

УДК 576.8:620.193

Н. В. Смыкун, асп., А. П. Третяк, к. б. н., И. Н. Курмакова, к. х. н., доц.
Черниговский государственный педагогический университет
им. Т.Г. Шевченко, Чернигов, Украина

КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ N-ИЗОПРОПИЛ-N-ФЕНИЛ-2-ХЛОРАЦЕТАМИДА

Установлен неконкурентный характер ингибирования роста ассоциации сульфатредуцирующих бактерий производными N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида (действующее вещество пестицида «Рамрод»), что делает их перспективными для защиты от МИК.

Ключевые слова: микробная коррозия, ингибиторы-биоциды, кинетический анализ.

Возможность получения ингибиторов микробно-индуцированной коррозии (МИК) путем химической модификации N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида (действующее вещество пестицида «Рамрод») показана в [1-2]. Механизм их действия оставался невыясненным, что затрудняло выбор оптимальных параметров и рекомендаций к практическому применению.

Целью работы явилось определение кинетической характеристики биоцидного действия производных N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида на ассоциацию сульфатредуцирующих бактерий.

Материалы и методы

В качестве ингибиторов роста ассоциации сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) на среде Постгейта «В» [3] использовали N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамид (I) и его производные, полученные: II - путем замещения хлора на радикал стирилпиридина; III - при конденсации I с дифенилтиомочевинной (табл.).

Кинетический анализ данных осуществляли методом Лайнуивера-Берка [4]. Накопление биомассы микроорганизмов (субстрат - лактат натрия) определяли по количеству белка (метод Лоури [5]) при постоянной концентрации ингибитора (100 мг/л) и без него. Продолжительность эксперимента 48 часов при температуре 30°C.

Результаты и их обсуждение

Кинетические кривые, полученные на основе экспериментальных данных с помощью графического метода Лайнуивера-Берка, приведены на рис.1,2. Их анализ показал, что N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамид (рис.1) проявляет конкурентный характер ингибирования.

В этом случае, согласно простой теории ответной реакции микроорганизмов на ингибиторы роста, биомасса ведет себя подобно ферменту, реагирующему с лимитирующим рост субстратом, а ингибитор конкурирует за поглощение биомассой [6]. Биоцидный эффект будет

ция ингибитора превысит
N-фенил-2-хлорацетамида
 10^{-4} M (табл.). Однако при
менение K_i наблюдается очень
пример, при 0,1M диаметр

