

М. С. Черновьянц<sup>1</sup>, И. В. Бурькин<sup>1</sup>, Р. В. Писанов<sup>2</sup>, О. А. Шалу<sup>2</sup>

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(N-МЕТИЛ-4-ВИНИЛПИРИДИНИЯ ТРИОДИДА)

<sup>1</sup> Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup> Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия.

Алкилированием поли(4-винилпиридина) иодистым метилом в течение 12 ч синтезирован анионит — поли(N-метил-4-винилпиридиния иодид). Иодирование водного раствора полученного продукта эквимольным количеством иода в этаноле приводит к образованию поли(N-метил-4-винилпиридиния триодида), выход количественный. Структура соединения подтверждена данными УФ-, ИК- и ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии и потенциометрического титрования. Приведены результаты изучения противомикробной активности синтезированных соединений.

**Ключевые слова:** поли(N-метил-4-винилпиридиния иодид), синтез, противомикробная активность.

Широкий спектр действия и высокий терапевтический эффект йодсодержащих лекарственных препаратов, а также применение препаратов на основе молекулярного йода в качестве дезинфектантов и антисептиков, определяют актуальность физико-химических исследований комплексных соединений йода, прогнозирования их фармакологического и бактерицидного действия [1, 2].

В настоящее время все актуальнее встает вопрос об улучшении свойств лекарственных препаратов при помощи гидрофильных высокомолекулярных соединений (ВМС). В последние десятилетия были предприняты попытки получить нерастворимые полимерные дезинфектанты (так называемые полимерные биоциды) введением антимикробных агентов в ионообменную смолу [3, 4]. Вещества, входящие в состав композиционных материалов, могут управлять выделением активного вещества из препарата и регулировать растворимость лекарственной формы.

В работе [5] представлены синтез и оценка антимикробной активности сшитых сополимеров, полученных сополимеризацией винилбензилхлорид эфира с 2-хлорэтилвиниловым эфиром или метилметакрилата с дивинилбензолом в качестве кросслинкера. Сопolíмеры были модифицированы кватернизацией с трифенилфосфином и триэтанолламином. Антимикробная активность модифицированных сополимеров была протестирована в отношении грибковых и бактериальных микроорганизмов. Наибольшую активность (против *C. albicans*) проявил сополимер, содержащий трифенилфосфониевую соль.

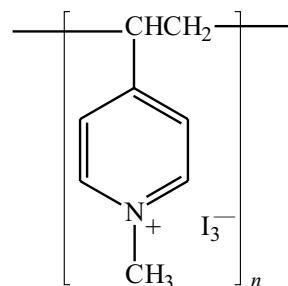
Для получения композиций лекарственное вещество — ВМС в качестве носителей могут быть использованы полиэтиленоксиды, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, полиакриламид и др. [6]. Благодаря им лекарственные вещества непрерывно подаются в организм, создавая концентрацию, близкую к минимальному терапевтическому уровню, не достигая токсического уровня. Анализ распределения различных форм йода (свободного, связанного в триодид, входящего в

состав йод-триодид-полимерного и триодид-полимерного комплексов, и в виде йодид-иона), находящихся в равновесии в водных растворах препаратов системы повидон — йод, выполнен авторами [7]. Выбор ВМС обеспечивает поддержание концентрации свободного йода на уровне бактерицидного действия (5 мг/л).

На наш взгляд более перспективно создание препаратов активного йода, сочетающих полимерную основу, четвертичный аммониевый катион и иод в составе комплексного аниона. Такие комплексы могут проявлять более выраженную бактерицидную активность по сравнению с молекулярными комплексами полимеров с йодом.

Эффективным является метод сорбции йода анионитами, синтетическими поликатионными структурами с йодид-противоионом [8]. Здесь происходит не ионный обмен, а присоединение внутри самого ионита молекул иода к иону, входящему в его состав, с образованием комплексных триоидов, удерживаемых полимерной матрицей более прочно, чем йодид-ионы.

Целью данной работы было получение анионита — поли(N-метил-4-винилпиридиния иодида), его комплексного соединения с молекулярным йодом и исследование их антимикробной активности.



### Экспериментальная химическая часть

В работе использованы поли(4-винилпиридин) ( $M_w$  160 кДа, Sigma-Aldrich), иодистый метил (х.ч., Химмед, Россия), йод (х.ч., очищенный сублимацией).

### Поли(N-метил-4-винилпиридиния йодид) (I).

5 г ( $3,125 \cdot 10^{-5}$  моль) поли(4-винилпиридина) растворяли в 50 мл метилового спирта и прибавляли по каплям при перемешивании 4,5 мл (0,072 моль) йодистого метила в 10 мл метанола. Через 2 ч выпадал светло-желтый осадок, который выдерживали над раствором при перемешивании в течение 1 сут. Осадок отфильтровывали, промывали небольшими порциями метанола и высушивали в эксикаторе.

