

УДК 577.18 я (075.8)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ РЯДА ЕНАМИНОВ И ИХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНАЛОГОВ В ОТНОШЕНИИ РЕФЕРЕНС-ШТАММОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ

¹Нечаева О.В., ²Шуршалова Н.Ф., ²Заярский Д.А., ³Тихомирова Е.И.,

²Сорокин В.В., ³Вакараева М.М., ³Веденева Н.В.

¹*Саратовский государственный медицинский университет*

им. В.И. Разумовского, Саратов, e-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru;

²*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов;*

³*Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов, e-mail: ecology@sstu.ru*

Исследовали антимикробную активность пяти гетероциклических соединений ряда енаминов. Выбран адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилат с выраженной антибактериальной активностью в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Это соединение было использовано в качестве «ядра» при конструировании инновационного препарата по технологии «ядро-оболочка». «Оболочка» создавалась путем последовательной адсорбции на поверхности «ядра» биосовместимого полимера – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат ионами йода. Созданный препарат обладал более высокой антимикробной активностью в отношении всех исследуемых микроорганизмов по сравнению с исходным гетероциклическим соединением, особенно в отношении синегнойной палочки. Создание структур «ядро-оболочка» на основе соединений ряда енаминов, обладающих антимикробными свойствами, и биосовместимых полимеров, является перспективным направлением повышения эффективности синтетических препаратов, обладающих антимикробной активностью, за счет эффекта синергидного действия.

Ключевые слова: референс-штаммы, енамины, структура «ядро-оболочка», антимикробная активность, полиазолидинаммония

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE ENAMINE COMPOUNDS AND THEIR MODIFIED ANALOGUES IN RESPECT OF THE REFERENCE STRAINS AND CLINICAL ISOLATES OF BACTERIA TO

¹Nechaeva O.V., ²Shurshalova N.F., ²Zayarskiy D.A., ³Tikhomirova E.I.,

²Sorokin V.V., ³Vakaraeva M.M., ³Vedeneva N.V.

¹*Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru;*

²*Saratov State University n.a. N.G. Chernyshevsky, Saratov;*

³*Saratov State Technical University n.a. Yu.A. Gagarin, Saratov, e-mail: ecology@sstu.ru*

Research of antimicrobial activity of five heterocyclic enamine compounds of was conducted. From those we selected adamantylmethilene- cyclohexene-dicarboxylate with high antibacterial properties towards reference-strains and clinical isolates of Gram-positive and Gram-negative bacteria. We created the in which «core-shell» structure adamantylmethilene- cyclohexene -dicarboxylate acted as a core. The cover was created by consecutive adsorption of biocompatible polymer on «core-shell» surfaces. That polymer was poly azolidine ammonium the hydrate ions of halogens. Increase of antimicrobial activity of the «core-shell» structure towards all studied microorganisms (compared with initial heterocyclic compound) was established. The synergic effect of enamines and polymeric was found. Therefore, creation «core-shell» structure on the basis of heterocyclic compounds with antimicrobial properties and biocompatible polymers is the perspective direction of efficiency increase of the synthetic preparations possessing biological activity.

Keywords: reference strains, enamines, «core-shell» structure, antimicrobial activity, poly azolidine ammonium

В настоящее время одной из основных проблем практической медицины и ветеринарии является преодоление приобретенной лекарственной устойчивости, которая возникает в процессе использования химиотерапевтических препаратов. Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является внедрение новых антимикробных средств, полученных путем направленного синтеза химических соединений с заданными биологическими свойствами, поскольку установлена зависимость противомикробной активности

препаратов от их химической структуры. Необходимость в новых препаратах также связана с расширением их антимикробного спектра, повышением активности в отношении полирезистентных возбудителей, снижением токсических свойств.

