ацетоефіри, одержані по 3 положенню: ацетилхолева кислота, та їх заміщення по 24 положенню: О-ефіри — метиловий, N-ефіри — диметиламід, діетиламід, а також 24-N-гексанамід-3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти, 24-О-ефір холевої кислоти метиловий та 3-О-нітро-24-О-метиловий ефір 3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти, як і сіль тривалентного заліза, показали таку ж антифунгальну активність, що і холева кислота.

Диметиламід холевої кислоти збільшував у порівнянні з холевою кислотою протигрибковий ефект у 1,25 рази, а при введенні в 3 положення нітрогрупи фунгіцидна дія знижувалася в 16 разів. Метиламід холевої кислоти та одержані натрієві, калієві солі холевої кислоти мали високу антимікробну активність. N-ефіри по 24 положенню похідних холевої кислоти: 7-аміноцефалоспорину, 2-пара-амінобензолсульфамідо-4,6-диметилпірамідину показують у 5 разів більш виражену протигрибкову дію в порівнянні з вихідною холевою кислотою. Такий же ефект виявили сполуки, одержані шляхом введення в метиловий ефір холевої кислоти по 3 положенню О-ефірів: 6-[D-(-)- α -амінофенілацетонід]-пеніциліну, біциліну та карбеніциліну.

Одержані речовини чинили також антибактеріальну дію на сінну паличку. Ацетилметиловий ефір холевої кислоти показав зниження антибактеріальної активності у 8 разів у порівнянні з холевою кислотою; 3-ацетилхолева кислота та 24-О-ефіри-3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти — метиловий, калійфосфорний, дикалійфосфорний мали таку ж антибактеріальну активність, що і сама холева кислота. Фосфорний ефір з тритадихолевыми кислотами знижували антимікробний ефект у відношенні *B. subtilis* вдвічі, а моноефір — у 4 рази.

Подвійний ефір 24-метил-3-О-ацетил-7а,12а-діоксихоланової кислоти знижує антибактеріальну активність у відношенні *B. subtilis* у 8 разів, а введення в речовину по 3 положенню нітрогрупи, а також N-малозового ефіру холевої кислоти, діетиламіну по 24 положенню демонструє бактерицидний ефект, схожий по рівню дії з холевою кислотою. У той час як введення у 3 положення вихідної речовини нітрогрупи та залучення 3-О-ефіру знижують активність у 4 рази, МСК для сінної палички склало 250 мкг/мл. Зміна нітрогрупи на залишок оцтової кислоти посилювала антибактеріальну дію вдвічі.

Карбеніцилін холевої кислоти та диметиламід холевої кислоти мали подвоєний антибактеріаль-

ний ефект, але зміна диметилу на метиламід збільшувала МСК у 1,2 рази; введення до речовини нітрогрупи по 3 положенню знижувало антибактеріальні властивості у 2 рази в порівнянні з холевою кислотою, а зміна його на оцтовий залишок зменшила антибактеріальний ефект у 20 разів. Одержання солей натрію привело до посилення антибактеріальної дії у 4 рази, а солей калію — у 2 рази. Солі заліза, цинку знижували антибактеріальний ефект вдвічі.

Ефіри з 7-аміноцефалоспоровою кислотою і 2-(пара-амінобензолсульфамідо-4,6-диметилпірамідином) по 24 положенню показали антимікробну активність, яка в 10 разів перевищує антимікробні показники холевої кислоти. Введення до метилового ефіру холевої кислоти по 3 положенню похідних груп пеніциліну виявило антибактеріальний ефект, який у 10 разів перевищує активність 3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти.

У 24-О-ефірів холевої кислоти активність збільшилась у 4 рази, а найбільшу активність проти синьогнійної та кишкової паличок і

золотистого стафілокока, що в 20 разів перевищує показники холевої кислоти, виявили 24-N-[2-(пара-амінобензолсульфамідо)-4,6-диметилпірамідин]-3а,7а,12а-триоксихолу ефір та 24-О-метил-3-О-біцилін-7а,12а-діоксихолін.

