

©Коллектив авторов

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НОВЫХ СПИРО-1,4-ДИГИДРОПИРИДИНОВ ПРОТИВ ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ГРИБОВ

Г. Шарма¹, Р. Шарма^{2*}, Р. Саксена³, Э. Раджни², В. Пракаш Мамория²

¹Department of Chemistry, MPS International, Jaipur, Rajasthan, India

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

³Department of Biotechnology, Invertis University, Bareilly, Uttar Pradesh, India

Микозы человека представляют серьезную угрозу для здоровья населения во всем мире. Для лечения этих заболеваний применяется ограниченное число противогрибковых препаратов. В данной работе исследовали противогрибковую активность ранее синтезированных спиро-1,4-дигидропиридинов (1,4-DHPs). Противогрибковую активность соединений спиро-1,4-DHPs проверяли в отношении *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* и *Candida albicans* с использованием метода дисковой диффузии и модифицированного микроразведения. Оценка противогрибковой активности против лекарственно-устойчивых вариантов грибов показала, что исследованные соединения обладают значительной противогрибковой активностью. Все шесть исследованных соединений спиро-1,4-DHPs проявляли более сильную противогрибковую активность в отношении *A. flavus*, *A. fumigatus* и *C. albicans* по сравнению с флуконазолом — стандартным противогрибковым препаратом, — по-видимому, за счёт ингибирования синтеза хитина в клеточной стенке. Три из шести соединений (**4c**, **4e** и **4b**) были наиболее эффективны в отношении *A. fumigatus*, *A. flavus*, *C. albicans* соответственно. Комбинация соединений показала, что синтезированные вещества обладают синергетическим, аддитивным действием по сравнению с применяемыми в настоящее время препаратами в качестве противогрибкового средства. Полученные результаты свидетельствуют о том, что синтезированные соединения являются потенциальными ингибиторами хитинсинтазы и обладают превосходной антимикотической активностью для лечения грибковых инфекций.

Ключевые слова: спиро-1,4-дигидропиридины; лекарственная устойчивость; грибы; комбинация; препараты; антимикотик

DOI: 10.18097/PBMC20236901055

ВВЕДЕНИЕ

Грибковая инфекция является ведущей причиной смертности среди людей с ослабленным иммунитетом, таких как пациенты, проходящие противораковую химиотерапию, лучевую терапию, получающие парентеральное питание или перенёвшие трансплантацию органов [1], а также ВИЧ-инфицированные пациенты [2]. Несмотря на возросшую заболеваемость грибковыми инфекциями, количество эффективных и менее токсичных противогрибковых антибиотиков, имеющихся в арсенале медиков, ограничено. К тому же более широкое применение противогрибковых средств приводит к появлению устойчивых к лекарственным препаратам штаммов грибов [3, 4]. Поэтому разработка новых и безопасных противогрибковых средств является актуальной. В отличие от клеток человека, грибы имеют структуру клеточной стенки, которая является идеальной мишенью для противогрибковых препаратов. Клеточная стенка грибов очень динамична и необходима для поддержания жизнеспособности клеток, морфогенеза и патогенеза. У большинства видов грибов важным компонентом клеточной стенки является β -1,3-глюкан, ковалентно связанный с хитином, образующим первичную каркасную структуру. В качестве ключевого компонента клеточной стенки грибов хитин составляет около 2% сухого веса грибов [5]. 1,4-дигидропиридины (1,4-DHPs) — класс

лекарственных средств, обладающих широким спектром биологических и фармакологических активностей. 1,4-DHPs представляют собой одну из наиболее важных групп фармакологических агентов, модулирующих кальциевые каналы, которые широко используются при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и обладают антигипертензивным, антиангинальным, сосудорасширяющим и кардиодепрессантным эффектами. 1,4-DHPs также свойственны антибактериальные, противораковые, противолейшманиозные, антикоагулянтные, противосудорожные, противотуберкулезные и антиоксидантные эффекты. Они оказывают противомаларийное, нейропротекторное, противовоспалительное, противозачаточное действие, ингибируют протеазы ВИЧ-1, CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator, трансмембранный регуляторный белок муковисцидоза) и др. На рынке доступно много лекарств, содержащих 1,4-дигидропиридиновое кольцо в качестве основного каркаса. Дигидропиридины представляют собой группу молекул на основе пиридина. Химически это семейство гидрированных N-гетероароматических соединений. Существуют различные производные с разными заместителями, расположенными в положениях 2, 6, 3, 5 и 1, 4, которые могут быть получены с помощью реакции типа циклической конденсации, синтеза пиридинов по Ганчу [6]. 1,4-DHPs применяются уже более четырёх десятилетий, и новые изыскания в этой области продолжаются [7].

По аналогии с 1,4-дигидроникотинамидом 1,4-DHPs, вероятно, могут быть использованы в качестве модельных соединений для изучения молекулярных механизмов. Постулируется, что они служат основой для разработки новых сердечно-сосудистых препаратов [8, 9]. Ряд используемых в настоящее время препаратов содержат 1,4-DHP кольцевидную структуру блокаторов кальциевых каналов [10-12]. Спиропроизводные оксиндола также становятся ключевыми структурами при создании лекарственных препаратов, поскольку было показано, что они проявляют различные биологические активности, включая противоопухолевое [13], антибактериальное [14], цитостатическое [15] действия, а также выступают в качестве ингибитора переносчика моноаминов [16], антагониста брадикинина [17] и ингибитора клеточного цикла [18]. Благодаря своим структурным особенностям, они взаимодействуют с широким спектром рецепторов, что и стимулировало значительный интерес к разработке эффективных методов получения спиро соединений. Структура DHP идентифицируется как новый скаффолд, которому свойственна плейотропия [19]. Некоторые производные DHP и композиции, содержащие DHP, проявляют антиоксидантное действие [20-22], способствуя их заметным плейотропным эффектам. Это усиливает антивозрастную активность, нейропротекторный эффект, противораковое действие, антибактериальное действие [23] и др. В ходе некоторых химических, биологических и электрохимических процессов эти соединения склонны к образованию свободных радикалов. Примечательно, что доноры водорода, такие как фенол, амины и т.д., как правило, обладают противораковой активностью, в основном за счёт ограничения процессов окисления и элиминации свободных радикалов. 1,4-DHPs, являющиеся важным донором водорода, имеют аналогичные свойства. Это позволяет использовать их при терапии раковых заболеваний. Кроме того, при их совместном применении с антиоксидантами могут наблюдаться синергетические эффекты [24]. В последние десятилетия проведены клинические испытания различных модельных соединений DHP, проявляющих широкий диапазон фармакологической активности. Сообщалось также о противомикробном, антиоксидантном, гипотензивном, антикоагулянтном, противотуберкулёзном, противосудорожном, противоязвенном, нейропротекторном и противомаларийном действиях [25].

Повышенный риск грибковых заболеваний у пациентов с ослабленным иммунитетом, новые грибковые возбудители, ограниченный спектр противогрибковых препаратов и развитие резистентности к ним требуют разработки новых и эффективных противогрибковых средств. Некоторые противогрибковые средства воздействуют на структуру клеточной стенки. Никкомицин и полиоксин являются специфическими ингибиторами хитинсинтазы, а никкомицин Z проходит клинические испытания в качестве препарата для лечения грибковых инфекций, таких как кокцидиоидомикоз [26]. Эхинокандины ингибируют синтез β -1,3-глюкана

в клеточной стенке, и эта группа соединений широко используется для лечения грибковых инфекций, вызванных дрожжами, такими как виды *Candida*, или плесенью, такими как *Aspergillus* [27]. Недавнее исследование показало синергический эффект комбинации эхинокандинов и никкомицина Z против инфекций, вызванных *C. albicans*, с использованием мышинной модели [28]. Следовательно, ингибиторы хитина можно использовать в сочетании с эхинокандинами для лечения грибковых инфекций.

В данной работе была исследована противогрибковая активность соединений спиро-1,4-DHPs в отношении *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* и *Candida albicans*.

МЕТОДИКА

Весь химический синтез соединений производных спиро-1,4-DHPs (**4a-4f**) описан ранее в работе Sharma и соавт. [29].

Определение противогрибковой активности

Противогрибковую активность синтезированных соединений в отношении *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans* тестировали *in vitro* при помощи диско-диффузионного метода [30]. Для определения противогрибковой активности использовали диски из фильтровальной бумаги Whatman No.1 ("Sigma-Aldrich", США) стандартного размера диаметром 6,0 мм, стерилизованные сухим жаром при 140°C в сушильном шкафу в течение 1 ч. Для диско-диффузионного теста использовали среду SDA (Sabouraud Dextrose Agar), которую после стерилизации разливали в стерилизованные чашки Петри и давали затвердеть. Суспензию, которая при визуальном осмотре была мутной, готовили путём суспендирования в 0,9% растворе NaCl. Гомогенную суспензию использовали для инокуляции, а тестовый инокулят поддерживали на уровне $1-5 \times 10^6$ КОЕ/мл (колониеобразующих единиц). Споровую суспензию каждого из грибов готовили из 8-10-дневных культур отдельно. Суспензию встряхивали и 0,1 мл аликвоты распределяли по соответствующим чашкам с агаровой средой. Стерилизованные диски фильтровальной бумаги пропитывали чистыми соединениями (концентрация 50 мкг/мл) и их смесью. Аналогичным образом были приготовлены растворы антибиотика сравнения флуконазола с концентрацией 50 мкг/диск для определения противогрибковой активности. Затем эти диски помещали на чашки Петри с соответствующими микроорганизмами и инкубировали при 30°C в течение 48-72 ч. В каждом случае использовали три повторности, по результатам которых рассчитывали средние значения. Диаметр зон ингибирования измеряли в мм, индекс активности рассчитывали на основе размера зоны ингибирования. Активность соединений рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Индекс активности (ИА)} = \frac{\text{зона ингибирования соединения}}{\text{зона ингибирования стандартных препаратов}}.$$

Определение минимальной ингибирующей концентрации модифицированным методом микроразведений

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) смеси соединений в отношении *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans* определяли методом микроразведений с небольшой модификацией [31]. Полутвёрдую среду со стерилизованным агаром с сердечно-мозговым экстрактом заливали в стерилизованные культуральные пробирки и давали затвердеть. Инокулят для испытаний готовили в 0,9% растворе NaCl, суспензию тщательно встряхивали. Различные концентрации смеси соединений добавляли в среды, содержащие культуральные пробирки, после чего стандартную платиновую петлю (~0,005 мл, Flexiloor, "Himedia", США) суспензии инокулята вводили глубоко в каждую пробирку со средой, содержащей различные концентрации соединений, а также контроль без этих веществ. 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 были проведены в трёхкратной повторности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из-за возникающих грибковых инфекций и повышенного риска грибковых заболеваний у пациентов с ослабленным иммунитетом возникает потребность в новых противогрибковых препаратах, во-первых, из-за их ограниченного спектра, а во-вторых, из-за развития лекарственной устойчивости к доступным противогрибковым препаратам. Благодаря накапливающейся информации по метаболизму грибов, предпринимаются шаги по созданию противогрибковых препаратов, действующих в качестве ингибиторов специфических ферментов, участвующих в различных биохимических путях. Хитинсинтаза является одной из таких многообещающих мишеней, поскольку она отсутствует у растений и млекопитающих. В контексте разработки противогрибковых средств различные ингибиторы хитинсинтазы были синтезированы методом "зелёной химии".

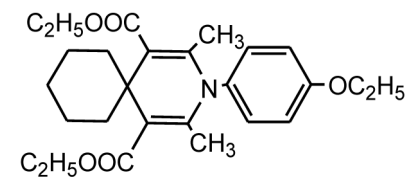
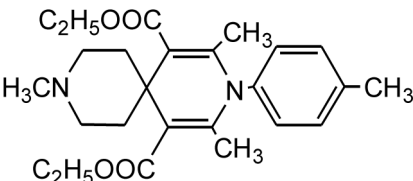
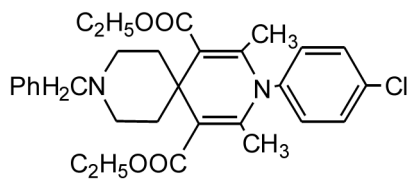
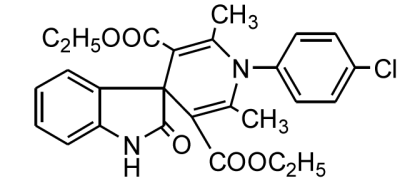
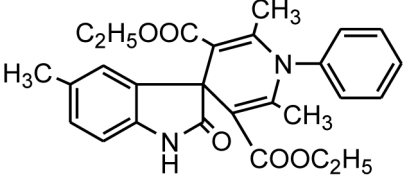
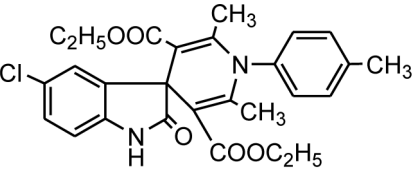
Исследователи уже интересовались зелёным химическим синтезом биодинамических спиро- и аннелированных производных [32, 33]. Была предпринята попытка синтезировать различные спиро-1,4-DHPs. Ряд новых N-замещённых производных спиро-1,4-DHP (4a-4f) (табл. 1) был синтезирован в одном сосуде под микроволновым облучением в условиях отсутствия растворителя и протестирован на антидерматофитную активность [29]. В ходе поиска мощных ингибиторов хитинсинтазы мы исследовали в данной работе активность этих шести производных спиро-1,4-DHPs (4a-4f) против распространённых грибковых патогенов.

