

©Шарма, Шарма

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ СПИРО[ИНДОЛИН-3,2'-ТИАЗОЛО[5,4-*e*]ПИРИМИДО[1,2-*a*]ПИРИМИДИНА] КАК ВОЗМОЖНОЕ АНТИДЕРМАТОФИТНОЕ И АНТИКАНДИДОЗНОЕ СРЕДСТВО

Г. Шарма¹, Р. Шарма^{2*}

¹Department of Chemistry, MPS International, Jaipur, India

²Department of Microbiology, Mahatma Gandhi University of Medical Science & Technology, Jaipur, India; *e-mail: richa.phd.15@gmail.com

Синтезирована новая серия производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-она **9a-d**. Все синтезированные соединения были исследованы на противодерматофитную и противокандидозную активность с использованием диско-диффузного метода и модифицированного метода микроразведения. Эксперименты показали, что *in vitro* синтезированные соединения проявляют противогрибковую активность широкого спектра. Соединения **9a-d** обладали более сильной противогрибковой активностью против *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* и *Candida albicans*; соединения **6a-d** также показали значительную противогрибковую активность против отдельных штаммов грибов по сравнению с противогрибковым препаратом сравнения кетоконазолом. Оценка противогрибковой активности против лекарственно-устойчивых вариантов грибов показала, что разработанные соединения обладают значительной противогрибковой активностью. Комбинация соединений (**6a-d**) и (**9a-d**) показала, что синтезированные соединения обладают синергическим или аддитивным действием. Синтезированные соединения проявляют противогрибковую активность широкого спектра, возможно, действуя в качестве ингибитора хитинсинтазы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что новые спироимидинозные производные могут быть использованы в качестве активного фармацевтического ингредиента для создания новых лекарственных препаратов для лечения дерматофитии и других грибковых заболеваний.

Ключевые слова: дерматофития; пиримидо-пиримидинозные производные; грибковые агенты; комбинация

DOI: 10.18097/PBMC20247003180

ВВЕДЕНИЕ

Появляющиеся новые инфекционные заболевания и рост числа микробных патогенов с множественной лекарственной устойчивостью по-прежнему делают лечение инфекционных заболеваний важной и актуальной глобальной проблемой. Поэтому необходимы значительные исследования по созданию новых классов антимикробных препаратов [1, 2]. Согласно имеющимся данным, около миллиарда человек страдают от грибковых инфекций, начиная от поверхностных и заканчивая потенциально опасными для жизни инвазивными инфекциями [3, 4]. В условиях роста числа людей, страдающих ВИЧ, туберкулёзом, пневмониями и раком, инвазивная грибковая инфекция стала основной причиной смертности этих пациентов с иммунодефицитом или иммуносупрессией (ежегодно регистрируется около 1,5 млн смертей); более 80% этих смертей происходит из-за инвазивных инфекций, вызванных видами *Candida*, *Aspergillus* и *Cryptococcus* [5]. В клинической практике используют всего несколько классов системных противогрибковых препаратов (азолы, полиены и эхинокандины) [6], и даже последний класс (эхинокандины) был открыт тридцать лет назад [7]. Кроме того, появление клинических вариантов грибов с множественной лекарственной устойчивостью (к двум или даже трём классам противогрибковых препаратов) поставило под угрозу эффективность современных методов лечения [8, 9]. Дефицит противогрибковых средств в сочетании с быстрым распространением

лекарственной устойчивости грибов подчеркивает острую необходимость в новых препаратах для решения всё более серьёзных проблем, связанных с грибковыми инфекциями.

Хитин — полимер β-(1,4)-N-ацетил-D-глюкозамина (GlcNAc) — является важнейшим полисахаридом клеточной стенки грибов; он играет важную роль в поддержании морфологии и функционирования клеток. Хитинсинтаза (CHS) полимеризует GlcNAc в хитин из субстрата UDP-GlcNAc. Ингибирование CHS прерывает синтез хитина и приводит к гибели клеток.

Поскольку CHS отсутствует у млекопитающих, ингибиторы этого фермента не будут проявлять побочных эффектов, характерных для фармакологических средств, применяемых в настоящее время в клинической практике [10, 11]. Кроме того, при ингибировании биосинтеза β-(1,3)-глюкана противогрибковыми эхинокандинами (полусинтетическими липопептидами) грибковые клетки могут выжить за счёт повышенного образования хитина, что способствует устойчивости грибов к эхинокандинам [12, 13]. Таким образом, помимо разработки новых противогрибковых препаратов, ингибирование синтеза хитина повысит чувствительность грибковой клетки к эхинокандинам при комбинированном применении эхинокандинов с ингибиторами CHS.

Целью данного исследования было создание и разработка высокоселективных и эффективных антимикробных препаратов из новой серии производных пиримидопиримидина, содержащих

различные гетероциклические и арильные молекулы. Учитывая разнообразную биологическую активность пиримидо-пиримидиновых производных, мы предложили свой подход к антимикробному скринингу новой серии пиримидиновых производных.

МЕТОДИКА

Химические методы

Весь химический синтез производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-она **9a-d**

проводили, как подробно описано в [14]. Приведённая ниже схема (рис. 1) иллюстрирует основные этапы синтетического процесса. Чистоту соединений проверяли на тонких слоях силикагеля в различных неводных растворителях, например, бензол:этилацетат (9:1), бензол:дихлорметан (8:2). ИК-спектры (KBr) регистрировали на спектрофотометре Magna FT IR-550, а спектры ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C — на спектрометре Bruker DRX-300 с использованием CDCl_3 при 300,15 и 75,46 соответственно. Тетраметилсилан (TMC) использовали в качестве внутреннего эталона. Масс-спектры представленных соединений регистрировали на масс-спектрометре Kratos 50 при 70 эВ.