Антимікробна дія на грамнегативні бактерії 24-похідних холевої кислоти перевищує вихідні показники власне холевої кислоти: калієвої солі — в 16 разів; натрієвої солі — в 33 рази; диметиламід — в 20 разів; 7-аміноцефалоспоринової солі (20) — у 80 разів. Виявлено виразний антибактеріальний ефект у 24-N-[дифосфорний ефір тіаміну]-3а,7а,12а-триоксихоланової кислоти у відношенні кишкової палички (у 20 разів), синьогнійної палички (у 80 разів). Виявлено пригнічення зростання синьогнійної палички у N-малозового ефіру, 3-О-нітродиметилового ефіру холевої кислоти у концентраціях, що перевищують вихідну величину для холевої кислоти вдвічі; 24-О-метилового ефіру та 24-N-гексанаміду холевої кислоти — у 4 рази.

Найбільшу протистафілококову активність, що перевищує ви-

хідну холевої кислоти у 10-20 разів, виявили сполуки, що містять похідні сульфаніламідів та пеніциліну. При цьому диметиламід, 7-аміноцефалоспоровий ефір та дифосфорний ефір тіаміну виявили бактеріостатичну дію на золотистий стафілокок у МСК 100 мкг/мл. Одержання натрієвої, калієвої солей холевої кислоти привело до восьмиразового збільшення протистафілококового ефекту. Значну антимікробну активність проявили також сполуки, які є результатом проведення кон'югації жовчних кислот з амінокислотами.

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження синтетичних похідних жовчних кислот показали перспективність створення нових антимікробних засобів на базі жовчної сировини з наступною хімічною модифікацією, що підсилює їх специфічну дію та збільшує спектр. Таким чином, можуть бути одержані препарати, що поєднують найкращі якості природних продуктів, багатогликозидів, багатогликозидів та специфічний цілеспрямований ефект ксенобіотиків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Веселов А.Я. // *Антибиотики и мед. биотехнол.* — 1985. — №3. — С. 232-233.
2. Климнюк С.И. // *Антибиотики.* — 1984. — №3. — С. 182-184.
3. Климнюк С.И. *Комбинированное действие антибиотиков-аминогликозидов и желчных кислот на стафилококки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* — Мн, 1980. — 24 с.
4. Левченко А.Б., Белоусова И.И., Эльгарт Р.Е. и др. // *Антибиотики.* — 1975. — №11. — С. 1002-1005.
5. *Методические указания по применению унифицированных методов определения чувствительности микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам / МЗ СССР, № 250-75.* — М., 1975. — 31 с.
6. Нецадим Г.Н. *Изучение путей ограничения антибиотикорезистентности у энтеробактерий в эксперименте: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.* — М., 1972. — 28 с.
7. Пак М.Ф., Бондарев Л.Н. *Лекарственные средства. Экономика. Технология и перспективы получения: Обзор информ.* — М.: ВНИЭСНТИ Минмедпрома СССР, 1990. — Вып. 10. — С. 40.
8. Braja G. Hazra, Vandana S. Pore, Sanjeev Kumar Dey et al. // *Bioorg. & Medicinal Chemistry Lett.* — 2004. — Vol. 14, №3. — P. 773-777.
9. Deepak B. Salunke, Braja G. Hazra, Vandana S. Pore // *Arxivoc.* — 2003 (ix). — P. 115-125.
10. Hofmann Alan F., Eckmann L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103, №12. — P. 4333-4334.
11. Iton M., Wada K., Tan S. et al. // *J. Gastroenterol.* — 1999. — Vol. 34, №5. — P. 571-576.
12. Namdev S. Vatmurge, Braja G. Hazra, Vandana S. Pore et al. // *Bioorg. & Medicinal Chemistry Lett.* — 2008. — Vol. 18, №6. — P. 2043-2047.
13. Ronsin G., Kirby A.J., Rittenhouse S. et al. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* — 2002. — P. 1302-1306.
14. Sung J.Y., Shaffer E.A., Costerton J.W. // *Digestive Dis. and Sci.* — 1993. — Vol. 38, №11. — P. 2104-2112.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 706-30-67. Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 21.10.2008 р.