### Поли(N-метил-4-винилпиридиния трийодид) (II).

Навеску I 1,5055 г ( $4 \cdot 10^{-6}$  моль) растворяли в 50 мл дистиллированной воды и к полученному раствору прибавляли при перемешивании 50 мл спиртового раствора йода (1,5484 г,  $6 \cdot 10^{-3}$  моль). Выпавший осадок выдерживали над маточным раствором в течение 1 сут и отфильтровывали через фильтр Шотта (№ 2). Осадок промывали несколько раз небольшими порциями этанола и высушивали на воздухе при комнатной температуре.

Вещество II представляет собой порошок темно-коричневого цвета (температура стеклования  $T_c = 180$  °С; температура текучести  $T_f = 243 - 245$  °С).

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (II) регистрировали в ДМСО- $d_6$  на спектрометре DPX-250 фирмы Bruker. Положение сигналов протонов ( $\delta$ , м. д.): 1,42 м. д. (уш. с. 3H, винил); 3,74 м. д. (с., 3H,  $\text{CH}_3\text{N}^+$ ); 6,97 м. д. (с., 2H,  $\beta$ -H пиридина); 8,21 м. д. (с., 2H,  $\alpha$ -H пиридина).

УФ-спектр ( $\text{CHCl}_3$ , 1,2 об. % ДМСО),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\lg \epsilon$ ): 295 (4,06), 367 (3,93), 460 (3,58).

Методом потенциометрического титрования тиосульфатом натрия в водно-этанольной среде (1:1) установлено, что молекулярный йод связывается с I в соотношении 1:1 ( $s_f$  0,043), что свидетельствует об образовании простейшего полийодидного аниона — трийодид-иона.

Для оценки устойчивости II готовилась серия растворов, в которых при постоянной концентрации йодида I в воде менялась концентрация молекулярного йода в хлороформе — от недостатка до 3-кратного избытка. Концентрацию свободного йода  $[I_2]$  в хлороформном растворе рассчитывали непосредственно из оптической плотности в максимуме полосы поглощения молекулярного йода ( $\lambda = 510$  нм) по уравнению:  $[I_2] = A/\epsilon l$ , где  $A$  — оптическая плотность раствора,  $\epsilon$  — молярный коэффициент светопоглощения,  $l$  — толщина поглощающего слоя. Для каждой равновесной концентрации йода определяли соответствующее значение функции среднейодного числа —  $\bar{n}(I_2)$  [9] по формуле  $\bar{n}(I_2) = \{C(I_2) - [I_2]\} / \{C(\text{KtI})\}$  и рассчитывали константу устойчивости комплекса по уравнению  $\{\bar{n}(I_2)\} / \{1 - \bar{n}(I_2)\} = \beta_1 [I_2]$  линейным МНК ( $\beta = 1,84 \cdot 10^3$ ).

Поскольку при оценке реальной устойчивости исследуемого соединения необходимо учитывать равновесие  $(I_2)_в \Leftrightarrow (I_2)_о$ , характеризующееся константой распределения ( $P$ ) йода в системе хлороформ — вода, реальная величина константы устойчивости будет определяться уравнением  $\beta = \beta'_{\text{экс}} P$  и составляет  $2,69 \cdot 10^5$  (т.е. на два порядка выше) [10].

### Экспериментальная биологическая часть

В ходе исследований использовались штаммы *Vibrio cholerae* P-9961 и *Escherichia coli* M15 и *Staphylococcus aureus* 209.

Использовали питательный бульон LB, значения pH которого изменяли в зависимости от физиологических потребностей конкретного вида микроорганизмов. *E. coli* и *St. aureus* культивировали при pH = 7,2; *V. cholerae* — при pH = 7,6.

Состав LB-бульона: на 1 л: 10 г триптона, 5 г дрожжевого экстракта, 5 г NaCl, значения pH изменяли, используя 1 М раствор NaOH.

Было проведено качественное исследование полимера I на наличие бактерицидных свойств методом диффузии в агар. В стерильную чашку Петри со средой LB сплошным газом засеивали тест-штаммы *V. cholerae*, *E. coli* и *St. aureus*. Для этого взвесь культуры наносили на поверхность среды и растирали шпателем. Чашки помещали в термостат на 1 ч, чтобы среда впитала жидкость, а затем пробочным сверлом, предварительно опущенным в спирт и обожженным в пламени горелки, вырезали агаровые блоки. Далее образовавшиеся отверстия заполняли раствором полимера I, внося 100 мкл полимера концентрацией 45 мг/мл. После экспозиции 24 ч наблюдали зону отсутствия роста.