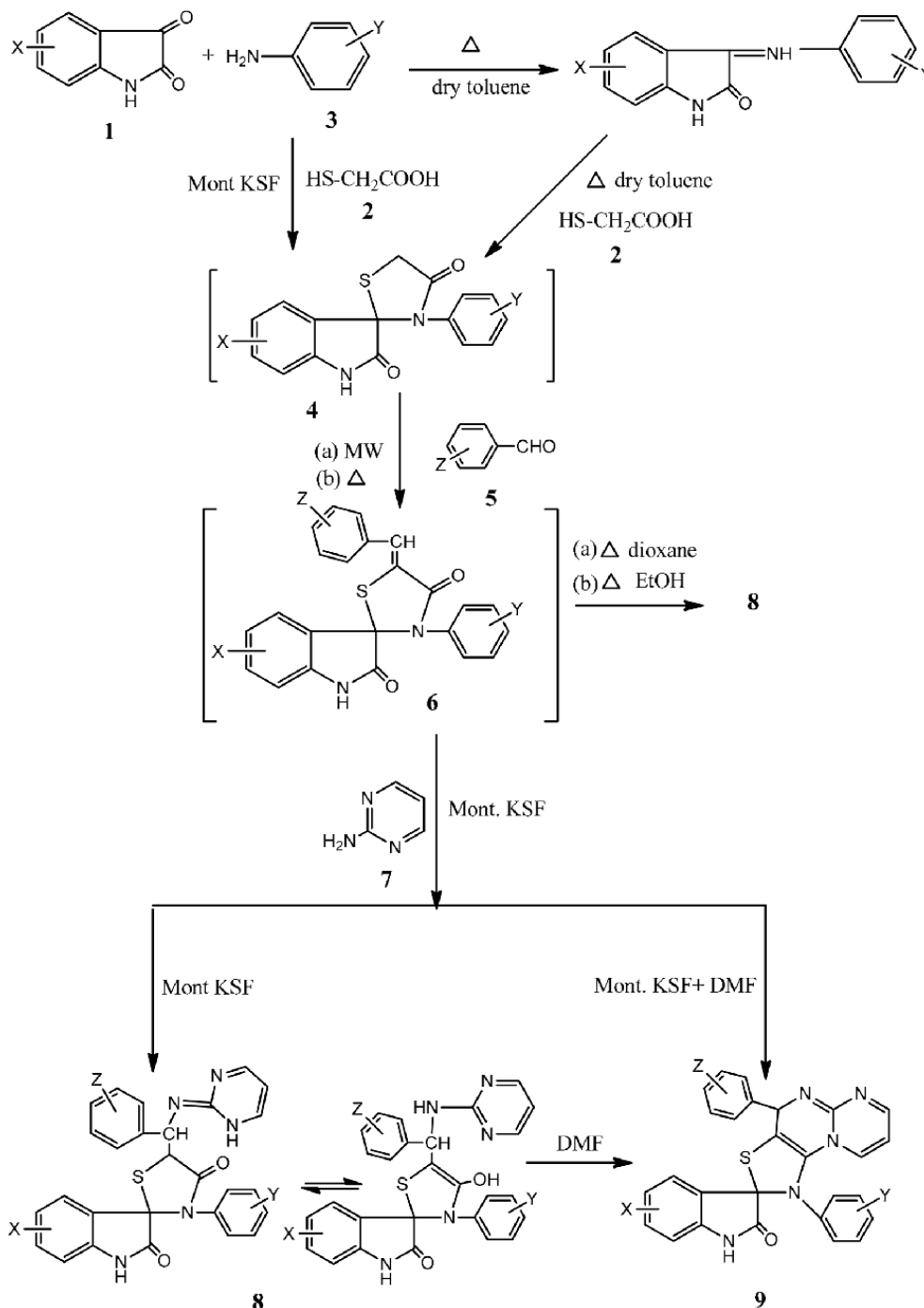


Рисунок 1. Схема, иллюстрирующая основные этапы синтеза искомых соединений.

Биологические методы

Скрининг синтезированных соединений методом диффузии дисков *in vitro*. Синтезированные соединения были проверены на противогрибковую активность против *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* и *Candida albicans* диско-диффузным методом [15]. Для определения противогрибковой активности использовали диски из фильтровальной бумаги Whatman №1 стандартного размера, диаметром 6,0 мм, стерилизованные сухим жаром при 140°C в печи в течение 1 ч. Для диффузионного теста использовали среду SDA. После стерилизации её разливали в стерильные чашки Петри и давали застыть. При визуальном осмотре суспензия была мутной. Суспензию спор каждого из грибов готовили методом суспендирования из 8–10-дневных культур в 0,9% растворе NaCl и использовали для инокуляции. В каждом случае инокулят поддерживали на уровне $(1-5) \times 10^6$ КОЕ/мл. Суспензию интенсивно перемешивали в вихревом смесителе и аликвоты по 0,1 мл наносили на пластины агаровой среды. Стерилизованные диски из фильтровальной бумаги замачивали в растворах (50 мг/мл) исследуемых чистых соединений. Две смеси соединений (одна из серии **6a-d** и другая из серии **9a-d**) использовали в той же концентрации (50 мг/мл) для сравнения с противогрибковым препаратом сравнения — антибиотиком кетоконазолом. Для оценки противогрибковой активности препарата сравнения диски из фильтровальной бумаги пропитывали кетоконазолом в концентрации 50 мг/диск. Эти диски помещали на пластины с соответствующими микроорганизмами, которые инкубировали при 30°C в течение 48–72 ч. Измерения проводили в трёх повторях и рассчитывали средние значения. Диаметр зон ингибирования измеряли в мм, а индекс активности рассчитывали на основе размера зоны ингибирования (IZ). Активность соединений оценивали по следующей формуле:

$$\text{Индекс активности (AI)} = \frac{\text{зона ингибирования соединения (IZ)}}{\text{зона ингибирования препарата сравнения (IZ)}}.$$

Определение минимальной ингибирующей концентрации модифицированным методом микроразведения [16]. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) смеси соединений против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*

