

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТИ 6-ГИДРОКСИ-2,3-ДИМЕТИЛ-6-ТРИФТОРМЕТИЛ-6,7,8,9-ТЕТРАГИДРО-1Н-ПИРРОЛО[3,2-Н]ХИНОЛИН-8-ОНА

¹Степаненко И.С., ¹Коткин А.И., ¹Ямашкин С.А., ²Бородулина М.В., ²Лямина Е.Л.,
²Рогожина Н.А. ¹

¹ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: 19aleksey90@mail.ru;

²Городское казенное учреждение здравоохранения Республики Мордовия «Республиканский противотуберкулезный диспансер», Саранск

В рамках исследований, посвященных выявлению физиологической активности гетероциклов ряда индола и хинолина, нами начато изучение некоторых различно замещенных пирролохинолинов, сочетающих индольный и хинолиновый фрагмент на биологическую активность. Одним из соединений этого ряда является, полученный и описанный нами 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолин-8-он. Результаты исследования показали, что исследуемое соединение проявляет широкий спектр противомикробной активности. Также было проведено изучение противотуберкулезной активности этого пирролохинолина. Для определения противотуберкулезной активности применялся метод абсолютных концентраций на среде Левинштейна-Иенсена. В опыте использовали клинические штаммы *Mycobacterium tuberculosis* многократно проверенные и чувствительные ко всем противотуберкулезным препаратам. Анализ результатов показал, что 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолин-8-он способен подавлять рост и размножение микобактерий туберкулеза.

Ключевые слова: 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолин-8-он, антимикробная активность, противотуберкулезная активность, метод абсолютных концентраций.

THE STUDY OF ANTITUBERCULAR ACTIVITY OF 6-HYDROXI-2,3-DIMETHYL-6-TRIFLUORINEMETHYL-6,7,8,9-TETRAHYDRO-1H-PYRROLO[3,2-H]CHINOLINE-8-ONA

¹Stepanenko I.S., ¹Kotkin A.I., ¹Yamashkin S.A., ²Borodulina M.V., ²Ljamina E.L.,
²Rogozhina N.A.

¹Mordovian M.E.Yevseviev State Pedagogical Institute, Saransk, e-mail: 19aleksey90@mail.ru

²State owned health care institution of the Republic of Mordovia «Republican TB dispensary», Saransk

In the research to identify the physiological activity of heterocyclic compounds series of indole and quinoline, we began to explore some of variously substituted pyrroloquinoline combining indole and quinoline fragment on biological activity. One of the compounds of this series is obtained and described by us 6-hydroxy-2,3-dimethyl-6-trifluoromethyl-6,7,8,9-tetrahydro-1H-pyrrolo[3,2-*h*]quinoline-8-on. The results showed that the test compound exhibits a broad spectrum of antimicrobial activity. As well study was conducted antitubercular activity of pyrroloquinoline. To determine the anti-TB activity was used the method of absolute concentrations in the environment Levinstein-Jensen In the experiment used the clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* repeatedly tested and sensitive to all anti-TB drugs. The analysis of the results showed that 6-hydroxy-2,3-dimethyl-6-trifluoromethyl-6,7,8,9-tetrahydro-1H-pyrrolo[3,2-*h*]quinoline-8-on is able to inhibit the growth and multiplication of *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: 6-hydroxi-2,3-dimethyl-6-trifluorinemethyl-6,7,8,9-tetrahydro-1H-pyrrolo[3,2-*h*]chinoline-8-on, antimicrobic activity, antitubercular activity, method absolute concentration.

Азотистые гетероциклические системы занимают ведущее место среди физиологически активных соединений, как природного, так и синтетического происхождения. Прежде всего, это касается производных хинолина и индола, а следовательно пирролохинолина, в молекуле которого сочетаются указанные фармакофорные фрагменты. Обнаруженный в живых системах кофермент окислительно-восстановительных

ферментов – PQQ (метоксатин), классифицированный как витамин группы В, по химической структуре представляет собой трициклический о-хинон – 2,7,9-трикарбоксо-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-4,5-дион [6]. Последний широко распространен в продуктах растительного происхождения: в плодах цитрусовых, киви, папайе, петрушке, перце, зеленом чае, а также в небольших количествах содержится в мясе, яичных желтках, женском молоке. Пирролохинолиновые аналоги PQQ представляют собой соединения, которые могут служить заменой природного вещества и могут быть использованы как антиоксиданты или как окислительно – восстановительные коферменты в ферментных системах. В связи с этим научные изыскания по разработке удобных методов синтеза и получению новых гидроксо-, этоксикарбонилзамещенных пирролохинолинов – структурных аналогов метоксатина, весьма актуальны.

