

М. Н. Горбунова¹, Л. М. Лемкина²**СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СОПОЛИМЕРОВ НА ОСНОВЕ 2,2-ДИАЛЛИЛ-1,1,3,3-ТЕТРАЭТИЛГУАНИДИНИЙ ХЛОРИДА**¹ Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия, E-mail: mngorb@newmail.ru;² Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

Методом радикальной сополимеризации получены сополимеры новых структурных типов на основе 2,2-диаллил-1,1,3,3-тетраэтилгуанидинийхлорида. Методом двукратных серийных разведений определена их противомикробная активность в отношении ряда бактерий, спор и грибов.

Ключевые слова: радикальная сополимеризация, 2,2-диаллил-1,1,3,3-тетраэтилгуанидиний хлорид, противомикробные свойства.

Известно, что присутствие в элементарном звене полимеров гуанидиновой группы придает им высокую биоцидную активность [1], что позволяет широко использовать такие полимеры в качестве антибактериальных препаратов [2, 3]. Например, разработаны новые алкилен- и оксиалкиленгуанидиновые антисептики [4]. Их биоцидные свойства обусловлены наличием в их повторяющихся звеньях гуанидиновых группировок, являющихся активным началом некоторых природных и синтетических лекарственных средств и антибиотиков. Гидрофобные полиэтиленовые звенья, соединяющие гуанидиновые группировки, способствуют абсорбции полигуанидинов на фосфолипидных мембранах клеток, блокируют действие ферментов и угнетают дыхательную систему клетки, вызывая её гибель.

Настоящая работа посвящена исследованию противомикробной активности сополимеров 2,2-диаллил-1,1,3,3-тетраэтилгуанидинийхлорида (схема 1).

Экспериментальная химическая часть

2,2-Диаллил-1,1,3,3-тетраэтилгуанидинийхлорид (АГХ) получали по методике работы [5]. Чистоту АГХ контролировали элементным анализом и ЯМР ¹³C. Винилацетат (ВА) фирмы “Lancaster” перегоняли в вакууме, использовали фракцию с $T_{\text{кип.}} 72^\circ\text{C}$, $n_D^{20} = 1,3951$.

N-замещенные малеимиды (МИ) синтезировали по методике [6] с заменой эфира на ацетон в качестве растворителя. Для работы использовали N-фенилмалеимид (ФМИ): $T_{\text{пл.}} 89^\circ\text{C}$; N-(n-карбокси)фенилмалеимид (КМФИ): $T_{\text{пл.}} 240^\circ\text{C}$. При получении N-аллилмалеимида (АМИ) для циклизации амидокислоты вместо ацетата натрия был использован ацетилацетонат железа. Чистый N-аллилмалеимид был получен флэш-хроматографией (силикагель, гексан/этилацетат 90/10); $T_{\text{пл.}} 45^\circ\text{C}$.

Используемые в работе инициатор (динитрил азоизомасляной кислоты (ДАК)) и растворители — диметилсульфоксид (ДМСО), метанол, тетрагидрофуран (ТГФ), дихлорметан — после очистки общепринятыми методами [7] имели характеристики, соответствующие литературным данным.

Сополимеризацию АГХ с ВА и МИ проводили по методике [5]. Полимеры очищали двукратным пересаживанием из раствора в соответствующем растворителе в осадитель (для сополимера АГХ с ВА — метанол/диэтиловый эфир, АГХ с МИ — ДМСО/вода) и сушили в вакууме до постоянной массы при 50°C . Состав сополимеров рассчитывали по результатам элементного анализа.

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре “Bruker-AM-300” с рабочей частотой по углеродным ядрам 75,5 МГц. Спектры записаны в режимах с широкополосной развязкой по протонам и в режиме JMOD. В качестве растворителя использовали ДМСО-d₆ и D₂O; внутренний стандарт — тетраметилсилан и 2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфо кислота соответственно.

Экспериментальная биологическая часть

Определение противомикробной активности проводили методом двукратных серийных разведений [8] на музейных тест-культурах *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* 33, *Micrococcus luteus* NCIMB 196, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella euteriditis*, *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 9046. Все препараты в concentra-

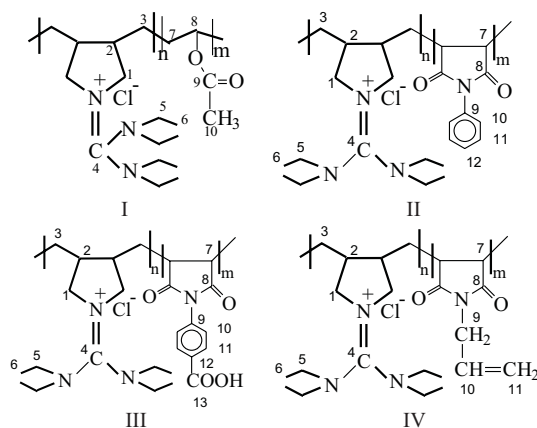


Схема. Структура синтезированных сополимеров

Спектры ЯМР ^{13}C сополимеров АГХ (DMCO, 25 °C)

Соединение	Значение химических сдвигов и мультиплетность сигналов (δ , м.д.) атомов												
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃
I	52,09 т	41,72 д	43,16 т	162,4 с	40,42 т	12,95 к	38,44 т	67,05 т	169,7 с	20,63 к			
II	53,10 т	43,47 д	52,09 т	162,5 с	43,21 т	13,10 к	41,81 д	174,9 с	131,9 с	127,1 д	126,4 д	129,1 д	
III	53,26 т	43,29 д	52,16 т	162,5 с	41,88 т	12,73 к	40,51 д	174,7 с	131,9 с	129,1 д	129,9 д	130,9 д	166,7 с
IV	52,10 т	43,25 д	49,87 т	163,8 с	43,21 т	13,16 к	40,26 д	170,7 с	41,86 т	134,4 д	116,9 т		

Таблица 2

Противомикробная активность сополимеров АГХ с ВА (сополимер I), АГХ с ФМИ (сополимер II), АГХ с КФМИ (сополимер III) и АГХ с АМИ (сополимер IV)

Наименование вида (штамма) микроорганизма	Противомикробная активность (МИК, мкг/мл)			
	I	II	III	IV
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250	0	125	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 33	15,6	0	125	62,5
<i>Micrococcus luteus</i> NCIMB 196	62,5 – 31,25	0	125	31,25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7,8	0	125	125
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3,9	0	125	62,5
<i>Salmonella euteriditis</i>	31,25	0	0	31,25
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NCIMB 9046	<500	0	125	31,25

ции 1000 мкг/мл H₂O (АГХ с ВА) или DMCO (АГХ с МИ) раститрованы в 96-луночных иммунологических планшетах в среде LB. После внесения индикаторных культур в объеме 10 μl /лунку, содержащих 10⁶ КОЕ/мл, планшеты инкубировали при 30 или 37 °C в течение 18 ч, затем окрашивали смесью тетразолия и феназинметосульфата. Контролем служили среда LB или среда LB с раститрованным DMCO с соответствующей индикаторной культурой. Учет результатов проводили по наличию и характеру роста культур на питательной среде.

Результаты и их обсуждение

Строение сополимеров (схема) подтверждено методом ЯМР ^{13}C спектроскопии. Анализ спектров свидетельствует, что АГХ сополимеризуются с ВА, ФМИ, КФМИ, АМИ с участием обеих двойных связей через внутримолекулярную циклизацию с образованием пирролидиниевых структур (табл. 1).

Как видно из представленных в табл. 2 данных, сополимеры I, III и IV обладают антибактериальной активностью как в отношении грампозитивных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Такая универсаль-

ность противомикробного действия сополимеров 2,2-диаллил-1,1,3,3-тетраэтилгуанидинийхлорида делает их перспективными для дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 09-03-00220).

ЛИТЕРАТУРА

- И. Л. Кнунянц (ред.), *Химическая энциклопедия*, Т. 1, Советская энциклопедия, Москва (1988).
- Н. В. Скворцова, А. М. Виндижев, Ю. М. Саблирова и др., *Материалы всерос. научн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых*, Нальчик (2003), т. 4, с. 125.
- Д. А. Топчиев, Ю. А. Малкандуев, *Катионные полиэлектролиты: получение, свойства и применение*, Академкнига, Москва (2004).
- К. М. Ефимов, П. А. Гембицкий, А. Г. Снежко, *Дезинфекционное дело*, 4, 32 – 36, (2000).
- А. И. Воробьева, Д. Р. Сагитова, М. Н. Горбунова и др., *Высокомолек. соед.*, 49(7), 1293 – 1298 (2007).
- Л. Физер, М. Физер М., *Реагенты для органического синтеза*, Мир, Москва (1971), т. 4, с. 49.
- А. Гордон, Р. Форд, *Спутник химика*, Мир, Москва (1976).
- Г. Н. Першин (ред.), *Методы экспериментальной химиотерапии*, Москва (1971).

Поступила 11.01.10

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COPOLYMERS BASED ON 2,2-DIALLYL-1,1,3,3-TETRAETHYLGUANIDINIUM CHLORIDE

M. N. Gorbunova^{1*} and L. M. Lemkina²

¹ Institute of Technical Chemistry, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia;

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

* e-mail: mngorb@newmail.ru;

Copolymers of new structural types based on 2,2-diallyl-1,1,3,3-tetraethylguanidinium chloride were obtained by free radical polymerization reaction. Antimicrobial activity with respect to some bacteria, spores, and fungi was studied by method of double serial dilutions.

Key words: Radical copolymerization, 2,2-diallyl-1,1,3,3-tetraethylguanidinium chloride, antimicrobial properties