

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ N-R-АЛКИЛАМИНОВ

Николай Ю. Голик¹, Андрей Н. Комиссаренко¹, Сергей В. Колесник¹,
Эльшан Ю. Ахмедов¹, Татьяна П. Осолодченко², Елена В. Менкус²

¹Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

²ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова НАМН Украины»

Ключевые слова: N-R-алкиламины, амид, антибактериальная активность

Всего через четыре года после того, как в 1943 г. фармацевтические компании начали массовое производство пенициллина, стали появляться микроорганизмы, которые могли противостоять этому средству, и *Staphylococcus aureus* был первым видом бактерий, который смог эффективно адаптироваться к воздействию этого принципиально нового лекарственного средства. Определяющим фактором в развитии устойчивости к антибиотикам является использование, а особенно ненадлежащее назначение антибиотиков [1].

Исследования и разработки новых препаратов, включая лекарства, вакцины и новые диагностические средства, имеют жизненно важное значение, для защиты будущих поколений.

«В связи с отсутствием оперативных и согласованных действий многих заинтересованных сторон, наш мир вступает в эпоху, когда антибиотики теряют эффективность, и обычные инфекции, и небольшие травмы, которые можно было излечивать в течение многих десятилетий, сейчас могут снова убивать, — говорит Помощник Генерального директора ВОЗ по безопасности здравоохранения д-р Кейджи Фукуда (Keiji Fukuda). Эффективные антибиотики были одним из важнейших элементов, которые позволяли нам жить дольше, быть более здоровыми и пользоваться преимуществами современной медицины. Если мы не примем существенных мер для улучшения профилактики инфекций и не изменим методы изготовления, назначения и использования антибиотиков, наш мир будет все больше и больше утрачивать эти достижения общественного здравоохранения, и последствия этого бездействия будут опустошительны» [2].

Однако, сложность процессов научных исследований и разработки лекарственных средств, а также наличие негативных факторов финансового характера в отношении антибиотиков являются серьезными причинами, препятствующими скорому появлению новых эффективных антибиотиков на рынке. По оценкам, затраты на выведение нового химического средства на рынок варьируется от 0,5 млрд. до 2 млрд. долл. США [3].

Доклад ВОЗ в 2014 году о глобальном эпидемиологическом обследовании в области устойчивости к противомикробным препаратам, свидетельствует о том, что устойчивость к антибиотикам не является больше прогнозом на будущее; она имеет место уже сейчас, во всем мире, и ставит под угрозу способность лечить распространенные инфекции на уровне отдельных сообществ и в больницах. Также широко распространена устойчивость к препаратам первой линии для лечения инфекций, вызываемых *Staphylococcus aureus* [4].

В последние десятилетия наибольшее внимание в фармацевтической промышленности уделяется разработке лекарственных средств на основе биологически активных веществ, которые участвуют в процессах жизнедеятельности человека. Перспективны в этом плане аминокислоты, выполняющие в организме важную роль строительного материала для синтеза специфических тканевых белков, ферментов, пептидных гормонов и других соединений.

Исходя из выше перечисленного, нам стало интересно проследить, как влияют различные функциональные группы на антибактериальную активность производных N-R-алкиламинов, т.к. в известных нам источниках производные N-R-алкиламинов (к которым можно причислить и производные

аминокислот) антибактериальной активностью не обладают.

Материал и методы

С целью установления зависимости антимикробной активности от введения функциональных групп производных N-R-

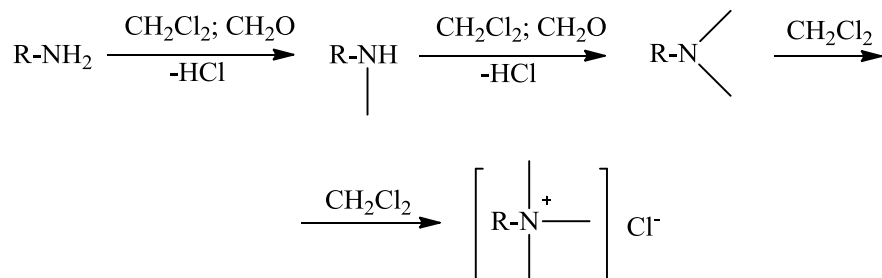
алкиламинов были использованы следующие ряды: алкиламины (соединения **1-6**), аминоспирты (соединения **7-9**), N-метил-N-карбоксиметиламины (соединения **10-12**) (см. таблицу).