Проблема синтеза и изучения различных антимикробных и антигрибковых средств изучается достаточно давно. При этом подробно рассматриваются их основные группы, механизмы действия, а также механизмы устойчивости микроорганизмов к этим препаратам. Учеными обсуждаются принципы выбора антимикробных средств, комбинированная антимикробная терапия и антимикробная профилактика, приводятся теоретические основы и даются практические рекомендации, касающиеся рационального применения антимикробных средств. Но, несмотря на огромное количество уже известных антимикробных и антигрибковых средств, проблема синтеза и изучения активности все новых соединений обладающим подобным действием не утратила актуальности. Это объясняется еще и тем, что микроорганизмы (а также и грибы) обладают таким свойством, как приобретенная резистентность к антимикробным средствам.

Нами уже было начато фармакологическое изучение некоторых пирролохинолинов, которое осуществлялось с применением тестов, позволяющих выявить их психотропную, противосудорожную, анальгетическую и антисеротиновую активность [2]. Полученные результаты дают нам возможность утверждать, что данные соединения, а также их аналоги в той или иной степени обладают биологической активностью. Поэтому подробное и полное изучение данного направления является перспективным и актуальным. Не меньший интерес для фармакологии имеют и витаминоподобные соединения. Известно, что пирролохинолиновые аналоги витамина PQQ представляют собой биологически активные соединения, которые могут служить заменой природного соединения, то есть метоксатина, а, следовательно, оказывать воздействие на живые системы [1].

Результаты исследования показали, что 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло [3,2-h]хинолин-8-он проявил широкий спектр

противомикробной активности, как в отношении грамположительных, так и в отношении грамотрицательных микроорганизмов [5].

Известно, что микобактерии отличаются сложным строением клеточной мембраны, препятствующей проникновению терапевтических агентов, существованием латентных «дремлющих» форм, а также способностью вырабатывать резистентность. Поэтому, несмотря на усилия многочисленной армии исследователей во всем мире, в настоящее время задача поиска новых антитуберкулезных препаратов остается нерешенной. Это приводит к тому, что туберкулез занимает первое место в структуре смертности больных с инфекционными заболеваниями [3].

Цель исследования – изучение противотуберкулезной активности 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1H-пирроло[3,2-h]хинолин-8-она.

Материалы и методы исследования

В соответствии с законом РФ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (1991г.), Федеральными санитарными правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами» (СП 1.2.731 – 99), Инструкцией «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности» (СП 1.2.036 – 1995) к работе с материалом, зараженным туберкулезными и нетуберкулезными микобактериями (III-IV группы), допускаются лаборатории, имеющие специальное разрешение Центра Государственного санитарно-эпидемиологического надзора и нормирования Минздрава РФ [4]. Поэтому все работы по исследованию чувствительности микобактерий к исследуемому препарату проводились в ГКУЗ РМ «РПТД».

Исследуемое соединение использовали в виде раствора. В качестве растворителя применяли «Димексид» (концентрат для приготовления растворов для наружного применения, производство ОАО «Марбиофарм»).

Для определения противотуберкулезной активности исследуемого соединения использовали метод абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена. Этот метод традиционно используется в практике противотуберкулезных учреждений для определения лекарственной устойчивости МБТ к противотуберкулезным препаратам. Тест на лекарственную чувствительность проводили согласно приказу МЗ РФ от 21 марта 2003 года N 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». В опыте использовали клинические штаммы *M.tuberculosis* (МТБ) многократно проверенные и чувствительные ко всем противотуберкулезным препаратам. Из культуры МБТ готовили бактериальную суспензию, которая была стандартизирована по оптическому стандарту мутности № 5 (500 млн микробных тел в 1 мл). Далее готовили «рабочий» раствор