определяли методом микроразведения с небольшими изменениями [16]. Стерилизованную полутвёрдую агаровую среду на основе бульона с сердечно-мозговым экстрактом разливали в стерильные культуральные пробирки и давали застыть. Тестовый инокулят готовили в 0,9% растворе NaCl, суспензию интенсивно перемешивали в вихревом смесителе. В культуральные пробирки добавляли различные концентрации смеси соединений, после чего при помощи стандартной платиновой петли (~0,005 мл, Himedia, Flexilooop) вносили суспензию инокулята глубоко в каждую пробирку со средой, содержащей различные концентрации соединений, а также в контроль без соединений. Различные концентрации соединений добавляли в среду для выявления наименьшую концентрацию, при которой в среде визуально не наблюдалось роста. Затем пробирки с культурами инкубировали при 28°C в течение 48–72 ч для определения МИК. МИК определяли как наименьшую концентрацию, при которой не наблюдалось визуального роста после периода инкубации. Все эксперименты проводили в трёх повторях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Существует очевидная необходимость в разработке новых эффективных противогрибковых средств, во-первых, из-за ограниченного числа противогрибковых препаратов и, во-вторых, из-за появления устойчивости грибов к известным противогрибковым средствам. В связи с этим для разработки противогрибковых препаратов предпринимаются значительные усилия по ингибированию специфических грибковых ферментов, участвующих в различных биохимических путях. На основании ранее опубликованной работы [14] была синтезирована серия производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'-(1H)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-e]пиримидо[1,2-a]пиримидин]-2(1H)-она **9a-d** (табл. 1). В настоящем исследовании эти соединения были проверены на антидерматофитную и антикандидозную активность для лечения грибковых инфекций.

В настоящей работе был проведен скрининг соединений (спиро-производных **6a-d** и **9a-d**) диско-диффузным методом и определение их МИК (минимальной ингибирующей концентрации) против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. *T. rubrum* и *T. mentagrophytes*, которые, как известно,

Таблица 1. Синтез производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'-(1H)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-e]пиримидо[1,2-a]пиримидин]-2(1H)-она **9a-d** [14]

Соединение	X	Y	Z	Время (мин)	Выход (%)	Температура (°C)
6a	H	4-Cl	4-N(CH ₃) ₂	6–8	88	243–245
6b	5-Br	4-CH ₃	4-OCH ₃	6–8	92	254–256
6c	5-CH ₃	4-Cl	4-N(CH ₃) ₂	6–8	89	136–138
6d	H	4-F	4-N(CH ₃) ₂	6–8	87	183–185
9a	H	4-Cl	4-N(CH ₃) ₂	7–8	88	140–145
9b	5-Br	4-CH ₃	4-OCH ₃	7–8	89	213–215
9c	5-CH ₃	4-Cl	4-N(CH ₃) ₂	7–8	83	203–205
9d	H	4-F	4-N(CH ₃) ₂	7–8	84	279–281

являются основными этиологическими агентами дерматофитии. До настоящего времени в литературе не было сообщений об антидерматофитной активности новых серий производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-она **9a-d**. Это объясняет, почему антимикотические исследования были проведены с использованием *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Полученные результаты показали значительную противогрибковую активность соединений, используемых по отдельности и в комбинациях. В таблице 2 приведены результаты исследования по изучению противогрибковой активности соединений против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Большинство синтезированных соединений продемонстрировали значительную ингибирующую активность против всех грибковых штаммов. Было выявлено, что соединение **9b** обладает наибольшей противогрибковой активностью против *T. rubrum*; активность соединений **9c**, **9d**, **6a**, **6b**, **6d** и **6c** была несколько меньше. Соединение **9b** проявило более сильную противогрибковую активность, чем препарат

сравнения кетоконазол, в отношении *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Другие соединения также были более активны, чем препарат сравнения, и их ингибирующая активность была сопоставима с наиболее эффективным соединением (**9b**).

