



Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, О. М. Камишний, Н. М. Поліщук

## Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 1,8-дизаміщених теоброміну. III. 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеоброміни

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** теобромін, синтез, ПМР-спектроскопія, протимікробна активність, протигрибкова активність, антиоксидантна активність.

Актуальною і перспективною є проблема розробки нових високоефективних малотоксичних протимікробних та антиоксидантних засобів із мінімальною кількістю побічних ефектів. Мета роботи полягала в розробці простих лабораторних методів синтезу 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів і вивченні антиоксидантної, протимікробної та протигрибкової активності синтезованих сполук. Будову речовин підтверджено даними елементного аналізу та ПМР-спектроскопії. Розраховали молекулярні (LogP, TPSA, A) та фармакологічні (Pe, Ka, PPB, LogK<sub>a</sub><sup>HSA</sup>, LogPS, LogPB, Log(PS\*fu)) дескриптори для прогнозування властивостей речовин, що отримали, а також показник гострої токсичності. Вивчили антиоксидантну, протимікробну та протигрибкову дії сполук, встановили пріоритети для пошуку біологічно активних сполук.

### Синтез, физико-химические и биологические свойства 1,8-дизамещенных теобромина. III. 8-Амино-1-*n*-хлоробензилтеобромини

Д. Г. Иванченко, Н. И. Романенко, А. М. Камышный, Н. Н. Полищук

Актуальной и перспективной является проблема разработки новых высокоэффективных малотоксичных противомикробных и антиоксидантных средств с минимальным количеством побочных эффектов. Цель работы – разработка простых лабораторных методов синтеза 8-амино-1-*n*-хлоробензилтеоброминов и изучение антиоксидантной, противомикробной и противогрибковой активности синтезированных соединений. Строение полученных веществ подтверждено данными элементного анализа и ПМР-спектроскопии. Рассчитали молекулярные (LogP, TPSA, A) и фармакологические (Pe, Ka, PPB, LogK<sub>a</sub><sup>HSA</sup>, LogPS, LogPB, Log(PS\*fu)) дескрипторы для прогнозирования свойств полученных веществ, а также показатель острой токсичности. Изучили антиоксидантную, противомикробную и противогрибковую активности, установили приоритеты для поиска биологически активных соединений.

**Ключевые слова:** теобромин, синтез, ПМР-спектроскопия, противомикробная активность, противогрибковая активность, антиоксидантная активность.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2014. – № 2 (15). – С. 45–49**

### Synthesis, physical-chemical and biological properties of 1,8-disubstituted compounds of theobromine. III. 8-Amino-*p*-chlorobenzyltheobromines

D. G. Ivanchenko, M. I. Romanenko, A. M. Kamyshny, N. M. Polishchuk

Aim. Simple laboratory methods for the synthesis of 8-amino-1-*p*-chlorobenzyltheobromines, which are potential biologically active compounds, have been developed.

Methods and results. The structures of synthesized compounds have been proved by elemental analysis and NMR-spectroscopy.

Conclusion. The antioxidant and antimicrobial activities of the obtained compounds have been explored.

**Key words:** Theobromine, Synthesis, NMR Spectroscopy, Antimicrobial Agents, Antifungal Agents, Antioxidant Effect.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 2 (15): 45–49**

Тема вільних радикалів і реакційноздатних кисневмісних часток привертає особливу увагу наукового співтовариства і все більше зацікавлює широку громадськість. Їжа, яку споживаємо, і стан довкілля впливають на біологічну продукцію вільних радикалів. Висока реакційна здатність радикалів призводить у фізіологічних умовах до прискорення процесів окислення, що руйнують молекулярну основу клітини, і викликає в результаті численні патологічні стани. Антиоксиданти відіграють важливу роль у регуляції перебігу вільнорадикальних перетворень в організмі, істотно впливаючи на його стан, тому дослідження антиоксидантних властивостей сполук останнім часом набули значного поширення [1–4]. Раніше ми показали перспективність пошуку біологічно активних сполук серед похідних теоброміну з антиоксидантною активністю [5,6].

