

## БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ ОЛІГОУРЕТАНСЕМИКАРБАЗИДІВ

*У статті проаналізовано використання олігоуретансемикарбазидів як бактерицидних агентів щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій. Розглянуто бактерицидну активність різноманітних катіоноактивних олігомерів.*

Починаючи з останніх років ХХ століття широко ведуться дослідження, спрямовані на надання полімерним макромолекулам біоактивності та використання їх для знезараження. Одним із напрямів реалізації цього процесу є приєднання біологічно активних груп до складу олігомерів чи полімерів [1,2]. Особливу увагу приділяють іоногенним поверхнево-активним сполукам із бактерицидними властивостями. Зокрема, бактерицидні властивості катіоноактивних поверхнево-активних речовин, що містять групу четвертинного амонію, відомі давно [3, 4]. Такі речовини завдяки своїй дифільній молекулярній структурі здатні концентруватися на міжфазових поверхнях, змінюючи їх властивості. Їх бактерицидна дія ґрунтується на тому, що в результаті адсорбції позитивно зарядженого іону на поверхні бактеріальних клітин останні втрачають негативний та набувають позитивний заряд. Внаслідок перезарядки поверхні відбувається екстрагування вмісту клітин та, як наслідок, денатурація білку, яка проявляється в розгортанні ланцюгу білкової молекули.

Метою цієї праці був синтез катіоноактивних олігомерів із піридинійхлоридними групами у

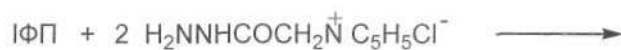
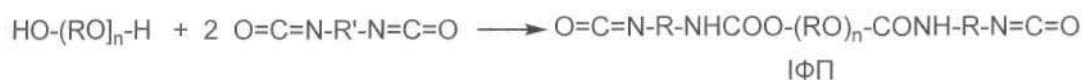
своєму складі та вивчення їх бактерицидних властивостей.

### 1. Синтез олігомерних катіоноактивних модифікаторів

#### 1.1. Синтез лінійних катіоноактивних олігомерів і вивчення їх властивостей

Ми розробили метод синтезу олігомерних модифікаторів лінійної будови, які містять на кінцях ланцюга катіоноактивні групи. Такий метод отримання катіоноактивних ОУАС ґрунтується на реакції ізоціанатних форполімерів зі сполуками, які містять у своєму складі групи четвертинного амонію. В цьому дослідженні як носій цієї функції використовували гідрозид піридинійхлорид оцтової кислоти.

Схему реакції та будову лінійних ОУАС можна представити таким чином. На першій стадії взаємодією ОПТ з ТДІ (суміш ізомерів 2,4- і 2,6- за співвідношення 65:35) за мольного співвідношення 1:2 синтезували ІФП. На другій стадії обробкою ІФП двократним мольним надлишком гідрозиду піридинійхлоридоцтової кислоти синтезували лінійний олігоуретан із кінцевими піридинійхлоридними групами:



Для синтезу використовували ОПТ з ММ, що дорівнювали 500 (отриманий олігомер К-502), 1000 (К-1002), 2000 (К-2002) г/моль, які обезволювали у вакуумі при 80 °С протягом 2 год. Синтез ОУАС проводили при швидкому додаванні до розчину ІФП в ДМФА двократного надлишку гідразиду, розчиненого у мінімальній кількості води (70 %-й розчин). Реакція екзотермічна, після 30 хв перемішування отриманий ОУАС виділяли переосадженням в ацетон, потім продукт сушили у вакуумі при 50 °С до постійної маси [5].

Синтезовані ОУАС залежно від ММ ОПТ - високов'язкі рідини або легкоплавкі каучукоподібні речовини, добре розчинні у розчинниках амідного типу, а також у воді, не розчинні у кетонах та вуглеводнях. Будову синтезованих олігомерів підтверджено даними ІЧ-спектроскопії. В ІЧ-спектрах наявні частоти, характерні для коливань семикарбазидної (1680 см<sup>-1</sup>) та уретанової (1740 см<sup>-1</sup>) груп. Значення ММ синтезованих олігомерів наведено в табл. 1.

Як бачимо з наведених формул, синтезовані сполуки є амфифільними за своєю природою. Гідрофобним блоком слугує залишок ОПТ, а катіоноактивні кінцеві групи надають їм гідрофільних властивостей. Саме наявність гідрофільних іонних центрів на обох кінцях гідрофобної складової і є суттєвою відмінністю будови синтезованих сполук від такої класичних ПАР. Оскільки сорбційна здатність речовин до різних поверхонь залежить від їх поверхневої активності, перш за все ми оцінили цю характеристику синтезованих сполук. Їх поверхневу активність на границі поділу водний розчин/повітря оцінювали за величиною граничної поверхневої активності (K):

$$K = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{d\sigma}{dC},$$

де  $\sigma$  - поверхневий натяг розчину,  $C$  - концентрація розчину. Концентраційну залежність поверхневого натягу визначали за методом Вільгельмі при 20 °С.

Дані поверхневої активності представлено в табл. 1.

