

УДК 577.18 я (075.8)

## СОЗДАНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ПОЛИАЗОЛИДИНАММОНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРАТ ИОНАМИ ГАЛОГЕНОВ

<sup>1</sup>Нечаева О.В., <sup>2</sup>Тихомирова Е.И., <sup>3</sup>Заярский Д.А., <sup>2</sup>Вакараева М.М.

<sup>1</sup>*Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, e-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru;*

<sup>2</sup>*Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов, e-mail: ecology@sstu.ru;*

<sup>3</sup>*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, e-mail: zaiarskiida@mail.ru*

Для решения вопросов повышения эффективности лекарственных препаратов в отношении микроорганизмов с приобретенной лекарственной устойчивостью перспективно использование новых гетероциклических соединений и биополимеров с антимикробной активностью. В работе представлены данные о создании инновационных препаратов по типу структуры «ядро-оболочка». Для создания полиэлектролитной оболочки использовали биосовместимый полимер – полиазолидин-аммоний, модифицированный гидрат ионами галогенов. 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. Показано повышение антимикробной активности в отношении референс-штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий созданных экспериментальных препаратов. Установлена регенерирующая способность препарата, содержащего в качестве «ядра» наноагрегаты флавоноидов.

**Ключевые слова:** клинические изоляты, референс-штаммы, грамположительные и грамотрицательные бактерии, полиазолидинаммоний, инновационные препараты, структуры «ядро-оболочка»

## DEVELOPING THE INNOVATIVE PREPARATIONS ON THE BASIS OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS AND POLY AZOLIDINE AMMONIUM THE HYDRATE IONS OF HALOGENS

<sup>1</sup>Nechaeva O.V., <sup>2</sup>Tikhomirova E.I., <sup>3</sup>Zayarskiy D.A., <sup>2</sup>Vakaraeva M.M.

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

<sup>2</sup>*Saratov State Technical University n.a. Yu.A. Gagarin, Saratov, e-mail: ecology@sstu.ru;*

<sup>3</sup>*Saratov State University n.a. N.G. Chernyshevsky, Saratov, e-mail: zaiarskiida@mail.ru*

Increase of efficiency of mediations including treatment of acquired medicinal resistance of microorganisms is a relevant problem of modern practical microbiology. The solution of these issues becomes possible when heterocyclic compounds are used on the basis of which innovative mediations of core-shell structure are created. For developing of a poly electrolytic coves we used biocompatible polymer – the poly azolidine ammonium modified by the hydrate halogen ions was used. We created the in which «core-shell» structure adamantylmetilene- 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 antimicrobic 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. Our study shoved an antimicrobial activity to words experimental preparations containing the core in enamine, reference-strains and clinical isolates of Gram-positive and Gram-negative bacteria. The mediations with a core of flavonoid nano units had intensive regenerating.

**Keywords:** clinical isolates, reference strains, Gram-positive and Gram-negative of bacteria, poly azolidine ammonium, innovative preparations, «core-shell» structure

Одной из основных проблем современной медицины и ветеринарии является формирование множественной лекарственной устойчивости микроорганизмов, что ведет к снижению эффективности противомикробной терапии и развитию осложнений у пациентов [1]. Преодоление резистентности связывают с введением в практику новых химических соединений, обладающих

антимикробной активностью [8, 9], а также с созданием инновационных наноразмерных препаратов. Одним из перспективных направлений в создании таких препаратов является технология конструирования структур «ядро-оболочка», которые в зависимости от носителя характеризуются антибактериальными, противовирусными и ранозаживляющими свойствами [4].

### Материалы и методы исследования

В работе использовали полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат ионами галогенов (ПААГ), который представляет собой биосовместимый полимер с молекулярной массой полимерной линейной цепи порядка 100–200 кДа, относящийся к IV классу токсичности (рис. 1). На концах цепи к молекуле полимера привиты молекулы сахарозы. Полимер неограниченно растворим в воде [4].