Належне і неналежне використання протимікробних препаратів у медицині і тваринництві протягом останніх 70 років призвело до зростання кількості і типів мікроорганізмів, котрі стійкі до цих ліків, що призводить до смерті, збільшення страждань та інвалідності. Слід відзначити, що сучасні протимікробні препарати, незважаючи на вибірковість дії, викликають ряд побічних ефектів: алергічні реакції, дисбактеріоз, токсичні явища, ослаблення імунітету, мікози [7–9]. Отже, проблема розробки нових високоефективних малотоксичних протимікробних та антиоксидантних засобів із мінімальною кількістю побічних ефектів є актуальною та перспективною.

#### Мета роботи

Розробка простих лабораторних методів синтезу 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів і вивчення антиоксидантної, протимікробної та протигрибкової активності синтезованих сполук.

**Матеріали і методи дослідження**

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконали на приладі ElementarVario L cube, ПМР-спектри зняті на спектрометрі Bruker SF-400 (робоча частота – 400 МГц, розчинник – ДМСО-*d*<sub>6</sub>, внутрішній стандарт – ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Аналітичні дані сполук наведені в *таблицях 1 і 2*.

*Таблиця 1*

**Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук (2-7)**

Сполука	T <sub>плавл.</sub> , °C	Емпірична формула	Вихід, %
2	139–140	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	77,5
3	183–185	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	98,2
4	155–156	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	34,8
5	121–122	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	34,8
6	171–172	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	61,2
7	171–172	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	67,2

*Синтез 8-амінозаміщених 1-п-хлоробензилтеоброміну (2, 3)*. Суміш 0,01 моль 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (1) [5], 0,03 моль піролідину (2) чи піперидину (3), 40 мл целосольву кип'ять 4 години, випарюють у вакуумі досуха. Сухий залишок обробляють водою, осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою і перекристалізують із водного етанолу.

*Синтез 8-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів (4–7)*. Суміш 0,01 моль вихідної сполуки (1), 0,03 моль відповідного аміну, 40 мл целосольву кип'ять 4 години, охолоджують, розводять водою. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, водним пропанолом-2 і перекристалізують із водного етанолу.

Молекулярні дескриптори розраховували за допомогою комп'ютерних програм ALOGPS та DRAGON. Біологічні властивості синтезованих сполук розраховували за допомогою GUSAR та ACD/Percepta Platform.

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окислення [10,11].

Для первинного скринінгового дослідження новосинтезованих речовин використали еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфофізіологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. Як набір стандартних тест-штамів взяли *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Усі тест-штами отримали з бак-лабораторії ДУ «Запорізький обласний лабораторний центр держсанепідемслужби України». Чутливість мікроорганізмів до новосинтезованих перспективних протимікробних сполук визначали відповідно до методичних рекомендацій [12]. Під час досліджень готували ряд дворазових серійних розведень препарату в бульйоні Мюллер-Хінтона в об'ємі 1 мл, після чого додавали у кожну пробірку по 0,1 мл мікробної завісі (106 КУО/мл).

Визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК). Як розчинник сполук у дослідженнях використовували диметилсульфоксид, вихідні розчини доводили до концентрації 1 мг/мл. Додатково здійснили контроль поживних середовищ і розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

Дані щодо біологічної дії похідних 8-амінозаміщених 1-п-хлоробензилтеобромінів наведено в *таблиці 3*.

*Таблиця 2*

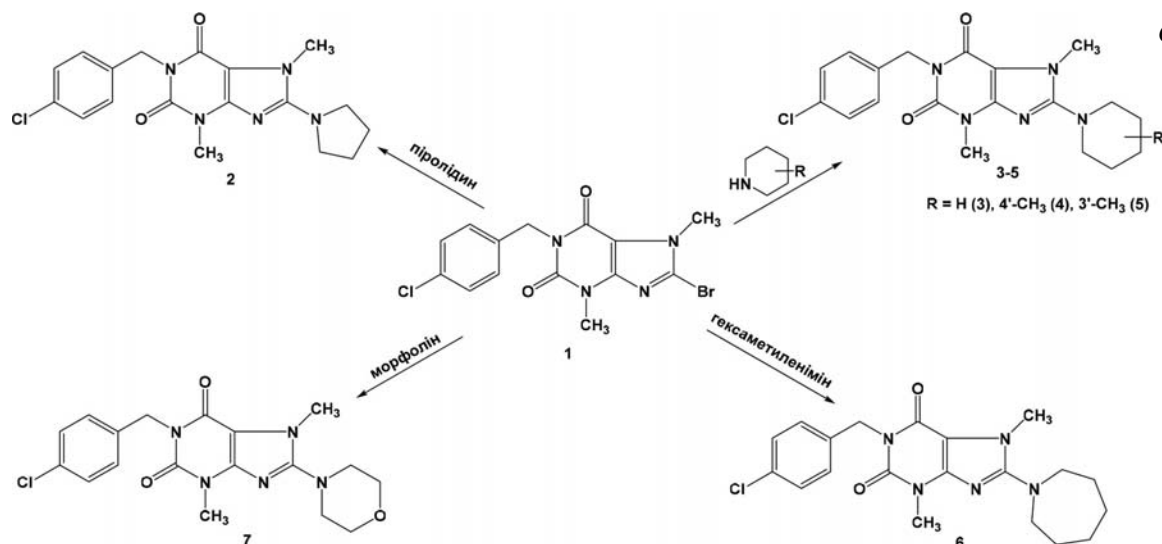
**Величини хімічного зсуву в ПМР-спектрах 8-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів**