В таблице 3 приведены результаты оценки синергичной и аддитивной ингибирующей активности смесей соединений **6a-d** и **9a-d** (рис. 2). Эти эксперименты проводили с использованием *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans* и результаты сравнивали с действием отдельных соединений и препарата сравнения кетоконазола. Противогрибковая активностей смесей соединений была выше противогрибковой активности отдельных препаратов и препарата сравнения кетоконазола. Диаметр зоны ингибирования (IZ), полученной при использовании смеси соединений (**6a-d**) в общей концентрации 50 мкг/мл, составил 86 мм, 88 мм и 89 мм в случае *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans* соответственно (табл. 3). Результаты определения МИК показали, что смеси соединений (**6a-d**) и (**9a-d**) проявляли ингибирующее действие против *T. rubrum* в концентрациях от 0,07 мг/мл до 0,09 мг/мл (табл. 4). При концентрации 0,07 мг/мл рост *T. rubrum*

Таблица 2. Противогрибковая активность синтезированных новых производных спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидина] против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*

Соединение	IZ (50 мг/мл) в мм		
	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>C. albicans</i>
6a	77	75	78
6b	75	74	72
6c	74	76	78
6d	73	72	76
9a	75	75	79
9b	85	78	75
9c	80	74	74
9d	76	82	85
Кетоконазол	48	45	40

Таблица 3. Противогрибковая активность смеси соединений (производных 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионов **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-она **9a-d**) в отношении *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*

Соединения	Линия клеток	ИЗ Смесь соединений (50 мг/мл)	ИЗ Кетоконазол (50 мг/мл)	АИ
Смесь соединений (6a-d)	<i>T. rubrum</i>	86 мм	48 мм	1,79
	<i>T. mentagrophytes</i>	88 мм	45 мм	1,95
	<i>C. albicans</i>	89 мм	40 мм	2,22
Смесь соединений (9a-d)	<i>T. rubrum</i>	84 мм	48 мм	1,75
	<i>T. mentagrophytes</i>	82 мм	45 мм	1,82
	<i>C. albicans</i>	87 мм	40 мм	2,17

Примечание: ИЗ – зона ингибирования (в мм) включающая диаметр диска (6 мм), АИ – индекс активности.

Таблица 4. МИК смеси соединений (5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионы **6a-d** и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-он **9a-d**) в отношении *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*

Смесь соединений	Линия клеток	МИК
6a-d	<i>T. rubrum</i>	0,07 мг/мл
	<i>T. mentagrophytes</i>	0,08 мг/мл
	<i>C. albicans</i>	0,09 мг/мл
9a-d	<i>T. rubrum</i>	0,05 мг/мл
	<i>T. mentagrophytes</i>	0,04 мг/мл
	<i>C. albicans</i>	0,05 мг/мл