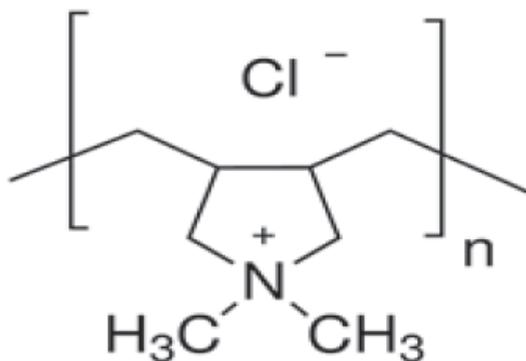


Рис. 1. Формула полиазолидинаммония, модифицированного гидрат ионами галогенов

Для создания структуры «ядро-оболочка» проводили последовательную адсорбцию биосовместимого полимера – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат ионами галогенов, на поверхности гидрофобных носителей: синтетические соединения и наноагрегаты флавоноидов.

В качестве экспериментальной модели использовали референс-штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* 113–13, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* 8035, *Staphylococcus aureus* 209 P, а также клинические изоляты золотистого стафилококка.

Антимикробную активность гетероциклических и полимерного соединения изучали с использованием метода серийных разведений (МУК 4.2.1890-04.), с помощью которого определяли их минимальную подавляющую концентрацию (МПК).

Оценку ранозаживляющего действия структур «ядро-оболочка», содержащих наноагрегаты флавоноидов, покрытые ПААГ, проводили на модели экспериментальных полнослойных ран. Для оценки эффективности лечения ран рассчитывали ежесуточное уменьшение площади ран в % по общепринятой методике [6, 10].

### Результаты исследования и их обсуждение

Создание инновационных препаратов для медико-биологической и ветеринарной практики предполагает использование современных технологий и методических подходов при их конструировании. Одним из перспективных направлений является создание структур «ядро-оболочка».

Ранее в наших исследованиях была показана высокая антимикробная активность ПААГ в отношении референс-штаммов

и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий, причем наиболее выраженная в отношении грамположительных микроорганизмов [2, 5].

В дальнейших исследованиях нами была изучена биологическая активность гетероциклического соединения – адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата, которое относится к группе енаминов. Это соединение представляло особый интерес в исследованиях, так как оно является структурным аналогом противовирусных средств [7]. Было установлено, что данное соединение обладало антимикробной активностью в отношении всех исследуемых бактерий, за исключением референс-штамма *P.aeruginosa* ATCC 27853, однако значения МПК были достаточно высокими (табл. 1).

Таблица 1

Антимикробная активность адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата

№ п/п	Исследуемые микроорганизмы	МПК, мкг/мл
1	<i>S. aureus</i> 209 P	25
2	<i>S. aureus</i> № 2	50
3	<i>S. aureus</i> № 6	100
4	<i>S. aureus</i> № 21	25
5	<i>S. aureus</i> № 23	50
6	<i>S. aureus</i> № 92	100
7	<i>S. aureus</i> № 430	100
8	<i>B. cereus</i> 8035	50
9	<i>E. coli</i> M-17	100
10	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	–

Для повышения эффективности гетероциклического соединения нами были созданы инновационные экспериментальные препараты по типу структуры «ядро-оболочка», поскольку поиск химических соединений, обладающих выраженной антимикробной активностью и низкой токсичностью для макроорганизма, является актуальным и востребованным в медико-биологической и ветеринарной практике.

Структуры «ядро-оболочка» создавали методом последовательной адсорбции биосовместимого полимера на поверхности адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата (рис. 2), после чего была проведена оценка антимикробной активности инновационного препарата, результаты которой представлены в табл. 2.

Было установлено повышение биологической активности адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата, модифициро-

ванного ПААГ: в отношении *S. aureus* 209 Р – в 62 раза, *S. aureus* № 2, № 21 и № 92 – в 32 раза, *S. aureus* № 430 и *B. cereus* 8035 – в 16

раз, *E. coli* 113–13 – в 2 раза. МПК созданной структуры «ядро-оболочка» для *P. aeruginosa* ATCC 27853 составила 25 мкг/мл.

