

БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 54-386:54.057:579.66

В. А. Добыш, аспирант (Институт химии новых материалов НАН Беларуси);
Н. В. Коктыш, младший научный сотрудник (Институт химии новых материалов НАН Беларуси);
В. Н. Макагун, доктор химических наук, профессор (Институт химии новых материалов НАН Беларуси);
В. А. Тарасевич, доктор химических наук, доцент (Институт химии новых материалов НАН Беларуси);
Л. И. Антоновская, ассистент (БГТУ);
Н. А. Белясова, кандидат биологических наук, доцент (БГТУ)

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИГУАНИДИНАТОВ МЕДИ (II)

Методами ИК- и УФ-спектроскопии и спектрофотометрии исследованы продукты реакции гидрохлорида полигексаметиленгуанидина с солями меди (II), представляющие собой разнолигандные полимер-металлические комплексы, в стабилизации которых участвуют координационные связи полигуанидиновых и гидроксильных групп. Приведена оценка антибактериальных свойств синтезированных комплексов по отношению к молочнокислым и облигатно аэробным бактериям.

Reaction products of a polyhexamethylenguanidine hydrochloride with copper (II) salts, representing different-ligand polymer-metal complexes, in which stabilization coordination bonds polyguanidine and hydroxyl groups participate, was investigated by methods of IR spectroscopy, UV spectroscopy and spectrophotometry. The estimation of antibacterial properties of the synthesized complexes in relation to lactate and obligate aerobic bacteria is resulted.

Введение. Актуальным направлением химии координационных соединений является синтез комплексных соединений биологически активных металлов с физиологическими лигандами, поскольку известно, что координационно связанный металл обладает значительно большей активностью и меньшей токсичностью [1].

В последние годы значительно вырос интерес к классу гуанидиновых соединений, особенно полимерных гуанидинов. Производные полигуанидина, которые во многих случаях являются продуктами метаболизма природных веществ, входят в состав нуклеотидов и их можно рассматривать как естественные, биорациональные дезинфектанты. Они находят применение в качестве физиологически активных веществ: лекарств, антибиотиков, пестицидов, фунгицидов. Например, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ ГХ) обладает высокой биологической активностью (антибактериальной, антифунгальной, противовирусной), за счет чего используется в борьбе с инфекциями, перспективен для защиты сельскохозяйственных растений и сельхозпродукции при хранении, для защиты различных материалов от биоповреждений [2].

Все известные работы, направленные на изучение координационных особенностей полигуанидинов, связаны со способностью производных полигексаметиленгуанидина (ПГМГ) извлекать из сточных вод [3, 4] и организма теплокровных животных [5] ионы тяжелых ме-

таллов, образуя при этом комплексные соединения. Целью настоящей работы являлось изучение возможности направленного синтеза макромолекулярных металлокомплексов на основе гидрохлорида полигексаметиленгуанидина и солей меди (II), исследование их физико-химических характеристик, а также уровня антибактериальной активности.

Методика эксперимента. Гидрохлорид полигексаметиленгуанидина получали по методике, описанной в работе [6]. Металлокомплексы получали путем взаимодействия ПГМГ ГХ с $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в среде метилового спирта при медленном добавлении к 10%-ному раствору полимера 1 мас. % ионов меди при температуре 40°C.

Общая методика получения комплексов на примере сульфата меди (II): к 0,5 г ПГМГ ГХ в 5 мл метилового спирта по каплям при перемешивании добавляли 0,02 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, растворенного в 5 мл метанола, и перемешивали при температуре 40°C в течение 1 ч. Образовавшийся раствор выпаривали на ротаторном испарителе, остаток сушили над серной кислотой в эксикаторе. Полученный полимерный комплекс окрашен в зеленый цвет.

ИК-спектры сняты на приборе IR-75. Использовали образцы соединений в виде таблеток в КВг. Электронные спектры и значение константы устойчивости получены на приборе SP-8001.

Таблица 1

Частоты и отнесение полос ИК-спектров комплексов ПГМГ с ионами Cu^{2+}

Номер	Лиганд	Металл	$\nu(\text{OH}), \nu(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{CH})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\delta(\text{OH})$
I	ПГМГ ГХ	–	3323	3174	2929, 2854	1655	1098
II	ПГМГ ГХ	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3370	3157	2936, 2860	1657	1085
III	ПГМГ ГХ	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3370	3160	2935, 2860	1655	1087
IV	ПГМГ ГХ	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3370	3159	2935, 2860	1655	1087

Оценку антибактериальных свойств синтезированных комплексов проводили двумя методами – модифицированным адсорбционно-титриметрическим и методом определения интенсивности дыхания облигатно аэробных бактерий [7].