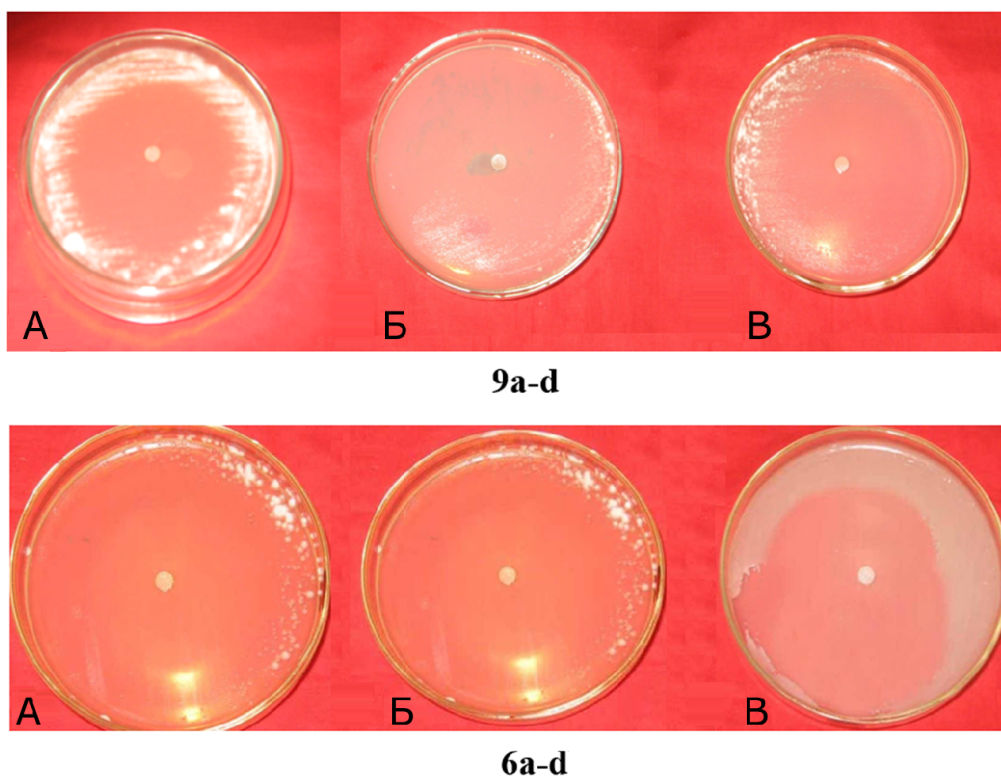


Рисунок 2. Противогрибковая активность смеси соединений (**9a-d** и **6a-d**) против: (A) *T. rubrum*; (Б) *T. mentagrophytes*; (В) *C. albicans*.

не наблюдался после 6 дней инкубации при 28°C. Значения МИК смеси соединений (**6a-d**) против *T. mentagrophytes* и *C. albicans* составили 0,08 мг/мл и 0,09 мг/мл соответственно. Другая смесь соединений (**9a-d**) также показала значительную ингибирующую активность против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Значения МИК смеси соединений этой серии против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans* составили 0,05 мг/мл, 0,04 мг/мл и 0,05 мг/мл соответственно (табл. 4). Эти результаты наблюдались через 6 дней, 12 дней, 18 дней и 24 дня. При этой концентрации рост исследуемых штаммов грибов не был выявлен до 30 дня эксперимента. В контрольных чашках Петри (без добавления смесей соединений) был выявлен 100% рост *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Эти результаты совпадают с данными Hu et al., которые сообщили о противогрибковой активности новых производных спиро-хинолинона против *C. neoformans*, *A. fumigatus* и *A. flavus*, не уступающей флуконазолу [17]. Эти результаты также согласуются с данными Rani и Kunta, которые сообщили, что производные пирроло[2,1-b]бензотиазола **9a-e** эффективно подавляют рост тестируемых штаммов бактерий [18]. Пиридо[2,3-d]пиримидиновые кольцевые системы обладают разнообразной биологической и фармакологической активностью, такой как анальгетическая, противовоспалительная, противотуберкулёзная [19], антимикробная [20, 21], противовирусная [22]. Они также демонстрируют антиоксидантные свойства и могут действовать как ингибиторы дигидрофолатредуктазы и

глюкозидазы [23]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что обе смеси соединений являются более аддитивными, синергичными и эффективными в подавлении роста *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans* по сравнению с препаратом сравнения. Эти результаты указывают на то, что смеси соединений, а также отдельные соединения могут быть использованы в качестве противогрибковых средств против *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* и *C. albicans*. Они также могут рассматриваться в качестве активного фармацевтического ингредиента (в различных композициях) для борьбы с грибковой резистентностью у больных дерматомикозом (стригущим лишаем) и кандидозом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, синтезированные производные 5'-бензилиден-3'-фенилспиро[индолин-3,2'-тиазолидин]-2,4'(1*H*)-дионов и спиро[индолин-3,2'-тиазоло[5,4-*e*]пиримидо[1,2-*a*]пиримидин]-2(1*H*)-она проявляют перспективную противогрибковую активность в отношении дерматофитов и *Candida*. Среди синтезированных соединений соединение **9b** проявило большую противогрибковую активность, чем стандартный противогрибковый препарат кетоконазол, а смесь соединений (**9a-d**) эффективнее подавляла рост исследуемых штаммов грибов по сравнению с отдельными соединениями и кетоконазолом. Это свидетельствует о перспективности исследования этих соединений в качестве прототипа. Проведённое исследование позволяет

сделать вывод о необходимости дальнейшего изучения фармакологической активности широкого спектра, в частности, ингибирования ферментов, у исследуемых соединений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Авторы не получали финансовой поддержки для проведения исследований, авторства и/или публикации данной статьи.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Holla B.S., Mahalinga M., Karthikeyan M.S., Akberali P.M., Shetty N.S. (2006) Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **14**(6), 2040–2047. DOI: 10.1016/j.bmc.2005.10.053
- Kaplançikli Z.A., Turan-Zitouni G., Özdemir A., Revial G. (2008) New triazole and triazolothiadiazine derivatives as possible antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **43**(1), 155–159. DOI: 10.1016/j.ejmech.2007.03.019
- Pathakumari B., Liang G., Liu W. (2020) Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. *Biomed. Pharmacother.*, **130**, 1105. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110550
- Pristov K.E., Ghannoum M.A. (2019) Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.*, **25**(7), 792–798. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.03.028
- Curto J.C.G., Curto M.A., Carvalho V.S.D., Pérez P., Ribas J.C. (2019) The fungal cell wall as a target for the development of new antifungal therapies. *Biotechnol. Adv.*, **37**(6), 10735. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.02.008
- Lenardon M.D., Munro C.A., Gow N.E.R. (2010) Chitin synthesis and fungal pathogenesis. *Curr. Opin. Microbiol.*, **13**(4), 416–423. DOI: 10.1016/j.mib.2010.05.002
- Curto M.A., Butassi E., Ribas J.C., Svetaz L.A., Cortés J.C.G. (2021) Natural products targeting the synthesis of β (1,3)-D-glucan and chitin of the fungal cell wall. Existing drugs and recent findings. *Phytomedicine*, **88**, 153556. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153556
- Noureldin N.A., Kothayer H., Lashine E.M., Baraka M.M., Huang Y., Li B., Ji Q. (2018) Design, synthesis and biological evaluation of novel quinazoline-2,4-diones conjugated with different amino acids as potential chitin synthase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, **152**, 560–569. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.05.001
- Masubuchi K., Tangiguchi M., Umeda M., Hattori I., Suda K., Kohchi H., Isshik Y., Sakai T., Kochchi M., Shirai M. (2022) Synthesis and structure-activity relationships of novel fungal chitin synthase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**(13), 1459–1462. DOI: 10.1016/s0960-894x(00)00257-2
- Bongomin F., Gago S., Oladel R.O. (2017) Global and multi-national prevalence of fungal diseases — estimate precision. *J. Fungi (Basel)*, **3**(4), 57. DOI: 10.3390/jof3040057
- Limper A.H., Adenis A., Le T., Harrison T.S. (2017) Fungal infections in HIV/AIDS. *Lancet Infect. Dis.*, **17**(11), 334–343. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30303-1
- Robbins N., Wright G.D., Cowen L.D. (2016) Antifungal drugs: The current armamentarium and development of new agents. *Microbiol. Spectr.*, **4**(5), DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0002-2016
- Mroczyska M., Brillowska-Dąbrowska A. (2022) Review on current status of echinocandins use. *Antibiotics (Basel)*, **9**(5), 227. DOI: 10.3390/antibiotics9050227
- Dandia A., Sharma G., Singh R., Laxkar A. (2009) A new strategy for the synthesis of novel spiro [indoline-3,2'-thiazolo [5, 4-e] pyrimido [1, 2-a] pyrimidine] derivatives. *Arkivoc*, **14**, 100–108.
- Gould J.C., Bowie J.H. (1952) The determination of bacterial sensitivity to antibiotics. *Edinburgh Med. J.*, **59**(4), 178–199.
- Provine H., Hadley S. (2000) Preliminary evaluation of a semisolid agar antifungal susceptibility test for yeasts and molds. *J. Clin. Microbiol.*, **38**(2), 537–541. DOI: 10.1128/jcm.38.2.537-541.2000
- Wu H., Du C., Xu Y., Liu L., Zhou X., Ji Q. (2022) Design, synthesis, and biological evaluation of novel spiro[pyrrolidine-2,3'-quinolin]-2'-one derivatives as potential chitin synthase inhibitors and antifungal agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **233**, 114208. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114208
- Rani N.V., Kunta R. (2021) PEG-400 promoted a simple, efficient and eco-friendly synthesis of functionalized novel isoxazolyl pyrido[2,3-d]pyrimidines and their antimicrobial and anti-inflammatory activity. *Synthetic Communications*, **51**(8), 1171–1183. DOI: 10.1080/00397911.2021.1871759
- Rajesh S.M., Kumar R.S., Libertsen L.A., Perumal S., Yogeewari P., Sriram D. (2011) An atom-efficient, solvent-free, green synthesis and antimycobacterial evaluation of 2-amino-6-methyl-4-aryl-8-[(e)-arylmethylidene]-5,6,7,8-tetrahydro-4h-pyrano[3,2-c]pyridine-3-carbonitriles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**(10), 3012–3016. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.03.045
- Abdelhameed R.M., Darwesh O.M., El-Shahat M. (2020) Synthesis of arylidene hydrazinylpyrido[2,3-d]pyrimidin-4-ones as potent anti-microbial agents. *Heliyon*, **6**(9), e04956. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04956
- Elsaedany S.K., AbdElatif zein M., AbdElRehim E.M., Keshk R.M. (2021) Synthesis and biological activity studies of novel pyrido[2,3-d]pyrimidines and pyrido[2,3-d]triazines. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **47**(2), 552–560. DOI: 10.1134/S1068162021020114
- de Goey D.A., Betebenner D.A., Grampovnik D.J., Liu D., Pratt J.K., Tufano M.D., He W., Krishnan P., Pilot-Matias T.J., Marsh K.C., Molla A., Kempf D.J., Maring C.J. (2013) Discovery of pyrido[2,3-d]pyrimidine-based inhibitors of HCV NS5A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**(12), 3627–3630. DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.04.009
- Wang M., Yang J., Yuan M., Xue L., Li H., Tian C., Wang X., Liu J., Zhang Z. (2017) Synthesis and antiproliferative activity of a series of novel 6-substituted pyrido[3,2-d]pyrimidines as potential nonclassical lipophilic antifolates targeting dihydrofolate reductase. *Eur. J. Med. Chem.*, **128**, 88–97. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.01.033

