

FENANTRÉN SZÁRMAZÉKOK BAKTERICID HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

FEHÉR LÁSZLÓ*

Nagy hatású, szélesspektrumú fungicid és baktericid antibiotikum kevés van forgalomban a gyógyászatban és növényvédelemben. A jó hatóanyagok iránt igen megnőtt az érdeklődés, mivel a bőtermő intenzív növényfajták, az állattenyésztésben létrehozott hibridek általában fogékonyabbak a kórokozókkal szemben.

Hazánkban Ferenczy, Horváth, Zsolt (1965) közel 1500 növényt vizsgáltak meg, baktérium és gombaellenes hatóanyagok után kutatva. A magyar flórában leghatásosabb fungicid vegyületnek a *Cynanchum vincetoxicum* alkaloidját találták. Szerkezeti képletét Háznagy A. és mtársai (1965) írták le, mely demetoxitylophorinnak adódott. Az *Asclepiadaceae* család növényeiben Rao (1970), Govindacari (1954) hasonló szerkezetű alkaloidokat találtak.

Fehér (1970) által a növényből extrahált antibiotikum 10^{-8} M-nál is teljes gátlást idézett elő a megvizsgált 40 gomba esetében. A vegyületet rendkívül nagy hatása ellenére nem alkalmazhatjuk sem a növényvédelemben sem az állatgyógyászatban két, lényegét érintő kedvezőtlen tulajdonsága miatt. Az egyik ilyen tényező, hogy az alkaloida fényhatására bomlik, és az így keletkezett bomlástermék inaktív válik; a másik tényező; emlősök bőrére kerülve hólyagot híz.

A demetoxitylophorinról Ferenczy (1972) megállapította, hogy hatását azáltal fejtí, ki hogy a fehérjesszintézist gátolja.

A kémiai szerkezet ismeretében Földeák és mtársai a JATE Szerveskémiai Intézetében előállították szintetikusán is a vegyületet, majd a vegyületnek több mint 150 származékát.

Fehér (1974) 12 tesztorganizmussal végigvizsgálta a szintetizált vegyületeket és meghatározta, hogy az alkaloida, mely szubsztituensei, pontjai felelősek a rendkívül nagy hatásért. Számos nagyhatású vegyületről — melyek már fotostabilak voltak — megállapította patkányok bőrére ecsetelve, hogy emlősökre semmilyen toxikus hatást nem fejtenek ki, és gyorsan kiürülnek a szervezetből.

A vegyületekről szerzett ismeretek birtokában azt a célt tűztük magunk elé, hogy megállapítsuk a származékokról, milyen koncentrációban gátolják baktériumok spóráinak csírázását.

* Mikrobiológiai Tanszék

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. A kísérleteinkhez a következő spórás baktériumokat használtuk fel:

Bacillus cereus	Bacillus lentus
Bac. licheniphormis	Bac. polimixa
Bac. circulans	Bac. coagulans
Bac. sphericus	Bac. laterosporus
Bac. mesentericus	Bac. megatherium 299
Bac. firmus	Bac. pumilis
Bac. stearothermophilus	Bac. brevis
Bac. subtilis	Bac. megatherium
Bac. macerans	

2. A kísérletbe a következő fenantrén származékokat vontuk be, melyeket Földeák és m.társai állítottak elő:

A vegyületek kémiai elnevezése	Az 1. sz. táblázatban a vegyületek sorszáma •										
6 db fenantrén-metil-piperidin	3,	4,	7,	16,	17,	18					
6 db fenantrén-metil-butilamin	1,	2,	5,	8,	9,	16					
7 db szekofenantrén-metil piperidin	11,	23,	24,	25,	27,	28,	29				
2 db szekofenantrén-metil butilamin	26,	22,									
8 db egyéb fenantrén származék	6,	10,	12,	13,	14,	19,	20,	21			

3. A származékok hatásának megállapítására következő pufferelt táptalajt használtuk:

5 g glükóz
5 g élesztőkivonat,
20 g agar
500 ml 7,4 pH-jú Sörensen f.PO₄ puffer,
500 ml csapvíz

A hatóanyagot 50 ml kézmeleg táptalajba vittük be, majd felezőhígítással 7 lépésű hígítási sort állítottunk elő.

Az első csészében 2×10^{-4} M mennyiségben volt jelen hatóanyag, ami körülbelül 60 mikrogrammnak felelt meg. A megszilárdult táptalaj felületére kaccsal vittük fel a mikroorganizmusokat előre elkészített és 80 °C-on 15 percig hőkezelt szuszpenzióból. 48 óráig 35 °C-on inkubáltunk és értékeltük az eredményeket.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A kísérleteket az 1. számú táblázatban foglaltuk össze. A táblázat fejrésében az aktivitás szempontjából megvizsgált vegyületek száma található. A mikroorganizmusok neve után levő számok kódszámok, jelentésüket az alábbiakban ismertetjük.

$$1 = 2 \times 10^{-4} \text{ M}$$

$$2 = 10^{-4} \text{ M}$$

$$3 = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$4=2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$5=1,25 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$6=6 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$7=3 \times 10^{-6} \text{ M}$$

A kódszámok azt a legkisebb koncentrációt jelentik, ahol az organizmus még nem fejlődött, de a következő hígításnál már telepeket képeztek.

>1 jelentése az, hogy ez volt a legtöményebb koncentráció, amelynél megvizsgáltuk a gátló hatást és ezen a koncentráción még telepeket képeztek, tehát gátlásuk csak töményebb oldatban biztosítható.

1. TÁBLÁZAT: A vegyületek aktivitása a mikroorganizmusokkal szemben

Név	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Bac. licheniphormis	3	1	5	3	5	3	2	2	4	1	4	1	4	3	2
Bac. polymixa	3	1	5	3	5	3	2	2	4	1	4	1	5	3	3
Bac. circulans	3	3	5	3	5	3	2	5	4	1	4	1	5	4	3
Bac. coagulans	3	2	4	3	5	2	2	5	4	1	3	1	4	4	3
Bac. sphaericus	4	3	4	3	4	4	3	3	4	3	3	2	4	5	3
Bac. laterosporus	3	3	5	3	6	4	3	5	4	2	4	2	4	4	3
Bac. mesentericus	2	1	5	3	6	2	6	3	1	3	1	4	4	1	3
Bac. cereus	3	1	4	3	4	2	2	3	3	1	2	1	2	1	3
B. megatherium 299	3	1	5	2	4	3	2	4	4	2	3	1	4	4	4
Bac. firmus	3	1	4	3	5	3	2	2	3	2	3	1	4	5	4
Bac. lentus	3	1	4	1	4	3	2	3	3	2	3	1	2	2	2
Bac. pumilis	3	1	4	1	4	3	2	4	4	2	3	1	2	4	3
B. stearotermophylus	3	1	5	3	5	3	2	4	4	1	3	2	2	4	4
Bac. brevis	3	1	4	3	5	3	2	3	3	2	4	1	2	2	3
Bac. subtilis	3	1	4	3	4	3	2	5	4	2	4	1	4	2	3
Bac. megatherium	3	1	4	2	4	3	2	3	4	2	4	1	4	3	4
Bac. macerans	3	1	4	2	4	3	2	3	4	2	4	1	4	4	4

Név	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Bac. licheniphormis	>1	3	4	4	2	2	1	1	1	>1	1	>1	>1	>1
Bac. polymixa	>1	3	4	4	2	2	>1	1	1	>1	1	>1	>1	>1
Bac. circulans	>1	3	4	4	2	1	>1	1	1	>1	1	1	1	1
Bac. coagulans	>1	3	4	4	3	2	1	1	1	>1	1	1	>1	1
Bac. sphaericus	>1	4	4	3	2	3	3	2	2	>1	>1	1	1	1
Bac. laterosporus	>1	4	4	4	4	3	2	2	1	1	>1	1	1	1
Bac. mesentericus	>1	3	3	4	3	2	3	2	2	2	2	2	>1	1
Bac. cereus	>1	3	3	3	>1	1	3	3	2	1	2	2	1	2
Bac. megatherium 299	>1	3	3	3	3	1	1	3	2	>1	3	2	>1	1
Bac. firmus	>1	3	4	4	2	2	1	>1	2	>1	1	1	>1	1
Bac. lentus	>1	1	4	4	2	2	>1	>1	1	1	>1	1	>1	1
Bac. pumilis	>1	1	4	4	2	1	>1	1	1	1	>1	1	>1	1
B. stearotermophylus	>1	3	4	4	2	1	1	1	1	1	>1	1	>1	>1
Bac. brevis	>1	2	4	3	2	1	1	>1	>1	>1	1	1	>1	1
Bac. subtilis	>1	2	3	4	1	3	>1	>1	1	>1	2	>1	1	>1
Bac. megatherium	>1	3	3	4	2	2	2	1	2	1	1	>1	>1	>1
Bac. macerans	>1	2	4	1	4	1	1	1	1	1	1	>1	1	1

Leghatásosabbnak az 3, 5, 8, 18-as vegyületek mutatkoznak. Megegyeznek abban, hogy a fenantrén váz 6. szénatomján a hidrogént klór helyettesíti. A 3-as és 18-as fenantrén-metil-piperidin, az 5-ös és 8-as fenantrén-metil-butilamin származék.

Közepes aktivitást mutatnak az 1, 6, 9, 11, 13, 14, 15, 19-es vegyületek, melyek közül a 14-es 15-ös imidazol származék.

A 16-os vegyület inaktívnak adódott, míg a többi megvizsgált származék gyenge hatást fejt ki a tesztorganizmusként alkalmazott bacillusokra.

Az aktivitás szempontjából legeredményesebb vegyületek esetében azt találtuk, hogy átlagban a 4–5 μg -nál teljes gátlást idéztek elő spórás mikroorganizmusokra. Ez az érték igen jónak mondható, hiszen a vegyületek aránylag olcsón, jó kitermelési százalékkal előállíthatók. Még a közepes hatású vegyületek is figyelemre méltóak, hiszen a táptalajba milliliterenként 10–20 μg -nyi antibiotikum meggátolja a baktérium fejlődését.

A szekofenantrén származékok csak közepes aktivitást mutattak, közülük kiválik aktivitás szempontjából a 11-es vegyület, mely a szekofenantrén részen a 2-es és a 6-os helyzetben klórt tartalmaz.

A teszt-mikroorganizmusok közül a megvizsgált származékokkal szemben legellenállóbbnak a *Bac. lentus* és a *Bac. pumilis* mutatkozott. Nagyon fontos eredménynek tartjuk, hogy a konzerviparban egyik legnagyobb problémát okozó *Bac. stearotermophylus* elég érzékenynek mutatkozott az általunk megvizsgált fenantrén származékokkal szemben.

Kiküszöbölve a fotolabilitást és toxicitást, vegyületeinknek élelmiszeripari felhasználhatóságát tekintve az a hátrányos tulajdonsága még megmaradt, hogy legalább 7,2 pH-jú közeget igényelnek, hogy a hatást kifejthessék. Savas közegben diszociálnak, só alakjában vannak jelen, melyek a mikroorganizmusokra hatástalanok, mivel a membránon nem jutnak keresztül.

A továbbiakban konzerv készítményekben akarjuk meghatározni a minimális gátlóanyag tartalmát, mivel még nem tudjuk, hogy a konzervekben jelenlevő különböző anionok, kationok, szerves és szervetlen vegyületek milyen hatást gyakorolnak vegyületeink aktivitására.

ÖSSZEFOGLALÁS

Megvizsgáltuk 29 fenantrén származék mikrobiológiai aktivitását 17 spórás baktériummal szemben. Kísérleteink során 4 olyan származékot találtunk, melyek 4–5 μg -nál teljes gátlást idéznek elő. Az aktivitás szempontjából a kísérletsorozatba bevont származékok nagyobb része közepes hatású, míg egy származék teljesen inaktívnak mutatkozott.

A fotostabil, emlősöknél toxicitást nem mutató származékok aránylag olcsón, jó kitermeléssel előállíthatók, így lehetőség van arra, hogy az élelmiszereinket károsító mikroorganizmusoktól a termékeinket megóvjuk. E lehetőségre a következőkben sorra kerülő kísérleteink adnak választ.

IRODALOM

1. Fehér L.: Diákköri pályamunka (1970)
2. Fehér L.: Doktori értekezés (1974)
3. Ferenczy L. és m.társai (1965): Előadás Nemzetközi Gyógynövény Szimpóziumon (1965)
4. Ferenczy L.: Személyes közlés (1972)

5. Govindacari, T. R. és m.társai: Tetrahedron, 14, 288 (1954)
6. Háznagy A. és m.társai: Acta Pharm. Hung. 37. 186 (1965)
7. Rao, K. V. és m.társai: I. Pharm. Scie, 60, 48 (1970)

STUDY OF THE BACTERICIDAL EFFECTS OF PHENANTHRENE DERIVATIVES

L. Fehér

Experiments were made with organic compounds with chemical structures similar to that of the alkaloid of *Cynanchum vincetoxicum* (L), native among others to Hungary, with a view to finding new agents of high effect against bacterium spores.

The investigations revealed that, when applied in a concentration of 10–15 $\mu\text{g/ml}$, several derivatives which exhibit no vesicatory effect on the skin of mammals and which are photostable induce complete inhibition in sporular bacteria.

UNTERSUCHUNG DER BAKTERIZIDEN WIRKUNG VON PHENANTHREN-DERIVATEN

L. Fehér

Es wurden Versuche mit organischen Verbindungen vorgenommen, die strukturell dem chemischen Aufbau des Alkaloids des auch in Ungarn heimischen *Cynanchum vincetoxicum* (L) ähneln, um in den Besitz neuer hockwirksamer Wirkstoffe gegen Bakteriensporen zu gelangen.

Die Untersuchungen ergaben, dass mehrere Derivate, die an der Haut von Säugern keine blasenziehenge Wirkung zeigten und photostabil sind, in Gaben von 10–15 $\mu\text{g/ml}$ appliziert, bei lebenden sporentragenden Bakterien eine totale Hemmung hervorrufen.

ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНАНТРЕНА

Л. Фэхир

Нами были проведены опыты с органическими соединениями, по структуре подобными химической структуре алкалоида прозярастающего и в Венгрии *Cynanchum vincetoxicum* (L) с целью получения нового эффективно действующего вещества против спор бактерий.

В ходе наших исследований установлено, что некоторые производные, не вызывающие образования пузырей на коже млекопитающих и являющиеся фотостабильными, при применении их в количестве 10–15 мг/мл обеспечивают надёжное препятствие развитию спорообразующих бактерий.