Сполука	δ-шкала, м.ч.					
	CH <sub>аром</sub> (кв, 4H)	N <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> (с, 2H)	N <sup>7</sup> CH <sub>3</sub> (с, 3H)	N <sup>3</sup> CH <sub>3</sub> (с, 3H)	NCH <sub>2</sub>	Інші сигнали
2	7,36–7,28	4,99	3,79	3,35	3,58 (т, 4H)	1,91–1,88 (м, 4H) – (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>
3	7,36–7,29	5,01	3,65	3,37	3,20 (т, 4H)	1,64–1,58 (м, 6H) – (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>
4	7,37–7,29	5,01	3,65	3,37	3,35 (м, 2H) 2,80 (м, 2H)	1,65–1,55 (м, 3H) – CH-CH <sub>2</sub> ; 1,30 (м, 2H) – CH <sub>2</sub> ; 0,95 (д, 3H) – CH <sub>3</sub>
5	7,36–7,29	5,01	3,65	3,37	3,47 (м, 2H) 2,84 (м, 1H) 2,60 (м, 1H)	1,70 (м, 4H) – (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ; 1,10 (м, 1H) – CH; 0,91 (д, 3H) – CH <sub>3</sub>
6	7,36–7,29	5,00	3,73	3,35	3,54 (т, 4H)	1,77 (т, 4H) – (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ; 1,58 (т, 4H) – CH <sub>2</sub>
7	7,36–7,31	5,01	3,71	3,38	3,74 (т, 4H)	3,24 (т, 4H) – (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>

*Таблиця 3*

**Антиоксидантна, протимікробна та протигрибкова активність синтезованих сполук**

Сполука	АОА, %			МІК, мкг/мл			
	C = 10 <sup>-3</sup> моль/л	C = 10 <sup>-5</sup> моль/л	C = 10 <sup>-7</sup> моль/л	E. coli	S. aureus	P. aeruginosa	C. albicans
2	13,71	18,78	23,86	200	100	100	50
3	3,55	8,63	18,78	100	100	100	100
4	15,79	21,05	31,58	100	200	100	50
5	-5,26	10,53	15,79	50	100	100	50
6	45,46	45,46	18,18	100	100	100	100
7	13,64	18,18	18,18	200	100	100	100
Ампіцилін	–	–	–	12,5	50	25	–
Ністатин	–	–	–	200	100	100	50
Аскорбінова кислота	65,31	39,13	43,59	–	–	–	–
Тіотриазолін	33,90	22,60	7,63	–	–	–	–



### Результати та їх обговорення

Реакцією 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (1) із вторинними гетероциклічними амінами (піролідином, морфоліном, гексаметиленіміном, піперидином і його похідними) в середовищі целосольву отримали ряд не описаних раніше 8-гетерілзаміщених (2–7) (схема 1).

Будову синтезованих сполук однозначно доведено даними ПМР-спектроскопії. За даними, що наведені в таблиці 1, наявність ароматичних протонів реєструється у вигляді кватетів в інтервалі 7,37–7,28 м.ч. відповідної інтенсивності, метиленові протони бензильного залишку в положенні 1 резонують у вигляді інтенсивних синглетів при 5,01–4,99 м.ч. Наявність N<sup>7</sup>- та N<sup>3</sup>-метильних груп у молекулі ксантину підтверджується сигналами в ділянці 3,79–3,65 м.ч. та 3,38–3,35 м.ч. відповідно у вигляді інтенсивних синглетів. Форма, розташування та інтенсивність сигналів протонів залишків амінів у положенні 8 повністю відповідає їхній будові.