В качестве тест-культуры использовали молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 411 и облигатно аэробные бактерии *Pseudomonas fluorescens* B2.

Результаты и их обсуждение. Состав полученных комплексов меди соответствует формуле $\text{Cu}[(\text{ПГМГ})_2(\text{OH})_2]$. Они охарактеризованы методами ИК- и УФ-спектроскопии, значениями констант устойчивости в органических растворителях.

ИК-спектры синтезированных полигуанидиновых комплексов анализировались в сравнении со спектрами исходного ПГМГ ГХ (табл. 1).

Для ИК-спектра гидрохлорида ПГМГ характерны максимумы в области частот 3323 и 3174 cm^{-1} , отвечающие соответственно валентным колебаниям гидроксильных и вторичных аминных групп. В ИК-спектре лиганда наблюдается максимум и в области 1655 cm^{-1} , отвечающий валентным колебаниям $\nu(\text{C}=\text{N})$ связи. Наличие ОН-группы также подтверждается деформационными колебаниями в области 1098 cm^{-1} [8, 9].

В ИК-спектрах комплексов меди с ПГМГ ГХ наблюдается смещение валентных колебаний NH-группы в коротковолновую область на 15 cm^{-1} . Такое смещение указывает на образование координационной связи между аминным азотом гуанидиновой группы и атомом меди. Наблюдаемое в спектре комплекса смещение валентных колебаний ОН-группы в длинноволновую область от 3323 (лиганд) до 3370 cm^{-1} (комплекс) свидетельствует об участии гидроксильных групп в образовании донорно-акцепторных связей с ионами меди [10]. Смещение деформационных колебаний ОН-группы на 11 cm^{-1} также характеризует образование координационной связи между ионами меди и гидроксильными группами. Из анализа ИК-спектров комплексов с ацетатом, сульфатом и хлоридом меди (II) следует, что все комплексы имеют одинаковую структуру, которая не зависит от природы аниона (табл. 1).

Поскольку образование координационной связи металл – азот можно подтвердить методом УФ-спектроскопии, то для синтезированных соединений записаны электронные спектры (рис. 1, 2).

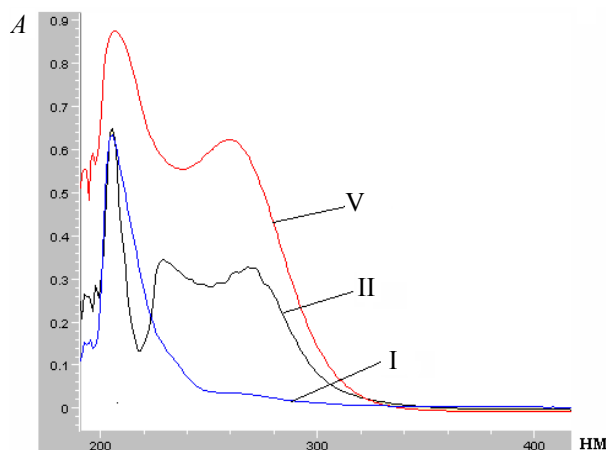


Рис. 1. Электронные спектры лиганда, комплекса и соли меди:
I – ПГМГ ГХ ($C = 2,8 \cdot 10^{-5}$ моль/л);
II – ПГМГ : Cu = 1 моль : 1 моль ($C = 4 \cdot 10^{-4}$ моль/л);
V – $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($C = 4 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

Электронные спектры комплексов сопоставляли со спектрами свободного лиганда и сульфата меди. В УФ-спектрах полигуанидиновых комплексов наблюдается три максимума в области 207, 228 и 271 нм, в отличие от спектров свободного лиганда, который имеет максимум в области 207 нм, и спектра сульфата меди, характеризующегося максимумами поглощения в области 207 и 259 нм (рис. 1).

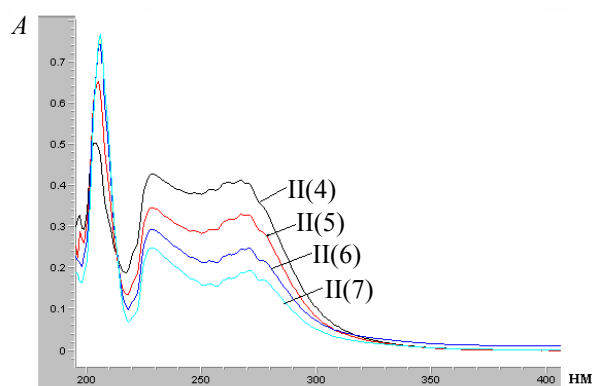


Рис. 2. Электронные спектры комплексов: $\text{Cu}[(\text{ПГМГ})_2(\text{OH})_2]$ ($C = 4 \cdot 10^{-4}$ моль/л)
II(4) – ПГМГ : Cu = 1 моль : 2 моль;
II(5) – ПГМГ : Cu = 1 моль : 1 моль;
II(6) – ПГМГ : Cu = 3 моль : 1 моль;
II(7) – ПГМГ : Cu = 3 моль : 1 моль