Скрининг соединений (производных спиро-1,4-DHPs, 4a-4f) на активность против

A. fumigatus, *A. flavus* и *C. albicans*, которые являются доминирующими этиологическими агентами у пациентов с ослабленным иммунитетом, проводили с использованием метода дисковой диффузии и определения МИК. Полученные результаты показали значительную противогрибковую активность соединений по отдельности и в комбинациях (табл. 1, рисунок). Соединение 4c продемонстрировало превосходную противогрибковую активность против *A. fumigatus*, соединения 4a, 4e, 4b, 4f и 4d были не столь активны. Ингибирующее действие соединения 4e в отношении *A. flavus*, было выше, чем у соединений 4a, 4f, 4c, 4b и 4d. Соединение 4b продемонстрировало значительную противогрибковую активность против *C. albicans*, которая была выше, чем у соединений 4a, 4d, 4e, 4f и 4c. Смесь соединений показала синергетическую противогрибковую активность по сравнению с отдельными соединениями и антибиотиком сравнения. Смесь соединений готовили путём добавления 8,3 мкг/мл каждого из шести соединений (4a-4f), так что общая концентрация смеси соединений составляла 50 мкг/мл. Синергическую активность производных спиро-1,4-DHPs определяли путём приготовления смеси всех шести соединений в равных пропорциях, чтобы можно было изучить аддитивное действие всех шести соединений в одной смеси против грибковых патогенов. Диаметр зоны ингибирования, полученной из смеси соединений (4a-4f) при общей концентрации 50 мкг/мл, составлял 87 мм, 86 мм и 84 мм в отношении *C. albicans*, *A. fumigatus* и *A. flavus* (табл. 2). В дальнейшем исследовании МИК также определяли модифицированным методом Provine и Hadley [31]. Результаты показали, что смесь соединений (4a-4f) проявляла ингибирующее действие при концентрациях от 0,08 мкл/мл до 0,9 мкл/мл в отношении *A. fumigatus* (табл. 3). Уже при концентрации 0,08 мкл/мл через 6 дней инкубации при 28°C рост *A. fumigatus* не наблюдался. Полученные результаты показывают, что эти соединения могут быть использованы в качестве активных противогрибковых агентов в фармацевтической промышленности для приготовления лекарств. МИК смеси соединений против *A. flavus* и *C. albicans* составила 0,1 мкл/мл и 0,09 мкл/мл соответственно. Отсутствие роста наблюдалось через 6 дней, 12 дней, 18 дней и 24 дня вплоть до 30 дня наблюдений. Контроль, в который смесь соединений не добавляли, показал 100% рост *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans*. Результаты настоящего исследования показали, что смеси исследуемых соединений оказались более эффективными в ингибировании роста *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans* по сравнению со стандартными используемыми лекарствами. Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что смесь соединений и отдельные соединения можно использовать в качестве противогрибкового средства против *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans* в качестве активного ингредиента фармацевтического препарата для борьбы с грибковыми инфекциями у пациентов с ослабленным иммунитетом.

ПРОИЗВОДНЫЕ ДИГИДРОПИРИДИНОВ С АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Таблица 1. Противогрибковая активность исследованных спиро-1, 4-DHPs (**4a-4f**) в отношении *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans*

| Соединение | Структура | IZ исследованных спиро-1, 4-DHPs (50 мкг/мл) в отношении | | |
|------------|---|--|------------------|--------------------|
| | | <i>A. fumigatus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>C. albicans</i> |
| 4a |  | 78 | 65 | 72 |
| 4b |  | 75 | 73 | 75 |
| 4c |  | 80 | 76 | 66 |
| 4d |  | 72 | 79 | 70 |
| 4e |  | 76 | 80 | 68 |
| 4f |  | 75 | 77 | 65 |

Примечание: IZ – диаметр зоны ингибирования (inhibition zone) (в мм), IZ флуконазола составлял 42 мм (*A. fumigatus*), 41 мм (*A. flavus*) и 38 мм (*C. albicans*) соответственно.