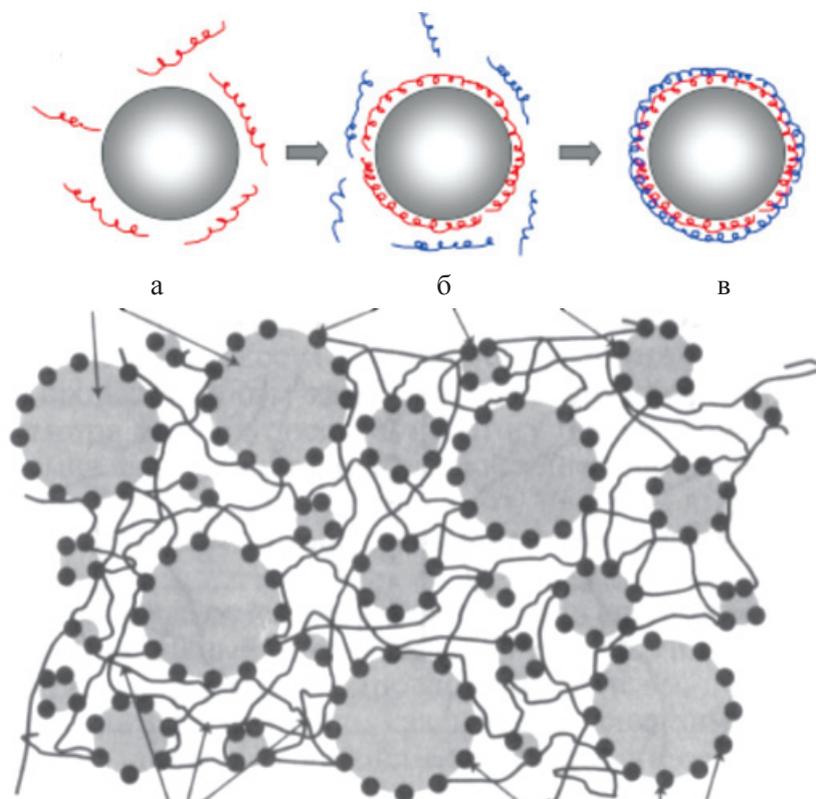


Рис. 2. Технология создания структур «ядро-оболочка»

**Таблица 2**  
Биологическая активность структуры «ядро-оболочка» адамантилметилена-циклогексен-дикарбоксилата, модифицированного ПААГ

№ п/п	Исследуемые микроорганизмы	МПК, мкг/мл
1	<i>S. aureus</i> 209 Р	0,4
2	<i>S. aureus</i> № 2	1,6
3	<i>S. aureus</i> № 6	1,6
4	<i>S. aureus</i> № 21	0,8
5	<i>S. aureus</i> № 23	0,8
6	<i>S. aureus</i> № 92	3,2
7	<i>S. aureus</i> № 430	6,4
8	<i>B. cereus</i> 8035	3,2
9	<i>E. coli</i> M-17	50
10	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25

Полученные результаты позволяют считать перспективным направление создания инновационных препаратов по типу «ядро-оболочка» для повышения эффективности химиотерапевтических антимикробных препаратов с целью преодоления антибио-

тикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний.

Нами были исследованы также препараты, созданные по типу структуры «ядро-оболочка», у которых в качестве «ядра» были наноразмерные агрегаты флавоноидов [3]. По данным литературы известно, что биофлавоноиды, содержащиеся в прополисе, обладают выраженной регенерирующей способностью.

Была изучена ранозаживляющая способность наноагрегатов флавоноидов и их модификаций ПААГ. Исследования проводили на белых беспородных мышах (самцах), массой 18–20 г, которые содержались на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 3 группы:

1 – опытная группа, раны которой обрабатывали препаратом, содержащим структуры «ядро-оболочка», на основе наноагрегатов флавоноидов, стабилизированных ПААГ;

2 – контрольная группа 1, раны которой не обрабатывали.

3 – контрольная группа 2, раны которой обрабатывали суспензией наноагрегатов флавоноидов.

Оценку ранозаживляющих свойств наноагрегатов флавоноидов и структур «ядро-оболочка», созданных на их основе путем обработки ПААГ, проводили по ежесуточному уменьшению площади полнослойных ран. Полученные результаты представлены на диаграмме (рис. 3).

Было установлено, что в опытной группе животных наблюдается статистически достоверное уменьшение площади ране-

вой поверхности, начиная со вторых суток эксперимента, а полное заживление ран происходит на 8 сутки. В контрольной группе животных, раны которых не обрабатывали, полное заживление ран наступало на 14 сутки от начала эксперимента. Полное заживление ран контрольной группы мышей, раны которых обрабатывали суспензией, содержащей наноагрегаты флавоноидов, происходило на 11 сутки.