Антибактериальные свойства биоцидных препаратов

Образец	Концентрация накопившейся молочной кислоты, ммоль/дм ³	DS, отн. ед.	Оценка антибактериальных свойств
II	1,47	0,71	Обладает антибактериальными свойствами
Метанол	5,00		–
II	2,94	0,47	Обладает антибактериальными свойствами
ДМСО	5,59		–
II	1,18	0,79	Обладает антибактериальными свойствами
Вода	5,59		–
I	2,65	0,53	Обладает антибактериальными свойствами
Метанол	5,59		–
I	2,65	0,50	Обладает антибактериальными свойствами
ДМСО	5,29		–
I	2,94	0,47	Обладает антибактериальными свойствами
Вода	5,59		–
V	2,65	0,53	Обладает антибактериальными свойствами
Метанол	5,59		–
V	3,23	0,48	Обладает антибактериальными свойствами
Вода	6,18		–

Примечание. I – ПГМГ ГХ; II – Cu[(ПГМГ)₂(ОН)₂]; V – CuSO₄·5H₂O.

Появление в комплексах максимума в области 228 нм и смещение максимума поглощения на 12 нм по сравнению с сульфатом меди подтверждает образование координационных связей Cu–N. Исследование характера электронных спектров синтезированных комплексов от мольного соотношения металл : лиганд позволило сделать вывод, что полученные координационные соединения имеют одинаковую структуру, которая не зависит от мольного отношения атомов меди и полимера.

Используя данные спектроскопических исследований, схематическое изображение структуры комплекса Cu[(ПГМГ)₂(ОН)₂] можно представить следующим образом (рис. 3).

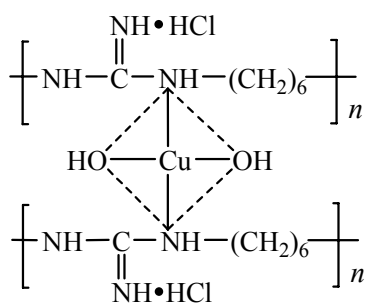


Рис. 3. Схематическое изображение структуры комплекса Cu[(ПГМГ)₂(ОН)₂]

Результаты изучения структуры комплексных соединений меди (II) и азотсодержащих полимерных лигандов показывают, что в таких структурах ион меди находится в плоско-квадратном или близком к нему окружении [6, 11].

Для комплекса ПГМГ с сульфатом меди методом молярных отношений установлена константа устойчивости в растворе метилового спирта [12]. Значение константы устойчивости, равное $0,37 \cdot 10^7$, свидетельствует о том, что полученный комплекс имеет устойчивость, характерную для медных комплексов пиридина [13].

Оценку антибактериальных свойств синтезированных комплексов проводили в сравнении с антибактериальными свойствами свободного лиганда и соли металла (табл. 2). Для растворения исследуемых биоцидов использовали органические и неорганические растворители (вода, метиловый спирт, ДМСО).

Как следует из приведенных данных, все образцы признаны обладающими антибактериальными свойствами в концентрации 0,01 мас. %. При этом можно назвать в числе растворителей, обеспечивающих наилучшие антибактериальные свойства препаратов, воду и метиловый спирт. Препараты, растворенные в ДМСО, демонстрировали наименьшую активность.

Для уточнения полученных результатов и нахождения различий в активности растворенных в воде препаратов исследовали их двумя методами – модифицированным адсорбционно-титриметрическим и методом определения интенсивности дыхания облигатно аэробных бактерий. Результаты представлены на рис. 4 и в табл. 3, 4.

Полученные данные убедительно свидетельствуют о том, что наиболее выраженными антибактериальными свойствами в исследованном ряду характеризуется полигексаметиленгуанидиновый комплекс с ионами меди: в его присутствии бакте-

рии потребляют кислород, а значит, осуществляют дыхание почти в 3 раза хуже, чем в контроле. Данный комплекс также продемонстрировал наиболее высокое значение относительного показателя антибактериальной активности DS в адсорбционно-титриметрическом методе.