путём разведения исходной суспензии в 10 раз стерильным физиологическим раствором (получили 5×10^7 микробных тел в 1 мл). Затем осуществляли посев МБТ из «рабочего» раствора в пробирки со средой Левенштейна-Йенсена, в которые был добавлен 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло [3,2-h] хинолин-8-он в различных концентрациях (3,8 мг/мл; 1,9 мг/мл; 0,95 мг/мл; 0,48 мг/мл; 0,24 мг/мл). Параллельно данную культуру микобактерий туберкулёза высевали на серию приготовленной питательной среды с эквивалентными объёмами растворителя («Димексид») и в контрольные пробирки со средой Левенштейна-Йенсена без добавления других субстратов. Инкубирование проводили в течение 3-4 недель в термостате при температуре 37 °С при обязательном еженедельном просмотре. Результаты определения учитывали на 21 день после посева. Характер действия определяли по наличию и интенсивности роста МБТ.

Результаты исследования и их обсуждение

На питательных средах с различными концентрациями (3,8 мг/мл; 1,9 мг/мл; 0,95 мг/мл; 0,48 мг/мл; 0,24 мг/мл) исследуемого соединения, роста МБТ не зафиксировано. В пробирках с эквивалентными объёмами растворителя и в пробирках без препарата наблюдался обильный рост МБТ. Полученные данные представлены в таблице.

Таким образом, 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло [3,2-h] хинолин-8-он в исследуемых концентрациях полностью подавил рост МБТ используемого клинического штамма МБТ. Минимальная концентрация, используемая в исследовании, составила 0,24 мг/мл 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло [3,2-h] хинолин-8-она.

Рост МБТ на среде Левенштейна-Йенсена

Состав среды	Рост колоний МБТ
Среды с исследуемым препаратом в концентрации: 3,8 мг/мл	—
1,9 мг/мл	
0,95 мг/мл	
0,48 мг/мл	
0,24 мг/мл	
Среда с Димексидом	+
Контроль (среда, не содержащая препаратов)	+

*Примечание: «-» – отсутствие роста; «+» – наличие роста микобактерий, более 20 колоний.

Вывод

Таким образом, проведённое исследование показало, что 6-гидрокси-2,3-диметил-6-трифторметил-6,7,8,9-тетрагидро-1Н-пирроло [3,2-h] хинолин-8-он способен подавлять рост

и размножение микобактерий туберкулеза, что открывает возможности для его дальнейшего изучения.

Статья подготовлена в рамках проекта 2.2.2. Решение комплексных проблем в области биологии, экологии, химии, физиологии, спортивной медицины на базе НОЦ и НИЛ Программы стратегического развития МордГПИ на 2012–2016 гг.

Список литературы

1. Жукова, Н.В. Синтез гетероциклических соединений с использованием щавелевоуксусного эфира (обзор) / Н.В. Жукова, С.А. Ямашкин // Химия гетероциклических соединений. – Латвия, Рига, Латвийский институт органического синтеза, 2008. - № 2. – С. 163-188.
2. Кадималиев, Д.А. Влияние различно замещенных пирролохинолинов на физиолого-биохимические характеристики лигнолитического гриба *Lentinus Tigrinus* // Д.А. Кадималиев, И.С. Степаненко, О.С. Надежина, С.А. Ямашкин Микология и фитопатология. – Москва. – 2014. – Т. 48. - № 5. – С. 309-314.
3. Каюкова Л.А., Пралиев К.Д. Основные направления поиска новых противотуберкулезных средств // Хим.-фарм. Журнал. – 2000. – Т. 34. - № 1. – С. 12-19.
4. Приказ МЗ РФ от 21 марта 2003 года N 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» (с изменениями на 29 октября 2009 года).
5. Степаненко И.С., Котькин А.И., Ямашкин С.А. Изучение противомикробной активности фторзамещенных пирролохинолинов // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 8. – часть № 6. – С. 1406-1410.
6. Zhang, Z. Synthesis of isomeric analogs of coenzyme pyrroloquinoline quinone (PQQ) / Z. Zhang, L. M. V. Tillekeratne, R. A. Hudson // Synthesis. – 1996. - №3. – P. 377.

Рецензенты:

Кадималиев Д.А., д.б.н., профессор кафедры биотехнологии, биоинженерии, биохимии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск.

Сипров А.В., д.м.н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск.