

ФАРМАКОЛОГИЯ

**АЛИФАТНИ И АРИЛАЛИФАТНИ ЕТЕРИ
НА 5,7-ДИХАЛОГЕН-8-ХИДРОКСИХИНОЛИНИ
И ТЕХНИ ПЕРХЛОРАТИ КАТО ПОТЕНЦИАЛНИ НУТРИТИВНИ
И АНТИКОКЦИДИНИ СРЕДСТВА**

АНГЕЛ ПАВЛОВ, НЕДЯЛКА В. ГЕОРГИЕВА*, ЗВЕЗДЕЛИНА ЯНЕВА,
ЛИЛКО ДОСПАТЛИЕВ, ВЕНЦИСЛАВ КОЙНАРСКИ
Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора

Поради потенциалния риск от антими-
кробна резистентност на микроорганизмите
при животните и птиците, както и послед-
ващия трансфер при човека, Европейската
комисия предвиди от 1 януари 2006 г. забрана
на абсолютно всички антибиотични растеж-
ни стимулатори в животновъдството. При
тази ситуация животновъдството в Европа и
света се оказва изправено пред необхо-
димостта да търси нови начини за предот-
вратяване и овладяване на заболяванията по
животните, както и за стимулиране на тяхната
продуктивност. Появи се нуждата от разра-
ботка и използване на съвременни алтерна-
тиви на забранените антибиотични растежни
стимулатори, които ефективно да се прилагат
за стимулиране на продуктивността, като ед-
новременно с това да гарантират и безопас-
ността на произведената животинска продук-
ция. Това налага необходимостта от разработка
и въвеждане в действие на програми за съв-
ременни нутритивни средства - екологично
безопасни заместители на антибиотиците:
пребиотици, пробиотици, синбиотици (**Пав-
лов и др.**, 2005; **Ferket**, 2004). Производител-
ите на животинска продукция в света сега
се насочват към използването на съвременни
нутритивни стратегии за намаляване на по-
тенциалните патогенни микроорганизми вър-
ху животните и птиците.

Кокцидиозата е едно от най-често среща-
ните заболявания, които влошават растежните

качества на птиците и поради това внима-
нието винаги е било насочено към изслед-
вания, свързани с кокцидиите, кокцидиозата
и връзката им с бактериалните инфекции, по-
специално с развитието на некротичния енте-
рит. През последните години се изясни, че
стабилна основа за контрол на ентеритите по
птиците е изпълнението на научноиздържани
профилактични програми за контрол на кокци-
диозите, позволяващи изграждане на добър
имунитет срещу кокцидиите. По тази причина
търсенето на нови терапевтици с неантибио-
тичен произход се очертава като актуална за-
дача във всички превантивни програми за на-
маляване общия брой на кокцидийни ооцити,
отделяни от птиците, с цел създаване на пред-
поставки за изграждане на стабилен имунитет
при птиците (**Chapman**, 1999; **Varbanova et al.**,
1990).

Една екологично издържана алтернатива
на антибиотиците във фуражите са произ-
водните на 8-хидроксихинолина (**Георгиева**,
2005; **Abd-Alla et al.**, 1992; **Zouhiri et al.**, 2000).
Спектърът на антибактерийното действие на
8-хидроксихинолина е сходен с този на пени-
цилина, но предотвратява възникването на
патогенни бактериални и гъбични щамове, ре-
зистентни към антибиотиците (**Bahal and
Khorana**, 1961; **Nicoletti et al.**, 1999; **Ouali et
al.**, 2000; **Deprez et al.**, 2004).

В предишни наши изследвания ние сме оп-
ределяли антиоксидантния статус на инвази-

рани с *Eimeria tenella* (Georgieva et al., 2006) и *Eimeria acervulina* (Koinarski et al., 2005) пилета бройлери.