Таблица
ассоциации СРБ

Характер ингибирования
Конкурентный
Неконкурентный
Неконкурентный

■ контроль

○ N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамид

, mM^{-1}

N-изопропил-N-фенил-2-

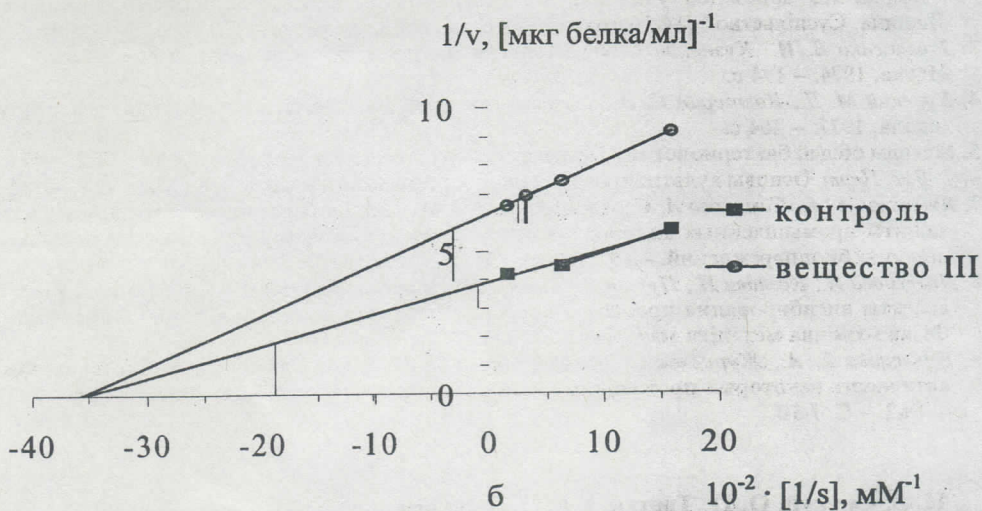
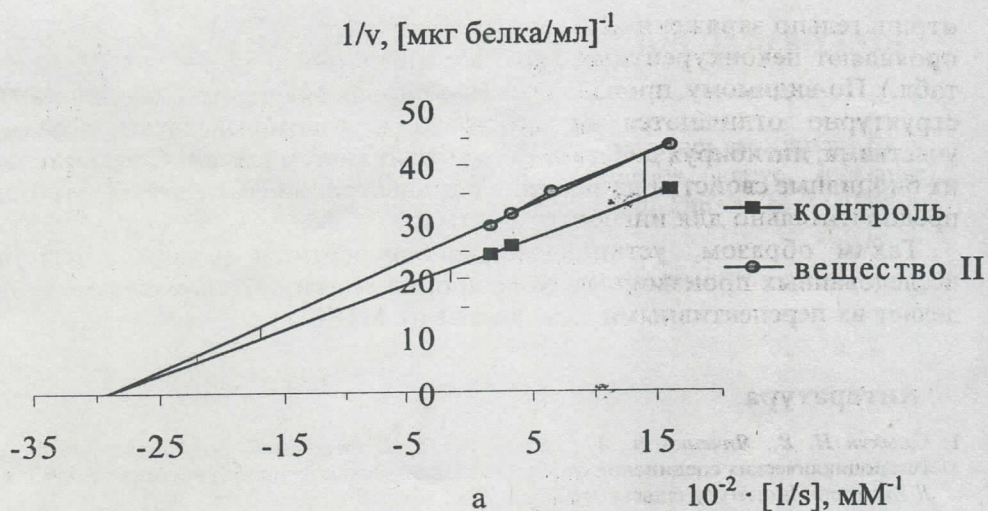


Рис.2. Тип ингибирования роста ассоциации СРБ производными N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида: а – вещество II, б – вещество III

В отличие от N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида, его производные проявляют достаточно высокие биоцидные свойства: диаметр зоны подавления роста 20 мм наблюдается при концентрации $2,5 \cdot 10^{-3}$ M для II и $7,5 \cdot 10^{-3}$ M для III. Это обусловлено особенностями химического строения – наличием фенильных радикалов и тиазольной группы (III), четвертичного пиридинового атома азота (II), способствующих адсорбции на

отрицательно заряженных бактериальных клетках [7-9]. Вещества II и III проявляют неконкурентный характер ингибирования роста СРБ (рис. 2, табл.). По-видимому, производные N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида структурно отличаются от субстрата и взаимодействуют с иными участками, ингибируя действие ферментных систем клетки. Следовательно, их биоцидные свойства не зависят от концентрации субстрата [6], что более предпочтительно для ингибиторов МИК.

Таким образом, установлено неконкурентный механизм действия исследованных производных N-изопропил-N-фенил-2-хлорацетамида, что делает их перспективными для защиты от МИК.

Литература

1. Смыкун Н. В., Янченко В. А., Третьяк А. П., Курмакова И. Н. Влияние некоторых гетероциклических соединений на коррозионно-опасные группы микроорганизмов почвы // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. – 2000. - №7 – С.87-88.
2. Приходько С. В., Курмакова І. М., Смыкун Н. В., Третьяк О. П. Рекуперация некондиційних пестицидів з одержанням інгібіторів-біоцидів для захисту сталі в умовах ґрунтової корозії / Збірка тез доповідей учасників IV Міжнародної наук.-практ. конфер. "Екологія. Людина. Суспільство" (14-16 травня 2001р., м. Київ, Україна). – С.157-158.
3. Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоёмов. – Л.: Наука, 1974. – 194 с.
4. Курский М. Д., Костерин С. А., Рыбальченко В. К. Биохимическая кинетика. – К.: Вища школа, 1977. – 264 с.
5. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1984. – Т.2. – 470 с.
6. С. Дж. Перт. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – 331 с.
7. Анисимов А. А., Семичева А. С., Александрова И. Ф. и др. Биохимические аспекты проблемы защиты промышленных материалов от повреждения микроорганизмами / Актуальные вопросы биоповреждений. – М.: Наука, 1983. – С. 77-101.
8. Погребова И., Козлова И., Пуриш Л., Янцевич К. Электрохимические и микробиологические аспекты ингибирования процессов коррозии металлов в водных агрессивных средах // Фізико-хімічна механіка матеріалів. – 2000. – Спец. вип. №1. – Т.2. – С.479-481.
9. Кузнецова Е. А., Журавлев С. В., Степанова Т. Н. и др. Синтез и антибактериальная активность некоторых производных 2-меркаптобензтиазола // Хим.-фарм. журн. – 1967. – №2. – С. 7-10.

