

Т.М. СОГОМОНЯН, А.Р. МИКАЕЛЯН, Б.Г. БАБАЯН,
М.А. МЕЛКУМЯН, А.М. ГРИГОРЯН, Н.А. ДАШЧЯН, Г.Г. МЕЛЯН,
Н.А. ОГАНЕСЯН

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФЕНИЛ- И МОНОЭТАНОЛАМИНО ЗАМЕЩЕННЫХ ИМИДОВ И КОМПЛЕКСНЫХ СОЛЕЙ ВИННОЙ КИСЛОТЫ НА ФИТОПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ

В связи с актуальностью борьбы с мультирезистентностью разработано и протестировано два новых класса фенил-, бензил-, циклогексил-, моноамино замещенных имидами и солей винной кислоты с антимикробными свойствами. Эксперименты показали их активность против фитопатогенных бактерий *Pseudomonas* и *Xanthomonas*, а также их биодegradуемость и отсутствие передаваемости резистентности к данным соединениям плазмидами.

Ключевые слова: имиды и комплексные соли винной кислоты, фитопатогены, антимикробная резистентность, биодegradация, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Stevia rebaudiana Bertoni*.

Введение. Борьба с мультирезистентностью является одной из самых приоритетных задач современной науки. Резистентность и ее высокая частота передаваемости у *Pseudomonas* и *Xanthomonas* широко известны [1]. В связи с этим разработка альтернатив классическим препаратам защиты растений является весьма актуальной задачей [2, 3]. В данной работе рассмотрено воздействие двух классов новых производных винной кислоты (ВК) (рис.1) на фитопатогенные штаммы *Xanthomonas* и *Pseudomonas* [4].

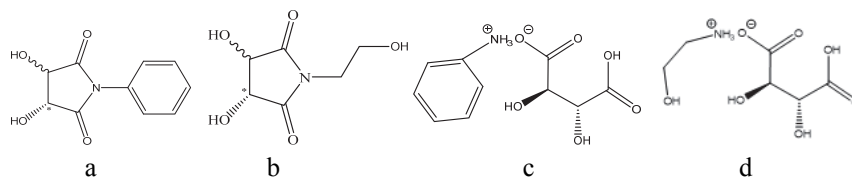


Рис. 1. Синтетические производные винной кислоты: а - фенилиимид ВК (PhI), б – моноэтаноламино замещенный имид ВК (MEI); с – фенил моноамино соль ВК (PhAS), d – моноэтаноламино комплексная соль ВК (MEAS)

Материалы и методы. В работе были использованы штаммы Национальной коллекции микроорганизмов, ЦДМ, НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА. Резистентность определяли, используя селективные среды, содержащие 50 мкг/мл антибиотиков. Синтез новых производных ВК был проведен согласно методу, разработанному в НПУА (рис. 1) [5]. Генетические анализы (электрофорез,

PCR с праймерами генов резистентности: *aph(3')IV*, *aac(6')II*, *catB7*, *blaOXA-10*, трансформации) проводились по стандартным методикам [6, 7]. Полевые испытания проводились при поддержке специалистов из Научного центра агробиотехнологии.

Результаты. Изучение устойчивости *Xanthomonas* и *P. syringae* к 13 антибиотикам (канамицин, стрептомицин, гентамицин, хлорамфеникол, аугментин, амоксициллин, ампициллин, пенициллин, цефиксим, цефтриаксон, тетрациклин, азитромицин, ципрофлоксацин) показало резистентность у большинства штаммов. При генетическом анализе у *Xanthomonas* генов *aph(3')IV*, *catB7*, *blaOXA-10*, *aac(6')II* не обнаружено (табл.1 и 2). У *Pseudomonas* и *Xanthomonas* отмечен разброс содержания плазмид, не всегда коррелирующий с резистентностью к указанным антибиотикам.

Таблица 1

Действие MEAS на *Pseudomonas* и *Xanthomonas*

Штамм	Подавление роста					Штамм	Подавление роста					С		
	I	II	III	IV	V		I	II	III	IV	V			
8740*	3	+/-	5,2	6,4	8	8730	2,5	+	3,2	4	10	30		
8738*	+	+	+/-	5	6	8731	5	+/-	5	5,5	6	30		
8737	+	+	+/-	5,5	6,3	8732	+	+	+	+	6	30		
8739	+	+	+/-	5,6	6	8735	+	+	+/-	4,5	5	30		
8665*	b	+	+	+	+	8744	+/-	+	+/-	6	7	30		
8680	+	+	+	+	+	8846	4	+/-	+	2	3	5	30	
8851	c	5	+/-	6	6,5	11	8679	d	+	+	+	+/-	5	30
8684	+	+	+	+	+/-	8877	c	+/-	+	5	7	L	30	

Примечание: штаммы: a – *P. syringae*, pv. *lachrymans*, b – *P. syringae*, pv. *tabaci*, c – *X. beticola*, d – *X. vesicatoria*, e – *X. campestris* pv. *viticola*; позитивный контроль - 30 мм зоны роста на полноценной среде; концентрации MEAS: I – 0,025M, II – 0,001M, III – 0,005M, IV – 0,01M, V – 0,5M, подавление роста (в мм): “+” – отсутствие подавления, “+/-” – подавление роста <10% С – контроль на полноценной среде; * - мультирезистентные штаммы [4].

Фенил- и моноэтаноламино производные обладают определенной активностью против фитопатогенов. Минимальные ингибирующие концентрации для исследованных соединений вирируют в зависимости от штамма и составляют 0,001...0,005M. Эксперименты показали отсутствие зависимости антимикробного эффекта от содержания в клетках плазмид. Согласно результатом экспериментов по трансформации *P. aeruginosa* 9056 и *E. coli* DH5α, передача резистентности к данным соединениям при помощи плазмид отсутствует [8,9].

Действие фенил-производных ВК на фитопатогены:

Штамм		PhAS						PhI						С
		I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	
8680	a	+	3.1	5.5	10	L	L	+	3.1	5.5	10	L	L	30
8681		L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	30
8647*	b	+	+	+	+/-	6	+	+	+	+	+/-	3	L	30
8651		+	+	+	+/-	5	+	+	+	+	+	+	+	30
8665	c	+	+/-	5.8	6	6.5	8	+	+	+	+	+	+	30
8657		+	L	L	L	L	L	+	+	+	+/-	5	7	30
8732	d	+	+	+	+	10	15	+	+	+/-	+/-	L	L	30
8733		+	+	+	+/-	+/-	2	9	L	L	L	L	L	30
8730		10	11	11	12	12	17	+	+/-	+/-	+/-	12	17	30

Примечание: штаммы: а – *X. beticola*, 2 – *X. vesicatoria*, 3 – *P. syringae*, pv. *tabaci*, 4 – *P. syringae*, pv. *lachrymans*; тестируемые соединения: PhAS, Ph: I - 0.025M, II - 0.001M, III - 0.01M, IV - 0.05M, V - 0,1M, VI - 0,5M; L – полный лизис зоны роста (в мм), С – позитивный контроль на полноценной среде – 30 мм зона роста, “+” – отсутствие подавления роста, “+/-” – подавление <10%; * - мультирезистентные штаммы [4].

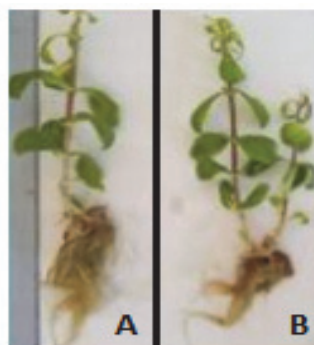


Рис. 2. Полевые испытания действия MEAS на прорастание семян *Стевии медовой Stevia rebaudiana Bertoni*. А – обработка 10% раствором MEAS, В – контрольный образец

Полевые испытания различных концентраций показали эффективность 10...20 мин обработки 10% водным раствором MEAS при дезинфекции на прорастающие семена *Stevia rebaudiana Bertoni*. Выявлены интенсификация роста корневой системы и повышение жизнеспособности проростков на 70...80% (рис.2).

Заключение. Выявлено антимикробное действие новых производных ВК. Эффект не коррелирует с наличием плазмид в клетках. Показана невозможность передаваемости устойчивости к производным ВК плазмидами. Полевые

испытания показали эффективность 10%-водных растворов моноэтаноламино комплексной соли при обработке прорастающих семян. Данные соединения рекомендованы для дальнейшего изучения и потенциального применения при разработке препаратов по защите растений от фитопатогенных микроорганизмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **WHO**, Seventy-Second World Health Assembly, Follow-up to the high-level meetings of the UN Gen. Assembly on health-related issues, A72/18 // *Prov. ag. Item.* – 2019.- 11(8). - P. 1-11.
2. Tartaric Acid New Derivatives Antibacterial Activity And Biodegradation By Non-Pathogenic Soil Strains of *P. chlororaphis* /**A.S. Bagdasaryan, T.M. Soghomonyan, A.R. Mikaelyan, N.L. Asatryan, B.G Babayan, S.A. Bagdasaryan, M.A. Melkumyan** // Book of Abstracts “Microbes: Biology & Application”: FEMS Int. Conf., 2019. – P.20.
3. Design, Synthesis, and Molecular Docking of Novel Pyrrolooxazepinediol Derivatives with Anti-Influenza Neuraminidase Activity / **A.O. El-Nezhawy, A.F. Eweas, I.A. Maghrabi, A.S. Edalo, S.F. Abdelwahab** // *Arch Pharm (Weinheim).* – 2015. – Vol. 348(11). – P.786-795.
4. **Mikaelyan A.R., Asatryan N.L., Bagdasaryan S.A., Babayan B.G.**, Antimicrobial Activity of Newly Synthesized Derivatives of Tartaric Acid Against the Multidrug Resistant Soil Strains of *Pseudomonas* & *Stenotrophomonas* : The Book of Abstracts ARICBE/ARICPAS.- Cambridge, UK, 2019. –37 p.
5. **Sheela P., Amuthan G., Mahadevan A.** Plasmids in *Xanthomonas campestris* pv. Sesame // *J. of Plant Diseases & Protection.* – 1994. – Vol. 101(5). – P. 482-486.
6. **Bagdasaryan S., Babayan B., Melkumyan M., Kinosyan M.** Polysorbates Biodegradation Potential and Plasmid Stability of Soil *Pseudomonas* // *AJTNS.* – 2020. - № 5–6. – P. 3-7.
7. **Granados-Chinchilla F., Rodríguez C.** Tetracyclines in Food & Feedingstuffs: From Regulation to Analytical Methods // *Bacterial Resistance, & Envir. & Health Impl. J. Anal Methods Chem.* – 2017. – P. 1315497.
8. Tartaric Acid Synthetic Derivatives for Multi-Drug Resistant Phytopathogen *Pseudomonas* and *Xanthomonas* Combating /**B.G. Babayan, A.R. Mikaelyan, N.L. Asatryan, et al** // *IJSBAR* – 2020. – Vol. 52(1). – P. 21-30.
9. **Babayan B.G.** The Plasmid Differences In Multi-Drug Resistant Opportunistic Pathogenic Soil Strains of *Pseudomonas* and *Stenotrophomonas* // *EJMN.* – 2019. – Vol. 3, No 1. – P. 23-28.

Տ.Մ. ՍՈՂՈՄՈՆՅԱՆ, Ա.Ռ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Բ.Գ. ԲԱԲԱՅԱՆ,
Մ.Ա. ՄԵԼԿՈՒՄՅԱՆ, Ա.Մ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ն.Ա. ԴԱՇՉՅԱՆ, Գ.Հ. ՄԵԼՅԱՆ,
Ն.Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

**ԳԻՆԵԹԹՎԻ ԿՈՄՊԼԵՔՍ ԱՂԵՐԻ ԵՎ ՖԵՆԻԼ-, ՄՈՆՈԷԹԱՆՈԼԱՄԻՆԱՅԻՆ
ՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ ԻՄԻԴՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՖԻՏՈՊԱԹՈԳԵՆ ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ՎՐԱ**

Բազմակայունության դեմ պայքարի կարևորությամբ պայմանավորված՝ մշակվել և փորձարկվել են 2 նոր դասի ֆենիլ-, բենզիլ-, ցիկլոհեքսիլ-, մոնոամինային տեղակալված գինեթթվի իմիդներ և աղեր հակամանրէային ազդեցությամբ: Փորձերը ցույց տվեցին դրանց ակտիվությունը *Pseudomonas*, *Xanthomonas* մանրէների դեմ, կենսաքայքայվելիությունը և պլազմիդներով կայունության փոխանցելիության բացակայությունը:

Առանցքային բառեր. գինեթթվի ցիկլիկ իմիդներ, գինեթթվի կոմպլեքս աղեր, ֆիտոպաթոգեն, հակամանրէային դիմադրություն, կենսաքայքայում, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Stevia rebaudiana Bertoni*:

**T.M. SOGHOMONYAN, A.R. MIKAELIAN, B.G. BABAYAN,
M.A. MELKUMYAN, A.M. GRIGORYAN, N.A. DASHCHYAN,
G.H. MELYAN, N.A. HOVHANNISYAN**

**THE EFFECT OF TARTARIC ACID PHENYL AND
MONOETHANOLAMINO SUBSTITUTED IMIDES AND SALTS ON
PHYTOPATHOGENIC BACTERIA**

Due to multi-drug resistance combating importance, two new classes of phenyl-, benzyl-, cyclohexyl-, monoethanolamino- substituted tartaric acid imides and complex monoamino salts were elaborated and tested. The experiments have shown their activity against the phytopathogenic *Pseudomonas* and *Xanthomonas* bacteria, biodegradability and the absence of plasmid transmission of resistance to these compounds.

Keywords: tartaric acid cyclic imides, tartaric acid complex salts, phytopathogens, antimicrobial resistance, biodegradation, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*.