Поскольку известно, что антимикробной активностью обладают поликатионы четвертичных аммониевых соединений [5], были исследованы антимикробные свойства I в концентрациях: 45; 22,4; 11,2; 5,6; 2,8; 1,4 мг/мл. Посевы помещались в термостат на 18 – 24 ч при 37 °С, после чего учитывалось наличие или отсутствие роста в опытных и контрольных пробирках. В качестве отрицательного контроля использовали бульон LB с препаратом, без бактериальной взвеси. Положительным контролем являлась взвесь суточной культуры тест-штаммов без добавления препарата.

Бактерицидную активность полимера II исследовали методом серийных разведений в бульоне LB, содержащем препарат в концентрациях от 10 мг/мл до 0,25 мг/мл (10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,33, 0,25 мг/мл). Микробная нагрузка (взвесь суточной культуры тест-штаммов) составляла  $5 \cdot 10^8$  м.к./мл по стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича.

Поскольку исследуемое вещество не растворяется в воде, то в пробирки вносили его разновесы.

### Результаты и их обсуждение

Антимикробная активность II зависит от степени удерживания молекулярного йода в составе аниона. Реальная константа устойчивости II ( $\beta = 2,69 \cdot 10^5$ ) дает возможность создавать II концентрацию активного йода в растворе на уровне бактерицидного действия.

Установлено, что МИК II в отношении *V. cholerae* составляет 1 мг/мл, и — *E. coli* и *St. aureus* — 0,25 мг/мл.

I проявляет бактерицидную активность при концентрации 5,6 мг/мл.

Антимикробный эффект II в основном обусловлен наличием активного йода в составе молекулы. Йод высвобождается постепенно, продолжительно сохраняя бактерицидный эффект, и взаимодействует с белками микробной стенки и функциональными белками бактерий (ферментами), образуя йодамины, что приводит к инактивации ферментов, разрушению клеточной стенки и гибели микроорганизмов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. B. S. Hetzel, J. T. Dunn, *Ann. Rev. Nutr.*, **9**, 21 – 38 (1989).
2. А. М. Кутепов (ред.), *Биологически активные вещества в растворах. Структура, термодинамика и реакционная способность*, Наука, Москва (2001).
3. E.-R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. El-Raheem, et al., *J. Polym. Sci.*, **40A**(14), 2384 – 2393 (2002).
4. E.-R. Kenawy, *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**(6), 1364 – 1374 (2001).
5. E.-R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. A. El-Magd, et al., *React. Funct. Polym.*, **66**(4), 419 – 429 (2006).
6. М. В. Гаврилин, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(1), 33 – 37 (2001).
7. М. А. Atemnkeng, J. Plaizier-Vercammen, A. Schuermans, *Int. J. Pharmace.*, **317**(2), 161 – 166 (2006).
8. Т. Д. Панасенко, В. В. Соколов, *Производство йода ионообменным методом*, НИИТЭхим, Москва (1986).
9. М. С. Черновьянц, Е. Б. Подгорная, А. И. Пыщев и др., *Журн. общ. химии*, **68**(5), 822 – 825 (1998).
10. М. С. Черновьянц, И. В. Бурькин, Р. В. Писанов, *Тез. докл. VI Всерос. научного семинара с молодежной научной школой "Химия и медицина"*, Уфа (2007), сс. 139 – 140.

Поступила 29.07.08

## SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF POLY(N-METHYL-4-VINYLPYRIDINIUM TRIIODIDE)

M. S. Chernov'yants<sup>1</sup>, I. V. Burykin<sup>1</sup>, R. V. Pisanov<sup>2</sup>, and O. A. Shalu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Analytical Chemistry, South Federal University, Rostov-on-Don, Russia;

<sup>2</sup> Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia

Poly(N-methyl-4-vinylpyridinium iodide) (PMVPI) have been synthesized via the interaction of poly(4-vinylpyridine) with methyl iodide for 12 hours. Iodination of an aqueous PMVPI solution with equimolar amount of iodine in ethanol led to the formation of poly(N-methyl-4-vinylpyridinium triiodide). The target product is obtained with a quantitative yield. The proposed structure of the synthesized compound is confirmed by the spectroscopic (UV, IR, <sup>1</sup>H NMR) and potentiometric data. The synthesized compounds were tested for antimicrobial activity.

**Key words:** poly(N-methyl-4-vinylpyridinium iodide), synthesis, antimicrobial activity