Н. В. Смыкун, О. П. Третьяк, І. М. Курмакова КІНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЦИДНОЇ ДІЇ ПОХІДНИХ N-ІЗОПРОПІЛ-N-ФЕНІЛ-2-ХЛОРАЦЕТАМІДУ

Резюме

Встановлено характер інгібування росту асоціації сульфатредуючих бактерій N-ізопропіл-N-феніл-2-хлорацетамідом (діюча речовина пестициду Рамрод) (конкурентний) та його похідних (неконкурентний). Визначено константи інгібування.

Ключові слова: мікробна корозія, інгібітори-біоциди, кінетичний аналіз.

N. V. Smikun, A. P. Ty THE KINETIC CHAR N-ISOPROPYL-N-PH

Summary

The character of heigh isopropyl-N-phenyl-2-chlc (competitive) and its deriv: constants are determined.

Key words: microbial co

N. V. Smikun, A. P. Tretyak, I. N. Kurmakova
THE KINETIC CHARACTERISTIC OF BIOCIDAL ACTION OF DERIVANTS
N-ISOPROPYL-N-PHENYL-2-CHLORINEACETAMIDE

Summary

The character of height inhibition of sulfate-reducing bacterium associations by N-isopropyl-N-phenyl-2-chlorineacetamide (pesticide Ramrods active substance) (competitive) and its derivants (not competitive) has been fixed. The values of inhibition constants are determined.

Key words: microbial corrosion, inhibitors - biocides, kinetic analysis.

[7-9]. Вещества II и III
ния роста СРБ (рис. 2,
фенил-2-хлорацетамида
одействуют с иными
клетки. Следовательно,
субстрата [6], что более
й механизм действия
т-2-хлорацетамида, что

*И. Н. Влияние некоторых
пы микроорганизмов почвы
2000. - №7. - С.87-88.*

*Рекуперация некондиційних
і в умовах ґрунтової корозії
практ. конфер. "Екологія.
). - С.157-158.*

в пресных водоёмов. - Л.:

ская кинетика. - К.: Вища

И.: Мир, 1984. - Т.2. - 470 с.

гок. - М.: Мир, 1978. - 331 с.

*ические аспекты проблемы
рганизмами / Актуальные*

*кис и микробиологические
ных агрессивных средах //
Т.2. - С.479-481.*

*тез и антибактериальная
Хим.-фарм. журн. - 1967.*

ПОХІДНИХ N-

**атредуючих бактерій
пестициду Рамрод)
Визначено константи**

етичний аналіз.

УДК 576.8:620.193

А. П. Третяк, к. б. н, зав. каф. биол., Н. В. Смыкун, аспирант,
С. В. Приходько, ас. каф. хим., А. П. Макей, ас. каф. хим.,
И. Н. Курмакова, к. х. н., доц. каф. хим.
Черниговский государственный педагогический университет им. Т. Г. Шевченко,
Чернигов, Украина

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЗЕПИНА КОНДЕНСИРОВАННОГО С ТРИАЗОЛОМ И ИМИДАЗОЛОМ

Установлено высокое антибактериальное действие на коррозионно-опасные микроорганизмы синтезированных производных триазолоазепина с электронодонорными заместителями и бромидов имидазо [1,2-а] азепиния.

Ключевые слова: антимикробные свойства, биоциды, производные азепина.

Для защиты металла от коррозии, обусловленной микроорганизмами, широко применяют биоциды, которые способны адсорбироваться на поверхности бактериальной клетки, преодолевать барьер клеточной мембраны и при попадании в клетку мигрировать внутри нее за счет гидрофильно-липофильных взаимодействий [1-4]. Соединения с такими свойствами известны среди азотсодержащих гетероциклов – производных пиридина, имидазола, триазола, бензимидазола [1-5]. Антимикробные свойства в ряду производных азепина не изучены. В связи с этим представляло интерес синтезировать и исследовать биоцидную активность производных азепина, конденсированного с триазолом и имидазолом.