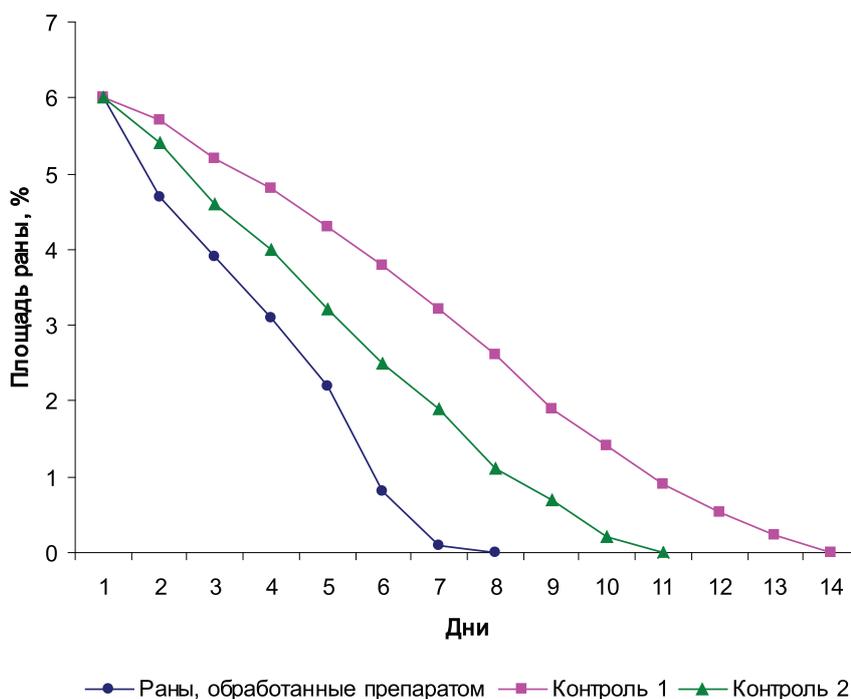


Рис. 3. Динамика изменения площади экспериментальных ран у белых мышей

Оценивая морфологические изменения раневых дефектов, было установлено, что нанесение препаратов, содержащих как стабилизированные, так и нестабилизированные наноагрегаты флавоноидов, ускоряет заживление полнослойных ран кожи путем стимуляции репаративных процессов и усиливает барьерно-защитную функцию кожи (рис. 4).

Проведенные исследования показали высокую эффективность созданного инновационного препарата по сравнению с нестабилизированными флавоноидами, который можно рассматривать в качестве перспективного средства для лечения неосложненных и гнойных ран.

**Заключение**

Полученные результаты позволяют предположить, что большая эффективность структур «ядро-оболочка» по сравнению с нестабилизированными гетероцикли-

ческими соединениями и наноагрегатами флавоноидов связана с синергидным эффектом и большей биодоступностью созданных нами инновационных препаратов. Создание аналогичных препаратов на основе гетероциклических соединений различных классов, обладающих антимикробной активностью, позволит повысить их эффективность и снизить токсический эффект для макроорганизма.

Поскольку ранее нами была установлена высокая антимикробная активность ПААГ [3], то стабилизация им наноагрегатов флавоноидов снижает риск развития воспаления и контаминации раневой поверхности различными микроорганизмами. Следовательно, препарат, содержащий структуры «ядро-оболочка» на основе наноагрегатов флавоноидов, покрытых биосовместимым полимером ПААГ, может быть рекомендован как эффективное ранозаживляющее средство.

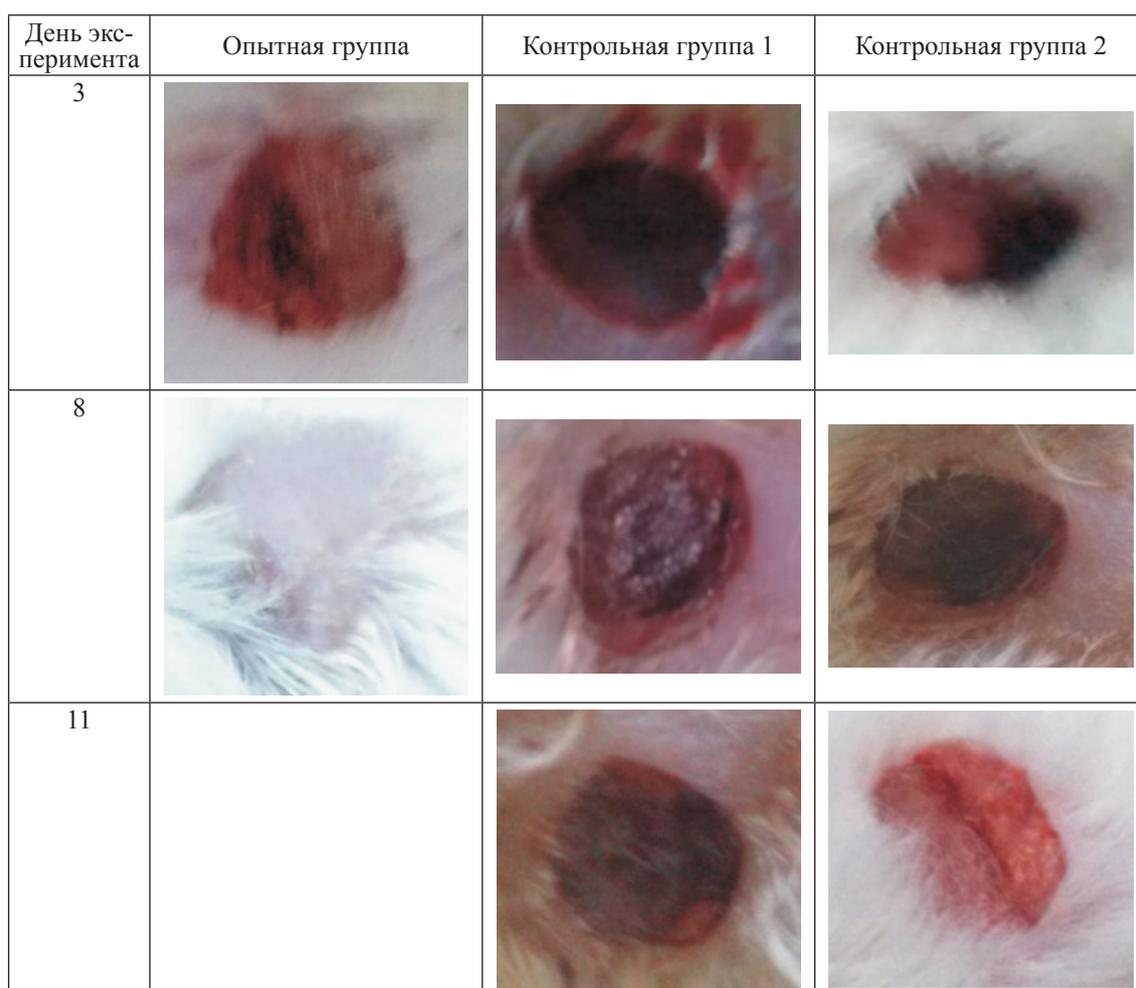


Рис. 4. Динамика заживления экспериментальных ран у белых мышей

### Список литературы

1. Бабеншычева А.В., Лисовская Н.А. Синтез и антимикробная активность замещенных бензоксазинов и хиноксалинов // Химико-фармацевтический журнал – 2006. – № 10. – С. 34–36.
2. Вакараева М.М., Нечаева О.В., Заярский Д.А. Влияние полидиметилдиаллил-аммония йодида сахарозы на выживаемость коагулазоположительных стафилококков // Экологические проблемы промышленных городов: сборник научных трудов по материалам 6-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Саратов, 2013. – Т.2. – С. 40–42.
3. Вакараева М.М., Нечаева О.В., Заярский Д.А., Шуб Г.М., Беспалова Н.В. Биологическая активность наноразмерных агрегатов флавоноидов, стабилизированных полидиметилдиаллил-аммонием йодид сахарозы // Биотехнология реальность и перспективы в сельском хозяйстве: материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов: Изд-во «КУБиК», 2013. – 286 с.
4. Заярский Д.А., Нечаева О.В., Беспалова Н.В. Исследование антимикробной активности структур «ядро-оболочка» на основе наноразмерных агрегатов флавоноидов // Научные технологии и интеллектуальные системы в нанотехнологии: сборник материалов Всероссийской молодежной конференции. – Саратов, 2012. – С. 92–96.
5. Зинина Е.А., Шуршалова Н.Ф., Нечаева О.В., Кривченко А.П., Сорокин В.В. Антимикробная активность N-адамантил-метиленаминоциклогексендикарбоксилатов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. – 2012. – Т. 12., Вып. 2. – С. 8–9.
6. Кузин М.И. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / М.И. Кузин, Б.М. Костюченко – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
7. Нечаева О.В., Шуршалова Н.Ф., Заярский Д.А., Тихомирова Е.И., Вакараева М.М., Веденева Н.В. Биологическая активность соединений ряда енаминов и их модифицированных аналогов в отношении референс-штаммов и клинических изолятов бактерий // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 12 (часть 1). – С. 127–130.
8. Пермякова Н.Ф., Нечаева О.В., Алексеева Ю.А., Сорокин В.В., Субботин В.С. Изучение антимикробной активности некоторых карбо- и гетероциклических соединений // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 30.
9. Пермякова Н.Ф., Нечаева О.В., Тихомирова Е.И. Перспективные гетероциклические соединения с антимикробной активностью // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 9. – С. 66-67.
10. Gul N.Y., Topal A., Cangul T. The effects of topical tripeptide copper complex and helium-neon laser on wound healing in rabbits // Veterinary Dermatology. – 2008. – Vol. 19, № 1. – P. 7–14.

