

ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПИЩЕВЫХ МИКРОИНГРЕДИЕНТОВ СРЕДИ ПРОДУКТОВ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Дубровина С.С.², Воронина Э.В.¹, Игидов Н.М.², Новикова В.В.², Мазунина Т.А.¹

¹ФГБОУ ВПО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», Пермский институт (филиал), Пермь, Россия (614070, г. Пермь, бульвар Гагарина, 57), e-mail: voroninaemma@rambler.ru;

²ФГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пермь, Россия (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д.2)

Методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде исследована бактериостатическая активность енамино-, енгидразино- и енаминопроизводных амидов ацилпировиноградной кислоты. Установлено, что на проявление ПМА в ряду енаминопроизводных АПК влияет заместитель в енаминогруппе. Присутствие тимольного радикала приводит к увеличению активности по отношению к тест-штаммам *S. aureus* и *E. coli*. Среди енгидразинопроизводных арилпировиноградных кислот наиболее активны соединения, содержащие в енгидразинной группе о-гидроксибензилкарбонильный фрагмент. На степень выраженности бактериостатического действия енаминопроизводных амидов ацилпировиноградных кислот оказывает влияние природа галогена в фениламиногруппе во втором положении углеродной цепи. Соединения с 2,4-ди-хлорфенильным радикалом в отличие от 2- и 4(2,4)-бром(дибром)фениламино-производных проявляют более высокую бактериостатическую активность в отношении *S. aureus* и *E. coli*. Предлагается дальнейшее исследование ряда соединений с целью создания перспективных пищевых микроингредиентов, обладающих консервирующим действием.

Ключевые слова: пищевые микроингредиенты, бактериостатическая активность, енаминопроизводные ацилпировиноградных кислот, енгидразинопроизводные ацилпировиноградных кислот, енаминопроизводные амидов ацилпировиноградных кислот, консерванты.

SEARCH OF PROMISING FOOD MICROINGREDIENTS AMONG PRODUCTS OF ORGANIC SYNTHESIS

Dubrovina S.S.², Voronina E.V.¹, Hidov N.M.², Novikova V.V.², Mazunina T.A.¹

¹ FGBOU VPO "Russian economic University named after. G. V. Plekhanova", Perm Institute (branch), Perm, Russia (614070, Perm, Gagarin Boulevard, 57), e-mail: voroninaemma@rambler.ru;

² FSBEI HPE "Perm state pharmaceutical Academy", Perm, Russia (614990, Perm, Polevaya street 2)

Bacteriostatic of enamino engidrazino-and amid derivatives of pyruvic acid activity was analyzed by double serial dilutions in liquid medium. It is established that manifestation of PMA among the enamino derivatives of agrarian and industrial complex is influenced by the deputy in an enamino group. Presence of the timolny radical leads to increase in activity in relation to test strains of *S. aureus* and *E. coli*. Among engidrazino arilpirovinogradnyh acid derivatives are most active compounds containing a group of engidrazinnoy-gidroksifenilkarbonilny fragment. The degree of severity of bacteriostatic action enamino derivative amides atsilpirovinogradnyh acid nature affect phenylamino halogen in the second position of the carbon chain. Compounds with 2,4-di-chlorophenyl radical unlike 2- and 4 (2.4) bromo (dibromo) phenylamino derivatives exhibit higher bacteriostatic activity against *S. aureus* and *E. coli*. It is proposed to further study of a number of compounds for the development of advanced food micro-ingredients having a preservative effect.

Keywords: micro food ingredients, bacteriostatic activity, amino derivatives atsilpirovinogradnyh acids engidrazino proizvodnye atsilpirovinogradnyh acid amides atsilpirovinogradnyh enamino derivative acids, preservatives.

В настоящее время производство современных продуктов питания невозможно без применения микроингредиентов: пищевых и биологически активных добавок, технологических вспомогательных средств, физиологически функциональных ингредиентов. Ассортимент пищевых продуктов в последние годы значительно расширился, что связано с ростом предложения на безопасные и качественные пищевые добавки.

Создание и производство отечественных пищевых микроингредиентов является важной задачей развития пищевой и перерабатывающей промышленности. Актуальность данного направления возрастает в настоящее время в условиях экономического кризиса и принятых санкций в отношении России. Новые экономические условия становятся испытанием и возможностью, как для поставщиков пищевых ингредиентов, так и для производителей пищевых продуктов. Рыночная ситуация требует быстрого реагирования, поиска новых возможностей сохранения и развития бизнеса, позволяет обновить взгляд на конкурентоспособность производимого продукта, на повышение качества, на соответствие стандартам, а также на потребности и желания потребителей.

В соответствии с Постановлением Правительства РФ №77 от 07.08.2014 г. пищевые микроингредиенты включены в перечень товаров, запрещенных к ввозу в РФ. Россия относится к странам, имеющим высокую импортозависимость по данной группе товаров, внутреннее производство не превышает 10% в натуральном выражении [5]. Пищевые микроингредиенты используются при производстве пищевого продукта на протяжении всего технологического цикла, поэтому даже в случае производства достаточного количества сырья в стране, без них невозможно решить вопросы продовольственной безопасности и производить качественные продукты питания.

Необходимость наличия в стране собственного развитого производства пищевых микроингредиентов была очевидна и ранее, а события последних месяцев способствовали принятию решения о подготовке Программы развития производства микроингредиентов на период до 2025 года. Разработка проекта Программы осуществляется совместными усилиями двух организаций – Союза производителей пищевых ингредиентов и ВНИИ пищевых добавок. В основу проекта Программы положена Концепция развития отечественного производства пищевых микроингредиентов, разработанная ВНИИПД на период до 2025 года [4].

Целью исследования является поиск антимикробной активности среди продуктов органического синтеза – енамино-, енгидразино- и енаминопроизводных амидов ацилпировиноградной кислоты с целью создания перспективных пищевых микроингредиентов, обладающих консервирующим действием.

Задачи исследования: изучить бактериостатическую активность енамино-, енгидразино- и енаминопроизводных амидов ацилпировиноградной кислоты.

Материал и методы исследований

Енаминопроизводные и енгидразинопроизводные ацилпировиноградных кислот получены на основе взаимодействия ацилпировиноградных кислот с первичными аминами и гидразонами ароматических кетонов [2]. Енаминопроизводные амидов

ацилпировиноградных кислот получены дециклизацией 4-ариламино-2-трет-бутил-2,5-дигидро-5-оксофуран-2-илацетатов под действием первичных аминов[1].

Бактериостатическую активность определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде[6]. При этом использовали смыв суточной культуры выращенной на мясопептонном агаре, стерильным физиологическим раствором хлорида натрия. Готовили исходное разведение с концентрацией 500 млн. микробных тел в одном мл смыва по бактериальному стандарту. Полученную смесь разводили стерильным МПБ в 100 раз. Это разведение бактериальной культуры с концентрацией 5 млн. микробных тел в 1 мл является рабочим раствором. Последний в количестве 0,1 мл вносили в 2 мл МПБ. Исследуемые вещества растворяли в ДМФА в соотношении 1:100 и разводили мясопептонным бульоном. Микробная нагрузка составляла 250000 микробных тел на 1 мл питательной среды. Результаты опытов фиксировали после 18-20 часов выдержки контрольных и опытных культур в термостате при температуре 37°C. Регистрировали наличие роста бактерий или его отсутствие за счет бактериостатического действия соединения.

Бактериостатическую активность соединений оценивали по величине минимальной ингибирующей концентрации в мкг/мл, которая задерживала рост бактериальных культур. Для всех исследуемых соединений были определены МПК в отношении фармакопейных штаммов: *Gr + S. aureus ATCC 6538 – P*, *Gr – E. Coli ATCC 25922*. Статистическая обработка результатов исследования проведена с вычислением средних арифметических (M), их среднестатистических ошибок (m) и критерия достоверности (p). Различия считали достоверными при $p < 0,05$. В качестве эталона сравнения использовали диоксидин.

Результаты исследований и обсуждение

Результаты исследования бактериостатической активности енамино- и енгидразинопроводных ацилпировиноградных кислот приведены в таблице 1.

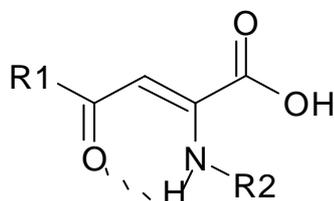


Таблица 1

Бактериостатическая активность енамино- и енгидразинопроводных ацилпировиноградных кислот

№	R ¹	R ²	МПК, мкг/мл	
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	C ₆ H ₅	3-CF ₃ C ₆ H ₄	1000	1000

2	(CH ₃) ₃ C	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	3,9	3,9
3	C ₆ H ₅	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	31	15,6
4	4-CH ₃ C ₆ H ₄	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	15,6	15,6
5	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	15,6	15,6
6	4-FC ₆ H ₄	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	31	31
7	4-ClC ₆ H ₄	4-HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	31	31
8	4-CH ₃ C ₆ H ₄	2-HOC ₆ H ₄ CONH	250	250
9	4-C ₂ H ₅ OC ₆ H ₄	2-HOC ₆ H ₄ CONH	62	62
10	4-FC ₆ H ₄	2-HOC ₆ H ₄ CONH	15,6	125
Диоксидин			62-1000	3,9-62

Установлено, что на проявление ПМА в ряду енаминопроизводных АПК влияет заместитель в енаминогруппе. Присутствие тимольного радикала приводит к увеличению активности по отношению к тест-штаммам от 32 до 128 раз (соединения 2-6). Среди енгидразинопроводных арилпириновиноградных кислот наиболее активны соединения 9 и 10, содержащие в енгидразинной группе о-гидроксифенилкарбонильный фрагмент[3].