Поскольку поиск химических соединений, обладающих выраженной антимикробной активностью и низкой токсичностью для макроорганизма, является актуальным, представляло интерес изучить антимикробные свойства гетероциклических соединений ряда енаминов, а также их

модифицированных аналогов в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Выбор соединений ряда енаминов связан с тем, что они являются структурными аналогами противовирусных препаратов. Перечень исследуемых соединений представлен в табл. 1.

На первом этапе работы была изучена антимикробная активность исследуемых соединений. Рабочее разведение препаратов готовили в 0,1% ДМСО. Соединения А-1, А-3, Т-1 и Т-2 плохо растворялись даже при высокой концентрации ДМСО, и их рабочие разведения представляли собой суспензии, в которых через некоторое время выпадал осадок.

Из всех исследованных соединений наилучшей растворимостью характеризо-

валось соединений А-2. Антимикробная активность соединения А-2 представлена в табл. 2.

Таблица 1
Перечень гетероциклических соединений ряда енаминов

№ п/п	Лабораторный шифр соединения	Сокращенное название
1.	A1	Адамантилметилен-аминоциклогексен-дикарбоксилат
2.	A2	Адамантилметилен-циклогексен-дикарбоксилат
3.	A3	Адамантилметилен-енамин
4.	T1	Тетрагидро[1,2,4]-триазоло[3,4-b]хиназолин
5.	T2	Триазолохиназолин

Таблица 2
Антимикробная активность адамантилметилен-циклогексен-дикарбоксилата

	Концентрация соединения, мкг/мл										К
	100	50	25	12,5	6,4	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	
<i>S. aureus</i> 209 P	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 2	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 6	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 21	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 23	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 92	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 430	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i> 8035	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 113-13	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

В ходе проведенных исследований было установлено, что МПК соединения А-2 для стандартного штамма *S. aureus* 209 P и клинического штамма *S. aureus* № 21 составила 25 мкг/мл, для клинических штаммов *S. aureus* № 2, *S. aureus* № 23 – 50 мкг/мл, *S. aureus* № 92, *S. aureus* № 430 – 100 мкг/мл. МПК А-2 для *B. cereus* 8035 – 50 мкг/мл, а для *E. coli* 113-13 – 100 мкг/мл. Для *P. aeruginosa* ATCC 27853 не удалось определить МПК А-2, т.к. во всех пробирках наблюдался рост в виде равномерного помутнения со слизистой пленкой на поверхности. При концентрации соединения А-2 100 мкг/мл наблюдалось нарушение пигментации у *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Поскольку ранее нами было установлено, что ПААГ обладает выраженной антимикробной активностью в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий (Вакараева, Нечаева, 2013), представляло интерес изучить био-

логическую активность структуры «ядро-оболочка», в которой в качестве ядра выступало соединение А-2, вокруг которого путем последовательной адсорбции создавалась полиэлектролитная оболочка 1% ПААГ. Биологическую активность структур «ядро-оболочка» оценивали с использованием метода серийных разведений. Полученные результаты представлены в табл. 3.

В ходе проведенных исследований установлено повышение биологической активности соединения А-2 после его модификации полимером ПААГ. На рис. 1 представлены диаграммы МПК соединения А-2, а также его модификации ПААГ в виде структуры «ядро-оболочка» в отношении стандартных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Наблюдалось повышение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» в отношении стандартных штаммов *S. aureus* 209 P в 62 раза, *B. cereus* 8035 – в 16 раз, *E. coli*

113-13 – в 2 раза. МПК модифицированного соединения А-2 для *P. aeruginosa* ATCC 27853 составила 25 мкг/мл, хотя при ис-

пользовании соединения А-2 в исследуемых концентрациях МПК для синегнойной палочки установить не удалось.

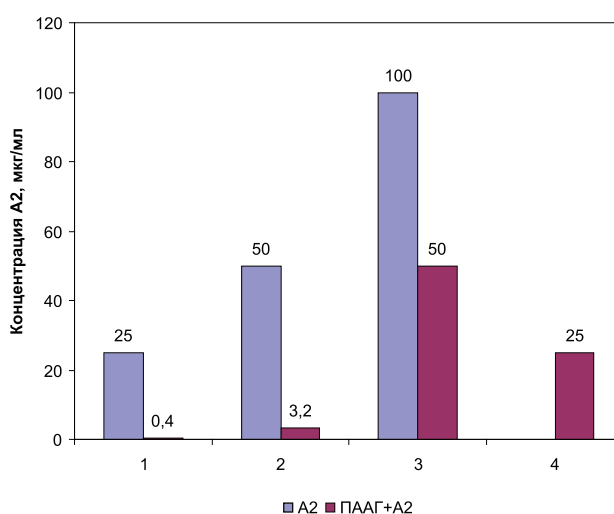


Рис. 1. МПК А-2 и структуры «ядро-оболочка» ПААГ+А-2 в отношении референс-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий: 1 – *S. aureus* 209 P; 2 – *B. cereus* 8035; 3 – *E. coli* 113-13; 4 – *P. aeruginosa* ATCC 27853

Таблица 3

Биологическая активность структуры «ядро-оболочка» адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата, модифицированного ПААГ

	Концентрация соединения А-2, мкг/мл										
	100	50	25	12,5	6,4	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	К
<i>S. aureus</i> 209 P	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>S. aureus</i> № 2	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 6	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 21	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 23	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 92	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> № 430	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i> 8035	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 113-13	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+

На рис. 2 представлены диаграммы МПК соединения А-2, а также его модификации ПААГ в виде структуры «ядро-оболочка» в отношении референс-штамма и клинических изолятов золотистого стафилококка. Отмечено повышение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» по сравнению с исходным соединением А-2 в отношении референс-штамма *S. aureus* 209 P и клинических изолятов *S. aureus* № 6 и № 23 – в 62 раза, *S. aureus* № 2, № 21 и № 92 – в 32 раза, *S. aureus* № 430 – в 16 раз.

Помимо этого во всех случаях наблюдался синергидный эффект взаимодействия гетероциклического соединения с полиме-

ром, который в итоге приводил к повышению антимикробных свойств ПААГ. Особенно ярко это проявлялось в отношении *P. aeruginosa* ATCC 27853: происходило увеличение антимикробной активности структуры «ядро-оболочка» по сравнению с ПААГ в 2,5 раза.

В ходе проведенных исследований нами было установлено, что повышение биологической активности структуры «ядро-оболочка» соединения А-2 и ПААГ в большей степени выражено в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных бактерий. Более высокие значения МПК в отношении стандартных

штаммов грамотрицательных бактерий, вероятно, связаны с особенностями строения их клеточной стенки.

Таким образом, полученные результаты позволяют нам рассматривать соединение ряда енаминов адамантилметиленициклогексен-дикарбоксилат в комплексе

с ПААГ как перспективный антимикробный препарат, а создание комплексов «ядро-оболочка» на основе гетероциклических соединений и биосовместимых полимеров – эффективными для повышения биологической активности синтетических препаратов.