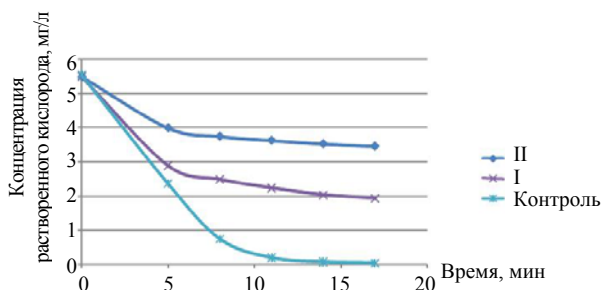


Рис. 4. Динамика поглощения молекулярного кислорода бактериями *P. fluorescens*, обработанными водными растворами биоцидов

Таблица 3
Скорость поглощения молекулярного кислорода бактериями *P. fluorescens*, обработанными водными растворами биоцидов

Образец биоцида	Скорость потребления кислорода, K (мг/л·мин ⁻¹)
I	0,21
II	0,12
Контроль	0,32

Таблица 4
Антибактериальные свойства растворенных в воде биоцидных препаратов (адсорбционно-титриметрический метод)

Образец	Концентрация накопившейся молочной кислоты, ммоль/дм ³	DS , отн. ед.	Оценка антибактериальных свойств
I	3,53	0,45	Обладает антибактериальными свойствами
II	1,76	0,72	Обладает антибактериальными свойствами
Вода	6,47	–	–

Заключение. По результатам проделанной работы можно судить о возможности синтеза устойчивых комплексов полигексаметиленгуанидина с ионами меди (II). Внутренняя сфера таких комплексов образована двумя молекулами ПГМГ и двумя гидроксильными группами, причем ПГМГ образует координационную связь за счет свободной пары электронов на аминном атоме азота гуанидиновой группы. Синтез разнолигандных комплексов способствует расширению спектра биоцидных препара-

тов и позволяет значительно повысить антибактериальную активность существующих физиологически активных веществ.

Литература

- Хакимов, Х. Х. Периодическая система и биологическая роль элементов / Х. Х. Хакимов, А. З. Татарская. – Ташкент: Медицина, 1978. – 484 с.
- Синтез метацида / П. А. Гембицкий [и др.] // Химическая промышленность. – 1984. – № 2. – С. 82–84.
- Anion exchangers with alkyl substituted guanidyl groups Gold sorption and Cu (II) coordination / B. N. Kolarz [et al.] // Reactive & Functional Polymers. – 2001. – Vol. 48. – P. 169–179.
- Synthesis and characterization of resins with ligands containing guanidine derivatives. Cu (II) sorption and coordination properties / I. A. Owsik [et al.] // Polymer. – 2003. – Vol. 44. – P. 5547–5558.
- Ассоциация ионов металлов с водорастворимым полигексаметиленгуанидингидрохлоридом / В. В. Нижник [и др.] // Вопросы химии и химической технологии. – 2006. – № 6. – С. 120.
- Добыш, В. А. Синтез и структура комплексов меди с полигуанидинами / В. А. Добыш // «Молодежь в науке – 2009», прил. к журналу «Весці НАН Беларусі». Сер. хим. наук. – 2010. – Ч. 1. – С. 26–30.
- Шевеленко, С. В. Сопоставительный анализ метаболической активности участвующих в биообрастании аэробных и анаэробных бактерий под действием биоцидов / С. В. Шевеленко, А. А. Кучко, Н. А. Белясова // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия, технология орган. в-в и биотехнология. – 2010. – Вып. XVIII. – С. 290–296.
- Synthesis and antimicrobial activity of polymeric guanidine and biguanidine salts / Yumei Zhang [et al.] // Polymer. – 1999. – Vol. 40. – P. 6189–6198.
- Effects of poly(methylene-co-guanidine) on microbial growth in an alginate/cellulose sulphate – CaCl₂/poly(methylene-co-guanidine) capsule system / Li-Yang Zhang [et al.] // Process Biochemistry. – 2005. – Vol. 40. – P. 189–193.
- Накамото, К. ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений / К. Накамото. – М.: Мир, 1991. – 536 с.
- Помогайло, А. Д. Макромолекулярные металлохелаты / А. Д. Помогайло, И. Е. Уфлянд. – М.: Химия, 1991. – 304 с.
- Скопенко, В. В. Координаційна хімія. Практикум: підручник / В. В. Скопенко, В. Я. Зуб. – Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2002. – 332 с.
- Mojumdar, S. C. Preparation, Spectral Properties and Antimicrobial Effects of New Cu(II) Compounds with Some Bio-Active Ligands / S. C. Mojumdar, D. Hudecova, M. Melnik // Polish Journal of Chemistry. – 1999. – Vol. 73. – P. 759–764.

Поступила 07.03.2011