**References**

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

2. Vakaraeva M.M., Nechaeva O.V., Zayarskiy D.A. Vliyanie polidimetil-diillilammonium yodid saharozy na vyzhivaemost koagulazopolozhitelnyh stafilokokkov. *Ecologicheskie problemy promyshlennyyh gorodov: Sbornik nauchnyh trudov po materialam 6-oy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem.*-Saratov, 2013. T.2. 40–42 p.

3. Vakaraeva M.M., Nechaeva O.V., Zayarskiy D.A., Shub G.M., Bespalova N.V. Biologicheskaya aktivnost nanorazmnykh agregatov flavonoidov, stabilizirovannykh polidimetil-diillilammonium yodid saharozy. *Biotehnologiya realnost i perspektivy v selskom hozyaystve: Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoy konferencii.* Saratov, Izdatelstvo «KUBiK», 2013. 286 p.

4. Zayarskiy D.A., Nechaeva O.V., Bespalova N.V. Issledovanie antimikrobnoy aktivnosti struktur «yadro-obolochka» na osnove nanorazmnykh agregatov flavonoidov. *Naukoemkie tehnologii i intellectualnye sistemy v nanoinzhenerii: Sbornik materialov Vserossiyskoy molodezhnoy konferencii.* Saratov, 2012. 92–96 p.

5. Zinina E.A., Shurshalova N.F., Nechaeva O.V., Krivenko A.P., Sorokin V.V. Antimikrobnaya aktivnost N-adamantil-metilenaminotsiklogeksendikarboksilatov. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya Himiya. Biologiya. Ekologiya.* 2012. T. 12, Vol. 2. 8–9 p.

6. Kuzin M. I., Kostyuchenok B.M. Rany I ranevaya infektsiya: *Rukovodstvo dlya vrachev.* M.: Meditsina, 1990. 592 p.

7. Nechaeva O.V., Shurshalova N.F., Zayarskiy D.A. Tikhomirova E.I., Vakaraeva M.M., Vedeneva N.V. Biologicheskaya aktivnost soedineniy ryada enaminov i ih modifitsirovannykh analogov v otnoshenii referens-shtammov i klinicheskikh izolyatov bakterii. *Fundamentalnye issledovaniya*, 2013. no. 12 (chast 1). 127–130 p.

8. Permyakova N.F., Nechaeva O.V., Alekseeva YU.A., Sorokin V.V., Subbotin V.S. Izuchenie antimikrobnoy aktivnosti nekotorykh karbo- I geterotsiklicheskiykh soedineniy. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya.* 2009. T. 11, no. 2. 30 p.

9. Permyakova N.F., Nechaeva O.V., Tikhomirova E.I. Perspektivnye geterotsiklicheskiykh soedineniy s antimikrobnoy aktivnostyu. *Fundamentalnye issledovaniya.* 2009. no. 9. 66–67 p.

10. Gul N.Y. Topal A., Cangul T. The effects of topical tripeptide copper complex and helium-neon laser on wound healing in rabbits. *Veterinary Dermatology.* 2008. Vol. 19, no. 1. 7–14 p.

**Рецензенты:**

Карпунина Л.В., д.б.н., профессор кафедры «Микробиология, биотехнология и химия» 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 11.04.2014.