Целта на настоящото изследване бе да се синтезират етери на на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини и техни перхлорати и да се определи нутритивното им и антикокцидийно действие при инвазирани с *Eimeria tenella* пилета-бройлери.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Химикали и реактиви

Като основни компоненти за получаването на производните на 8-хидроксихинолините използвахме базите: 8-хидроксихинолин, 5,7-дихлоро-8-хидроксихинолин, 5,7-дибромо-8-хидроксихинолин, 2-метил-5,7-дихлоро-8-хидроксихинолин (хлорхиналдол), 2-метил-8-хидроксихинолин както и съответните киселинни хлориди, алифатни и арилалифатни хлориди и ароматни алдехиди, търговски продукти на фирмите Fluka и Merck с чистота *reagent*. Реактивите: диметилсулфоксид (ДМСО), N,N-диметилформаид (ДМФ), хлороформ, бензен, тетрачлорметан, изопропанол, 1,4-диоксан, оцетен анхидрид, производство на фирмите Fluka и Merck.

Синтез на алифатни и арилалифатни етери на 5,7-дихалоген-8-

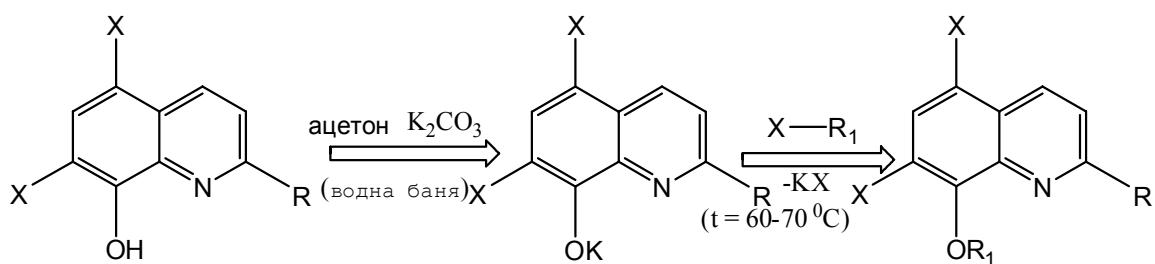


Схема 1

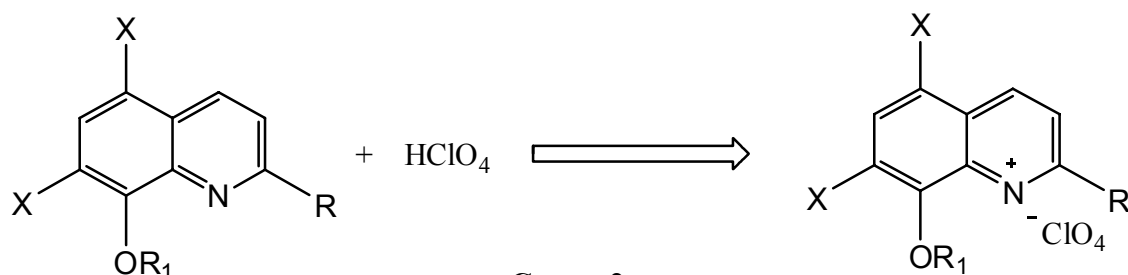
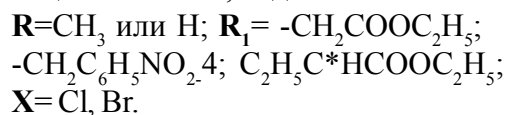


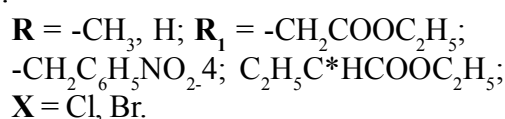
Схема 2

хидроксихинолини

Етерите на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини бяха получени по метод, описан в **Brit. Patent №10003477** (1965) чрез реакция, протичаща по **схема 1**, където:



Перхлоратите на съответните етери на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини бяха получени чрез реакция, протичаща по **схема 2**, където:



Всички новосинтезирани съединения бяха пречистени чрез прекристализация из органичен разтворител: хлороформ, тетрачлорометан или олев петролев етер.