Результаты исследования бактериостатической активности замещенных амидов 2-(2'(4)-бром (хлор) фениламино)-5.5-диметил-4-оксо-2-гексеновых кислот приведены в таблице 2.

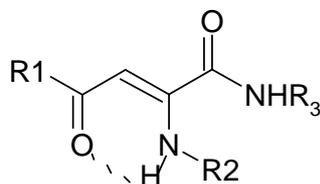


Таблица 2

Бактериостатическая активность енаминопроизводных амидов
ацилпириновиноградных кислот

№	R ¹	R ²	R ³	МПК, мкг/мл	
				<i>S. aur.</i>	<i>E. coli</i>
1	(CH ₃) ₃ C	2-BrC ₆ H ₄	2-JC ₆ H ₄	1000	1000
2	(CH ₃) ₃ C	4-BrC ₆ H ₄	4-O ₂ NC ₆ H ₄	1000	1000
3	(CH ₃) ₃ C	4-BrC ₆ H ₄		500	500
4	(CH ₃) ₃ C	2,4-Br ₂ C ₆ H ₃	4-BrC ₆ H ₄	1000	1000
5	(CH ₃) ₃ C	2,4-Br ₂ C ₆ H ₃	4-C ₂ H ₅ OCOC ₆ H ₄	1000	1000
6	(CH ₃) ₃ C	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	2-CH ₃ -5-O ₂ NC ₆ H ₃	15,6	15,6
7	(CH ₃) ₃ C	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃		125	250
8	(CH ₃) ₃ C	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃		500	500
9	4-CH ₃ C ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	15,6	31
10	4-C ₂ H ₅ OC ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	31	62
11	4-ClC ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	7,8	15,6

12	4-ClC ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	2,4,6-(CH ₃) ₃ C ₆ H ₂	3,9-7,8	3,9-1000
13	4-CH ₃ C ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	4HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	7,8	15,6
14	4-ClC ₆ H ₄	(C ₂ H ₅) ₂ NC ₂ H ₄	4HO-2-i-C ₃ H ₇ -5-CH ₃ C ₆ H ₂	3,9	7,8
Диоксидин				62-1000	3,9-62

Установлено, что на степень выраженности бактериостатического действия енаминопроизводных амидов ацилпировиноградных кислот оказывает влияние природа галогена в фениламиногруппе во втором положении углеродной цепи. Соединения с 2,4-ди-хлорфенильным радикалом (6,7) в отличие от 2- и 4(2,4)-бром(дибром)фениламинопроизводных проявляют более высокую бактериостатическую активность в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

Высокая бактериостатическая активность соединений 9-14 обусловлена присутствием N,N-диэтиламиноэтильного заместителя в енаминогруппе и фрагментов тимола, 2,6-ксилидина, мезитилена в амидном звене молекулы ацилпировиноградной кислоты.

Заключение

Проведенные исследования позволили установить, что енамино- и енгидразинопроизводные ацилпировиноградных кислот и енаминопроизводных амидов ацилпировиноградных кислот являются перспективными для дальнейшего изучения и создания на их основе пищевых микроингредиентов, обладающих консервирующим действием.

Список литературы

1. Бородин А.Ю. Синтез, свойства и биологическая активность енаминоамидов ацилпировиноградных кислот: дис. канд. фармац. наук. 14.04.02. Пермская гос. фарм. академия, Пермь, 2011.- 179 с.
2. Буканова Е.В. Взаимодействие ацилпировиноградных кислот и их амидов с аминосоединениями в синтезе биологически активных веществ: дис. канд. фармац.: 15.00.02. Пермская гос. фарм. академия, Пермь, 2004.- 141 с.
3. Дубровина С.С. Поиск веществ с противомикробной активностью среди производных антралиновой кислоты, полиоксосоединений и гетероциклических азотсодержащих соединений: дис. канд. фармац. наук. 15.00.02. Пермская гос. фарм. академия, Пермь, 2009.- 147 с.
4. Никифорова Т., Кулёв Д., Нечаев А.П., Семенова П.А. Развитие отечественного производства микроингредиентов – комплексное решение вопросов импортозамещения для

пищевой и перерабатывающей промышленности // Бизнес пищевых ингредиентов. – 2015.- №1. – С.12-14.

5. Нечаев А.П., Семенова П.А. Структура рынка и стратегия производства микроингредиентов в РФ до 2020 г. // Пищевые ингредиенты, сырье и добавки. – 2012. - №1. – С.12-17.

6. Методические указания МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. – 2004. – Т.6. - №4. - С.306-359.

Рецензенты:

Семериков В.В., д.м.н., доцент, главный эпидемиолог Министерства здравоохранения Пермского края, г. Пермь;

Вдовина Г.П., д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.Г. Вагнера, г. Пермь.