

Н. О. ВРИНЧАНУ¹, д-р мед. наук, В. Л. МАКІТРУК²,
А. С. ШАЛАМАЙ², канд. хім. наук, М. Л. ДРОНОВА¹, канд. фарм. наук,
Д. М. ДУДІКОВА¹, З. С. СУВОРОВА¹, А. О. ШАРОВА¹

¹ ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

² ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ

АНТИСЕПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНОГО АМІНОАДАМАНТАНУ

Ключові слова: похідні адамантану, антисептична дія, фунгіцидна, бактерицидна активність

N. O. VRYNCHANU¹, V. L. MAKITRUK², A. S. SHALAMAY², M. L. DRONOVA¹,
D. M. DUDIKOVA¹, Z. S. SUVOROVA¹, A. O. SHAROVA¹

¹ SI «Institute of pharmacology and toxicology of NAMS of Ukraine», Kyiv

² PJSC SIC «Borshchahivskiy chemical-pharmaceutical plant», Kyiv

ANTISEPTIC PROPERTIES OF AMINOADAMANTANE DERIVATIVE

Key words: adamantane derivatives, antiseptic properties, fungicidal activity, bactericidal activity

Незважаючи на значний потенціал антисептичних засобів, наприкінці ХХ ст. виявилось, що проблема з інфекційними захворюваннями не лише не вирішена, а й стає більш гострою [1]. Хоча антисептичні засоби мають низку переваг перед хіміотерапевтичними засобами (зокрема відсутність вибіркової дії на мікроорганізми, місцеве застосування тощо), їхнім суттєвим недоліком є відсутність розроблених критеріїв чутливості, що супроводжується зниженням ефективності лікування.

Дослідженнями, проведеними у 2012–2013 рр. показано, що мікроорганізми набувають резистентності й до сучасних антисептичних засобів. Так, клінічні ізоляти *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans* є нечутливими до дії мірамістину після 25 пасажів, до горостену та декасану – після 30 пасажів [2, 3]. Формується резистентність у мікроорганізмів і до дії повідон-йоду [4].

Під час обстеження клінічного матеріалу (гною, ексудату, мокроті) встановлено, що серед ранових та респіраторних збудників нечутливими до дії хлорофіліпту виявилися більшість грамнегативних бактерій (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis*, *E. faecium*). Стійкість до мірамістину виявили 40,0% штамів *P. aeruginosa*, окремі штами *K. pneumoniae* та *E. coli*; до хлоргексидину – переважно штами синьогнійної палички [5].

Таким чином, поява та розповсюдження резистентних до антимікробних препаратів штамів збудників потребує розроблення та впровадження в медичну практику нових ефективних та безпечних лікарських засобів.

Під час дослідження антибіоплівкової дії похідного феніладамантану (4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил)бензол, шифр – АМ-166) було встановлено, що сполука АМ-166 виявляє виразний інгібувальний вплив відносно біоплівок бактерій та грибів. Накопичені раніше дані свідчать про антимікробну дію сполуки АМ-166 також відносно планктонних форм мікроорганізмів, відомими є його механізм дії та параметри токсичності, які не обмежують створення лікарського засобу для зовнішнього застосування.

Мета роботи – дослідити антисептичні властивості тест-зразків розчинів на основі сполуки АМ-166.

Матеріали та методи дослідження

У дослідженні використовували 4%-й розчин АМ-166 в ізопропанолі (с. 021216) та 5%-й розчин АМ-166 у 76%-му етанолі (с. 011216) (виробник ПАТ НВЦ «Борща-

гівський ХФЗ»). Специфічну активність тест-розчинів оцінювали з використанням тест-штамів грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) та грамнегативних (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактерій, міцеліальних (*Aspergillus niger* 474) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans* NTCC 885/653).

Вивчення дезінфекційних/антисептичних властивостей здійснювали кількісним суспензійним методом із наступним нейтралізуванням розведеного розчину відповідно до вимог ДСТУ EN 1040:2004 [6] та ДСТУ EN 1275:2004 [7].

Інокулят бактеріальних клітин або грибів *C. albicans* готували у 0,9%-му розчині натрію хлориду до кінцевої щільності $1,5\text{--}5 \cdot 10^8$ КУО/мл (бактерії) або $1,55 \cdot 10^7$ КУО/мл (гриби). Суспензію спор міцеліальних грибів готували шляхом змиву 0,9%-м розчином натрію хлориду з 0,05% твін-80, кінцева щільність інокуляту становила $1,5\text{--}5,0 \cdot 10^7$ КУО/мл.

У дослідженні використовували тест-зразки розчинів на основі сполуки АМ-166 та їх розведення у 5 та 10 разів у стерильній воді для ін'єкцій. Як нейтралізатор використовували 4%-й розчин твін-80.

Активність продукту визначали за період часу взаємодії тест-зразка та суспензії мікроорганізмів, що відповідав 5 хв, 15 хв та 30 хв. Після закінчення періоду взаємодії компонентів додавали нейтралізатор (час нейтралізації становив 5 хв) та здійснювали висів глибинним методом у двох повторях на середовище TSA (для бактерій) або агар Сабуро (для грибів).

Чашки з бактеріальними культурами витримували в термостаті за 36 ± 1 °С впродовж 24 год; з культурами дріжджів та міцеліальних грибів – за 30 ± 1 °С впродовж 24–48 год. Підраховували кількість колоній на кожній чашці Петрі. Повторно вміщували чашки у термостат на 24 год та виконували підрахунок. Серед одержаних значень для кожної чашки обирали найбільше. Для визначення вмісту життєздатних мікроорганізмів використовували лише ті чашки, які містили 15–300 колоній бактерій або 15–150 колоній грибів. Для підрахунку використовували не менше двох чашок Петрі, які відповідають таким вимогам.

Кожен дослід супроводжували контролем життєздатності культури, контролем токсичності нейтралізатора та контролем ефективності нейтралізації [6, 7].

Для кожної концентрації тест-розчину та всіх умов випробування окремо розраховували показник зниження рівня життєздатності за формулою:

$$R = N \cdot 10^{-1}/Na,$$

де R – показник зниження рівня життєздатності (редукції);

N – щільність випробуваної мікробної суспензії (КУО/мл);

Na – щільність випробуваної мікробної суспензії (КУО/мл) після оброблення продуктом.

За результатами досліджень вважали, що досліджуваний тест-зразок виявляв бактерицидну активність, якщо редукція кількості мікроорганізмів становила не менше 10^5 при терміні експозиції 60 хв або менше [6]. Досліджуваний препарат виявляв фунгіцидну активність, якщо редукція кількості мікроорганізмів становила не менше $4 \lg (10^4)$ при терміні експозиції 60 хв або менше [7].

Результати дослідження та обговорення

Виконаними дослідженнями встановлено, що 4%-й розчин АМ-166 в ізопропанолі виявляє виразну бактерицидну активність відносно грампозитивних (*S. aureus*) та грамнегативних (*P. aeruginosa*) бактерій. Ефект реєструється через 5 хв експозиції з вихідним розчином та його розведеннях у 5 та 10 разів. Збільшення часу витримки (до 15 хв) не впливає на вираженість антибактеріальної активності тест-розчину (табл. 1).

Показано (табл. 1), що 4%-й розчин АМ-166 в ізопропанолі виявляє специфічну активність відносно міцеліальних та дріжджоподібних грибів. Розведення тест-розчину у 5 та 10 разів не впливає на вираженість антифунгальної активності відносно *S. albicans*. Відносно *A. niger* розчин не виявляє фунгіцидної дії у разі його розведення.

Т а б л и ц я 1

Антисептичні властивості 4%-го розчину АМ-166 в ізопропанолі (с. 021216)

Концентрація засобу	Тривалість контакту, хв	Показник зниження життєздатності			
		<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Вихідний розчин	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^5$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
Розведення в 5 разів	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^3$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,1 \cdot 10^3$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^3$
Розведення в 10 разів	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,1 \cdot 10^3$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^3$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^3$

П р и м і т к а: «-» – дослідження не проводили.

Т а б л и ц я 2

Антисептичні властивості 5%-го розчину АМ-166 у 76%-му етанолі (с. 011216)

Концентрація засобу	Тривалість контакту, хв	Показник зниження життєздатності			
		<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Вихідний розчин	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^5$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^5$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^4$
Розведення в 5 разів	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$8,6 \cdot 10^4$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^4$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^4$
Розведення в 10 разів	5	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^3$
	15	$7,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,1 \cdot 10^3$
	30	-	-	$1,5 \cdot 10^7$	$3,4 \cdot 10^3$

П р и м і т к а: «-» – дослідження не проводили.

Встановлено (табл. 2), що 5%-й розчин АМ-166 у 76%-му етанолі виявляє бактерицидний ефект відносно *S. aureus* упродовж 5 хв експозиції як у вихідній концентрації, так і за розведення у 5 та 10 разів. Подовження терміну експозиції до 15 хв не змінює вираженість бактерицидного ефекту. Подібні результати одержано у разі дослідження активності тест-розчину відносно *P. aeruginosa*.

Тест-зразок 5%-го розчину АМ-166 у 76%-му етанолі в усіх досліджених концентраціях (вихідна та за розведення у 5 та 10 разів) виявляє виразну активність відносно *C. albicans* уже через 5 хв експозиції, антифунгальний ефект зберігається впродовж 30 хв. Досліджуваний розчин у вихідній концентрації виявляє фунгіцидні властивості відносно *A. niger* упродовж усього терміну експозиції та забезпечує зниження кількості життєздатних мікроорганізмів у 10^4 – 10^5 разів. У разі розведення розчину в 5 разів антифунгальні властивості сполуки АМ-166 зберігаються, спостерігається зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів у 10^4 разів. Десятикратне зниження концентрації нівелює фунгіцидні властивості досліджуваного тест-розчину (табл. 2).

Отже, сполука АМ-166 може бути перспективною для створення дезінфекційних/антисептичних засобів на її основі. Дослідження щодо специфічної активності 4%-го розчину АМ-166 в ізопропанолі та 5%-го розчину АМ-166 у 76%-му етанолі свідчать, що обидва розчини виявляють однаковий профіль активності відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також відносно дріжджоподібних грибів. Антибактеріальний та антифунгальний ефекти реєструються в усіх досліджених концентраціях та зберігаються впродовж усього терміну дослідження.

Відносно *A. niger* обидва досліджені розчини у вихідній концентрації виявляють фунгіцидну активність. За розведення у 5 разів більш ефективним виявився 5%-й розчин АМ-166 у 76%-му етанолі порівняно з відповідним розведенням 4%-го у ізопропанолі. У разі розведення у 10 разів обидва розчини не виявляють фунгіцидної активності.

В и с н о в к и

1. Одержані результати досліджень свідчать про наявність дезінфекційної/антисептичної активності у 4%-го розчину АМ-166 в ізопропанолі та 5%-го розчину АМ-166 у 76%-му етанолі відносно грампозитивних (*S. aureus*) та грамнегативних (*P. aeruginosa*) бактерій, міцеліальних (*A. niger*) та дріжджоподібних (*C. albicans*) грибів.

2. Показано, що 4%-й розчин АМ-166 в ізопропанолі виявляє специфічну (дезінфекційну/антисептичну) активність відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій, міцеліальних та дріжджоподібних грибів. Ефект реєструється через 5 хв експозиції з вихідним розчином, розведення тест-розчину у 5 та 10 разів не впливає на вираженість дезінфекційної/антисептичної активності відносно *C. albicans*, *S. aureus* та *P. aeruginosa*. Відносно *A. niger* розчин не виявляє фунгіцидної дії у разі його розведення.

3. Встановлено, що 5%-й розчин АМ-166 у 76%-му етанолі виявляє специфічну дію відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій, міцеліальних та дріжджоподібних грибів. Бактерицидний ефект зберігається впродовж 5–15 хв у всіх досліджених концентраціях (вихідний 5%-й розчин та його розведення). Фунгіцидна дія відносно *A. niger* та *C. albicans* зберігається за розведення у 5 разів (1,0%-й розчин).

Список використаної літератури

1. Тодосійчук Т. С., Стрелець Т. І., Конопацька С. В. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2011. – № 3. – С. 90–97.
2. Фоміна Н. С. Вивчення формування резистентності у клінічних штамів мікроорганізмів до горостену, декасану, мірамістину // Вісн. морфології. – 2013. – Т. 19, № 2. – С. 298–301.
3. Римша О. В., Сухляк В. В. Формування резистентності мікроорганізмів до антисептичних препаратів // Профілактична медицина. – 2012. – Т. 19, № 3–4. – С. 37–40.
4. Фомін О. О., Фоміна Н. С., Кондратюк В. М. Характеристика біологічних властивостей мікрофлори, виділеної з ран постраждалих в зоні АТО // Biomedical and biosocial anthropology – 2016. – № 26. – С. 136–139.
5. Ахмадзянова А. Р., Алиева Э. Х., Маслов Ю. Н., Каблинова Т. В. Чувствительность к антисептикам – информативная характеристика микробных культур // Новая наука: стратегии и векторы развития. – 2017. – Т. 2, № 2. – С. 24–26.
6. ДСТУ EN 1040:2004 Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна бактерицидна активність. Частина 1. Метод випробовування та вимоги (стадія 1). Науково-виробниче підприємство ТОВ «Лабораторія меддезкомп». – К.: Держспоживстандарт України. – 2005. – 26 с.
7. ДСТУ EN 1275:2004 Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна фунгіцидна активність. Метод випробовування та вимоги (стадія 1). Науково-виробниче підприємство ТОВ «Лабораторія меддезкомп». – К.: Держспоживстандарт України. – 2005. – 24 с.

Надійшла до редакції 6 листопада 2017 року.

Н. А. Врынчану¹, В. Л. Макитрук², А. С. Шаламай², М. Л. Дронова¹,
Д. М. Дудикова¹, З. С. Суворова¹, А. А. Шарова¹

¹ ГУ «Інститут фармакології і токсикології НАМН України», г. Київ

² ПАО НПЦ «Борщаговський хіміко-фармацевтичний завод», г. Київ

АНТИСЕПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНОГО АМИНОАДАМАНТАНА

Ключевые слова: производные адамантана, антисептическое действие, фунгицидная активность, бактерицидная активность

АННОТАЦИЯ

Формирование устойчивости микроорганизмов к современным антимикробным препаратам требует разработки новых антисептических средств. Объектом исследования выбрано производное фениладамантана (4-(адамантил-1)-1-(1-аминобутил)бензол, шифр – АМ-166). Целью работы было изучение специфической активности 4%-го раствора АМ-166 в изопропанол и 5%-го раствора АМ-166 в 76%-м этаноле (производитель ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ») в отношении широкого спектра бактерий и грибов, оценивание их эффективных концентраций и времени экспозиции. Дезинфекционные/антисептические свойства оценивали количественным суспензионным методом с последующей нейтрализацией раствора.

Полученные результаты показали, что оба раствора проявляли подобную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также в отношении дрожжеподобных грибов. Антибактериальное и антифунгальное действие наблюдалось во всех исследованных концентрациях (исходные растворы, разведения в 5 и 10 раз) и сохранялось на протяжении всего срока наблюдения (5–30 мин).

В отношении *A. niger* оба исследованных раствора в исходной концентрации проявляли фунгицидное действие. При разведении в 5 раз 5%-й раствор АМ-166 (в 76%-м этаноле) был более эффективным по сравнению с соответствующим разведением 4%-го раствора АМ-166 (в изопропанол). При разведении в 10 раз оба раствора не проявляли фунгицидной активности. Полученные результаты свидетельствуют о том, что производные адамантана могут быть перспективными для разработки на их основе антисептических средств.

N. O. Vrynchanu ¹, V. L. Makitruk ², A. S. Shalamay ², M. L. Dronova ¹,
D. M. Dudikova ¹, Z. S. Suvorova ¹, A. O. Sharova ¹

¹SI «Institute of pharmacology and toxicology of NAMS of Ukraine», Kyiv

²PJSC SIC «Borshchahivskiy chemical-pharmaceutical plant», Kyiv

ANTISEPTIC PROPERTIES OF AMINOADAMANTANE DERIVATIVE

Key words: adamantane derivatives, antiseptic properties, fungicidal activity, bactericidal activity

ABSTRACT

Development of microbial resistance to current antimicrobial drugs created a critical need of the new antiseptics. The object of our study was phenyladamantane derivative (4-(adamantyl-1)-1-(1-aminobutyl)benzol, AM-166). The aim of the presented study was to investigate the specific activity of 4% AM-166 solution in isopropanol and 5% AM-166 solution in 76% ethanol (manufactured by PJSC SIC «Borshchahivskiy CPP») against the wide spectrum of bacteria and fungi, and effective concentrations and exposition time determination. Desinfectant/antiseptic activity was evaluated by quantitative suspension method with subsequent neutralization.

Our results showed that both solutions exhibited similar activity against gram-positive and gram-negative bacteria as well as against yeasts. Antibacterial and antifungal action was demonstrated for all investigated concentrations (initial solution, 5-fold and 10-fold dilutions), observed effect was maintained throughout the whole observation period (from 5 to 30 min).

Tested solutions in initial concentrations demonstrated fungicidal activity against *A. niger*. 5-fold dilution of 5% AM-166 solution in 76% ethanol was more effective than 5-fold dilution of 4% AM-166 solution in isopropanol. 10-fold dilutions of both solutions were ineffective against *A. niger*. The data obtained suggest the prospects of adamantane derivatives for the development of novel antiseptics.

Електронна адреса для листування з авторами: nvrnchanu@gmail.com