Определяне на антикокцидийната активност и нутритивно действие на синтезираните етери и перхлорати на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини

Определянето на антикокцидийната активност на съединенията беше извършено с пилета-бройлери (Корниш x Плимутрок) на възраст 3 седмици, разделени в 11 групи по 10 броя, изравнени по живо тегло и хранени със специална смеска без кокцидиостатик и антибиотици при условия, изключващи спонтан-

ното им инвазиране с *Eimeria tenella*. Към храната на пилетата от изследваните групи бяха прибавяни от изследваното съединение по 350 mg/kg фураж, а в контролната група - хлорхиналдол 350 mg/kg фураж. Инвазирането беше извършено с по 80 000 ооцисти от вида *Eimeria tenella*. На седмия ден от инвазирането пилетата бяха умъртвени като крайната оценка за профилактичната полезност беше отчетена по съответните показатели: процент на преживяемост, лезиен и антикокцидиен индекс.

За определяне на стимулиращото растежа (нутритивно) действие на съединенията при инвазирани и неинвазирани пилета бяха отчетени данни за живото тегло в началото и в края на опита, изразходваното количество храна за едно пиле и процентът на усвояемост на храната.

По описания по-горе начин със съединение 3.1 бяха третирани две групи пилета в две дози - 100 mg/kg и 350 mg/kg фураж.

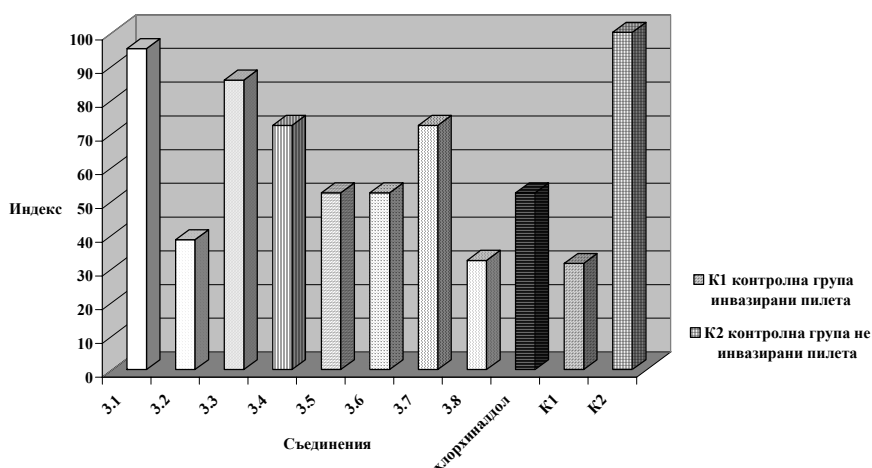
Във връзка с изследване на очакваното повишаване на теглото на пилетата под действие на алифатните и арилалифатните етери на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолините и техни перхлорати бяха проведени следните опити: Определяне на АКИ-антикокцидиен индекс на всички съединения, съпоставен с този на изходния хлорхиналдол, както и с този на контролните групи от инвазирани и неинвазирани пилета; Проследяване живото тегло на пилетата, инвазирани с *Eimeria tenella*, третирани със съответните съединения или с хлорхиналдол, както и на двете контролни групи от инвазирани и неинвазирани пилета в началото и в края на опита.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от изследване на антикокцидийната активност и нутритивното действие на етери на 5,7-дихалоген-2-метил-8-хидроксихинолини и техни перхлорати при пилета, заразени с *Eimeria tenella* са представени на фиг. 1. Резултатите показаха, че четири броя от изследваните съединения в дози 350

mg/kg фураж: ethyl 2-(5,7-dichloro-2-methylquinolin-8-yloxy)acetate /3.1/, 5,7-dichloro-2-methyl-8-(4-nitrobenzyloxy)quinoline /3.3/, 5,7-dibromo-8-(4-nitrobenzyloxy)quinoline /3.4/ и ethyl 2-(5,7-dibromoquinolin-8-yloxy)acetate perchlorat /3.7/ показват сравнително висока антикокцидийна активност изразена в стойностите на антикокцидийния индекс /АКИ/, съответно по 95.1, 85.8, 72.4 и 72.4. (фиг. 1). Тези стойности са по-високи от антикокцидийна активност на изходния хлорхиналдол /АКИ=52.4/ при същата доза. Най-висока антикокцидийна активност беше установена за съединение 3.1 (АКИ=95.1, фиг. 1), при максимално висок процент на преживяемост на пилетата (ПП=100%), равен на този от контролната група на неинвазираните пилета без добавка на изследваните съединения в храната им. Тези резултати, както и сравнително високият ПП при останалите активни съединения (съответно за съед. /3.3/-90 %, за съед. /3.4/-80 % и за съед. /3.7/-80 %) са указание за очаквана ниска токсичност на изследваните алифатни и арилалифатни етери на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини. Най-ниска антикокцидийната активност установихме за ethyl 2-(5,7-dibromoquinolin-8-yloxy)butanoate perchlorat /3.8/ (АКИ=32.4, фиг. 1).

Влиянието на новосинтезираните етери на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолина върху преживяемостта, живото тегло и усвоимостта на храната при инвазирани пилета е представено на фиг. 2. Резултатите от нашето изследване установиха, че най-добра преживяемост (ПП=100%) имат инвазираните пилета в храната на които е добавяна доза от 350 mg/kg фураж от съединение /3.1/, равно с това на контролната група от неинвазирани и нетретирани пилета. Добра преживяемост след инвазия и следващото лекуване показва и съединение /3.3/ (ПП=90%), при отчетена по-ниска преживяемост на пилетата третирани с хлорхиналдол (ПП=70 %). За контролната група от инвазирани пилета, без добавка в храната им от изследваните съединения преживяемостта е ниска (ПП=40 %). Резултатите



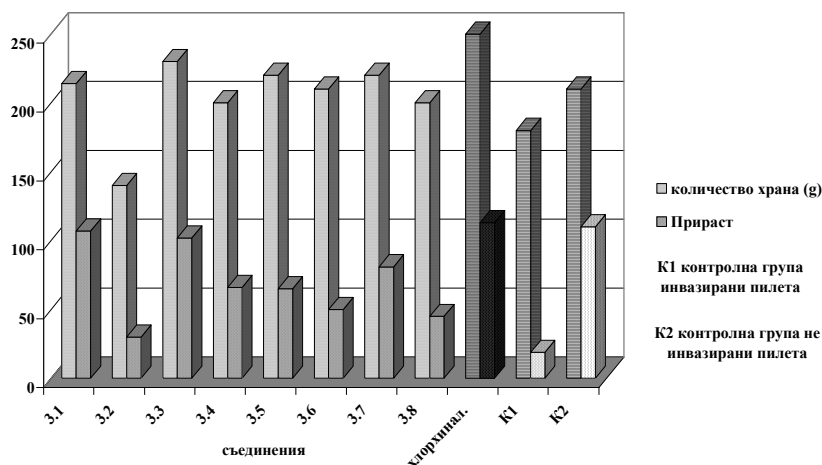
Фиг. 1. Антикоксидийна активност на нови етери и перхлорати на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини при инвазирани с *Eimeria tenella* пилета бройлери
 Fig. 1. Anticoccidial activity of new ethers and perchlorates of 5,7-dihalogen-8-hydroxyquinolines towards chicken broilers invaded with *Eimeria Tenella*

показаха, че по нарастване на живото тегло при инвазираните пилета най-добър ефект показва съединение /3.1/ (фиг. 2), за което бе установен и най-висок процент на усвояемост на храната (2.0%), следвано от съединение /3.3/ (2.25%), при стойност на този показател за хлорхиналдола 2.5 %.