Розрахували властивості синтезованих сполук (табл. 4). За наведеними даними, усі сполуки відповідають вимогам «правил п'яти», тобто індекс Ліпінські [13] для всіх речовин дорівнює 0, а значення полярної поверхні та молекулярної рефракції відповідають критеріям Гхоша [14], що показує доцільність наступних досліджень.

Використання ACD/Percepta Platform дало змогу розрахувати абсорбційні характеристики, проникність через гематоенцефалічний бар'єр і встановити ймовірні транспортні форми крові синтезованих сполук. Так, передбачається, що речовини, які синтезували, стабільні у кислому середовищі (pH < 2) та пасивно абсорбуються в тонкому кишечнику (табл. 5). Імовірною транспортною формою крові для всіх цих сполук будуть ліпопротеїни. За даними таблиці 5, для всіх отриманих речовин характерна гарна проникність через гематоенцефалічний бар'єр.

Розрахували показник гострої токсичності для щурів і мишей за допомогою комп'ютерних програм GUSAR і

Таблиця 4

Значення молекулярних дескрипторів синтезованих сполук (3–7)

Сполука	M, Да	Кількість			LogP	TPSA, Å <sup>2</sup>	Молекулярна рефракція, м <sup>3</sup> /моль
		Атомів	Донорів H <sup>+</sup>	Акцепторів H <sup>+</sup>			
2	374	46	0	3	3,13±0,55	65,06	100,193
3	388	49	0	3	3,53±0,57	65,06	104,794
4	402	52	0	3	3,85±0,60	65,06	109,343
5	402	52	0	3	3,83±0,61	65,06	109,266
6	402	52	0	3	3,92±0,61	65,06	109,395
7	390	47	0	4	2,30±0,48	74,29	101,727

Таблиця 5

Фармакологічні дескриптори синтезованих сполук

Сполука	Абсорбція		Транспорт білками крові		Проникність через гематоенцефалічний бар'єр		
	Pe, см/с	Ka, мін <sup>-1</sup>	PPB, %	LogK <sub>a</sub> <sup>HSA</sup>	LogPS	LogPB	Log(PS*fu, мозок)
2	7,67·10 <sup>-4</sup>	0,053	90,68	3,59	-1,3	0,22	-2,5
3	7,54·10 <sup>-4</sup>	0,052	92,27	3,62	-1,2	0,29	-2,6
4	7,42·10 <sup>-4</sup>	0,051	92,62	3,70	-1,2	0,40	-2,7
5	7,42·10 <sup>-4</sup>	0,051	92,25	3,62	-1,3	0,23	-2,6
6	7,42·10 <sup>-4</sup>	0,051	91,32	3,80	-1,2	0,50	-2,8
7	7,60·10 <sup>-4</sup>	0,052	90,02	3,52	-1,5	-0,03	-2,5

Гостра токсичність синтезованих сполук *in silico*

Сполука	LD <sub>50</sub> , мг/кг					
	Пероральне введення		Внутрішньочеревинне введення		Внутрішньовенне введення	
	миші	щури	миші	щури	миші	щури
2	580,0	714,6	290,0	230,4	87,0	142,5
3	530,0	755,4	280,0	251,8	68,0	95,8
4	530,0	788,9	240,0	315,1	59,0	70,2
5	520,0	851,7	240,0	217,4	57,0	72,4
6	490,0	853,5	230,0	280,1	47,0	96,2
7	580,0	959,6	320,0	529,5	98,0	228,1

ACD/Percepta Platform. За цим показником речовини, які синтезували, належать до IV класу токсичності (табл. 6).

