

УДК 541.18.045:546.426

Вакулук П. В., Вортман М. Я., Коновалова В. В., Бурбан А. Ф., Клименко Н. С,
Шевченко В. В., Брик М. Т.

ГУАНІДИНВМІСНІ ОЛІГОМЕРИ НА ОСНОВІ АЛІФАТИЧНИХ ОЛІГОЕПОКСИДІВ ЯК БАКТЕРИЦИДНІ РЕЧОВИНИ

Розроблено метод синтезу гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів при різному співвідношенні початкових компонентів та вмісту йонних груп. Показано, що збільшення концентрації йонних груп супроводжується зниженням граничної поверхневої активності. Досліджено антимікробні властивості синтезованих гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів. Бактерицидні властивості синтезованих сполук залежать від вмісту кінцевих гуанідинових груп в олігомерному ланцюзі. Зі збільшенням вмісту кінцевих йонних груп бактерицидна дія отриманих сполук у розчиненому стані зростає.

Вступ

Дослідження з надання полімерним макромолекулам біоактивності та використання їх для знезараження поверхонь ведуться з останніх років ХХ ст. [1, 2]. Зокрема, гуанідин використовують для синтезу таких полімерних сполук, як поліалкіленгуанідини [3,4]. Основною реакцією отримання гуанідинвмісних полімерних сполук є взаємодія між α,ω -алкілендіаминами і солями гуанідину (гідрохлоридом або гідробромідом гуанідину). Саме наявність аліфатичного оточення дає змогу зберегти при цьому майже всі функції, притаманні гуанідину, оскільки не змінюється його висока основність. Дифільність отримуваних макромолекул дає змогу випускати їх у вигляді водних дисперсій.

Існують також і деякі інші підходи до синтезу поліалкіленгуанідинів. З них заслуговують на увагу найбільш привабливі для промислового впровадження реакція α,ω -алкілендіамінів із бромціаном, яка приводить до утворення гідробромідної солі поліалкіленгуанідину, а також із алкілен-біс-ціанамідами в присутності соляної кислоти, продуктом якої є гідрохлорид поліалкіленгуанідину.

Висока реакційна здатність гуанідинового фрагмента стимулювала дослідження з хімічної модифікації поліалкіленгуанідину для надання йому додаткових функціональних можливостей. Але основним напрямом залишається використання поліалкіленгуанідинів для отримання інтер-

полімерних комплексів із різними полімерними карбоновими і сульфокислотами.

Поліалкіленгуанідини використовуються переважно як комплексоутворювачі та флокулянти. Найпривабливішою рисою поліалкіленгуанідинів, що забезпечила їм широке практичне використання, є їх висока біоцидна активність. Завдяки цьому вони застосовуються як антисептики і фунгіциди, особливо в процесах очищення води.

Слід зазначити також, що хімія олігомерних похідних гуанідину дотепер практично не вивчалась. У той же час, як свідчить загальний розвиток олігомерного напрямку в полімерній хімії, саме олігомерна хімія гуанідину може відкрити нові функціональні можливості похідних цієї цікавої сполуки.

Метою цього дослідження є синтез гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів та вивчення їхніх бактерицидних властивостей щодо різних типів бактерій.

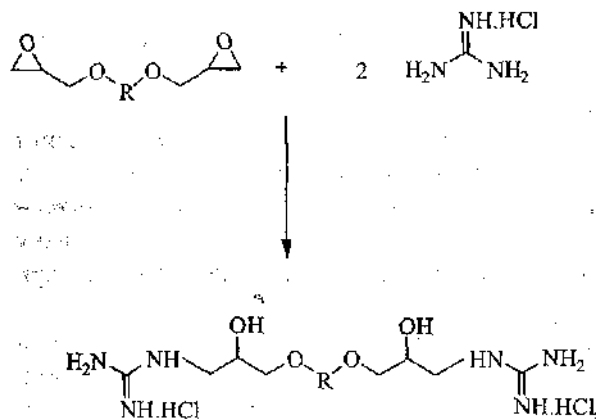
1. Синтез гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів та дослідження їхніх поверхнево-активних властивостей

В основу синтезу катіоноактивних олігомерів, в яких катіоноактивна функція вводиться за рахунок гуанідиній-хлоридного фрагмента, була покладена реакція гуанідину з оксиранами. Ця реакція приваблива тим, що: по-перше, оксиранове кільце легко розкривається таким сильним

нуклеофілом, як гуанідин. По-друге, при такій реакції утворюється фрагмент із аліфатичним С-N зв'язком, в якому зберігається висока основність атома азоту і який є гідролітично стійким. По-третє, з літературних даних відомо, що сам гуанідиній-хлорид, як і певні сполуки з його вмістом, є сильною бактерицидною речовиною.

Нами розроблено методику синтезу аліфатичного олігоестеру взаємодією аліфатичної епоксидної смоли ДЕГ-1 (продукт взаємодії діетиленгліколю з двократним мольним надлишком епіхлоргідрину) з ММ 298 г/моль і солянокислого гуанідину. Епоксидну смолу висушували у вакуумі за температури 80-90 °С і аналізували щодо вмісту епоксидних груп. За даними аналізу розраховували ММ цієї речовини. Солянокислий гуанідин (кваліфікації «ч.д.а.») використовували без додаткової очистки.

Схема реакції така:

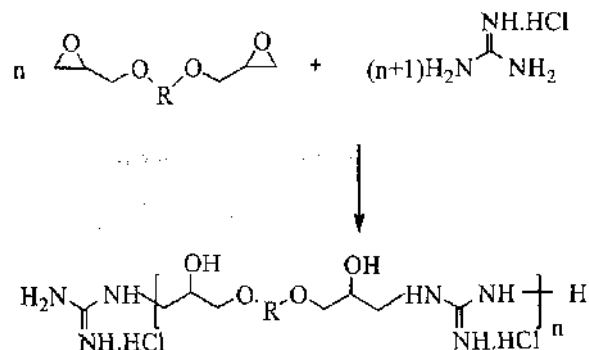


де R = —CH₂—CH₂—O—CH₂—CH₂—

Катіоноактивний гуанідинвмісний олігомер при співвідношенні компонентів олігоепоксид-гуанідинхлорид 1:2 синтезували у такій спосіб. До епоксидної смоли ДЕГ-1 при постійному перемішуванні за кімнатної температури вводили розчин гуанідину. Хід реакції контролювали за витратою епоксидних груп методом ІЧ-спектроскопії або методом відповідного функціонального аналізу. Реакцію припиняли після того, як усі епоксидні групи було вичерпано. Синтезований олігомер виділяли з реакційної суміші осадженням у гексан, після чого висушували при кімнатній температурі і далі при 60-70 °С до постійної маси.

У конденсованому стані синтезований олігоестер являє собою високов'язку речовину, добре розчинну у воді, спирті, диметилформаміді. Її ІЧ-спектр характеризується наявністю широкої смуги валентних коливань NH і OH груп при близько 3400 см⁻¹.

Для збільшення молекулярної маси (ММ) олігомеру і отримання сполук із гуанідиній-хлоридними групами в кожному елементарному ланцюзі, що повторюються, було проведено синтез при мольному співвідношенні епоксидної компоненти до гуанідинової, як 3:4 та 5:6. Схема реакції і будова синтезованого олігомеру такі:



n = 3, 5,

де R = —CH₂—CH₂—O—CH₂—CH₂—

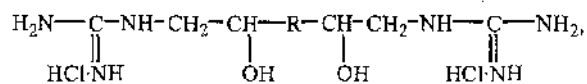
Методика синтезу гуанідинвмісних олігомерів при співвідношенні компонентів 3:4 та 5:6 аналогічна до описаної вище.

Контроль за завершенистю реакції здійснювали методом функціонального аналізу – за зникненням епоксидних груп та методом ІЧ-спектроскопії.

Кінцевий продукт висушували при 80 °С для видалення розчинника до постійної маси та пересаджували зі спирту в гексан.

Отримані продукти реакції добре розчиняються у воді, спирті, ДМФА та являють собою в'язкоподібні речовини.

