

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2013
УДК 615.322.07 (075.8)

Антимікробна активність производных ацилированных таннидов

Альхуссейн Али Мустафа, А.В.Мартынов

Государственная организация «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова НАМН Украины»,
лаборатория клинической микробиологии
Харьков, Украина

Изучено противомикробное и противогрибковое действие 14 ацилированных комбинаторных производных таннидов. Установлено, что большинство исследованных соединений обладают умеренной и высокой антимикробной и противогрибковой активностью. Показана значительная антигрибковая активность сукцинированных и малеинированных галлотанинов на уровне нистатина в дозе менее 62,5 мкг/мл. Ацилирование таннидов приводит к расширению спектра действия ацилтанидов на несколько микроорганизмов, а именно *E.coli*, *S.flexneri*, *P.Aeruginosa*, *P.vularis* и грибов *C.albicans*, *M.lanosum*, *T.mentagraphytes*, *A.niger* в дозах МПК=12,5-250 мкг/мл

Ключевые слова: антимикробная активность, противогрибковая активность, танниды.

ВВЕДЕНИЕ

Антимикробная терапия широко применяется в медицинской и ветеринарной практике. Для целей антимикробной терапии используется множество групп биологически активных веществ как с бактерицидной, так и с бактериостатической активностью [1, 2]. Широкое применение большого арсенала антимикробных средств обусловило естественный отбор среди микроорганизмов и появление новых резистентных штаммов [1, 3, 6]. Соответственно, актуальной проблемой современной медицины является эффективное лечение инфекционных заболеваний, вызванных резистентными и полирезистентными штаммами микроорганизмов. [3, 4]. Многие из разработанных в последнее время антимикробных препаратов обладают значительными побочными эффектами, кроме того, бактерии часто имеют перекрестную резистентность к этим препаратам. [5, 6]. Таким образом, актуальной задачей современной фар-

мации остается разработка нетоксичных и высокоэффективных антимикробных препаратов из новых групп [7, 8]. Одной из таких групп, к которым не известны случаи резистентности бактерий, являются танниды [10]. Мы предположили, что ацилирование таннидов позволит увеличить их стабильность, уменьшить скорость инактивации в течение времени и увеличить антимикробную и противогрибковую активность.

Целью исследования было изучить антимикробную и противогрибковую активность 14 новых комбинаторных производных таннидов галловой и эллаговой кислот, ацилированных ангидридами янтарной и малеиновой кислот.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были семь комбинаторных производных промышленного галлотанина с разной степенью модификации структуры и семь комбинаторных производных эллаготанина из шишек ольхи (альтан). Эллаготанин был любезно предоставлен для исследований ПАТ «НПЦ «Борщаговский хим.-фарм. завод». Соединения III представляли собой частично сукцинированные эллаготанины, соединения V — частично малеинированные эллаготанины, соединения VII — частично сукцинированный галлотанин, соединения VIII — частично малеинированный галлотанин.

Антимикробную активность соединений изучали на коллекции тест-штаммов микроорганизмов, полученных из музея микроорганизмов института и музеев живых культур разных лабораторий ГУ «ИМИ НАМН» (г. Харьков), а также национального музея микроорганизмов ГНКИБШМ (г. Киев) по договору о творческом сотрудничестве. Коллекция включала в себя следующие штаммы: бактерий — *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк), *E.coli* (кишечная палочка), *Shigella flexneri* (дизентерийная палочка), *B. anthracoides* (антракоид), *Proteus vul-*

garis (вульгарный протей), *Pseudomonas aureginosa* (синегнойная палочка); грибов — *Candida spp.* (дрожжеподобные грибы рода Кандида), *Microsporium Ian.* (возбудитель микроспории), *Trich. mentagrophytes* (возбудитель трихофитий), *Aspergillus niger* (аспергиллы).

Для культивирования бактерий использовали бульон Хоттингера (рН 7,2-7,4), а для грибов среду Сабуро (рН 6,0-6,8). Часть исследований проводили на базе указанных институтов [9, 11].