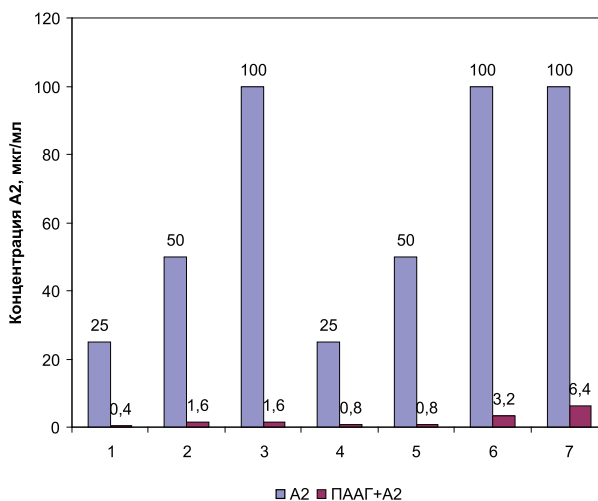


Рис. 2. МПК А-2 и структуры «ядро-оболочка» ПААГ+А-2 в отношении референс-штаммов и клинических изолятов коагулазоположительных стафилококков: 1 – *S. aureus* 209 P; 2 – *S. aureus* № 2; 3 – *S. aureus* № 6; 4 – *S. aureus* № 21; 5 – *S. aureus* № 23; 6 – *S. aureus* № 92; 7 – *S. aureus* № 430

Список литературы

1. Бабенышева А.В., Лисовская Н.А. Синтез и антимикробная активность замещенных бензоксазинов и хиноксалинов // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – № 10. – С. 34–36.
2. Ботаева А.А., Красных О.П., Дубровина С.С. и др. Синтез и противомикробная активность метиловых эфиров 2-(тет)арил-амино-4-оксо-2-бутеновых кислот и продуктов их модификации // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 8. – С. 12–15.
3. Козлов Р.С. Клиническое значение резистентности грамположительных бактерий // Инфекции в хирургии. – 2009. – Т. 7. – Приложение № 1. – С. 3–10.
4. Коньков С.А., Моисеев И.К. Синтез пиразолов и пиразолонов на основе 1,3- и 1,4-дикетонов адамантанового ряда // Журнал органической химии. – 2009. – Т. 45, Вып. 12. – С. 1828–1831.
5. Сидоренко С.В., Агапова Е.Д., Александрова И.А. Перекрестная и ассоциированная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, устойчивых к цефалоспорином 3 поколения // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53, № 1-2. – С. 3-10.
6. Boyle-Vavra S., Carey R.B., Dauma R.S. Development of vancomycin and lysostaphin resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate / S. Boyle-Vavra, // J. Antimicrob. Chemother. – 2001. – Vol. 48, № 5. – P. 617–625.
7. Cui L., Ma X., Sato K. et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 1. – P. 5–14.

References

1. Babenysheva A.V., Lisovskaya N.A., Sintez i antimikrobnaya aktivnost zameshennykh benzoksazinov i hinoksalinov., Himiko-farmaceuticheskii zhurnal 2006, 34–36 p.

2. Botaeva A.A., Krasnyh O.P., Dubrovina S.S., Sintez i protivomikrobnaya aktivnost metilovykh efirov 2-aril-amino-4-okso-2-butenovykh kislot i produktov ih modifikacii., Himiko-farmaceuticheskii zhurnal, 2008, 12–15 p.

3. Boyle-Vavra S., Carey R.B., Dauma R.S., Development of vancomycin and lysostaphin resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates S. Boyle-Vavra, J. Antimicrob. Chemother. 2001, 617–625 p.

4. Kozlov R.S., Klinicheskoe znachenie rezistentnosti grampozlozritelnykh bakteriy Infekcii v hirurgii., 2009, 3–10 p.

5. Konkov S.A., Moiseev I.K., Sintez pirazolov i pirazonov na osnove 1,3- i 1,4-diketonoov adamantanovogo ryada. Zhurnal organicheskoy himii, 2009, 1828–1831 p.

6. Sidorenko S.V., Agapova E.D., Aleksandrova I.A., Perekrestnaya i associirovannaya antibiotikorezistentnost gramotricatelnykh bakteriy semeystva *Enterobacteriaceae*, ustoychivyyh k cefalosporinam 3 pokoleniya. Antibiotiki i himioterapiya, 2008, 3–10 p.

7. Cui L., Ma X., Sato K. et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol, 2003, Vol. 41, 5–14 p.

Рецензенты:

Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой «Микробиология, вирусология и биотехнология» Саратовского государственного аграрного университета имени Н.И. Вавилова, г. Саратов;

Луцевич И.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гигиены медико-профилактического факультета СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.