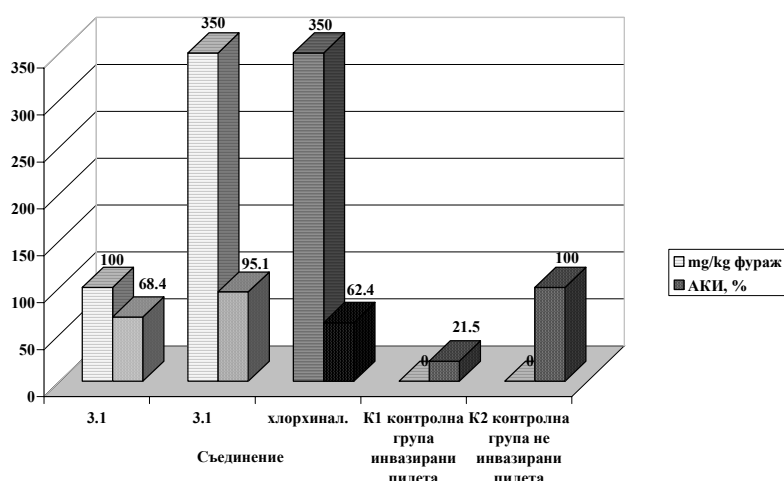
Със съединение /3.1/ бяха проведени допълнителни опити за установяване влиянието им върху живото тегло при две дози: 100 mg/kg фураж и 350 mg/kg фураж, при инвазирани с *Eimeria tenella* пилета (фиг. 3). Получените резултати от измерване на теглото в началото и в края на опита при пилета инвазирани с *Eimeria tenella* и лекувани със съединение 3.1

в доза 350 mg/kg фураж са еднакви с резултатите от незаразени и нетретирани със съединение 3.1 пилета (фиг.3). Лезийният индекс за съединение 3.1 при доза от 100 mg/kg фураж бе 2.3 (4.6), а при 350 mg/kg фураж - 1.3 (1.9), докато при използване на хлорхиналдол в доза от 350 mg/kg фураж, лезийният индекс бе 2.3 (4.6). За контролната група инвазирани нетретирани пилета бе установен лезиен индекс 3.4 (8.5).

Смята се, че антибиотичните растежни стимулатори понижават общия имунологичен стрес в организма и намаляват производството на вредни микробиални метаболити (например амоняк, индоли), създавайки още



Фиг. 2. Влияние на нови етери и перхлорати на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини върху прираста и усвояемостта на храната при инвазирани с *Eimeria tenella* пилета
 Fig. 2. Influence of new ethers and perchlorates of 5,7-dihalogen-8-hydroxyquinoline on the growth and food assimilation of chicken invaded with *Eimeria Tenella*



Фиг. 3. Антикоксидийна активност на съединение 3.1. в две дози - 100 mg/kg и 350 mg/kg фураж при инвазирани с *Eimeria tenella* пилета

Fig. 3. Anticoccidial activity of compound 3.1. in two doses - 100 mg/kg and 350 mg/kg fodder, towards chickens invaded with *Eimeria Tenella*

по-добри условия за подобряване здравето на животните. Антибиотиците имат най-силен ефект при птици, храната на които най-често е по-богата на несмилаеми протеини - източник на токсични метаболити (амоняк и биогенни амини), поради разпадането на тези протеини от бактериите в дебелото черво. По настоящем обаче приложението на антибиотиците в животновъдството е под въпрос, поради значителното намаляване на ефективността им като антибиотични растежни стимулатори (Klasing, 1998). През последните години антибиотичните растежни стимулатори са обект на внимателно наблюдение поради новите изисквания на пазара за безопасност на храните, правилата за контрол и опасността от развитие на резистентни към антибиотиците патогени, потенциално опасни за животинското и човешкото здраве. Тази придобита (изградена) резистентност на патогенните микроорганизми постепенно се превръща в наследствен фактор, в резултат на честата и неконтролирана употреба на антибиотици. Възникват хромозомни мутации чрез предаване от една клетка на друга, от един бактериален вид на друг, на т. нар. R-плазмиди - наследствени структури, носители на гени, отговорни за множествената резистентност (Spratt, 1994; Boothe, 2001). Стабилна основа

за контрол на ентеритите по птиците е изпълнението на научно издържани профилактични програми за контрол на кокцидиозите, позволяващи изграждане на добър имунитет срещу кокцидиите (Klasing, 1998). По тази причина синтезираните и изследвани от нас съединения с неантибиотичен произход, показали висока антикоксидийната активност (фиг. 1) и нутритивно действие (фиг. 2) се очертават като актуални за използване в превантивни програми за третиране срещу кокцидиоза при пилета. Съединенията 3.1 и 3.3, показали най-висока антикоксидийна активност, значително по-високи нива на растеж, по-нисък разход на фураж за единица прираст, пониска заболяемост, съчетана с ниска токсичност, представляват интерес за по-нататъшни клинични изследвания, с цел внедряване във фуража на птиците на биологично активни неантибиотични препарати. Използването на тези неантибиотични растежни стимулатори би отговорило на изискванията на съвременната модерна птицевъдна индустрия в Европа, която има задължението да произвежда не само достатъчни количества птиче месо, но носи отговорност към качеството на това, което предлага на консуматорите.

Резултатите от предварителния скрининг и от допълнителните опити установиха, че

две от новосинтезираните съединения: ethyl 2-(5,7-dichloro-2-methylquinolin-8-yloxy)acetate / съединение 3.1/ и 5,7-dichloro-2-methyl-8-(4-nitrobenzyloxy)quinoline /съединение 3.3/ имат антикокцидийно действие и стимулиращо увеличаване живото тегло на болни и на здрави пилета.

Получените резултати дават основание да се очертаят и някои тенденции в зависимостта между антикокцидийната активност и структурата на молекулата на съединенията: антикокцидийната активност на синтезираните от нас етери не зависи от вида на халогенния атом на пето и седмо място в хинолиновия пръстен; антикокцидийната активност на перхлоратите на синтезираните от нас етери рязко се повишава при замяна на хлорните с бромни атоми на пето и седмо място в хинолиновия пръстен.

ИЗВОДИ

Синтезираните от нас етери на 5,7-дихалоген-8-хидроксихинолини и перхлорати проявяват по-висока антикокцидийна активност от използвания в практиката антикокцидийен препарат хлорхиналдол.

Процентът на преживяемост на инвазираните и третирани с изследваните етери пилета е по-висок в сравнение с тези третирани с перхлорати.

Най-ниска антикокцидийната активност бе установена за ethyl 2-(5,7-dibromoquinolin-8-yloxy)butanoate perchlorat /3.8/ (АКИ=32.4).

Най-висок антикокцидийен индекс бе установен за ethyl 2-(5,7-dichloro-2-methylquinolin-8-yloxy)acetate /3.1/ (АКИ=95.1) и за 5,7-dichloro-2-methyl-8-(4-nitrobenzyloxy) quinoline /3.3/ (АКИ=85.8); Тези съединения освен антикокцидийно имат и нутритивно действие, при болни и здрави пилета и представляват интерес за по-нататъшни клинични изследвания, с цел евентуално внедряване във практиката като биологично активни неантибиотични препарати.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Георгиева, Н. В.**, 2005. Микробиологична активност на новосинтезирани производни на хинолин-8-ол. Животновъдни науки, XLII (6), 59- 62.
2. **Павлов, А., Н. Такучев, Ст. Червенков**, 2005. Прогнозиране на антимицробната активност при производни на 8-хидроксихинолина, Науч. конф. с международно участие, Съюз на учените, Ст. Загора, т.1. Техн. науки, химия, физика, 431-437.
3. **Abd-Alla, M. A., A. H. Ahmed, M. F. El-Zohry, F. A. Omar**, 1992. Synthesis and antibacterial activity of certain quinoline derivatives, Czech. Chem Commun., 57, 1547-1552.
4. **Bahal, S. M. and M. L. Khorana**, 1961. Quinoline derivatives as antiinfective agents, J. of Pharm. Sci., 50 (2), 127-133.
5. **Boothe, D. M.**, 2001. Antimicrobial Drugs. In: Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics, 1-st edition, D.M.Booth, W.B.S.aunders, Company, Philadelphia, USA
6. **Brit. pat.**, 1965. Animal feeds. Brit. pat. №1 003 477.
7. **Chapman, H. D.**, 1999. The development of immunity to Eimeria species in broilers given anticoccidial drugs, Avian Pathology, 28, 155-162.
8. **Deprez, E., S. Barbe, M. Kolaski, H. Leh, F. Zouhiri, Ch. Auclair, J-C. Brochon, M. Le Bret, J-F. Mouscadet**, 2004. Mechanism of HIV-1 Integrase Inhibition by Styrylquinolines Derivatives in Vitro, Mol. Pharmacol., 65, 85-98.
9. **Ferket, P. R.**, 2004. Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical, experience and recommendations. In " Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry: Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium", Eds. T.P.Lyons and K.A.Jacques, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 57-67.
10. **Georgieva, N. V., V. Koinarski, V. Gadjeva**, 2006. Antioxidant status during the course of an Eimeria tenella in broiler chickens. The Veteri-