Отже, дані засвідчують доцільність подальших досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Серед синтезованих речовин найактивнішим антиоксидантом виявився 8-(гексагідроазепін-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеобромін (6), який активніший за тіотріазолін і поступається за цим показником аскорбіновій кислоті. Слід відзначити, що зменшення циклу в положенні 8 молекули теоброміну призводить до зниження антиоксидантної активності. Порівнюючи показники АОА піролідино(2)-, морфоліно(7)- та піперидинопохідних (3) можна відзначити, що 8-(піперидин-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеобромін (3) у концентрації 10<sup>-3</sup> моль/л поступається 10,16% 8-(піролідин-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеоброміну (2) та 10,09% 8-морфоліно-1-*n*-хлоробензилтеоброміну (7). У концентрації 10<sup>-7</sup> моль/л антиоксидантна активність сполук 3 і 7 однакова. Введення метильного замісника в положення 4 піперидинового залишку призводить до посилення антиоксидантних властивостей у всіх концентраціях. Зміщення СН<sub>3</sub>-групи в положення 3 призводить до різкого зниження показника АОА в концентрації 10<sup>-3</sup> моль/л, а в концентраціях 10<sup>-5</sup> моль/л та 10<sup>-7</sup> моль/л у порівнянні зі сполукою 3 суттєвих змін активності не відзначили.

Виявили, що серед синтезованих 8-амінозаміщен-

них 1-*n*-хлоробензилтеоброміну перспективні сполуки з антибактеріальною активністю щодо *E. coli*, *S. aureus* та *P. aeruginosa* відсутні. Значну протигрибкову активність до тест-штаму *Candida albicans* виявили 8-(піролідин-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеобромін (2), 8-(4'-метилпіперидин-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеобромін (4), 8-(3'-метилпіперидин-1-іл)-1-*n*-хлоробензилтеобромін (5), активність яких прирівнюється до ністатину. Слід відзначити, що наявність метильної групи у структурі піперидинового залишку підвищує протигрибкову активність, а розташування її в положенні 3 зумовлює підвищення антибактеріальної активності щодо *E. coli* вдвічі.

Для остаточних висновків необхідні додаткові дослідження, робота триває.

#### Висновки

Розробили доступні лабораторні методи синтезу 8-амінозаміщених 1-*n*-хлоробензилтеоброміну, будову яких довели даними елементного аналізу, ПМП-спектроскопії.

Розрахували молекулярні (LogP, TPSA, A) та фармакологічні (Pe, Ka, PPB, LogK<sub>a</sub><sup>HSA</sup>, LogPS, LogPB, Log(PS\*fu)) дескриптори для прогнозування властивостей речовин, що отримали. Також розрахували показник гострої токсичності.

Вивчили антиоксидантну, протимікробну та протигрибкову дію синтезованих сполук, встановили пріоритети для наступного пошуку біологічно активних сполук.

#### Список літератури

1. Antioxidant Activity of Some Common Plants / [N.A. Khalaf, A.K. Shakya, A. Al-Othman, Z. El-Agbar, H. Farah] // Turk. J. Biol. – 2008. – Vol. 32. – № 1. – P. 51–55.
2. Niki E. Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo* / E. Niki // Free Radic. Biol. Med. – 2010. – Vol. 49. – № 4. – P. 503–515.
3. Роль антиоксидантов в коррекции психовегетативных, астенических и когнитивных нарушений / С.Н. Дума, Ю.И. Рагино // Трудный Пациент. – 2011. – Т. 9. – № 4. – С. 28–35.
4. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats / [A. Kara, S. Akman, S. Ozkanlar, U. Tozoglu et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – Vol. 55. – P. 21–26.
5. Пат. № 21412 Україна, МПК C07D 473/00. 1-*n*-Хлорбензил-8-(піридиніл-3')метиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Р.В. Жмурін, І.Ф. Беленічев, Г.М. Милосердова – № u200610204; заявл. 25.09.06; опубл. 15.03.07. Бюл. № 3.
6. Пат. № 38873 Україна, МПК C07D 473/00. 8-*N*-(фурил-2) метиламіно-1-*n*-хлоробензилтеобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, Н.В. Крісанова – № u200809552; заявл. 21.07.08; опубл. 26.01.09. Бюл. № 2.
7. Pallasch T.J. Global antibiotic resistance and its impact on the dental community. Medscape Newsletters / T.J. Pallasch // J. N. J. Dent. Assoc. – 2000. – Vol. 71. – № 2. – P. 14–15.
8. Kish M.A. Guide to development of practice guidelines / M.A. Kish // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 32. – P. 851–854.
9. Health care Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing health-care associated pneumonia, 2003: recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee / [O.C. Tablan, L.J. Anderson, R. Besser et al.] // MMWR Recomm. Rep. – 2004. – Vol. 53. – № 3. – P. 1–36.
10. Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonic dialdehydes and 4-hydroxy-2-enaldehydes as indexes of lipid peroxidation, kits for use in said method and their preparation / D. Gerard-Monnier, I. Erdelmeir, J. Chaudiere, J. Yadan. – appl. №702197, date of patent Mar. 10, 1998.
11. Беленічев І.Ф. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідях *in vitro*: метод. рекомендації / [І.Ф. Беленічев,

- Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв, С.І. Коваленко]. – К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
12. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. реком. / [Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.]. – К. : ДФЦ МОЗ України, 2004. – 38 с.
  13. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / [Ch.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney] // *Adv. Drug Del. Rev.* – 2001. – № 46. – P. 3–26.
  14. Ghose A.K. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases / A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski // *J. Comb. Chem.* – 1999. – № 1. – P. 55–68.
- References**
1. Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008) Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk. J. Biol.*, 32(1), 51–55.
  2. Niki, E. (2010) Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med.*, 49(4), 503–515. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016.
  3. Duma, S. N., & Ragino, Yu. I. (2011) The role of antioxidants in the correction psychovegetative, asthenic and cognitive impairment. *Trudnyi Patsient*, 9(4), 28–35.
  4. Kara, A., Akman, S., Ozkanlar, S., Tozoglu, U., Kalkan, Y., Canakci, C. F., Tozoglu, S. (2013) Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 55, 21–26.
  5. Ivanchenko, D. H., Romanenko, M. I., Zhmurin, R. V., Bieliennichev, I. F., & Myloserdova, H. M. (2007) Pat. № 21412 UA, C07D 473/00. 1-p-Chlorbenzyl-8-(piridinyl-3') methylidenhydrazine theobromine, revealing antioxidant activity. № u200610204 ; date of patent Mar. *Biul.*, 15.
  6. Ivanchenko, D. H., Romanenko, M. I., Samura, B. A., & Krisanova N. V. (2009) Pat. № 38873 UA, C07D 473/00. 8-N-(Furyl-2)methylamino-1-p-chlorobenzyl theobromin, having diuretic, anti-inflammatory and antioxidant action. № u200809552 ; date of patent Jan. *Biul.*, 26.
  7. Pallasch, T. J. (2000) Global antibiotic resistance and its impact on the dental community. *Medscape Newsletters. J. N. J. Dent. Assoc.*, 71(2), 14–15.
  8. Kish, M. A. (2001) Guide to development of practice guidelines. *Clin. Infect. Dis.*, 32, 851–854. doi: 10.1086/319366.
  9. Tablan, O. C., Anderson, L. J., Besser, R., Bridges, C., Hajjeh, R. (2004) Health care Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing health-care associated pneumonia, 2003: recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm. Rep.*, 53(3), 1–36.
  10. Gerard-Monnier, D., Erdelmeir, I., Chaudiere, J. (1998) Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonic dialdehydes and 4-hydroxy-2-enaldehydes as indexes of lipid peroxidation, kits for use in said method and their preparation. *J. Yadan.* – appl. №702197, date of patent Mar. 10.
  11. Bieliennichev, I. F., Hubsnyi, Yu. I., Dunaev, V. V., Kovalenko, S. I. (2002) *Metody otsinky antyoksydantnoi aktyvnosti rechovyn pry initsiuvanni vilno-radykalnykh protsesiv u doslidakh in vitro* [Methods for assessing antioxidant substances in initiating free radical processes in experiments in vitro: method. recommendations]. Kyiv. [in Ukrainian].
  12. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., Shyrobokov, V. P., Smirnov, V. V., Biriukova, S. V., Dykyi, I. L., et al. (2004) *Vyvchennia spetsyfychnoi aktyvnosti protymikrobnnykh likarskykh zasobiv* [The study of the specific activity of antimicrobial medicines]. Kyiv. [in Ukrainian].
  13. Lipinski, Ch. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Del. Rev.*, 46, 3–26.
  14. Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999) A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *J. Comb. Chem.*, 1, 55–68.

**Відомості про авторів:**

Іванченко Д. Г., к. фарм. н., ст. викладач каф. біохімії та лабораторної діагностики, Запорізький державний медичний університет, E-mail: ivanchenkodima@yandex.ru.

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біохімії та лабораторної діагностики, Запорізький державний медичний університет. Камишний О.М., д. мед. н., доцент, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет. Поліщук Н.М., к. мед. н., ст. викладач каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет.

Надійшла в редакцію 27.11.2013 р.