Таблица. Антибактериальная активность исследуемых образцов

№	Структурная формула	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Escherichia coli ATCC 25922	Proteus vulgaris ATCC 4636	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Bacillus subtilis ATCC 6633	Candida albicans ATCC 653/885
1	2	3	6	7	8	9	10
1	$\text{H}_2\text{N}-$	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
2	$-N-$	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
3	$-N-$	15,15,16	14,14,15	10,10,10	10,10,10	15,16,15	14,13,13
4	NH_2	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
5	N	12, 13, 13	12,12,12	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
6	N	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
7	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
8	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	13,13,12	12,13,12	10,10,10	10,10,10	10,10,10	10,10,10
9	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	20,21,20	15,15,16	20,19,19	18,18,19	21,22,21	14,14,15
10	N	40, 42, 43	26, 25, 25	23, 25, 24	22, 23,24	39, 37,37	18, 18,17
11	N	40, 42, 42	25, 25, 26	22, 21, 19	20, 21,19	39, 39,38	20, 18,18
12	$\left[\text{N}^+ \right] \text{Cl}^-$	42, 42, 44	25, 25, 26	22, 23, 24	23, 22,22	39, 38,38	19, 20,19

Исследуемые соединения были получены из коммерческих источников либо синтезированы согласно разработанных ранее синтетических схем. Реактивы были закуплены у «Sigma-Aldrich» (США) и использовались без дополнительной очистки. Тестировались 1% водные растворы в пересчете на первич-

ное основание до модификации. Методы синтеза алкиламинов, аминоспиртов и N-метил-N-карбоксиметиламинов давно хорошо известны. Мы использовали классические методы получения [5-11]. Общая схема получения производных N-R-алкиламинов представлена на схеме:



где R = -CH₃; -CH₂CH₃; -(CH₂)₂OH; -CH₂COOH

Реакцию метилирования проводили при pH 7,5-8. pH среду контролировали на pH 150МИ (ООО «Измерительная техника» Россия, Москва).

В соответствии с рекомендациями ВОЗ для оценки антибактериальной активности препаратов использовали следующие тест-штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653. Суспензию исследуемого микроорганизма готовили согласно методики [12]. Стандартизацию приготовленной бактериальной суспензии микроорганизмов проводили с использованием прибора Densi-La-Meter (производство PLIVA-Lachema, Чехия). Синхронизация культур с помощью изменения температуры культивирования достигалась однократным действием низкой температуры (4°C). Микробная нагрузка составляла 10^7 микробных клеток на 1 мл среды и устанавливалась по стандарту McFarland. В работу брали 18-24 часовую культуру микроорганизмов.

Для исследований использовали агар-Мюллера-Хинтона («HI Media Laboratorles Pvt. Ltd India» срок годности среды до XI 2016 г. Производство Индия).

Диффузию препарата в агар проводили методом «колодцев» [13]. При оценке активности соединений, а также при изучении антибиотикоустойчивых штаммов использовали следующие критерии:

- отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг лунки, а также диаметр зоны задержки до 10 мм - микроорганизм не чувствителен к внесенному в лунку препарату или концентрации антибиотика;

- зоны задержки роста диаметром 10-15 мм - малая чувствительность культуры к данной концентрации исследуемого вещества;

- зоны задержки роста диаметром 15-25 мм - чувствительность микроорганизма к исследуемому веществу;

- зоны задержки роста, диаметр которых превышает 25 мм - высокая чувствительности микроорганизмов к исследуемому веществу.

Литература

1. 61 сессия Европейского регионального комитета ВОЗ //Баку, Азербайджан, 12-15 сентября 2011 г. с. 1.

Данные результатов исследования антибактериальной активности 1% растворов исследуемых образцов представлены в таблице.