- nary Journal, 172 (3), 488-492.
11. **Klasing, K.**, 1998. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases, Poultry Science, 77, 1119-1125.
 12. **Koinarski, V., N. Georgieva, V. Gadjeva, P. Petkov**, 2005. Antioxidant status of broiler chickens, infected with *Eimeria acervulina*. Revue de Medecine Veterinaire, 156 (10), 498-502.
 13. **Nicoletti, G., E. Domalewska, R. Borland**, 1999. Fungitoxicity of oxin and copper oxinate: activity spectrum, development of resistance and synergy, Mycol. Res., 103, 1073-1084.
 14. **Ouali, M., C. Laboulais, H. Leh**, 2000. Modeling of the inhibition of retroviral integrases by styrylquinoline derivatives, J. Med. Chem., 43, 1949-1957.
 15. **Spratt, B. G.**, 1994. Resistance to antibiotics mediated by target alteration, Science, 264, 388-393.
 16. **Varbanova, S., S. Chervenkov, V. Koynarski, A. Pavlov**, 1990. Examining antibacterial activity of some new 5,7-dihalogen-8-hydroxyquinolines and their nutritive action in *Eimeria tenella* infected chickens, Comptes rendus Acad. bulg. Sci., 43 (9), 81-84.
 17. **Zouhiri, F., J. F. Mouscadet, K. Mekouar, D. Desmaele, D. Savoure, H. Leh, F. Subra, M. Le Bret, C. Auclair, J. D'Angelo**, 2000. Structure-activity relationships and binding mode of styrylquinolines as potent inhibitors of HIV-1 integrase and replication of HIV-1 in cell culture. J. Med. Chem., 43, 1533-1540.

ALIPHATIC AND ARYLALIPHATIC ETHERS OF 5,7-DIHALOGEN-8-HYDROXYQUINOLINES AND THEIR PERCHLORATES AS POTENTIAL NUTRITIVE AND ANTICOCIDIAL REMEDIES

A. Pavlov, N. V. Georgieva, Z. Yaneva, L. Dospatliev, V. Koinarski
Trakia University, Faculty of Veterinary Medicine - Stara Zagora*

SUMMARY

The determination of the anticoccidial activity of eight newly synthesized derivatives of substituted 8-hydroxyquinolines was carried out with 21-day-old chicken broilers, Cornish x Plymouthrock breed. According to the obtained screening results, two of the newly synthesized compounds: ethyl 2-(5,7-dichloro-2-methylquinoline-8-yloxy)acetate /3.1/ and 5,7-dichloro-2-methyl-8-(4-nitrobenzyloxy) quinoline /3.3/, displayed anticoccidial activity and stimulated the live weight increase of infected and healthy chickens, at 350 ppm draughts. The highest anticoccidial activity was shown for compound /3.1/ (anticoccidial index-ACI = 95.1), at the highest chicken survival percent (SP=100%), equal to that of the non-invaded chickens control group without the addition of the investigated compounds to their food. A high SP was also observed for compounds: 5,7-dichloro-2-methyl-8-(4-nitrobenzyloxy)quinoline /3.3/ 90 %, 5,7-dibromo-8-(4-nitrobenzyloxy)quinoline /3.4/ 80 % and for ethyl 2-(5,7-dibromoquinolin-8-yloxy)acetate perchlorate /3.7/ 80 %. The lowest anticoccidial activity (ACI = 32.4) was determined for ethyl 2-(5,7-dibromoquinoline-8-yloxy)butanoate perchlorate /3.8/.

Key words: *chlorquinaldol, 8-hydroxyquinoline, ethers, perchlorates, Eimeria tenella, anticoccidial preparations*

*e-mail: nvgeorgieva@vmf.uni-sz.bg