Поступила в редакцию: 12. 03. 2024.

После доработки: 06. 06. 2024.

Принята к печати: 10. 06. 2024.

NOVEL SPIRO[INDOLINE-3,2'-THIAZOLO[5,4-*e*]PYRIMIDO[1,2-*a*]PYRIMIDINE] DERIVATIVES
AS POSSIBLE ANTI-DERMATOPHYTIC & ANTI-CANDIDIASIS AGENT

G. Sharma¹, R. Sharma^{2*}

¹Department of Chemistry, MPS International, Jaipur, India

²Department of Microbiology, Mahatma Gandhi University of Medical Science & Technology,
Jaipur, India; *e-mail: richa.phd.15@gmail.com

A novel series of 5'-benzylidene-3'-phenylspiro[indoline-3,2'-thiazolidine]-2,4'(1*H*)-diones **6a-d** and spiro[indoline-3,2'-thiazolo[5,4-*e*]pyrimido[1,2-*a*]pyrimidin]-2(1*H*)-one **9a-d** derivatives have been synthesized. All the newly synthesized compounds were evaluated for antifungal and anti-candidiasis activity by using Disc Diffusion and Modified Microdilution methods. The antimicrobial experiments have shown that the synthesized compounds demonstrated broad-spectrum antifungal activity *in vitro*. Among them, compounds **9a-9d** had stronger antifungal activity against *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, and *Candida albicans*; compounds **6a-d** also showed significant antifungal activity against selected fungal strains as compared to ketoconazole, the reference antifungal drug. The evaluation of antifungal activity against drug-resistant fungal variants showed that the designed compounds had significant antifungal activity against the tested variants. The combination of compounds (**6a-d**) and (**9a-d**) exhibited that the synthesized compounds had synergistic effects or additive effects. These results demonstrated that the synthesized compounds were putative chitin synthase inhibitors exhibiting broad spectrum antifungal activities. The present results indicate that novel spiro pyrimidine derivatives can be used as an active pharmaceutical ingredient for novel drug candidate for treatment of dermatophytosis and other fungal agents.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: pyrimido-pyrimidine derivatives; dermatophytosis; fungal agents; combination

Funding. The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Received: 12.03.2024; revised: 06.06.2024; accepted: 10.06.2024.