

УДК 615.011.5



ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ХИНАЗОЛИН-4(3Н)-ОНОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

М.А. Самоотруева¹, А.А. Озеров^{2,4}, А.А. Старикова¹, Н.М. Габитова^{1,3},
Д.В. Мережкина², А.А. Цибизова¹, И.Н. Тюренков^{2,4}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Министерства здравоохранения Российской Федерации 414057, Россия, г. Астрахань, пр. Николая Островского, 3

⁴ Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр» 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

E-mail: alhimik.83@mail.ru

Получено 08.01.2021

Принята к печати 29.08.2021

Производные хиназолин-4(3Н)-она, проявляющие широкий спектр фармакологической активности, представляют перспективный класс веществ, используемых для получения антибактериальных средств, что особенно актуально в условиях возникновения резистентности патогенных микроорганизмов к используемым в медицине лекарственным препаратам. Доказано, что соединения, имеющие в молекуле нафтильный радикал, а также амидную группу, связанную с бензольным кольцом, в качестве заместителей хиназолинона, характеризуются выраженной противомикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Цель. Первичный микробиологический скрининг антимикробной активности *in vitro* новых производных хиназолин-4(3Н)-она по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, а также оценка взаимосвязи между проявляемым фармакологическим действием и структурным преобразованием молекулы вещества, липофильностью и возможностью формирования устойчивости к ним.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования были выполнены с использованием общеизвестных но-зокомиальных возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* методом серийных разведений.

Результаты. Соединение, содержащее в структуре нафтильный радикал, вносящий вклад в увеличение гидрофобности вещества и его растворимости в мембране бактериальной клетки, обладает бактериостатическим действием как в отношении *Staphylococcus aureus*, так и к *Streptococcus pneumoniae*. Сходный фармакологический эффект проявляет производное с амидной группой в качестве заместителя хиназолинонового ядра, связанной с фенильным радикалом, которая, вероятно, способствует увеличению степени связывания с активными сайтами ферментов, принимающих участие в процессах репликации ДНК и синтеза белков. Очевидно, повышенная липофильность, способствующая лучшему связыванию с белком оттока, не может служить объективной характеристикой возможности возникновения резистентности патогенов к данному веществу.

Заключение. Среди синтезированных соединений были выявлены вещества-лидеры, проявляющее антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*. Оценка химического строения позволила обосновать их фармакологическое действие и сделать выводы о возможности развития устойчивости к нему у микробных клеток.

Для цитирования: М.А. Самоотруева, А.А. Озеров, А.А. Старикова, Н.М. Габитова, Д.В. Мережкина, А.А. Цибизова, И.Н. Тюренков. Изучение антимикробной активности новых хиназолин-4(3Н)-онов по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*. *Фармация и фармакология*. 2021;9(4):318-329. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-4-318-329

© М.А. Самоотруева, А.А. Озеров, А.А. Старикова, Н.М. Габитова, Д.В. Мережкина, А.А. Цибизова, И.Н. Тюренков, 2021

For citation: M.A. Samotrueva, A.A. Ozerov, A.A. Starikova, N.M. Gabitova, D.V. Merezhkina, A.A. Tsibizova, I.N. Tyurenkov. Antimicrobial activity study of new quinazolin-4(3h)-ones against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(4):318-329. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-4-318-329

Ключевые слова: производные хиназолинона; антимикробная активность; соединение-лидер; электронодонорные центры; активный сайт фермента; минимальная подавляющая концентрация; минимальная ингибирующая концентрация; бактериостатическое действие; бактерицидная активность; резистентность; АТФ-зависимый эффлюксный насос; плазмиды; транспозоны; большой мобильный элемент

Список сокращений: PBP – пенициллин-связывающий белок; MRSA – метициллин – резистентный *Staphylococcus aureus*; PBP2a – пенициллин-связывающий белок 2a; АТФ – аденозинтрифосфат, МПК – минимальная подавляющая концентрация; ДМСО – диметилсульфоксид; ДМФА – диметилформамид; МПБ – мясопептонный бульон; МПА – мясопептонный агар; АК – атипичные колонии; ТК – типичные колонии; ЯМР – ядерный магнитный резонанс; ТСХ – тонкослойная хроматография; НК – нуклеиновая кислота; FnBPs – фибронектин-связывающие белки

ANTIMICROBIAL ACTIVITY STUDY OF NEW QUINAZOLIN-4(3H)-ONES AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

M.A. Samotrueva¹, A.A. Ozerov^{2,4}, A.A. Starikova¹, N.M. Gabitova^{1,3},
D.V. Merezhkina², A.A. Tsibizova¹, I.N. Tyurenkov^{2,4}

¹ Astrakhan State Medical University
121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russia, 414000

² Volgograd State Medical University
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

³ Scientific Research Institute for the Study of Leprosy
3, Nikolay Ostrovsky Ave., Astrakhan, Russia, 414057

⁴ Volgograd Medical Research Center
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: alhimik.83@mail.ru

Received 08 Jan 2021

Accepted 29 Aug 2021

Quinazolin-4(3H)-one derivatives exhibiting a wide spectrum of a pharmacological activity, represent a promising class of substances used to obtain antibacterial agents, which is especially important in the context of the emergence of pathogenic microorganisms' resistance to drugs used in medicine. It has been proved that compounds having a naphthyl radical in the molecule, as well as an amide group bound to the benzene ring as quinazolinone substituents, are characterized by a pronounced antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*.

The aim of the research is a primary microbiological screening of the *in vitro* antimicrobial activity of new quinazolin-4(3H)-one derivatives against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*, as well as the assessment of the relationship between the pharmacological effect and the structural transformation of the substance molecule, lipophilicity and the possibility of forming resistance to them.

Materials and methods. The experimental studies have been carried out using well-known nosocomial pathogens of infectious and inflammatory diseases *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* by a serial dilution method.

Results. A compound containing a naphthyl radical in its structure, which contributes to an increase in the hydrophobicity of the substance and its solubility in the membrane of a bacterial cell, has a bacteriostatic effect against both *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. A similar pharmacological effect is exhibited by a derivative with an amide group as a substituent of the quinazolinone nucleus linked to a phenyl radical, which probably contributes to an increase in the degree of binding to active sites of enzymes involved in the DNA replication, and protein synthesis. Obviously, the increased lipophilicity, which promotes better binding to the efflux protein, cannot serve as objective characteristics of the emergence possibility of the pathogen's resistance to this substance.

Conclusion. Among the synthesized compounds, the leading substances that exhibit an antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*, have been identified. The assessment of the chemical structure made it possible to substantiate their pharmacological action and draw conclusions about the possibility of developing resistance to it in microbial cells.

Keywords: quinazolinone derivatives; antimicrobial activity; lead-compound; electron-donating centers; enzyme active site; minimum inhibitory concentration; minimum suppressing concentration; bacteriostatic action; bactericidal activity; resistance; ATP-dependent efflux pump; plasmids; transposones; large mobile element

Abbreviations: PBP – penicillin-binding protein; MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; PBP2a – penicillin-binding protein; ATP – adenosine triphosphate, MIC – minimum inhibitory concentration; DMSO – dimethyl sulfoxide; DMF – dimethylformamide; MIB – meat infusion broth; MIA – meat infusion agar; AC – atypical colonies; TC – typical colonies; NMR – nuclear magnetic resonance; TLC – thin layer chromatography; NA – nucleic acid; FnBPs – fibronectin-binding proteins

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время мультирезистентность патогенных бактерий к используемым в медицинской практике противомикробным средствам составляет серьезную проблему здравоохранения [1-6]. Как правило, формирование резистентности происходит в процессе антибиотикотерапии, особенно в отделениях с более интенсивным использованием препаратов данной группы. Клиническими исследованиями установлено доминирование антибиотикоустойчивых штаммов в структуре нозокомиальных инфекций. Таким образом, возникает необходимость поиска новых антибактериальных веществ, характеризующихся высокой эффективностью, низкой токсичностью и нечувствительных к подавляющему их активности действию патогенов [7-9].

Доказано, что наибольшей резистентностью к антибиотикам, среди грамположительных микроорганизмов, обладают золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) и пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), являющиеся наиболее часто встречающимися и выражающими различные факторы вирулентности, возбудителями широкого спектра заболеваний у людей и животных [2, 10-14].

Возникновение устойчивости *Staphylococcus aureus* к β -лактамам антибиотикам, как и к другим антимикробным средствам, вследствие мутации и отбора, а также за счет приобретения нового генетического материала от других устойчивых организмов в ходе процессов трансформации, трансдукции и конъюгации, предполагающей изменение адгезивных свойств поверхности клетки, ограничивает их применение в медицине. Известно, что функционирование АТФ-зависимых эффлюксных насосов, которые являются белками-переносчиками, выталкивающими противомикробные агенты из клетки, способствует формированию резистентности *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* к фторхинолонам и лекарственным веществам группы тетрациклинов [15-18].

Хиназолин-4(3H)-он и его производные, которые относятся к конденсированным гетероциклическим азотсодержащим соединениям, известны как перспективный класс веществ, проявляющих антибактериальную, противогрибковую, противотуберкулезную, противовирусную активность [3]. Описана ее зависимость от природы и количества заместителей хиназолинового ядра. Установлено, что соединения данной группы оказывают фармакологический эффект в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* [3, 5, 19].

Доказано, что производные хинолина, составляющего основу структуры хиназолинонов, ингибируют синтез ДНК, способствуя расщеплению бактериальной ДНК-гиразы и топоизомеразы типа IV, вследствие

чего происходит гибель бактериальной клетки [20-24]. Описана способность соединений хиназолинового ряда, подобно β -лактамам антибиотикам, применяемым для предотвращения патогенных процессов в организме, вызванных *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, участвовать в необратимом ацилировании серина активного центра транспептидазы – пенициллин-связывающего белка (PBP), катализирующего образование пептидогликана (муреина), важнейшего компонента клеточной стенки бактерий. В результате образования стабильного лактам-ацил-ферментного комплекса происходит ингибирование транспептидазной и карбоксипептидазной активности фермента, приводящее к гибели патогена.

Установлена уникальная способность хиназолинонов, реализуемая в синергизме с пиперациллином и тазобактамом, образовывать связи с аллостерическим сайтом пенициллин-связывающего белка 2a (PBP2a) метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) и коагулазонегативных стафилококков, который не может ингибироваться β -лактамами [15, 25-27]. Доказана возможность совместного использования производных хиназолина с хлорамфениколом для увеличения его внутриклеточной концентрации в патогенных штаммах, использующих для сопротивления действию антимикробных лекарственных средств эффлюксные насосные системы [28, 29]. Вероятно, при их прохождении хиназолинон, имея меньшую полярность, в большей степени связывается с эффлюксным насосом, легче подвергается оттоку и облегчает проникновение антибиотика в микробную клетку с неизменной концентрацией [16-18, 20, 21, 30].

Уникальность структуры новых производных хиназолин-4(3H)-она, возможность использования совместно с другими противомикробными средствами с целью повышения их фармакологического эффекта и предотвращения возникновения устойчивости к ним, создает необходимость всестороннего изучения их активности.

ЦЕЛЬ. Изучение антимикробной активности *in vitro* производных хиназолин-4(3H)-она по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, а также оценка влияния структурных изменений на биологическую активность анализируемых веществ, липофильность их молекулы для прогнозирования возможности вызывать устойчивость по механизму активного оттока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектами исследования были новые производные хиназолин-4(3H)-она.

Химическое строение новых хиназолиноновых соединений может быть описано общей формулой, представленной на рисунке 1. Выход и физико-химические свойства новых веществ представлены в таблице 1.

Синтез новых производных хиназолин-4(3H)-она

Синтез новых производных был осуществлен по классической схеме алкилирования нуклеиновых оснований алкилгалогенидами в безводном диметилформамиде (ДМФА) в присутствии избытка калия карбоната. Спектры ЯМР¹H регистрировали на спектрометре «BrukerAvance 400» (400 МГц) в ДМСО-d₆, внутренний стандарт – тетраметилсилан. Интерпретацию спектров осуществляли с помощью лицензионной программы ACD/HNMR PredictorPro 3.0 фирмы Advanced Chemistry Development (Канада). Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе Mel-Temp 3.0 (Laboratory Devices Inc., США). Чистоту и индивидуальность соединений контролировали методом ТСХ.

N-[4-(Диметиламино)фенил]-2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]ацетамид (Лабораторный шифр: VMA-10-10).

Смесь 2,0 г (13,7 ммоль) хиназолин-4(3H)-она, 4,0 г (28,9 ммоль) безводного карбоната калия и 50 мл ДМФА перемешивают при температуре 100–105°C в течение 30 мин, добавляют 3,2 г (15,1 ммоль) 2-хлор-N-[4-(диметиламино)фенил]ацетамида и перемешивают при той же температуре в течение 1 ч. Охлаждают до комнатной температуры, фильтруют. Фильтрат выдерживают при температуре 0–5°C в течение суток. Выделившийся осадок отфильтровывают, промывают холодным ДМФА, водой и сушат на воздухе. Перекристаллизовывают из ДМФА и получают 2,95 г соединения VMA-10-10, выход 67%, Т. пл. 261–264°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2,78 с (6H, CH₃); 4,76 с (2H, CH₂); 6,63 д (8 Гц, 2H, фенил); 7,34 д (8 Гц, 2H, фенил); 7,51 т (7 Гц, 1H, H⁶); 7,66 д (8 Гц, 1H, H⁸); 7,78 т (7 Гц, 1H, H⁷); 8,09 д (8 Гц, 1H, H⁵); 8,29 с (1H, H²); 10,08 с (1H, NH).

Остальные соединения получают аналогично.

N-(4-Метоксифенил)-2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]ацетамид (Лабораторный шифр: VMA-10-18). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 3,72 с (3H, OCH₃); 4,85 с (2H, CH₂); 7,51 д (8 Гц, 2H, фенил); 6,90 д (8 Гц, 2H, фенил); 7,57 т (7 Гц, 1H, H⁶); 7,73 д (8 Гц, 1H, H⁸); 7,86 т (7 Гц, 1H, H⁷); 8,16 д (8 Гц, 1H, H⁵); 8,37 с (1H, H²); 10,31 с (1H, NH).

3-[2-Оксо-2-(4-фенилпиперазин-1-ил)этил]хиназолин-4(3H)-он (Лабораторный шифр: VMA-10-21). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 3,14–3,32 м (4H, пиперазин); 3,62–3,78 м (4H, пиперазин); 5,01 с (2H, CH₂); 6,96–7,01 м (2H, фенил); 7,23–7,29 м (3H, фенил); 7,55 т (7,5 Гц, 1H, H⁶); 7,71 д (8 Гц, 1H, H⁸); 7,86 т (7,5 Гц, 1H, H⁷); 8,17 д (8 Гц, 1H, H⁵); 8,26 с (1H, H²).

N-(2-Нафтил)-2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]ацетамид (Лабораторный шифр: VMA-13-05). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 5,81 с (2H, CH₂); 7,55–8,89 м (11H, H⁵, H⁶, H⁷, H⁸, нафтил); 8,42 с (1H, H²).

N-Фенил-2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]ацетамид (Лабораторный шифр: VMA-17-01). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 5,67 с (2H, CH₂); 7,54–7,77 м (5H, H⁶, H⁸, фе-

нил); 7,87 т (1H, 8 Гц, H⁷); 8,07–8,19 м (3H, H⁵, фенил); 8,39 с (1H, H²).

N-Фенил-2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропанамид (Лабораторный шифр: VMA-17-04). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 1,53 д (3H, 7 Гц, CH₃); 5,49 кв (1H, 7 Гц, CH); 7,56–7,80 м (5H, H⁶, H⁸, фенил); 7,85 т (1H, 8 Гц, H⁷); 8,06–8,19 м (3H, H⁵, фенил); 8,40 с (1H, H²).

N-[6-Бромхиназолин-3(4H)-ил]ацетилгуанидин (Лабораторный шифр: VMA-13-17). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 4,37 с (2H, CH₂); 7,47 уш. с (4H, NH); 7,60 д (1H, 8 Гц, H⁸); 7,90 д (1H, 8 Гц, H⁷); 8,17 с (1H, H²); 8,28 с (1H, H⁵).

Тестовые культуры

Первичный микробиологический скрининг антимикробной активности синтезированных соединений с целью выявления соединения-лидера проводили с использованием культур *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных пациентов, предоставленных клинико-диагностической лабораторией, Городская клиническая больница № 3 им. С.М. Кирова, г. Астрахань. Исследования одобрены Этическим комитетом ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (протокол № 6 от 27.11.2018 г.).

Методы исследования

Анализ веществ, с присвоенными им шифрами: VMA-10-10, VMA-10-18, VMA-10-21, VMA-13-05, VMA-17-01, VMA-17-04, VMA-13-17 проводили *in vitro* методом серийных разведений в соответствии с требованиями международного стандарта ISO 20776-1:2006¹ и Национального Стандарта ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010², идентичного международному.

Определение чувствительности микроорганизмов к производным хиназолинона проводили макрометодом (пробирочным) в среде мясоептонного бульона (МПБ), приготовленного в соответствии с ГОСТ 20729-75.

Приготовление рабочего раствора

Рабочий раствор готовили, растворяя навеску испытуемого вещества массой 4 мг в 0,5 мл диметилсульфоксидом (ДМСО), с последующим добавлением к нему 4,5 мл физиологического раствора. Выбор растворителя осуществлялся в соответствии с Методическими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактери-

¹ CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

² Национальный Стандарт ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни.

альным препаратам»³, а также с учетом растворимости исследуемых соединений, с предварительной оценкой воздействия ДМСО на используемые штаммы микроорганизмов [33]. Было установлено, что исследуемые соединения нерастворимы в воде, малорастворимы в 40 и 90% спирте этиловом и хорошо растворимы в ДМСО. Из полученного исходного раствора получали серию растворов с убывающей в геометрической прогрессии концентрацией: 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 и 0,25 мкг/мл. В качестве препарата сравнения использовали раствор цефтриаксона (ОАО «Синтез», г. Курган, Р N000750/01) с эквивалентной рабочему раствору концентрацией. Рабочие растворы вносили в пробирки по 1 мл.

Приготовление инокулята

Приготовление инокулята вели в соответствии с требованиями, предъявляемыми к методу прямого суспендирования морфологически схожих колоний, собранных при помощи стерильной бактериологической петли, в стерильном изотоническом растворе.

Методика

Суспензии *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, разведенные в жидкой питательной среде до 10^6 КОЕ/мл, вносили по 1 мл в пробирки с растворами исследуемых веществ.

Посевы в пробирках, закрытых стерильными ватно-марлевыми пробками, инкубировали в течение суток при температуре +37°C. По истечении срока инкубации проводили их визуальную оценку в проходящем свете. В контрольных пробирках, в которых выращивали нативную культуру без добавления референтного препарата или исследуемых соединений, отмечалось полное помутнение питательной среды, свидетельствующее об интенсивном росте культуры.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) исследуемого вещества предполагало установление наименьшей концентрации субстанции, при которой отсутствовал бактериальный рост, о чем свидетельствовало отсутствие помутнения раствора, которое фиксировали визуально.

Оценка роста микроорганизмов

Оценку жизнеспособности бактерий проводили по величине наименьшей концентрации исследуемого вещества, предотвращающей видимый рост бактерии, или иными словами минимальной ингибирующей концентрации. Выполняли посев 0,05 мл осадка, полученного центрифугированием содержимого каждой пробирки серии при 1500 об/мин, в течение 10 мин и отделении супернатанта, на мясопептонный агар (МПА), помещенный в чашки Петри. Питательную среду готовили растворением сухого

агара с последующим автоклавируанием. После инокуляции чашки Петри помещали в термостат. Спустя 24 ч после инкубации посева при температуре +37°C проводили анализ характерного роста [33].

Определение антимикробной активности испытуемых веществ предполагало шестикратное воспроизведение выбранной методики анализа [31–32]. За бактерицидный эффект, проявляемый веществом, принимали отсутствие роста культуры, тогда как угнетение роста культуры, ее прерывистый рост, образование единичных колоний свидетельствовало о бактериостатическом эффекте.

Статистическая обработка результатов исследования

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 («Microsoft», США), BIostat 2008 Professional 5.1.3.1. («Analyst-Soft» Inc., США). При обработке полученных результатов использовали параметрический метод с определением t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Различия в группах сравнения оценивали при постоянно выбранном уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Анализ антимикробной активности веществ с шифрами: VMA-10-10, VMA-10-18, VMA-10-21, VMA-13-05, VMA-17-01, VMA-17-04, VMA-13-17 показал, что ее проявление зависит от кратности разведения и вида патогенного микроорганизма.

Полученные экспериментальные данные обобщены в таблицах 2–5.

Анализ характера роста *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* в мясопептонном бульоне и на мясопептонном агаре с ДМСО показал умеренный рост микроорганизмов в концентрации 128 и 64 мкг/мл, а также интенсивный рост в диапазоне концентраций от 32 до 0,25 мкг/мл.

При визуальном контроле посевов *Staphylococcus aureus* на мясопептонном бульоне признаки роста в пробирках с цефтриаксоном просматривались при низких концентрациях препарата – 2–0,5 мкг/мл. Умеренный рост культуры отмечали в присутствии соединения VMA-10-10 в диапазоне концентраций 128–4 мкг/мл, а в случае VMA-17-01 – 16–8 мкг/мл. Интенсивное развитие клеток, сопровождающееся сильным помутнением питательной среды, образованием хлопьев и обильного осадка, наблюдали в пробирках при концентрациях соединения VMA-10-21 – 128–0,25 мкг/мл.

Значительный рост культуры также зафиксирован в пробирках с веществами VMA-17-04 с концентрацией 4–0,25 мкг/мл и VMA-13-17 при его содержании 2–0,25 мкг в 1 мл раствора.

В таблице 3 представлены результаты посевов

³ МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

Staphylococcus aureus на плотную питательную среду – мясопептонный агар.

Данные таблицы 3 свидетельствуют о том, что в присутствии контроля, цефтриаксона в концентрациях 128–64 мкг/мл, полностью подавляется рост культуры, тогда как при его содержании 32–4 мкг в 1 мл раствора отмечается рост единичных колоний патогена.

Фиксируется интенсивный рост на мясопептонном агаре *Staphylococcus aureus* при использовании соединений VMA-10-10 в концентрациях 128–0,25 мкг/мл и VMA-10-21 – при 64–0,25 мкг/мл. В диапазонах концентраций 128–16 мкг/мл вещества VMA-17-04, 128–64 мкг/мл – VMA 13-05, 128–32 мкг/мл – VMA-17-01 роста колоний не наблюдалось. Результаты указывают на способность данных соединений подавлять развитие *Staphylococcus aureus* и, как следствие, проявлять ярко выраженную противомикробную активность в отношении патогена.

В таблице 4 представлены результаты посевов *Streptococcus pneumoniae* на жидкую питательную среду (мясопептонный бульон).

При визуальном контроле посевов *Streptococcus pneumoniae* на мясопептонный бульон признаки роста в пробирках с цефтриаксоном просматривались при концентрации 4–0,25 мкг/мл. Умеренный рост культуры отмечали в присутствии соединения VMA-10-21 в диапазоне концентраций 64–0,25 мкг/мл, вещества VMA-10-18 – при его содержании 8–0,25 мкг в 1 мл. Более низкие значения установлены для производных VMA-13-17, VMA-13-05 – 2–0,25 мкг/мл и VMA-10-10, VMA-17-01 – 1–0,25 мкг/мл.

Полная прозрачность среды наблюдалась в пробирках с хиназолиновым производным VMA-13-05 при концентрации 128–32 мкг/мл, соединениями VMA-17-01 и VMA-17-04 при содержании 128–64 мкг активного компонента в 1 мл. Полученные результаты указывают на ярко выраженную антипневмококковую активность веществ.

Из данных таблицы 5 следует, что культура *Streptococcus pneumoniae* дает обильный рост на МПА в присутствии соединений VMA-10-10, VMA-10-18 в концентрациях 4–0,25 мкг/мл, вещества VMA-13-05 – при 8–0,25 мкг/мл и производного VMA-17-04 при концентрациях 2–0,25 мкг/мл. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии чувствительности патогена к указанным веществам при данном разведении.

При содержании VMA-13-05 в концентрации 128–16 мкг/мл рост колоний патогенного штамма не наблюдается, что аналогично эффектам VMA-17-04 и VMA-17-01 в диапазоне концентрации 128–64 мкг/мл. Следовательно, вещества характеризуются высокой противомикробной активностью в отношении *Streptococcus pneumoniae* при таком содержании в растворе.

В таблице 6 показаны среднестатистические ре-

зультаты оценки антибактериального действия наиболее активных субстанций в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Анализируя среднестатистические результаты антибактериального действия наиболее активных субстанций в отношении патогенных микроорганизмов, можно сделать вывод о том, что бактерицидная активность соединений VMA-13-05, VMA-17-01 и VMA-17-04 сопоставима с действием цефтриаксона в концентрациях 128 и 64 мкг/мл; в отношении *Staphylococcus aureus* – в концентрации 32 мкг/мл. При анализе антимикробного действия наиболее активных соединений хиназолина в последующих концентрациях установлено, что бактерицидная активность VMA-13-05, VMA-17-01 и VMA-17-04 статистически значимо снижается по мере уменьшения концентрации веществ по отношению к препарату сравнения – цефтриаксону.

Гетероциклическая природа веществ хиназолинового ряда обуславливает их способность ингибировать активность РВР2а за счет образования водородных связей с аминокислотами аллостерического сайта фермента: лизином, глутамином и аспарагином. Вследствие такого взаимодействия происходит открытие активного сайта, в котором карбонильная группа и атом азота другой молекулы противомикробного агента ковалентно связываются с карбоксильной и аминогруппой лизина и аргинина. Происходит подавление работы фермента и, как следствие, блокирование биосинтеза клеточной стенки бактерии [37–40]. Анализ влияния различных заместителей в молекуле производных хиназолинона позволил выявить функциональные группы и структурные фрагменты, принимающие участие в образовании химической связи с остатками аминокислот фермента за счет чего, вероятно, реализуется фармакологический эффект веществ. Исследования взаимосвязи структуры и активности производных хиназолинона показали, что наличие замещенного ароматического кольца в положении 3 и метильной группы, является существенным для проявления соединением противомикробной активности [34]. При этом соединения хиназолинонов, содержащие фенильный радикал, характеризуются более высокой аффинностью связывания, чем вещества с метильной группой, что может быть объяснено увеличением числа гидрофобных связей с аминокислотами активного сайта [35]. Показано, что заместитель в фенильном кольце также оказывает значительное влияние на антибактериальную активность. Метокси-, метил-, гидроксигруппы, а также атомы брома и хлора, увеличивают противомикробный эффект [24]. Доказано, что объединение двух или более биологически активных фрагментов в одной молекуле также способствует повышению антибактериального эффекта вследствие изменения степени полярности молекулы лекарственного вещества [1].

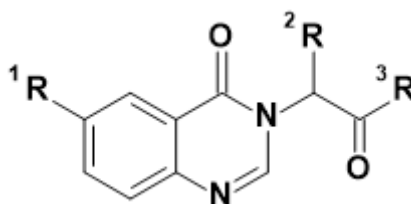


Рисунок 1 – Общая формула производных хиназолин-4(3H)-она

Таблица 1 – Химическое строение новых производных хинозолин-4(3H)-она

Соединение	R ¹	R ²	R ³	Выход, %	Т. пл., °С
VMA-10-10	H	H	4-диметиламинофенил	67	261–264
VMA-10-18	H	H	4-метоксифенил	61	228–229
VMA-10-21	H	H	4-фенилпиперазин-1-ил	73	222–224
VMA-13-05	H	H	β-нафтил	56	199–201
VMA-17-01	H	H	фениламино	83	156–158
VMA-17-04	H	CH ₃	фениламино	72	222–224
VMA-13-17	Br	H	NHC(NH)NH ₂	89	242–244

Таблица 2 – Показатели визуальной оценки активности соединений в отношении роста *Staphylococcus aureus* (среда МПБ)

Серии (соединения, препараты)	Концентрация, мкг/мл									
	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
ДМСО	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Цефтриаксон	–	–	–	–	–	+	++	+++	+++	+++
VMA-10-10	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
VMA-10-18	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	++++	++++
VMA-10-21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VMA-13-05	–	–	–	++	++	++	+++	+++	+++	+++
VMA-17-01	–	–	–	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
VMA-17-04	–	–	–	–	++	++	++++	++++	++++	++++
VMA-13-17	+	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++

Примечание: «–» – полная прозрачность среды; «+» – неполная прозрачность среды; «+» – слабый рост; «++» – умеренный рост; «+++» – интенсивный рост

Таблица 3 – Показатели визуальной оценки активности субстанций в отношении роста *Staphylococcus aureus* (среда – МПА)

Серии (соединения, препараты)	n	Концентрация, мкг/мл									
		128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
ДМСО	6	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Цефтриаксон	6	–	–	+АК	+АК	+АК	+АК	+++АК	+++АК	+++АК	+++АК
VMA-10-10	6	+++АК	+++АК	+++АК	+++АК	+++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК
VMA-10-18	6	+АК	+АК	+АК	+АК	+++АК	+++ТК	+++ТК	+++ТК	++++ТК	++++ТК
VMA-10-21	6	++АК	+++ТК	+++ТК	+++ТК	++++ТК	++++ТК	++++ТК	++++ТК	++++ТК	++++ТК
VMA-13-05	6	–	–	+АК	+++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК
VMA-17-01	6	–	–	–	++АК	++АК	+++ТК	+++ТК	+++ТК	+++ТК	+++ТК
VMA-17-04	6	–	–	–	–	++АК	++АК	++++АК	++++АК	++++АК	++++АК
VMA-13-17	6	+АК	+АК	++АК	++АК	++АК	++АК	+++ТК	+++ТК	+++ТК	+++ТК

Примечание: «–» – отсутствие колоний; «+» – единичные колонии; «+++» – ≤ 50%, «++++» – ≤ 75%; «++++» – ≤ 100% заселения площади чашки Петри; АК – атипичные колонии; ТК – типичные колонии

Таблица 4 – Показатели визуальной оценки активности соединений в отношении роста *Streptococcus pneumoniae* (среда МПБ)

Серии (соединения, препараты)	Концентрация, мкг/мл									
	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
ДМСО	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Цефтриаксон	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
VMA-10-10	+–	+–	+–	+	+	++	++	+++	+++	+++
VMA-10-18	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	++++	
VMA-10-21	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VMA-13-05	–	–	–	+	+–	++	+++	+++	+++	+++
VMA-17-01	–	–	+–	+–	+	++	++	+++	+++	+++
VMA-17-04	–	–	+	+	+	+	++	++	+++	+++
VMA-13-17	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++

Примечание: «–» – полная прозрачность среды; «+–» – неполная прозрачность среды; «+» – слабый рост; «++» – умеренный рост; «+++» – интенсивный рост

Таблица 5 – Показатели активности субстанций в отношении роста *Streptococcus pneumoniae* (среда МПА)

Серии (соединения, препараты)	n	Концентрация, мкг/мл									
		128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
ДМСО	6	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Цефтриаксон	6	–	–	–	+AK	+AK	+AK	++AK	++AK	++AK	++AK
VMA-10-10	6	++AK	++AK	++AK	++AK	++AK	++++AK	++++AK	++++AK	++++AK	++++AK
VMA-10-18	6	++ AK	++AK	++ AK	++ AK	+++AK	+++TK	+++TK	+++TK	++++TK	++++TK
VMA-10-21	6	+AK	+TK	++TK	++TK	+++TK	+++TK	+++TK	+++TK	++++TK	++++TK
VMA-13-05	6	–	–	–	–	++++AK	++++AK	++++AK	++++AK	++++AK	++++AK
VMA-13-17	6	+ AK	+ AK	++ AK	++ AK	++ AK	++ AK	+++ TK	+++ TK	+++ TK	+++ TK
VMA-17-04	6	–	–	+ AK	+AK	++ AK	++ AK	++++ TK	++++ TK	++++ TK	++++ TK
VMA-17-01	6	–	–	+AK	++ AK	++ AK	+++ TK	+++ TK	+++ TK	+++ TK	+++ TK

Примечание: «–» – отсутствие колоний; «+» – единичные колонии; «+++» – ≤ 50%, «++++» – ≤ 75%; «+++++» – ≤ 100% заселения площади чашки Петри; AK – атипичные колонии; TK – типичные колонии.

Таблица 6 – Среднестатистические результаты антибактериального действия наиболее активных субстанций в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*

Серии (соединения, препараты)	Концентрация, мкг/мл									
	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
Цефтриаксон	0	0	0	0	0	18,1±2,3	18,8±2,2	19,3±2,2	22,5±3,6	22,7±3,2
В отношении штаммов <i>Staphylococcus aureus</i>										
VMA-13-05	0	0	0	29,5±2,4 ***	32,1±3,1 ***	38,4±3,8 **	59,4±4,7 ***	65,3±4,2 ***	65,8±5,6 ***	68,3±5,4 ***
VMA-17-01	0	0	0	28,3±2,1 ***	33,8±3,7 ***	39,9±4,2 **	64,4±4,3 ***	65,7±4,1 ***	65,6±6,6 ***	69,3±6,1 ***
VMA-17-04	0	0	0	0	27,3±3,1 ***	28,1±2,8 *	78,4±5,9 ***	81,3±7,1 ***	83,6±7,3 ***	85,2±6,5 ***
В отношении штаммов <i>Streptococcus pneumoniae</i>										
VMA-13-05	0	0	0	14,3±1,8 ***	16,4±2,1 ***	26,3±1,8 *	61,3±4,8 ***	63,8±5,6 ***	66,4±5,2 ***	71,6±6,9 ***
VMA-17-01	0	0	12,3±1,8 ***	14,9±2,0 ***	15,7±1,9 ***	25,9±1,8 *	27,3±2,0 *	56,4±4,6 ***	62,3±4,9 ***	68,3±6,0 ***
VMA-17-04	0	0	10,2±1,3 ***	12,7±1,8 ***	12,8±1,4 ***	13,2±1,9 *	26,2±1,9 *	28,6±2,2 **	53,8±5,2 ***	55,7±5,2 ***

Примечание: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 – по отношению к показателям антибактериального действия цефтриаксона

Описан механизм взаимодействия веществ с ДНК-гиразой, который также зависит от природы заместителей, определяющих полярность молекулы, ее способность образовывать различные химические связи с ферментом. Известно, что в данном случае гибель бактериальной клетки опосредована нарушением синтеза ДНК при ингибировании ДНК-гиразы, участвующей в раскручивании (отрицательной суперспирализации) молекулы нуклеиновой кислоты (НК), производным хиназолинона [37]. Установлено, что его влияние может быть объяснено образованием промежуточного комплекса «ДНК-топоизомераза-хинозолинон» за счет донорно-акцепторного взаимодействия атома кислорода карбонильной группы антимикробного агента и фосфатной группы ДНК, азота с гуанином и аспарагином НК, заместителей хинозолиноновой молекулы с ее неполярными группами. Связывание с активным сайтом фермента происходит за счет водородных связей производного хинозолинона с аминокислотными остатками серина и аргинина [37].

Не исключается возможность взаимодействия производных хинозолинона с предшественниками пептидогликана, что приводит к ингибированию его полимеризации (трансгликозилирования) и последующей стадии перекрестного связывания (транспептидации). Бактерицидное действие лекарственного вещества реализуется при образовании промежуточного комплекса «хинозолинон – производное пептидогликана», вследствие чего возникает деполаризация оболочки, увеличивается ее проницаемость и происходит утечка ионов калия и цитоплазматического АТФ, приводящая к гибели клетки [41, 42].

Представление о функционировании эффлюксных насосов увеличивает ряд требований, предъявляемых к исследуемым противомикробным веществам, в виде сочетания высокой эффективности с устойчивостью к оттоку, одним из вариантов достижения которой может являться диссипация мембранного потенциала [29, 34]. Доказано, что присутствие кето-группы, бензильного радикала и атомов азота в хинозолиноновой структуре способствует снижению липофильности; ковалентно связанный бром в ядре хинозолина, метоксифенильный и метильный заместители, наоборот, повышают гидрофобность [35, 36]. Насыщенность молекул хинозолиновых производных центрами, снижающими гидрофобность, позволяет сделать предположение о незначительной степени связывания с белками оттока и, как следствие, низкой вероятности возникновения резистентности к этим веществам с точки зрения теории оттока [5, 7, 28].

Анализ полученных результатов показывает, что соединение VMA-17-04, и в меньшей мере VMA-13-05, активны в отношении *Staphylococcus aureus* и обладают бактериостатическим действием. Структура веще-

ства VMA-13-05 содержит нафтильный заместитель, который делает молекулу более липофильной и, как следствие, повышает ее проникновение в клеточную мембрану патогенной культуры. Полярность VMA-17-04, обусловленная амидной группой, связанной с хинозолиноновой составляющей и бензольным кольцом, обуславливает увеличение степени взаимодействия электронодонорного центра в виде атома азота с активными сайтами ферментов, катализирующих процессы репликации ДНК и синтеза белков.

Оценка антимикробной активности исследуемых соединений в отношении *Streptococcus pneumoniae* показывает проявление бактериостатического эффекта производным VMA-13-05. Соединения VMA-17-04 и VMA-17-01 характеризуются слабо выраженным противомикробным действием.

Вещество VMA-10-10 практически не влияет на *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Вероятно, различие в химическом составе компонентов мембраны грамположительных бактерий может служить причиной неодинакового проявления фармакологической активности веществами VMA-17-04 и VMA-13-05 в отношении патогенов. Присутствие в молекулах производных хинозолинона отличающихся по строению заместителей обуславливает различие в механизме их связывания с веществами клеточной оболочки патогенов, выполняющих роль адгезивов, являющихся одним из факторов вирулентности данных микроорганизмов. Установлено, что основную роль в процессе адгезии *Streptococcus pneumoniae* играют коллагенсвязывающий и фибронектинсвязывающий протеины, липотейхоевая кислота, а также поверхностный фосфорил-холин, входящий в состав тейхоевой кислоты с прикрепленными к нему холинсвязывающими белками. Адгезивная активность *Staphylococcus aureus* осуществляется за счет фибриноген-связывающего белка, молекулы которого связаны с пептидогликаном клеточной стенки, коллагенового адгезина, внеклеточного белка, связывающих фибронектин белков, тейхоевой кислоты, а также стафилококкового гаптоглобинового рецептора, состоящего из 145 остатков аминокислот [43].

Природа заместителей в молекуле обуславливает различную степень липофильности соединений, которая, согласно Гиббонсону, является важным свойством вещества, характеризующим его растворимость в бактериальной мембране и степень связывания с белками оттока или субстратами помпы. Гидрофобность производных служит фактором, снижающим распознавание и транспортировку откачивающим насосом антимикробных агентов, что особенно важно при поиске ингибиторов их оттока [29]. Липофильность структуры VMA-13-05 хоть и предполагает лучшее связывание с белком эффлюксного насоса, что может привести к возникновению резистентности у *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* за счет уменьшения концентрации ан-

тимикробного средства, однако не может служить объективной характеристикой данного процесса без дополнительных данных, полученных альтернативными методами анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, среди синтезированных производных хиназолин-4(3H)-она были выявлены вещества, проявляющие выраженную антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus* (VMA-

17-04) и *Streptococcus pneumoniae* (VMA-13-05), что, очевидно, обусловлено влиянием липофильного участка их молекул на проявление противомикробного действия. Результаты, полученные в ходе данного исследования, определяют перспективность дальнейшего изучения противомикробных свойств новых соединений хиназолин-4(3H)-она с целью повышения их фармакологического эффекта и предотвращения развития резистентности патогенных микроорганизмов.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данная работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.А. Самотруева – разработка концепции и дизайна исследования, планирование исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи; А.А. Озеров – разработка схемы синтеза производных, получение данных по физико-химическим свойствам и спектральным характеристикам веществ, редактирование рукописи, окончательное ее утверждение для публикации; А.А. Старикова – сбор данных, написание текста, химическое обоснование протекающих процессов с учетом строения исследуемых веществ, подготовка черновика рукописи; Н.М. Габитова – проведение микробиологического исследования, оценка, обоснование и статистическая обработка полученных данных; Д.В. Мережкина – осуществление синтеза производных хиназолина; А.А. Цибизова – сбор данных, оценка, обоснование и статистическая обработка полученных данных; И. Н. Тюренков – планирование исследования, методология исследования, редактирование рукописи, оценка результатов, полученных микробиологическими методами; окончательное утверждение публикации рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Abrusán G., Marsh J.A. Ligands and receptors with broad binding capabilities have common structural characteristics: An antibiotic design perspective // J. Med. Chem. – 2019. – Vol. 62. – P. 9357–9374. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b00220.
2. Beyzaei H., Ghasemi B. *In vitro* Antibacterial evaluation of newly synthesized heterocyclic compounds against *Streptococcus Pneumoniae* // Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran. – 2018. – Vol. 29, No.3. – P. 211–220. DOI: 10.22059/JSCIENCES.2018.67436.
3. Цибизова А.А., Ясенявская А.Л., Озеров А.А., Самотруева М.А., Тюренков И.Н. Оценка острой токсичности нового пиримидинового производного // Астраханский медицинский журнал. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 82–87. DOI: 10.17021/2021.16.1.82.87.
4. Jampilek J. Heterocycles in Medicinal Chemistry // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – Art. No.3839. DOI: 10.3390/molecules24213839.
5. Patel P.R., Joshi H., Shah U., Vapna M., Patel B. New generation of quinazolinone derivatives as potent antimicrobial agents // Asian Pac. J. Health Sci. – 2021. – Vol. 8, No.2. – P. 61–66. DOI: 10.21276/apjhs.2021.8.2.12.
6. Etebu E., Arikepar I. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives // Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res. – 2016. – Vol. 4. – P. 90–101.
7. Alanazi A.M., Abdel-Aziz A.A.M., Shawer T.Z., Ayyad R.R., Al-Obaid A.M., Al-Agamy M.H.M., Maarouf A.R., El-Azab A.S. Synthesis, antitumor and antimicrobial activity of some new 6-methyl-3-phenyl-4(3H)-quinazolinone analogues: *in silico* studies // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 31, No.5. – P. 721–735. DOI: 10.3109/14756366.2015.1060482.
8. El-Sayed N.N.E., Al-Otaibi T.M., Alonazi M., Masand V.H., Barakat A., Almarhoon Z.M., Ben Bacha A. Synthesis and characterization of some new quinoxalin-2(1H)-one and 2-methyl-3H-quinazolin-4-one derivatives targeting the onset and progression of CRC with SRA, Molecular Docking, and ADMET analyses // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – Art. No.3121. DOI: 10.3390/molecules26113121.
9. Hassan K.A., Liu Q., Elbourne L.D.H., Ahmad I., Sharples D., Naidu V., Chan C.L., Li L., Harborne S.P.D., Pokhrel A., Postis V.L.G., Goldman A., Henderson P.J.F., Paulsen I.T. Pacing across the membrane: the novel PACE family of efflux pumps is widespread in gram-negative pathogens // Research in Microbiology. – 2018. – Vol. 169. – P. 450–454. DOI: 10.1016/j.resmic.2018.01.001.
10. Vila J., Moreno-Morales J., Balleste-Delpierre C. Current landscape in the discovery of novel antibacterial agents // Clinical Microbiology and Infection. – 2020. – Vol. 26. – P. 596–603. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.09.015.
11. Nagaraja V., Godbole A.A., Henderson S.R., Maxwell A. DNA topoisomerase I and DNA gyrase as targets for TB therapy // Drug Discovery Today. – 2017. – Vol. 22, No. 3. – P. 510–518. DOI: 10.1016/j.drudis.2016.11.006.

12. D'Atanasio N., Capezzone de Joannon A., Di Sante L., Mangano G., Ombrato R., Vitiello M., Antibacterial activity of novel dual bacterial DNA type II topoisomerase inhibitors // *Plos One*. – 2020. – Vol. 15, No. 2. – P. 1–21. DOI: 10.1371/journal.pone.0228509.
13. Karaman R., Jubeh B., Breijyeh Z., Karaman R. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, No.12. – Art. No.2888. DOI: 10.3390/molecules25122888.
14. Lepak A.J., Seiler P., Surivet J.P., Ritz D., Kohl C., Andes D.R. *In vivo* pharmacodynamic target investigation of two bacterial topoisomerase inhibitors, ACT-387042 and ACT-292706, in the neutropenic murine thigh model against *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2016. – Vol. 60, No. 6. – P. 3626–3632. DOI: 10.1128/AAC.00363-16.
15. Li L., Wang Q., Zhang H., Yang M., Khan M.I., Zhou X. Sensor histidine kinase is a β -lactam receptor and induces resistance to β -lactam antibiotics // *Microbiology*. – 2016. – Vol. 113, No.6. – P. 1648–1653. DOI: 10.1073/pnas.1520300113.
16. Qiao Y., Srisuknimit V., Rubino F., Schaefer K., Ruiz N., Walker S., Kahne D. Lipid II overproduction allows direct assay of transpeptidase inhibition by β -lactams // *Nat Chem Biol*. – 2017. – Vol. 13, No.7. – P. 793–798. DOI: 10.1038/nchembio.2388.
17. Janardhanan J., Bouley R., Мартннез-Caballero S., Peng Z., Batuecas-Mordillo M., Meisel J.E., Ding D., Schroeder V.A., Wolter W.R., Mahasenan K.V., Hermoso J.A., Mobashery S., Chang M. The quinazolinone allosteric inhibitor of PBP 2a synergizes with piperacillin and tazobactam against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2019. – Vol. 63, No.5. – P. 1–12. DOI: 10.1128/AAC.02637-18.
18. Liu J., Chen D., Peters B.M., Li L., Li B., Xu Z., Shirriff M.E. Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Microbial Pathogenesis*. – 2016. – Vol. 101. – P. 56–67. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.10.028.
19. Cai Z.Q., Jin Z.S., Zheng D.Q., Hou L., Huang G.W., Tian J.Q., Wang G.J. Synthesis of several new quinazolin-4-amines containing p-toluenesulfonate moiety // *Journal of chemical research*. – 2016. – Vol. 40. – P. 573–575. DOI: 10.3184/174751916X14725679922221.
20. Khan I., Zaib S., Batool S., Abbas N., Ashraf Z., Iqbal J., Saeed A. Quinazolines and quinazolinones as ubiquitous structural fragments in medicinal chemistry: An update on the development of synthetic methods and pharmacological diversification // *Bioorg. Med. Chem*. – 2016. – Vol. 24. – P. 2361–2381. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.03.031.
21. Badshah S.L., Ullah A. New developments in non-quinolone-based antibiotics for the inhibition of bacterial gyrase and topoisomerase IV // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 152. – P. 393–400. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.04.059.
22. Qian Y., Allegretta G., Janardhanan J., Peng Z., Mahasenan K.V., Lastochkin E., Gozun M.M.N., Tejera S., Schroeder V.A., Wolter W.R., Feltzer R., Mobashery S., Chang M. Exploration of the structural space in 4(3H)-quinazolinone antibacterials // *J Med Chem*. – 2020. – Vol. 63, No.10. – P. 5287–5296. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00153.
23. Masri A., Anwar A., Khan N.A., Shahbaz M.S., Khan K.M., Shahabuddin S., Siddiqui R. Antibacterial effects of quinazolin-4(3H)-one functionalized-conjugated silver nanoparticles // *Antibiotics*. – 2019. – Vol. 8. – P. 179. DOI: 10.3390/antibiotics8040179.
24. Bouley R., Ding D., Peng Z., Bastian M., Lastochkin E., Song W., Suckow M.A., Schroeder V.A., Wolter W.R., Mobashery S., Chang M. Structure–activity relationship for the 4(3H)-quinazolinone antibacterials // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 59. – P. 5011–5021. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00372.
25. Nakano S., Fujisawa T., Ito Y., Chang B., Matsumura Y., Yamamoto M., Suga S., Ohnishi M., Nagao M. Penicillin-binding protein typing, antibiotic resistance gene identification, and molecular phylogenetic analysis of meropenem-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A-CC3111 strains in Japan // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2019. – Vol. 63. – P. 1–9. DOI: 10.1128/AAC.00711-19.
26. Brouwers R., Vass H., Dawson A., Squires T., Tavaddod S., Allen R.J. Stability of β -lactam antibiotics in bacterial growth media // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15, No.7. – P. e0236198. DOI: 10.1371/journal.pone.0236198.
27. Ligozzi M., Galia L., Bertocelli A., Mazzariol A. Intrinsic role of coagulase negative staphylococci A-like efflux system in fluoroquinolones resistance // *AIMS Microbiology*. – 2017. – Vol. 3, No.4. – P. 908–914. DOI: 10.3934/microbiol.2017.4.908.
28. Ankireddy A.R., Rambabu G., Balaraju T., Banothu V., Gundla P.L., Addepally U., Mantipally M. Synthesis, characterization and antibacterial activity of some novel C-7-Substituted-2-morpholino-N-(pyridin-2-ylmethyl) quinazolin-4-amine derivatives // *Der PharmaChemica*. – 2018. – Vol. 10, No.11. – P. 40–48.
29. Ghorab M.M., Alqahtani A.S., Soliman A.M., Askar A.A. Novel N-(Substituted) thioacetamide quinazolinone benzene sulfonamides as antimicrobial agents // *International Journal of Nanomedicine*. – 2020. – Vol. 15. – P. 3161–3180. DOI: 10.2147/IJN.S241433.
30. De Rosa M., Verdino A., Soriente A., Marabotti A. The Odd Couple(s): An overview of Beta-Lactam antibiotics bearing more than one pharmacophoric group // *Int. J. Mol. Sci*. – 2021. – Vol. 22. – P. 2–21. DOI: 10.3390/ijms22020617.
31. Kahlmeter G., Brown D. F. J., Goldstein F. W., MacGowan A. P., Mouton R. P., Odenholt I., Rodloff A., Soussy C.-J., Steinbakk M., Soriano F., Stetsiouk O. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Technical Notes on antimicrobial susceptibility testing // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2006. – Vol. 12, No. 6. – P. 501–503. DOI:10.1111/j.1469-0691.2006.01454.x.
32. Turnidge J., Kahlmeter G., Kronvall G. Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values // *Clin Microbiol Infect*. – 2006. – Vol. 12, No.5. – P. 418–425. DOI:10.1111/j.1469-0691.2006.01377.x.
33. Лужнова С.А., Воронков А.В., Кодониди И.П., Габитова Н.М., Храпова А.В., Бель С. Активность новых производных 1,3-диазинона-4 и их нециклических предшественников в отношении *Staphylococcus aureus* // *Астраханский медицинский журнал*. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 56–63.
34. Gajdacs M. The continuing threat of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Antibiotics*. – 2019. – Vol. 8. – P. 52. DOI: 10.3390/antibiotics8020052.

35. Nandwana N.K., Singh R.P., Patel O.P.S., Dhiman S., Saini H.K., Jha P.N., Kumar A. Design and synthesis of Imidazo/Benzimidazo[1,2-c]quinazolinederivatives and evaluation of their antimicrobial activity // ACS Omega. – 2018. – Vol.3, No. 11. – P. 16338–16346. DOI: 10.1021/acsomega.8b01592.
36. Maruthamuthu D., Rajam S., Christina Ruby Stella P., BharathiDileepan A.G., Ranjith R. The chemistry and biological significance of imidazole, benzimidazole, benzoxazole, tetrazole and quinazolinone nucleus // J. Chem. Pharm. Res. – 2016. – Vol. 8, No. 5. – P. 505–526.
37. Mahato A., Shrivastava B., Shanthi N. Synthesis, Molecular Docking and Biological Evaluation of Substituted Quinazolinones as Antibacterial Agents // Chemical Science Transactions. – 2015. – Vol. 4, No. 2. – P. 595–603. DOI: 10.7598/cst2015.995.
38. Fisher J.F., Mobashery S. Constructing and deconstructing the bacterial cell wall // Protein Science. – 2020. – Vol. 29. – P. 629–646. DOI: 10.1002/pro.3737.
39. Ibrahim M.A.A., Abdeljawaad K.A.A., Abdelrahman A.H.M., Alzahrani O.R., Alshabrm F.M., Khalaf E., Moustafa M.F., Alrumaihi F., Allemailem K.S., Soliman M.E.S., Paré P.W., Hegazy M.E.F., Atia M.A.M. Non-b-Lactam allosteric inhibitors target methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an in silico drug discovery study // Antibiotics. – 2021. – Vol. 10, No. 8. – Art. No. 934. DOI:10.3390/antibiotics10080934.
40. Mahasen K.V., Molina R., Bouley R., Batuecas M.T., Fisher J.F., Hermoso J.A., Chang M., Mobashery S. Conformational dynamics in penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, allosteric communication network and enablement of catalysis // J Am Chem Soc. – 2017. – Vol. 139, No. 5. – P. 2102–2110. DOI: 10.1021/jacs.6b12565.
41. Higgins D.L., Chang R., Debabov D.V., Leung J., Wu T., Krause K.M., Sandvik E., Hubbard J.M., Kaniga K., Schmidt D.E. Jr, Gao Q., Cass R.T., Karr D.E., Benton B.M., Humphrey P.P. Telavancin, a multifunctional lipoglycopeptide, disrupts both cell wall synthesis and cell membrane integrity in methicillin-resistant Staphylococcus aureus // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2005. – Vol. 49, No. 3. – P. 1127–1134. DOI: 10.1128/AAC.49.3.1127-1134.2005.
42. Bayer A.S., Schneider T., Sahl H.G. Mechanisms of daptomycin resistance in Staphylococcus aureus: role of the cell membrane and cell wall // Ann N Y Acad Sci. – 2013. – Vol. 1277, No. 1. – P. 139–158. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06819.x.
43. Зубарева И.В., Беренштейн Т.Ф., Федянин С.Д. Об адгезии грамположительных кокков // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т. 9, №1. – С. 1–15.

АВТОРЫ

Самотруева Марина Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5336-4455. E-mail: ms1506@mail.ru

Озеров Александр Александрович – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID:0000-0002-4721-0959. E-mail: prof_ozarov@yahoo.com

Старикова Алла Андреевна – ассистент кафедры химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID:0000-0002-5210-5248. E-mail: alhimik.83@mail.ru

Габитова Нармина Муталлимага-кызы – ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, младший научный сотрудник

ФГБУ «НИИЛ» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-3867-8330. E-mail: narmina85@inbox.ru

Мережкина Дарья Владимировна – аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0002-9848-7149. E-mail: merezhkinad@mail.ru.

Цибизова Александра Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0002-9994-4751. E-mail: sasha3633@yandex.ru

Тюренов Иван Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru