

УДК 54.057

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ХИТИНА С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Дысин А.П. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – к.х.н., доцент Критченков А.С.

(Университет ИТМО)

Настоящее исследование посвящено синтезу и изучению антибактериальной активности новых тетразольных производных природного полимера хитина высоких, средних и низких молекулярных масс с высокими, средними и низкими степенями замещения. Среди всех полученных производных наибольшей антибактериальной активностью характеризуется производное хитина средней молекулярной массы умеренной степени замещения. По показателю ингибирования роста культур *S. Aureus* и *E. coli* полученное производное сопоставимо с антибиотиками ампициллином и гентамицином.

Введение. Антимикробная резистентность способствует отбору, выживанию и размножению устойчивых к действию антибиотиков штаммов микроорганизмов и является естественным биологическим ответом на частое, мало контролируемое использование антимикробных препаратов. В последние годы статистические данные многочисленных микробиологических исследований свидетельствуют о неуклонном росте резистентности возбудителей нозокомиальных и внебольничных инфекций к антимикробным лекарственным средствам. В связи с этим разработка и синтез новых эффективных антибактериальных препаратов является одной из приоритетных задач современной фармакологии.

Хитин представляет собой линейный природный полимер, состоящий из звеньев N-ацетилглюкозамина и представляет собой полностью N-ацетилированный хитозан. Производные же хитозана зачастую характеризуются выраженной антибактериальной активностью. В связи с комплексным сложным антибактериальным действием производных хитина и хитозана появление резистентности бактерий к данным соединениям в ближайшем будущем маловероятно, если вообще возможно. Работ же, посвящённых антибактериальному действию хитина и его производных, в литературе весьма мало. Это связано в первую очередь с нерастворимостью хитина и большинства его производных в воде. В то же время хитин дешевле, чем хитозан, и является вторым по распространённости природным полимером после целлюлозы.

Тетразольная гетероциклическая система может являться, с одной стороны, фармакофором, обуславливающим антибактериальную активность, а с другой стороны — гидрофильным фрагментом, обеспечивающим растворимость тетразольного производного хитина в воде. В связи с этим цель настоящей работы заключалась в синтезе растворимых в воде тетразольных производных хитина, обладающих антибактериальными свойствами. С учетом обширного опыта в синтетической хитинологии в рамках выбранной цели были поставлены следующие конкретные задачи: (1) получение цианоэтильных производных хитина действием акрилонитрила на хитин и хитозан, (2) конверсия полученных цианоэтильных производных в тетразольные производные по пути 1,3-диполярного циклоприсоединения азид-иона, (3) исследование антибактериальной активности полученных производных в отношении *S. aureus* и *E. coli* в сравнении с антибиотиками ампициллином и гентамицином.

Основная часть. В настоящем исследовании использовали крабовый хитин со средней молекулярной массой 3,5-104, влажностью 9,2%, хитин со средней молекулярной массой 7,1-104, влажностью 8,8%, хитин со средней молекулярной массой 17,2-10%, влажностью 9% (Aldrich), перегнанный акрилонитрил (Вектон), азид натрия (Aldrich). Остальные реагенты, используемые в работе, были получены из коммерческих источников (Aldrich) и использовались без дополнительной очистки.

Для получения цианоэтильных производных хитин (0,5 г) диспергировали в свежеперегнанном безводном диметилацетамиде с добавлением высушенного в сухожаровом шкафу безводного хлорида лития. После полного растворения хитина в реакционную смесь добавляли безводный акрилонитрил. Реакционную виалу закрывали резиновой септой и

укупоривали под обкатку. После продувания реакционной смеси током азота (20 мин) смесь интенсивно перемешивали при 50°C 180 ч. Образовавшийся полимер осаждали и трижды промывали ацетоном. Полученный продукт сушили при комнатной температуре в вакууме.

Для получения тетразольных производных к суспензии цианоэтильного производного хитина (0,5 г) в воде (10 мл) добавляли избыток азидата натрия (0,5 г) и хлорид цинка (0,3 г). Реакционную виалу закрывали резиновой септой и укупоривали под обкатку. После продувания реакционной смеси током азота (20 мин) смесь интенсивно перемешивали при 70°C в течение 72 ч. После добавления избытка сульфида натрия (3 г) образовавшийся осадок сульфида цинка центрифугировали, а маточный раствор подкисляли до pH=5. Образовавшийся полимер очищали диализом против дистиллированной воды и сушили лиофильно.

ИК-спектры и спектры ЯМР ¹H полученных тетразольных производных хитина были совершенно однотипны, поскольку данные производные отличаются лишь молекулярными массами и степенью замещения.

Антибактериальную активность тетразольных производных хитина и хитозана изучали методом “диффузии в агар” в отношении штаммов *S. aureus* RCMB 010027 и *E. coli* RCMB 010051. В качестве коммерчески доступных антибиотиков для сравнения в случае *S. aureus* использовали ампициллин (Aldrich), а в случае *E. coli* — гентамицин (Aldrich). Активность определяли измерением диаметра зоны ингибирования. Каждая зона ингибирования была измерена после суточного выращивания в термостате при 37°C. Минимальную концентрацию ингибирования (МИК) тестируемых образцов определяли подсчетом колоний.

Различия между экспериментальными данными были определены с использованием множественных сравнений отдельных средних с помощью парных t-тестов с использованием корректировки Бонферрони. Различия в результатах зон ингибирования между изучаемыми производными хитозана и хитина и препаратами сравнения, а также между тетразольными производными хитина с молекулярными массами средней величины и другими производными хитина и хитозана являются статистически значимыми.

Результаты проведенных исследований показали, что антибактериальная активность тетразольных производных хитина как в отношении *S. aureus*, так и в отношении *E. coli* мало зависит от степени замещения с тенденцией к монотонному возрастанию антибактериального эффекта с увеличением степени замещения. Однако зависимость антибактериальной активности от молекулярной массы носит весьма выраженный характер. Самую высокую антибактериальную активность проявили тетразольные производные хитина средней молекулярной массы.

Выводы. Таким образом, на основании полученных результатов можно говорить о том, что введение тетразольного цикла в полимерную матрицу хитина позволяет получить новые растворимые в воде полимеры, обладающие высокой антибактериальной активностью *in vitro*. Наибольшая эффективность характерна для производных с молекулярными массами средней величины. Данные производные представляют очевидный интерес для дальнейших исследований, в том числе *in vivo*.

Дысин А.П. (автор)

Подпись

Крииченков А.С. (научный руководитель)

Подпись