Результаты и обсуждение

В результате предварительных исследований установлено, что соединения **1-7** обладают малой чувствительностью представленным штаммам. Соединения **8-9**, в зависимости от увеличения количества гидроксильных радикалов, несколько усиливают антимикробную активность. Наиболее перспективными из тестируемых соединений оказались те, что содержат в молекуле карбоксильную группу и метильные радикалы. Именно это объединение заместителей, как мы считаем, способствует высокой микробицидной активности относительно исследуемых штаммов. Увеличение числа метильных радикалов соединений **10-12** приводит к значительному увеличению активности зоны задержки роста и составляет 39-42 мм, особенно в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Basillus subtilis* ATCC 6633 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Выводы

1. В результате предварительных исследований была предпринята попытка систематизировать взаимосвязь «структура-действие» производных N-R-алкиламинов, в зависимости от введения различных функциональных групп.

2. Введение в молекулу трех спиртовых групп можно расценивать, как показатель чувствительности микроорганизма к испытываемой субстанции, что также характерно и при введении карбоксильной группы.

3. Установлено, что на антибактериальную активность влияет введение карбоксильной и метильных групп. В частности, метилирование глицина свидетельствует о высокой чувствительности микроорганизмов к изучаемым веществам, что доказывает перспективность поиска в данном ряду соединений.

2. Доклад ВОЗ, Женева, 30 апреля 2014 г.
3. 61 сессия Европейского регионального комитета ВОЗ // Баку, Азербайджан, 12-15 сентября 2011 г. с. 9.
4. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru/>
5. Бобков С.С., Смирнов С.К. Синильная кислота // Москва, Химия, 1970. с.141.
6. Вейганд-Хильгетаг. Методы эксперимента в органической химии. Часть 2. Методы синтеза // Пер. с нем., Москва, Химия, 1968. 944 с.
7. Голодников Г.В., Мандельштам Т.В. Практикум по органическому синтезу // Ленинград, Издательство Ленинградского университета, 1976, с. 92-93.
8. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник // 3-е изд., перераб. и доп., Ленинград, Химия, 1991. 432 с.
9. Gallant R. W. Hydrocarbon Processing - 1973 - v. 52 - № 11 - p. 150.
10. Kirk-Othmer encyclopedia - 3 ed., - v.1- N. Y. – 1978 - p. 944.
11. Kirk-Othmer encyclopedia - 3 ed., - v. 2 - N. Y. – 1978 - p. 272-82.
12. Інформаційне письмо о нововведеніи в системі охорони здоров'я № 163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій”, г. Київ.
13. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод рекомендацій. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова, Київ, Авіценна, 2001. 528 с.

N-R-ALKILAMİN TÖRƏMƏLƏRİNİN ANTİMİKROB FƏALLIĞI

Nikolay Y. Qolik¹, Andrey N. Komissarenko¹, Sergey V. Kolesnik¹, Elşən Y. Əhmədov¹,
Tatyana P. Osolodchenko², Yelena V. Menkus²

¹ Milli Əczaçılıq Universiteti, Xarkov, Ukrayna

² «Ukrayna MTEA İ.İ.Meçnikov adına Mikrobiologiya və İmmunologiya İnstitutu» DM

Açar sözlər: N-R-alkilaminlər, amid, antibakterial fəallıq

Aparılmış ilkin kimyəvi və mikrobioloji tədqiqatlar nəticəsində N-R-alkilamin törəmələri sırasında bioloji fəal maddələr aşkar olunublar. Onlardan bəziləri test-şammlara qarşı çox yüksək fəallıq göstərmişlər ki, bu da həmin sırada yeni antimikrob maddələrin axtarılmasını perspektivli olduğunu göstərir.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE N-R-ALKYLAMİNES DERIVATIVES

Nikolay Y. Qolik¹, Andrey N. Komissarenko¹, Sergey V. Kolesnik¹, Elshan Y. Ahmedov¹,
Tatyana P. Osolodchenko², Yelena V. Menkus²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

²State department "Institute of Microbiology and Immunology after I.I.Mechnikov National Akademii Medical Sciences of Ukraine"

Key words: N-R-alkylamines, amides, antibacterial activity

Biologically active compounds in the series of N-R-alkylamines were determined in the result of preliminary chemical and microbiological experiments. Some compounds showed a very good activity against the test strains under study, which proves perspectives for the research of new antimicrobial agents in this compounds series.

©Müəlliflər kollektivi, 2015