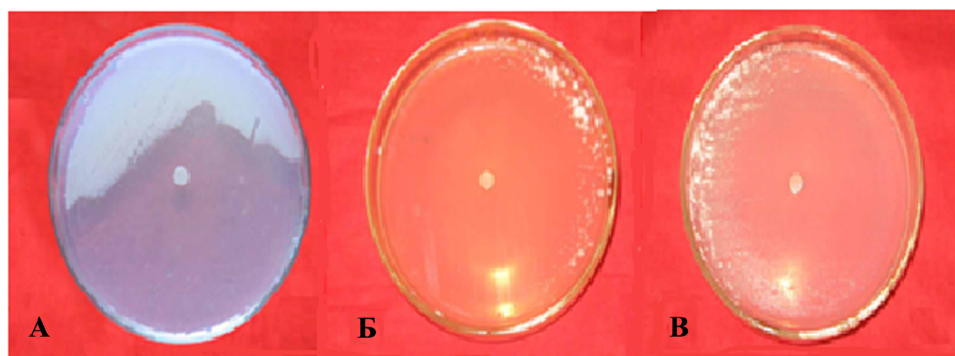


Рисунок. Противогрибковая активность смеси спиро-1,4DHPs в отношении: (А) *C. albicans*, (Б) *A. fumigatus*, (В) *A. flavus*.

Таблица 2. Противогрибковая активность смеси всех спиро-1,4-DHPs (**4a-4f**) в отношении *A. fumigatus*, *A. flavus* и *C. albicans*

| Соединения | Тестируемый штамм | IZ смеси всех спиро-1,4-DHPs (50 мкг/мл) | IZ Флуконазола (50 мкг/мл) | AI |
|--|---------------------|--|----------------------------|-----|
| Смесь всех спиро-1,4-DHPs (4a-4f) | <i>A. flavus</i> | 84 мм | 41 мм | 2,0 |
| | <i>A. fumigatus</i> | 86 мм | 42 мм | 2,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 87 мм | 38 мм | 2,2 |

Примечание: IZ – диаметр зоны ингибирования (inhibition zone) (в мм), включающий диаметр диска (6 мм), AI – индекс активности (Activity index).

Таблица 3. МИК смеси спиро-1,4-DHPs производных (**4a-4f**) в отношении *A. flavus*, *A. fumigatus* и *C. albicans*

| Различные концентрации использованной смеси спиро-1,4 DHPs (мкл/мл) | Визуальная проверка роста <i>A. flavus</i> | Визуальная проверка роста <i>A. fumigatus</i> | Визуальная проверка роста <i>C. albicans</i> |
|---|--|---|--|
| 0,07 | +4 | +1 | +2 |
| 0,08 | +3 | 0 | +1 |
| 0,09 | +2 | 0 | 0 |
| 0,1 | +1 | 0 | 0 |
| 0,2 | 0 | 0 | 0 |
| 0,3 | 0 | 0 | 0 |
| 0,4 | 0 | 0 | 0 |
| 0,5 | 0 | 0 | 0 |
| 0,6 | 0 | 0 | 0 |
| 0,7 | 0 | 0 | 0 |
| 0,8 | 0 | 0 | 0 |
| 0,9 | 0 | 0 | 0 |
| Контроль без добавления смеси спиро-1,4 DHPs | 100% рост | 100% рост | 100% рост |

Примечание. Рост оценивали следующим образом: +4 – рост, сопоставимый с контролем, в который не добавляли смесь спиро-1,4 DHPs; +3 – рост, составляющий примерно 75% от контроля; +2 – рост, составляющий примерно 50% от контроля; +1 – рост, составляющий 25% и менее от контроля; 0 – отсутствие видимого роста.

Другие исследователи также сообщили, что DHP проявляют эффективное антикоагулянтное действие, с высокой эффективностью ограничивая потоки кальция через кальциевые каналы. Антикоагулянтная активность DHP была изучена при их терапевтическом использовании в качестве гипотензивных, противовоспалительных и антиишемических средств [34]. Sirisha и соавт. синтезировали соединение 4-замещённый-2,6-диметил-3,5-бис-N-(гетероарил)-карбамоил-1,4-дигидропиридин, обладающее противораковой, противотуберкулёзной и антибактериальной активностью *in vitro*, которое показало высокую эффективность в борьбе с раком [35]. Temrone и соавт. исследовали противомаларийное действие препарата нимодипина и обнаружили структурные повреждения паразитов при лечении этим препаратом. Было обнаружено, что это лекарство особенно избирательно против промастигот и внутриклеточных амастигот *Leishmania chagasi* со значениями IC₅₀ (концентрация, вызывающая 50% ингибирование) 81,2 мкМ и 21,5 мкМ соответственно [36].