Поверхневу активність синтезованих сполук на границі поділу водний розчин/повітря оцінювали за величиною граничної поверхневої активності. Насамперед, привертають увагу високі значення величин K-олігоуретанів, які перевищують

Таблиця 1. Значення величин ММ і К для лінійних катіоноактивних ОУАС

№ пор.	ММ, г/моль		К, Н-м <sup>2</sup> /кмоль
	вихідного олігоестеру	кінцевого продукту	
1	500	900	1,40 · 10 <sup>2</sup>
2	1000	1400	3,59 · 10 <sup>3</sup>
3	2000	2400	1,19 · 10 <sup>4</sup>

класичні ПАР з аналогічним іонним центром на 2-3 порядки. В дослідженому інтервалі зростання ММ олігоестерного блоку, тобто довжини розв'язки між іонними центрами, приводить до зростання К.

### 1.2. Синтез олігомерних катіоноактивних модифікаторів розгалуженої будови та дослідження їх поверхнево-активних властивостей

Розроблений нами метод отримання катіоноактивних ОУАС побудовано на тих самих засадах, що і синтез ОУАС лінійної будови, з тією лише відмінністю, що як відправну гідрофобну компоненту використовували розгалужений трифункціональний ОПТ з ММ 500 (К-503) і 3000 (К-3003) г/моль. На першій стадії взаємодією ОПТ з трикратним мольним надлишком ТДІ синтезували трифункціональний ІФП розгалуженої будови.

На другій стадії взаємодією отриманого ІФП з трикратним мольним надлишком гідразиду піридинійхлоридоцтової кислоти синтезували ОУАС зіркоподібної структури з кінцевими катіоноактивними групами. Як і в попередньому випадку, синтез розгалужених ОУАС проводили за швидкого додавання до розчину ІФП в ДМФА гідразиду, розчиненого у мінімальній кількості води (70 %-й розчин). Реакція екзотермічна, після 30 хв перемішування отриманий ОУАС виділяли переосадженням в ацетон, потім продукт сушили у вакуумі при 50 °С до постійної маси [6].

Схему реакції отримання катіоноактивних олігомерів розгалуженої будови можна представити так.

Синтезовані ОУАС залежно від молекулярної маси олігодіолу - високов'язкі рідини або легкоплавкі каучукоподібні речовини, добре розчинні у розчинниках амідного типу, а також у воді, не розчинні у кетонах та вуглеводнях. Будову синтезованих олігомерів підтверджено даними ІЧ-спектро-



Таблиця 4. Бактерицидна активність катіоноактивного олігомеру К-502 щодо різних бактерій

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки К-502 у середовищі (ppm):								Контр- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<b>Грампозитивні бактерії</b>									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 <sup>Тип</sup>	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 <sup>Тип</sup>	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	+++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	++++	++++	+++	+++	++	++	++	++	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++++	++++	++++	+++	+++	++	++	+++	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	++++
<b>Грамнегативні бактерії</b>									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	++	+	+	+	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i>	++	+	+	+	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++	+	+	+	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	++	+	+	+	+	+	+	+	++++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	++	+	+	+	+	+	+	+	++++

Примітка: в таблиці наведено зведені дані, після висіву культур на 3-х чашках Петрі; «-» - ріст мікроорганізмів відсутній; «+» - поодинокі колонії; «++++» - судільний ріст.

Таблиця 5. Бактерицидна активність катіоноактивного олігомеру К-1052

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки К-1052 у середовищі (ppm):								Контр- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<b>Грампозитивні бактерії</b>									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 <sup>Тип</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 <sup>Тип</sup>	+	+	+	+	+	-	-	-	+++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	+++	++	++	++	+	+	+	+	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++	++	++	+	+	+	+	++	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	++	++	++	++	++	++	+	+	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	++++
<b>Грамнегативні бактерії</b>									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	+++	++	++	++	++	++	++	++	++++

Таблиця 6. Бактерицидна активність катіоноактивного олігомеру К-2002

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки К-2002 у середовищі (ppm):								Контр- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<b>Грампозитивні бактерії</b>									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 <sup>Тип</sup>	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 <sup>Тип</sup>	+	+	+	+	+	+	-	-	+++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++	++	++	++	++	++	++	+	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	++	+	+	+	+	+	-	-	++++
<b>Грамнегативні бактерії</b>									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	++	+	+	+	+	+	+	-	++++
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	++	++	++	++	+	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	+++	++	++	++	++	++	++	+	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	+++	++	++	+	+	+	+	-	++++

Таблиця 7. Бактерицидна активність катіоноактивного олігомеру К-503

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки К-503 у середовищі (ррм):								Конт- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<b>Грамположитивні бактерії</b>									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 <sup>Тm</sup>	+	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 <sup>Тm</sup>	++	++	++	+	+	+	+	+	+++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	++++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+++
<i>Bacillus cereus</i>	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	++	++	++	+	+	+	+	+	++++
<b>Грамнегативні бактерії</b>									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	+++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	++	++	++	++	+	+	+	+	++++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	+++	++	++	+	+	+	+	+	++++

Таблиця 8. Бактерицидна активність катіоноактивного олігомеру К-3003

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки К-3003 у середовищі (ррм):								Конт- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<b>Грамположитивні бактерії</b>									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 <sup>Тm</sup>	+	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 <sup>Тm</sup>	+	+	+	+	+	+	+	-	+++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Bacillus cereus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	++	+	+	+	+	+	+	-	++++
<b>Грамнегативні бактерії</b>									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	++	++	+	+	+	+	+	-	++++
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	++	++	+	+	+	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++	++	++	++	++	++	++	+	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	+++	++	++	++	++	++	++	+	++++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 1961	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++++

для всіх концентрацій олігомерів. Усі сполуки проявляли бактерицидну активність до культури *Micrococcus luteus* CCM 169<sup>Тm</sup> при концентраціях від 50 ррм і вище та до бактерій роду *Rhodococcus* при концентраціях від 500 до 1000 ррм. При зростанні молекулярної маси олігоетерної складової бактерицидна активність дещо збільшується. При концентрації 1000 ррм олігомер К-2002 проявляє бактерицидну активність до *Rhodococcus ruber*, *Serratia marcescens* CCM 1257, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961 та *Micrococcus luteus* CCM 169<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus erythropolis* УКМ Ас-741<sup>Тm</sup>. Олігомер К-1052 проявляє бактерицидну активність тільки до трьох видів грампозитивних бактерій - *Micrococcus luteus* CCM 169<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus erythropolis* УКМ Ас-741<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus ruber*, а продукт К-502 - теж до трьох видів бактерій - *Micrococcus luteus*, CCM 169<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus erythropolis* УКМ Ас-741<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus ruber*.

Як бачимо з даних таблиць, тестовані сполуки в розчиненому стані не виявляють бактерицидної активності до основних грампозитивних та грамнегативних груп бактерій, зокрема групи

кишкових бактерій роду *Pseudomonas* та роду *Bacillus*. Особливо для бактерій роду бацил навіть при високих концентраціях сполук - 1000 ррм - спостерігається значний ріст бактерій. Для інших же груп бактерій - значне пригнічення росту для всіх концентрацій олігомерів. Усі сполуки проявляли бактерицидну активність до культури *Micrococcus luteus* CCM 169<sup>Тm</sup> при концентраціях від 50 ррм і вище та до бактерій роду *Rhodococcus* при концентраціях від 500 до 1000 ррм. При зростанні молекулярної маси олігоетерної складової розгалужених олігоуретансемікарбазидів бактерицидна активність дещо збільшується. При концентрації 1000 ррм олігомер К-3003 проявляє бактерицидну активність до *Rhodococcus ruber*, *Serratia marcescens* CCM 1257 та *Micrococcus luteus* CCM 169<sup>Тm</sup>, *Rhodococcus erythropolis* УКМ Ас-741<sup>Тm</sup>. Олігомер К-503 проявляє бактерицидну активність тільки до грампозитивної бактерії - *Micrococcus luteus*. Однак щодо інших типів бактерій низькомолекулярний олігомер значно більше подавляє ріст бактерій, ніж високомолекулярний.

1. *Talsuo Tashiro*. Antibacterial and bacterial absorbing macromolecules // *Macromol. Mater. Eng.* 2001, 286.- № 2.- P. 63-87.
2. *Appendini P., Hotcekiss J. N.* Surface modification of polystyrene by the attachment of an antimicrobial peptide // *Appl. Polymer'science.*- 2001.- 81.- P. 609-616.
3. *Садиков А. С.* Физико-химические основы применения поверхностно-активных веществ.-Ташкент: Фан, 1977.-315 с.
4. *Tiller J. S., Lee S. B., Lewis K.* Polymer surface derivatized with poly(vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and wannerborn bacteria // *Biotechnol. bioeng.*- 2002.- 79.- P. 465-471.
5. *Tiller J. S., Liao C. J., Lewis K.* Designing surface that kill bacteria on contact // *Appl. biolog. Sci.*- 2001.- 98.- № 11.- P. 5981-5985.
6. *Лунатов Ю. С, Файнерман А. Е., Шевченко В. В., Шрубович В. А.* Бианкерные поверхностно-активные олигомеры. Синтез и свойства // *Высокомолек. соед.—* 1987.- Т. 29.- № 3.- С.562-566.
7. *Шевченко В. В., Шрубович В. А., Протасова Н. В.* Синтез и поверхностно-активные свойства катионоактивных олигоуретансемикарбазидов // *Композиц. полимер, материалы.*- 1991.-Вып. 10.-С. 15-18.

*M. Vortman, N. Protasova, P. Vakaliuk, N. Klymenko, A. Burban, M. Bryk, V. Shevchenko*

## **BACTERICIDAL ACTIVITY OF OLIGOURETHANESEMICARBAZIDES**

*The use of oligourethaneseemicarbazides as bactericidal agents against grampositive and gramnegative bacteria is discussed. The activity of various cationactive oligomers is analyzed.*