Цель данной работы – выявление взаимосвязи между антимикробными свойствами и строением конденсированных производных азепина.

Материалы и методы

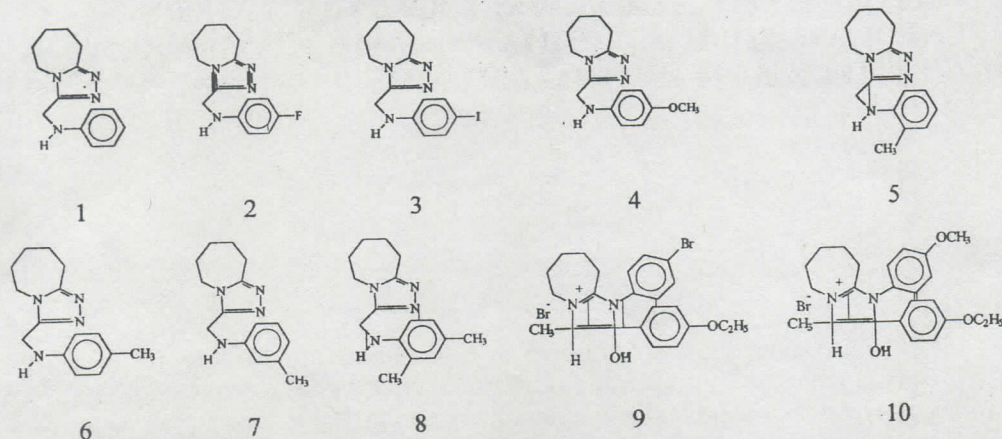
Замещенные триазолоазепины (табл. 1, вещества 1-8) получены взаимодействием 2-метоксиапролактама с гидразидами аминокислот. Четвертичные соли имидазо[1,2-а]азепиния (табл. 1, вещества 9 и 10) синтезированы при взаимодействии амидинов с ароматическими галогенкетонами. Состав и строение веществ подтверждены современными методами физико-химического анализа.

Антибактериальное действие изучали общепринятым методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков, пропитанных 0,1%, 0,2% и 2% спиртовыми растворами веществ, и оценивали по диаметру зоны подавления роста микроорганизмов [6]. В качестве тест-культур использовали коррозионно-опасные ассоциации, выделенные нами из почвы в зоне непосредственного контакта со стальной корродирующей конструкцией: железовосстанавливающих бактерий (ЖВБ) на среде Калиненко и сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) на среде Постгейта «В» [7].

Результаты и их обсуждение
Структурные формулы и антибактериальные свойства синтезированных и исследованных веществ приведены в табл.

Таблица

Антибактериальные свойства конденсированных производных азепина



Условное обозначение	Диаметр зон угнетения роста при соответствующей концентрации вещества, мм					
	Ассоциация ЖВБ			Ассоциация СРБ		
	0,1%	0,2%	2,0%	0,1%	0,2%	2,0%
1	8,3±0,4	8,3±0,4	8,3±0,4	-	-	-
2	10,7±0,9	10,7±0,9	10,7±0,9	-	-	-
3	-	9,0±0,7	9,0±0,7	-	-	-
4	8,0±0,1	8,0±0,1	8,0±0,1	-	-	-
5	10,0±0,1	10,0±0,1	10,7±0,4	21,0±1,0	28,0±2,0	42,7±4,0
6	10,7±0,4	11,7±0,4	12,7±0,4	*	*	*
7	9,7±0,9	12,7±0,4	12,7±0,7	25,7±1,9	37,3±2,7	49,3±4,7
8	8,0±0,1	8,0±0,1	8,0±0,1	10,0**±0,7	10,0**±0,9	20,0**±1,2
9	11,0±0,1	12,3±1,0	28,0±2,0	32,0±2,0	38,0±2,6	39,5±0,5
10	12,7±1,2	13,0±1,0	30,3±3,0	17,0±1,0	24,7±2,3	28,0±2,0

Примечание: «-» - угнетения роста не наблюдалось; «*» - рост бактерий полностью подавлен; «**» - в зоне подавления наблюдаются отдельные колонии

Все синтезированные производные азепина оказывают антибактериальное действие на ассоциацию СРБ как акцепторными, так и донорными заместителями. В то же время, изомеризация вещества с CH_3O -группой, свойства по отношению к ассоциации ЖВБ, может быть повышена, в зависимости от электронной плотности заместителя.

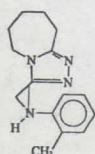
По возрастанию содержания CH_3 -группы в порядке: орто- < пара- < мета- заместителей, увеличивается электронная плотность в азепиновой системе. При этом наблюдается эффект усиления биоцидного действия, чем в пара-положении заместителя.

Введение в молекулу азепина заместителя метила снижает антибактериальную активность до концентрации 2%. При этом для данного соединения не наблюдались отдельные колонии донорных заместителей, что является важным условием для объяснения биоцидного действия.

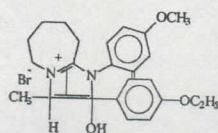
Отсутствие донорных заместителей в молекулах азепина обусловлено взаимодействием на внешнем характере транспортов.

К производным азепина ЖВБ и СРБ относятся вещества 1-8, соединительны к низким концентрациям вещества 10. Более активна ассоциация ЖВБ, что обусловлено наличием заместителя, который способствует усилению биоцидного действия на поверхности клеточной мембраны азепина, и, следовательно, на ассоциацию ЖВБ.

Таблица



5



10

Ассоциация СРБ	
0,2%	2,0%
-	-
-	-
-	-
-	-
28,0±2,0	42,7±4,0
*	*
37,3±2,7	49,3±4,7
10,0**±0,9	20,0**±1,2
38,0±2,6	39,5±0,5
24,7±2,3	28,0±2,0

рост бактерий полностью
тении

Все синтезированные и исследованные вещества проявляют слабое биоцидное действие на ассоциацию ЖВБ. Биоцидные свойства по отношению к ассоциации СРБ различны. Производные триазолоазепина с электроноакцепторными заместителями (1-3) практически не подавляют рост СРБ. В то же время, изомеры с электронодонорными заместителями (5-8), кроме вещества с CH_3O -заместителем (4), проявляют высокие антибактериальные свойства по отношению к данным микроорганизмам. Токсичность этих веществ, может быть обусловлена достаточной липофильностью, которая повышается, в случае электронодонорных заместителей, за счет смещения электронной плотности и увеличения прочности связи *N-H*.

По возрастанию бактерицидного эффекта к ассоциации СРБ изомеры, содержащие CH_3 -заместитель (5-7), можно расположить в следующем порядке: *орто*- < *мета*- < *пара*-. Согласно представлениям о распределении электронов в ароматическом кольце, замещение в определенном положении приводит к резонансу, охватывающему всю циклическую систему. При этом в соответствии с константами Гаммета, CH_3 -группа в *пара*-положении будет способствовать большему электронодонорному эффекту, чем в *мета*-положении ($\sigma_m = 0,069$; $\sigma_p = -0,17$), и следовательно, усилению биоцидного действия.

Введение в молекулу второго метильного радикала (8) значительно снижает антибактериальное действие. Эффективной оказалась только концентрация 2%. При этом выявилась гетерорезистентность популяции СРБ к данному соединению (при меньших концентрациях в зоне угнетения роста наблюдались отдельные колонии). Вероятно, наличие двух электронодонорных заместителей изменяет коэффициент распределения масло-вода – важное условие антимикробных свойств соединений [1]. Та же причина может объяснить отсутствие биоцидного действия у вещества 4 с CH_3O -заместителем – наиболее сильным донором ($\sigma_p = -0,27$).

Отсутствие достаточной токсичности липофильных соединений, содержащих электронодонорные заместители, к ассоциации ЖВБ может быть обусловлено как отличным от СРБ метаболизмом, так и возможным действием на внеклеточные ферменты, ферменты внешней мембраны, характер транспорта веществ в клетку.

К производным имидазолизазепина (9 и 10) чувствительность ассоциаций ЖВБ и СРБ достаточно высока при концентрации 2%. В отличие от веществ 1-8, соединения 9 и 10 являются катионоактивными. СРБ чувствительны к низким концентрациям веществ: 0,1% для вещества 9 и 0,2% для вещества 10. Более высокая эффективность соединения 9 может быть обусловлена наличием в бензольном кольце электроноакцепторного *Br*-заместителя, который приводит к повышению заряда на атомах азота, что способствует усилению адсорбции вещества на отрицательно заряженной поверхности клеток микроорганизмов [1-4]. Введение электронодонорного CH_3O -заместителя приводит к уменьшению положительного заряда на атомах азота, и, соответственно, снижению способности вещества адсорбироваться.

Таким образом, установлено высокое антибактериальное действие на коррозионно-опасные микроорганизмы производных триазолоазепина с электронодонорными метильными заместителями и бромидов имидазо [1, 2-а] азепиния.

Литература

1. Анисимов А. А., Семичева А. С., Александрова И. Ф. и др. Биохимические аспекты проблемы защиты промышленных материалов от повреждения микроорганизмами (обзор) // Актуальные вопросы биоповреждений. - М.: Наука, 1983. - С. 77-101.
2. Герасименко А. А. Защита машин от биоповреждений. - М.: Машиностроение, 1984. - 112 с.
3. Аббасов В. М., Мамедов И. А., Абдуллаев Е. Ш. Защита стали от сероводородной коррозии с применением бактерицидов // Защита металлов. - 1995. - 31, №2. - С. 206-208.
4. Погребова И., Козлова И., Пуриц Л., Янцевич К. Электрохимические и микробиологические аспекты ингибирования процессов коррозии металлов в водных агрессивных средах // Фізико-хімічна механіка матеріалів. - 2000. - Спец. вип. №1. - Т.2. - С. 479-481.
5. Романенко И. В. Производные бензимидазола, проявляющие ингибирующую и биоцидную активность // Фізико-хімічна механіка матеріалів. - 2000. - Спец. вип. №1. - Т.2. - С. 513-515.
6. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. - М.: Высшая школа, 1969. - 480 с.
7. Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоёмов. - Л.: Наука, 1974. - 194 с.

О. П. Третьяк, Н. В. Смыкун, С. В. Приходько, А. П. Макей, И. М. Курмакова АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ АЗЕПІНУ КОНДЕНСОВАНОГО З ТРИАЗОЛОМ ТА ІМІДАЗОЛОМ

Резюме

Встановлена висока антибактеріальна дія на корозійно-небезпечні мікроорганізми (сульфатредукуючі та залізовідновлюючі бактерії) синтезованих похідних триазолоазепіну з електронодонорними замісниками та бромідів імідазо[1,2-а]азепінію. Біоцидні властивості похідних триазолоазепіну пояснюються їх достатньою ліпофільністю, а катіоноактивних бромідів імідазо [1,2-а]азепінію – здатністю адсорбуватись на негативно зарядженій поверхні мікробної клітини.

Ключові слова: антимікробні властивості, біоциди, похідні азепіну

A. P. Tretyak, N. V. Smikun, S. V. Prichodko, A. P. Makey, I. N. Kurmakova ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME DERIVATIVES OF AZEPINE CONDENSATED WITH AZIMIDE AND IMIDAZOLE

Summary

The derivatives triazolazepine and bromides imidazo[1,2-a]azepine are synthesized. High antibacterial action on corrosion-dangerous microorganisms (sulfate-reducing and iron-recovering bacteria) of derivatives triazolazepine with electron-donating substations and bromides imidazo[1,2-a]azepine are fixed. Biocide properties of triazolazepine derivatives are based on their lipophilicity, and imidazo[1,2-a]azepine bromides on their ability to adsorb on the negatively charged cell surface

Key words: antimicrobial properties, biocides, derivatives of azepine.

УДК 582.282.23.043

Т. О. Филиппова, д. б.
О. Ю. Зинченко, асп.
С. Ю. Водзинский, к.
Одесский национальн

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРИРОДНЫМИ ПОРФИРИНАМИ

Показано, что раз *Staphylococcus au* синтетические пор поглощаются этими Изученные соедине дрожжевых клеток, позволяет использ модели для изуче Выявлено ингибир: рост стафилококк: содержащие в мезо-

Ключевые слова: порфи

Выяснение некоторых ринов с опухолевыми кле область применения фо Так, способность связь использовать их для лече СПИДа [3]. Весьма ве антимикробной активнос темновой. Основанием дл патогенных бактерий с порфирин - гемин [4]. В се было изучение поглощен фотоиндуцированного де

Материалы и методы

Объектами исследова *cerevisiae* T7 и стафилоко Эксперименты провод которые получали по ста поглощенных клетками, с в инкубационной среде.

Темновую и фотоинду оценивали путем подсчет синим) дрожжевых клетс определения интенсивнос

© Т. О. Филиппова, Б. Н. Галкин
З. И. Жилина, С. Ю. Водзинск