Блокаторы кальциевых каналов *in vitro* доказали свою эффективность в борьбе с лейшманиозом [36]. Эхинокандины считаются терапией первой линии при инвазивных кандидозных инфекциях [28]. Однако есть данные о появлении устойчивости *C. albicans* к эхинокандинам, обусловленной резистентными изолятами, содержащими мутацию горячей точки fks1 [37]. В последние годы были

изучены синергетические эффекты никкомицина и эхинокандина, что позволяет предположить, что комбинация двух противогрибковых средств может быть использована при лечении инфекций, вызванных резистентными к эхинокандину штаммами [38]. Эти исследования подчеркивают потенциал комбинированной терапии, направленной на синтез двух основных структурных полисахаридов, обнаруженных в большинстве грибов, для достижения фунгицидных схем, которые предотвратят появление механизмов резистентности. Кроме того, ингибиторы синтазы клеточной стенки, применяемые в сочетании с антагонистами сигнальных путей, которые регулируют экспрессию и активность синтазы, могут иметь потенциал в качестве мощной противогрибковой комбинированной терапии [39-41].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Спиро-1,4-дигидропиридины представляют собой род фармакологически активных молекул, являющихся многофункциональными сильнодействующими соединениями-прототипами, которые могут быть модифицированы в различных положениях. На основании биологических экспериментов мы доказали, что эти соединения обладают превосходной противогрибковой активностью *in vitro*, и их можно использовать в качестве мощного противогрибкового препарата для пациентов с ослабленным иммунитетом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного департамента науки и технологий, Университет Раджастана, Джайпур.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

- Köhler J.R., Hube B., Puccia R., Casadevall A., Perfect J.R. (2017) Fungi that infect humans. *Microbiology Spectrum*, **5**(3), 5-3. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0014-2016
- Limper A.H., Adenis A., Le T., Harrison T.S. (2017) Fungal infections in HIV/AIDS. *Lancet Infectious Diseases*, **17**(11), e334-e343. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30303-1
- Perlin D.S., Rautemaa-Richardson R., Alastruey-Izquierdo A. (2017) The global problem of antifungal resistance: Prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infectious Diseases*, **17**(12), e383-e392. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30316-X
- Sanglard D. (2016) Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Front. Med.*, **3**, 11. DOI: 10.3389/fmed.2016.00011
- Holan Z., Pokorný V., Beran K., Gemperle A., Tuzar Z., Baldrián J. (1981) The glucan-chitin complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, **130**(4), 312-318. DOI: 10.1007/BF00425946
- Kreutzer D., Ritter C.A., Hilgeroth A. (2020) Novel nonsymmetrical 1,4-dihydropyridines as inhibitors of nonsymmetrical MRP-efflux pumps for anticancer therapy. *Pharmaceuticals*, **13**(7), 146. DOI: 10.3390/ph13070146
- Cataldi M., Bruno F. (2012) 1,4-Dihydropyridines: The multiple personalities of a blockbuster drug family. *Transl. Med. UniSa*, **4**, 12-26.
- Pajuste K., Rucins M., Domracheva I., Sobolev A., Pikun N., Plotniece M., Duburs G., Pajuste K., Plotniece A. (2020) Data for the cytotoxicity, self-assembling properties and synthesis of 4-pyridinium-1,4-dihydropyridines. *Data Brief*, **33**, 1-16. DOI: 10.1016/j.dib.2020.106545
- Rucins M., Plotniece A., Bernotiene E., Tsai W.B., Sobolev A. (2020) Recent approaches to chiral 1,4-dihydropyridines and their fused analogues. *Catalysts*, **10**(9), 1019. DOI: 10.3390/catal10091019
- van der Vossen A.C., Cransberg K., de Winter B., Schreuder M.F., van Rooij-Kouwenhoven R.W., Vulto A.G., Hanff L.M. (2020) Use of amlodipine oral solution for the treatment of hypertension in children. *Int. J. Clin. Pharmacy*, **42**(3), 848-852. DOI: 10.1007/s11096-020-01000-9
- Palatnick W., Jelic T. (2020) Calcium channel blocker and beta blocker overdose, and digoxin toxicity management. *Emergency Medicine Practice*, **22**(9), 1-42.
- Velena A., Zarkovic N., Gall Troselj K., Bisenieks E., Krauze A., Poikans J., Duburs G. (2016) 1,4-dihydropyridine derivatives: Dihydronicotinamide analogues – model compounds targeting oxidative stress. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2016**, 1892412. DOI: 10.1155/2016/1892412
- Cui C.B., Kakeya H., Okada G., Onose R., Osada H. (1996) Novel mammalian cell cycle inhibitors, tryprostatins A, B and other diketopiperazines produced by *Aspergillus fumigatus*. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological properties. *J. Antibiotics*, **49**(6), 527-533.
- Tsuda M., Mugishima T., Komatsu K., Sone T., Tanaka M., Mikami Y., Shiro M., Hirai M., Ohizumii Y., Kobayashi J.I. (2003) Speradine A, a new pentacyclic oxindole alkaloid from a marine-derived fungus *Aspergillus tamarii*. *Tetrahedron*, **59**(18), 3227-3230. DOI: 10.1016/S0040-4020(03)00413-7
- Zhang X., Smith C.D. (1996) Microtubule effects of welwistatin, a cyanobacterial indolinone that circumvents multiple drug resistance. *Mol. Pharmacol.*, **49**(2), 288-294.
- Efange S.M., Kamath A.P., Khare A.B., Kung M.P., Mach R.H., Parsons S.M. (1997) N-hydroxyalkyl derivatives of 3 β -phenyltropane and 1-methylspiro [1H indoline-3,4'-piperidine]: Vesamicol analogues with affinity for monoamine transporters. *J. Med. Chem.*, **40**(24), 3905-3914. DOI: 10.1021/jm970326r
- Goehring R.R. (1995) Synthesis of a spirocyclic oxendole analogue as a putative replacement for PrO2-Pro3-Gly4-Phe5 in bradykinin antagonists. *Organic Preparations Procedures International*, **27**(6), 691-694. DOI: 10.1080/00304949509458534
- Edmondson S., Danishefsky S.J., Sepp-Lorenzino L., Rosen N. (1999) Total synthesis of spirotryprostatin A, leading to the discovery of some biologically promising analogues. *J. Am. Chem. Soc.*, **121**(10), 2147-2155. DOI: 10.1021/ja983788i
- Zhou L.M., Qu R.Y., Yang G.F. (2020) An overview of spirooxindole as a promising scaffold for novel drug discovery. *Exp. Opin. Drug Discov.*, **15**(5), 603-625. DOI: 10.1080/17460441.2020.1733526
- Vijesh A.M., Isloor A.M., Peethambar S.K., Shivananda K.N., Arulmoli T., Isloor N.A. (2011) Hantzsch reaction: Synthesis and characterization of some new 1,4-dihydropyridine derivatives as potent antimicrobial and antioxidant agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(11), 5591-5597. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.09.026
- Mehta P., Verma P. (2013) Antimicrobial activity of some derivatives of 1,4-dihydropyridines. *J. Chem.*, **2013**, 1-4. DOI: 10.1155/2013/865128
- Olejníková P., Švorc L., Olšovská D., Panáková A., Vihonská Z., Kovárová K., Marchalín Š. (2014) Antimicrobial activity of novel C2-substituted 1,4-dihydropyridine analogues. *Scientia Pharmaceutica*, **82**(2), 221-232. DOI: 10.3797/scipharm.1311-04.
- Sepehri S., Sanchez H.P., Fassihi A. (2015) Hantzsch-type dihydropyridines and biginelli-type tetra-hydropyrimidines: A review of their chemotherapeutic activities. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **18**(1), 1-52. DOI: 10.18433/J3Q01V
- Tirzít G.D., Dubur G.Y. (1972) 1,4-dihydropyridines as inhibitors of free-radical reactions. *Chem. Heterocycl. Comp.*, **8**(1), 126-127. DOI: 10.1007/BF00478512
- Khedkar S., Auti P.B. (2014) 1,4-Dihydropyridines: A class of pharmacologically important molecules. *Mini Rev. Med. Chem.*, **14**(3), 282-290.
- Nix D.E., Swezey R.R., Hector R., Galgiani J.N. (2009) Pharmacokinetics of nikkomycin Z after single rising oral doses. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**(6), 2517-2521. DOI: 10.1128/AAC.01609-08
- Sucher A.J., Chahine E.B., Balcer H.E. (2009) Echinocandins: The newest class of antifungals. *Ann. Pharmacother.*, **43**(10), 1647-1657. DOI: 10.1345/aph.1M237.

28. Cheung Y.Y., Hui M. (2017) Effects of echinocandins in combination with nikkomycin Z against invasive *Candida albicans* bloodstream isolates and the fks mutants. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **61**(11), e00619-17. DOI: 10.1128/AAC.00619-17
29. Sharma G., Sharma R., Sharma M., Dandia A., Bansal P. (2013) Synthesis and synergistic, additive inhibitory effects of novel spiro derivatives against ringworm infections. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **39**(3), 318-328. DOI: 10.1134/S106816201303014X
30. Gould J.C., Bowie J.H. (1952) The determination of bacterial sensitivity to antibiotics. *Edinb. Med. J.*, **59**(4), 178-199.
31. 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
32. Dandia A., Arya K. (2007) Synthesis and cytotoxic activity of trisubstituted-1,3,5-triazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**(12), 3298-3304.
33. 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.
34. Kumar R.S., Idhayadhulla A., Nasser A.J.A., Selvin J. (2011) Synthesis and anticoagulant activity of a new series of 1,4-dihydropyridine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(2), 804-810. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.12.006
35. Sirisha K., Achaiah G., Reddy V.M. (2010) Facile synthesis and antibacterial, antitubercular, and anticancer activities of novel 1,4-dihydropyridines. *Archiv Der Pharmazie*, **343**(6), 342-352. DOI: 10.1002/ardp.200900243
36. Tempone A.G., Taniwaki N.N., Reimão J.Q. (2009) Antileishmanial activity and ultrastructural alterations of *Leishmania chagasi* (L.) treated with the calcium channel blocker nimodipine. *Parasitol. Res.*, **105**(2), 499-505. DOI: 10.1007/s00436-009-1427-8
37. Baixench M.T., Aoun N., Desnos-Ollivier M., Garcia-Hermoso D., Bretagne S., Ramires S., Dannaoui E. (2007) Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: Case report and review. *J. Antimicrob. Chemother.*, **59**(6), 1076-1083. DOI: 10.1093/jac/dkm095
38. Niimi K., Monk B.C., Hirai A., Hatakenaka K., Umeyama T., Lamping E., Niimi M. (2010) Clinically significant micafungin resistance in *Candida albicans* involves modification of a glucan synthase catalytic subunit GSC1 (FKS1) allele followed by loss of heterozygosity. *J. Antimicrob. Chemother.*, **65**(5), 842-852. DOI: 10.1093/jac/dkq073
39. Munro C.A., Selvaggini S., de Bruijn I., Walker L., Lenardon M.D., Gerssen B., Gow N.A. (2007) The PKC, HOG and Ca²⁺ signaling pathways co-ordinately regulate chitin synthesis in *Candida albicans*. *Mol. Microbiol.*, **63**(5), 1399-1413.
40. Fortwendel J.R., Juvvadi P.R., Pinchai N., Perfect B.Z., Alspaugh J.A., Perfect J.R., Steinbach W.J. (2009) Differential effects of inhibiting chitin and 1,3-β-D-glucan synthesis in ras and calcineurin mutants of *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**(2), 476-482. DOI: 10.1128/AAC.01154-08
41. Steinbach W.J., Reedy J.L., Cramer R.A., Perfect J.R., Heitman J. (2007) Harnessing calcineurin as a novel anti-infective agent against invasive fungal infections. *Nature Reviews Microbiology*, **5**(6), 418-430. DOI: 10.1038/nrmicro1680

Поступила в редакцию: 18. 10. 2022.
После доработки: 25. 11. 2022.
Принята к печати: 07. 12. 2022.

PHARMACOLOGICAL IMPORTANCE OF NOVEL SPIRO DERIVATIVES AGAINST HUMAN PATHOGENIC FUNGI

G. Sharma¹, R. Sharma^{2*}, R. Saxena³, E. Rajni², V. Prakash Mamoria²

¹Department of Chemistry, MPS International, Jaipur, Rajasthan, India

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

³Department of Biotechnology, Invertis University, Bareilly, Uttar Pradesh, India

Human mycoses have become a threat to health world-wide. Unfortunately there are only a limited number of antimycotic drugs in use. In the present study, antifungal activity of earlier synthesized spiro-1,4-dihydropyridines (1,4-DHPs) was investigated. The antifungal activity of spiro-1,4-DHPs compounds were screened against *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, and *Candida albicans* by using Disc Diffusion and Modified Microdilution method. Among six spiro-1,4-DHPs compounds tested all of them showed stronger antifungal activity possibly through inhibiting the synthesis of chitin in cell wall against *A. flavus*, *A. fumigatus*, and *C. albicans* as compared to fluconazole, a standard antifungal drug. The combination of compounds showed that the synthesized compounds had synergistic, additive effects as compared to currently used drugs as an antifungal agent. These results indicated that these designed compounds were potential chitin synthase inhibitors and had excellent antimycotic activity for the treatment of fungal infections.

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

Key words: spiro-1,4-DHPs; drug resistant; fungi; combination; drugs; antimycotic

Funding. This work was funded by State Department Science & Technology, University of Rajasthan, Jaipur.

Received: 18.10.2022; revised: 25.11.2022; accepted: 07.12.2022.