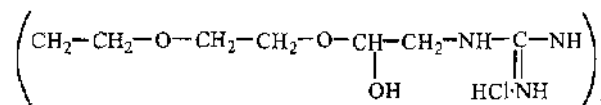
Загальну структуру синтезованих олігомерів можна записати так:



де R = —O—CH₂—CH₂—O—CH₂—CH₂—O—

для n = 1

або



для n = 3, 5

Поверхнево-активні властивості синтезованих сполук визначали за видозміненим методом Вільгельма [5]. Характеристики мінімального поверхневого натягу (σ), критичної концентрації

міцелоутворення (ККМ) та граничної поверхневої активності (К) наведені в табл. 1.

Синтезовані сполуки є амфіфільними за своєю природою. Гідрофобним блоком слугує залишок епоксидної складової, а катіоноактивні кінцеві групи надають їм гідрофільних властивостей. Наявність гідрофільних йонних центрів на обох кінцях гідрофобної складової і є суттєвою відмінністю будови синтезованих сполук від класичних ПАВ. Оскільки сорбційна здатність речовин до різних поверхонь залежить від їх поверх-

невої активності, тому насамперед оцінювали цю характеристику синтезованих сполук. Їх поверхневу активність на межі поділу водний розчин/повітря оцінювали за величиною граничної поверхневої активності:

$$K = \lim \left(\frac{d\sigma}{dc} \right),$$

де σ - поверхневий натяг розчину; c - концентрація розчину.

Дані поверхневої активності наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Характеристики синтезованих сполук

N n/n	n	ММ г/моль	Вміст кінцевих йонних груп, %	К, Н·м ² /кмоль	ККМ моль/л	σ_{min} , мН/м
1	1	489	38,9	2,8	$1,8 \cdot 10^{-2}$	37,70
2	3	1278	14,9	5,6	$2,76 \cdot 10^{-2}$	42,48
3	5	2067	9,2	34	$8,3 \cdot 10^{-3}$	42,95

Як видно з таблиці, зі зростанням молекулярної маси олігомеру значення величини К зростає, а ККМ - падає.

2. Бактерицидна активність гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів

Для дослідження дезінфікаційної та бактерицидної активності синтезованих сполук щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій використовували штами бактерій Української колекції мікроорганізмів (УКМ), зокрема: *Escherichia coli* BE, *Escherichia coli* НВ 101, *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa* ССМ 1961; *Serratia marcescens* ССМ 1257; *Micrococcus luteus* ССМ 169^{ТМ}; *Rhodococcus erythropolis* У КМ Ас-741^{ТМ}; *Rhodococcus ruber*, *Bacillus megaterium* ССМ 51, *Bacillus subtilis* ССМ 104, *Bacillus cereus*. Усі бактерії культивували на м'ясопептидному агарі (МПА), для культивування кишкової палички застосовували середовище Ендо.

Бактерицидну активність визначали суспензійним методом [6]. Оптимальний час дії вказаної сполуки за певних концентрацій визначали через 20 хвилин при висіванні на чашки Петрі з середовищем МПА чи Ендо за методом Yould [7]. Кількість бактерій, що вижили після такої обробки, визначали за числом колонієутворювальних одиниць (КУО/мл) через 24 години інкубації при температурі 37 °С за вказаним методом.

Мінімальну пригнічувальну концентрацію культур готували у стерильному фізіологічному розчині (1×10^9 кл./мл), 0,2 мл отриманої суміші вносили у лунки реплікатора та висівали паралельно на три чашки Петрі відповідно до схеми експерименту. Результати підраховували через 24 та 48 годин культивування бактерій при 32–37 °С. Як контроль використовували середовище МПА без додавання синтезованих сполук. Результати бактерицидної активності синтезованих сполук наведено в табл. 2–4.

Таблиця 2. Бактерицидна активність гуанідинвмісного олігомеру на основі аліфатичного олігоепоксиду (сполука 1) щодо різних груп бактерій

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки 1 у середовищі (ppm):								Контроль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<i>Micrococcus luteus</i> ССМ 169 ^{ТМ}	-	-	Грампозитивні бактерії			-	-	-	+++
<i>Rhodococcus ruber</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	++++
<i>Rhodococcus erythropolis</i> УКМ Ас-741 ^{ТМ}	+	+	-	-	-	-	-	-	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++	++	++	+	+	+	+	-	++++

Продовження таблиці 2

Тест-культура (рід, вид, штамп)	Кінцева концентрація сполуки 1 у середовищі (ppm):								Конт- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	++	++	++	++	++	++	+	-	++++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	+++	+++	++	++	+	+	-	-	++++
Грамнегативні бактерії									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	+++	++	++	++	+	-	-	-	++++
<i>Escherichia coli</i>	+++	+++	++	++	+	-	-	-	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++++	+++	++	++	+	-	-	-	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	+++	+++	++	++	+	-	-	-	++++
<i>Pseudomonas aerugi- nosa</i> CCM 1961	+++	++	++	+	+	-	-	-	++++

Примітка: в таблиці наведено зведені дані після висівання культур на 3 чашках Петрі: «-» – ріст мікроорганізмів відсутній; «+» – поодинокі колонії; «++++» – суцільний ріст.

Як видно з табл. 2, сполука 1 проявляє бактерицидну активність до штамів бактерій *Micrococcus luteus*, *Rhodococcus ruber* та *Rhodococcus erythropolis* уже при концентраціях 25–50 ppm. Мінімальна пригнічувальна концентрація до бактерій роду *Bacillus* становить 500 ppm. Ана-

логічна картина спостерігається і у грамнегативних бактерій. Пригнічення росту кишкових бактерій та бактерій роду *Pseudomonas* спостерігається при концентраціях 50–100 ppm, а бактерицидна їх дія проявляється при концентрації 300 ppm.

Як видно з табл. 3, сполука 2 проявляє

Таблиця 3. Бактерицидна активність гуанідинвімісного олігомеру на основі аліфатичного олігоепоксиду (сполука 2) щодо різних груп бактерій

Тест-культура (рід, вид, штамп)	Кінцева концентрація сполуки 2 у середовищі (ppm):								Конт- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
Грампозитивні бактерії									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 ^{ТМ}	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	+++	+++	++	++	+	+	-	-	++++
<i>Rhodococcus erythro- polis</i> УКМ Ас-741 ^{ТМ}	+++	+++	++	+	-	-	-	-	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	++++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	++++	++++	++++	++++	+++	++	++	+	++++
Грамнегативні бактерії									
<i>Serratia marcescens</i> CCM 1257	++++	++++	++++	+++	++	+	+	-	++++
<i>Escherichia coli</i>	++++	++++	++++	+++	++	+	+	-	++++
<i>Escherichia coli</i> BE	++++	++++	++++	+++	++	+	+	-	++++
<i>Escherichia coli</i> HB 101	++++	++++	++++	+++	++	+	+	-	++++
<i>Pseudomonas aerugi- nosa</i> CCM 1961	++++	++++	++++	++	++	+	+	-	++++

Конт- роль
+++
++++
+++
++++

бактерицидну активність до штамів бактерій *Micrococcus luteus*, *Rhodococcus ruber* та *Rhodococcus erythropolis* уже при концентраціях 150-300 ppm. Мінімальна пригнічувальна концентра-

ція до інших родів бактерій дещо вища, ніж у сполуки 1, і становить 500 ppm.

У сполуки 3 (табл. 4) мінімальна пригнічувальна концентрація вища, ніж у сполук 1 та 2,

Таблиця 4. Бактерицидна активність гуанідинвмісного олігомеру на основі аліфатичного олігоепоксиду (сполука 3) щодо грамполозитивних бактерій

Тест-культура (рід, вид, штам)	Кінцева концентрація сполуки 3 у середовищі (ppm):								Конт- роль
	10	25	50	100	150	300	500	1000	
Грамполозитивні бактерії									
<i>Micrococcus luteus</i> CCM 169 ^{ТМ}	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	++++
<i>Rhodococcus ruber</i>	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	++++
<i>Rhodococcus erythro-</i> <i>poliis</i> УКМ Ас-741 ^{ТМ}	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+	+++
<i>Bacillus cereus</i>	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 104	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++++
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 52	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++++

і становить 1000 ppm. Отже, сполука 3 проявляє досить слабку бактерицидну активність щодо грамполозитивних бактерій, а у грамнегативних бактерій у діапазоні досліджуваних концентрацій спостерігається суцільний ріст.

Як видно з даних таблиць, тестовані сполуки в розчиненому стані виявляють невисоку бактерицидну активність до основних грамполозитивних та грамнегативних груп бактерій, зокрема групи кишкових бактерій роду *Pseudomonas* та роду *Bacillus*. Особливо у бактерій роду *Bacillus* навіть при високих концентраціях сполук (300-500) ppm спостерігається значний ріст бактерій. Це пов'язано з тим, що бактерії роду *Bacillus* мають спорову форму. В інших же груп бактерій спостерігається значне пригнічення росту при всіх концентраціях олігомерів. У процесі зростання молекулярної маси аліфатичного олігоепоксиду бактерицидна активність спадає. Виходячи з даних табл. 1, можемо сказати, що при зростанні молекулярної маси олігомерів

вміст кінцевих гуанідинвмісних груп зменшується, тому антимікробна дія сполук знижується.

Висновки

Таким чином, розроблено метод синтезу гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів при різному співвідношенні початкових компонентів і вмісту йонних груп. Показано, що збільшення концентрації йонних груп супроводжується зниженням граничної поверхневої активності.

Досліджено антимікробні властивості синтезованих гуанідинвмісних олігомерів на основі аліфатичних олігоепоксидів. Результати проведених досліджень показують, що бактерицидні властивості синтезованих сполук залежать від вмісту кінцевих гуанідинових груп в олігомерному ланцюзі. Зі збільшенням вмісту кінцевих йонних груп бактерицидна дія речовини у розчиненому стані зростає.

Роботу виконано за фінансової підтримки проекту УНТЦ № 2476.

1. *Tatsuo Tashiro*. Antibacterial and bacterial absorbing macromolecules II *Macromol.Mater.Eng.*- 2001.- V. 286.- № 2.- P. 63-87.
2. *Appendini P., Hotchkiss J. N.* Surface modification of polyesterene by the attachment of an antimicrobial peptide II *Appl. Polymer science.*- 2001.- № 81.- P. 609-616.
3. *Стенура Л. Г., Радченко О. С., Фуртат І. М., Михальський Л. О.*, Бактерицидні властивості катіонних та інших поверхнево-активних речовин // *Агроекологічний журнал.*- 2002.- № 4.- С. 60-63.
4. *Радченко О. С., Стенура Л. Г., Фуртат І. М., Михальський Л. О., Крамарев С. О.* Перспективність застосу-

вання четвертинних амонійних сполук для санації слизових оболонок та дезінфекції ран // *Інфекційні хвороби.*-2002.-№ 1.- С 59-63.

Садьков А. С. Фізико-хімічні основи применения поверхностно-активних веществ.- Т.: Фан, 1977.— 315 с.

Василевская И. А., Сергейчук М. Г., Згонник В. В., Фуртат И. М., Михальский Л. А. Усовершенствование метода бактериологического контроля в производстве лизина // *Мікробіол.журн.*- 1996.- Т. 58.- № 5.- С. 66-76.

Yauld J.P. Quantity and anality in the diagnosis of ururogy troot infection II *Brit. J. Urol.*- 1965.- V. 37.- № 1.- P. 7-12.

*P. Vakuliuk, M. Vortman, V. Konovalova, A. Burban,
N. Klimenko, V. Shevchenko, M. Bryk*

OLIGOMERS WITH GUANIDINE BASED ON ALIPHATIC OLIGOEPOXIDES AS BACTERICIDAL SUBSTANCES

A new method for synthesis oligomers with guanidine based on aliphatic oligoepoxides with different content of starting components and ionic groups was developed. The results show that the increase in ionic groups' concentration brings about a decrease in boundary surface activity. The antimicrobial properties of oligomers with guanidine based on aliphatic oligoepoxides were looked into. Bactericidal properties of the synthesized compounds depend on the quantity of end guanidine groups in the oligomer chain. The more end ionic groups in the compound, the greater the bactericidal properties of the compound in solution.