Антимикробную и фунгистатическую активность оценивали по минимальной подавляющей концентрации (МПК) — наименьшему количеству вещества, которое полностью задерживало рост бактерий или грибов после выращивания. МПК определяли общепринятым методом серийных разведений с коэффициентом 2 в жидкой питательной среде. С этой целью готовили исходное разведение испытуемого соединения с концентрацией 500 мкг в 1 мл питательной среды (бульон Хоттингера). В дальнейшем проводили последовательное двукратное разведение, в результате чего в 1 мл питательной среды содержалось 250; 125; 62,5; 31,25 мкг/мл и т.д. Эталонами сравнения служили нистатин и этакридина лактат [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью исследованных соединений является их необычная структура — это смеси высокомолекулярных танинов с разной моле-

кулярной массой. Ацилирование части фенольных гидроксильных групп в их структуре приводит к образованию большого количества разных производных в смеси. Такое разнообразие позволяет предотвратить резистентность бактерий и грибов. Эта комбинаторная смесь ведет себя как квазиживая система — она адаптируется под индивидуальные условия организма, предотвращая появление резистентности у бактерий. Результаты исследований противомикробной и антигрибковой активности производных танинов представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, немодифицированные соединения — эллаготанин (I) и галлотанин (VI) обладали довольно слабой антимикробной активностью — нативный галлотанин подавлял рост стафилококка (250 мкг/мл) и кишечной палочки (250 мкг/мл), синегнойной палочки и протей в тех-же дозах. На рост микроскопических грибов исходные таниды влияния не оказывали. Максимальную антимикробную и антигрибковую активность проявили соединения VIIc, VIIa, VIIb, относящиеся к группам сукцинированных и малеинированных галлотанинов. Противогрибковая активность этих соединений находилась на уровне препарата сравнения — нистатина и составляла 31,25 мкг/мл. Меньшей активностью обладало производное VIIb, также относящееся к сукцинилгаллотанинам, но с меньшей кислотностью и степенью ацилирования. Хотя также эффективно подавляло рост всех исследованных микроорганизмов (от 62,5 мкг/мл для стафилококка до 250 мкг/мл для

ТАБЛИЦА 1
Антибактериальная и фунгистатическая активность замещенных танинов по МПК, мкг/мл

Номер соединения	Штаммы микроорганизмов									
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. flexneri</i> ДІСК 170	<i>B. anthracoides</i> **	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27833	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	<i>M. anisum</i> **	<i>T. mentagrophytes</i> **	<i>A. niger</i> **
I*	250	250	—	—	250	250	—	—	—	—
IIIa	250	250	250	—	—	—	—	250	—	250
IIIb	250	250	125	—	—	—	—	250	—	250
IIIc	125	62,5	250	250	—	250	—	250	250	250
Va	62,5	62,5	125	125	—	250	—	250	—	—
Vb	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
Vc	125	250	—	—	—	250	—	—	250	250
VIa*	250	—	—	—	—	250	—	—	—	—
VIIa	62,5	62,5	62,5	125	250	125	—	—	250	—
VIIb	125	125	125	250	62,5	250	62,5	62,5	62,5	62,5
VIIc	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
VIIIa	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
VIIIb	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
Нистатин	—	—	—	—	—	—	—	63	125	125
Этакридина лактат	31	125	—	—	—	—	62,5	62,5	16,2	62,5

Примечания: * — немодифицированные исходные соединения; ** — штаммы из авторских коллекций; — — не обладает активностью в дозе до 500 мкг/мл.

синегнойной палочки) и грибов (62,5 мкг/мл). Близкими значениями противомикробной активности обладало соединение Vb, относящееся к группе малеинированного эллаготанина.

Таким образом, замещение части фенольных гидроксилов (1/4 от массы таннидов) в структуре молекул таннидов приводит к значительному усилению их антимикробной активности и проявлению антигрибковых свойств, ранее несвойственных данной группе веществ. Комбинаторный характер полученных веществ затрудняет их анализ, и усовершенствование методов анализа является дальнейшим направлением исследований этой группы веществ.

ВЫВОДЫ

1. Замещение части фенольных гидроксилов (1/4 от массы таннидов) в структуре молекул таннидов приводит к значительному усилению их антимикробной активности и проявлению антигрибковых свойств, ранее несвойственных данной группе веществ, а именно сукцинилгаллотанинов и малеинил эллаготанинов.

2. На спектр и силу антибактериальной и фунгистатической активности оказывает влияние степень модификации (сукцилирования и малеинирования). Установленная зависимость антимикробного и противогрибкового эффектов может быть использована при дальнейшем проведении синтеза биологически активных веществ в ряду замещенных комбинаторных таннидов.

3. Сильная антибактериальная и фунгицидная активность большинства производных таннидов делает их перспективной группой веществ для дальнейшего создания на их основе антибактериальных препаратов, антисептиков и консервантов для косметических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bush K. Antibacterial drug discovery [Text] / K.Bush // Clin. microbiol. infect. — 2004. — Vol. 10. — Suppl. 4. — P. 10-17.
2. European Pharmacopoeia; 4th ed. Strasbourg: Council of Europe. — 2001. — 2416 p.
3. Towner K.J. The problem of resistance. [Text] / K.J.Towner // Antimicrobial chemotherapy. 4th/ed. Greenwood D. — Oxford, New York: Oxford University Press, 2001. — P. 137-144.
4. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments [Text] / D.W.Hecht // Clin. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 39. — P. 92-97.
5. Wey S.B. A guide to infection Control in the hospital [Text] / S.B.Wey, B.Furgi // BC. Desker.Ink. — 1998. — P. 154-158.
6. Levy S. B. The challenge of antibiotic resistance [Text] / S.B.Levy // Scientific American. — 1998. — Vol. 278. — P. 32-39.

7. Holzheimer R.G. Antibiotic therapy in intra — abdominal infections — a review on randomized clinical trials [Text] / R.G.Holzheimer, H.Dralle // Eur. J. Med. Res. — 2001. — Supp. 30. — №6 (7). — P. 277-291.
8. Mammeri H. Bacteridal activity of fluoroquinolones against plasmid-mediated $Q_{nr}A$ — producing *Escherichia coli* [Text] / H.Mammeri, L.Poirel, P.Nordmann // Clin. Microbiol. Infect. — 2005. — Vol. 11. — P. 1048-1049.
9. Hiramatsu K. Vancomycin — resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance [Text] / K.Hiramatsu // Lancet Infect. Dis. — 2001. — № 1. — P. 14-16.
10. Structure and biological activity of Some vegetable ellagitannins from Myrtaceae [Text] / Mustafa Al-Husseini, A.V.Martynov // Annals of Mechnikov Institute. — 2010. — №4. — С. 35-42.
11. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms and clinical management [Text] / K.S.Kaye, J.J.Engermann, H.S.Fraimow, E.Abrutyn // Infect. Dis. Clin. North Am. — 2004. — Vol. 18. — P. 467-511.

Мустафа Алі Альхуссейн, А.В.Мартинів.
Антимікробна активність похідних ацильованих танідів. Харків, Україна.

Ключові слова: антимікробна активність, протигрибкова активність, таніди.

Вивчено протимікробну і протигрибкову дію 14 ацильованих комбінаторних похідних танідів. Встановлено, що більшість досліджуваних сполук мають помірну та високу антимікробну і фунгіцидну активність. Показана значна антигрибкова активність сукцинільованих та малеїнованих галотанинів на рівні ністатину в дозах менше 62,5 мкг/мл. Ацилювання танідів призводить до розширення спектру дії ацилтанидів на декілька мікроорганізмів, а саме *E.coli*, *S.flexneri*, *P.aeruginosa*, *P.vularis* та грибів *C.albicans*, *M.lanosum*, *T.mentagraphytes*, *A.niger* в дозах МПК=12,5-250 мкг/мл.

Mustafa Alhusein, A.V.Martynov.
Antimicrobial activity of acylated tannins. Kharkiv, Ukraine.

Key words: antimicrobial activity, antifungal activity, tannins.

Studied antimicrobial and antifungal activity of 14 combinatorial acylated derivatives of tannins. Found that most of the derivatives have moderate to high antimicrobial and antifungal activity. Shown significant antifungal activity and succinylated and maleilated gallotannins at a dose of less 62.5 µg/mL like nystatin. Acylation tannin leads to extended-spectrum acylated tannins by several microorganisms, namely *E.coli*, *S.flexneri*, *P.aeruginosa*, *R.vularis*, and fungi *S.albicans*, *M.lanosum*, *T.mentagraphytes*, *A.niger* at doses MIC 12.5-250 µg/ml.

Надійшла до редакції 19.11.2012 р.