

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГУАНИДИНА¹Ахмедов О.Р., ²Сидоренко А.В., ³Савич В.В., ⁴Шомуротов Ш.А., ⁵Тураев А.С.^{1,4,5}Республика Узбекистан, г. Ташкент 100125, ул. Мирзо Улугбека, 83, Институт биоорганической химии АН РУз, ibchem@uzsci.net^{2,3}Республика Беларусь, г. Минск, 220141, ул. акад. В.Ф.Купревича, 2, Институт микробиологии НАН Беларуси, a_sidarenka@mbio.bas-net.by<https://doi.org/10.5281/zenodo.8353544>

Аннотация. В настоящей статье обобщены и систематизированы литературные данные, касающиеся способов получения полимерных производных гуанидина, обладающих антимикробными свойствами. Показано, что с использованием различных подходов трансформации гуанидина из низкомолекулярного в полимерное состояние, можно получать соединения, обладающие широким спектром действия против патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: патогенные микроорганизмы, поликатионы, гуанидин, макромолекулярные системы, антимикробные свойства

Abstract. This article summarizes and systematizes literature data concerning methods for preparing polymeric guanidine derivatives with antimicrobial properties. It has been shown that, using various approaches to transform guanidine from a low molecular weight to a polymeric state, it is possible to obtain compounds with a wide spectrum of action against pathogenic microorganisms.

Keywords: pathogenic microorganisms, polycations, guanidine, macromolecular systems, antimicrobial properties

Аннотация. Мазкур мақолада гуанидинни микробларга қарши фаолликка эга бўлган полимер ҳосилаларини олиши бўйича адабиёт маълумотлари кўриб чиқилган ва умумлаштирилган. Гуанидинни турли кимёвий усуллар ёрдамида қўйимолекуляр ҳолатдан юқори молекуляр ҳолатга трансформацияси ёрдамида патоген микроорганизмларга қарши таъсир этувчи бирикмалар олиниши мумкинлиги кўрсатилган.

Калит сўлар: патоген микроорганизмлар, поликатионлар, гуанидин, макромолекуляр тизимлар, микробларга қарши ҳусусиятлар

Стремительный рост числа возбудителей инфекционных заболеваний, имеющих лекарственную резистентность, все еще остается одной из главных проблем медицины, фармакологии и микробиологии [1]. К настоящему времени по причине широкого распространения устойчивых форм патогенных микроорганизмов, лечение инфекционных заболеваний становится сложнее, требуется длительный период терапии, увеличение дозы антимикробного препарата, что в конечном счете приводит к проявлению различных побочных действий на организм [2]. В следствии чего разрабатываемые новые антимикробные средства должны отличаться не только высокой эффективностью, но и одновременно быть нетоксичными.

Достижения химии медико-биологических полимеров последних лет все чаще используются для решения проблем медицинской практики. Одним из основных направлений данной области науки является целенаправленный синтез антимикробных полимеров, обладающих необходимыми фармако-токсикологическими свойствами и

высокой активностью в отношении патогенных микроорганизмов. Макромолекулярные системы, содержащие в структуре положительный заряд, являются довольно широко изученным классом антибактериальных полимеров. Механизм и эффективность противомикробного действия катионных полимеров зависит от структурных особенностей действующей полимерной молекулы и строения клеточной стенки микроорганизмов [3]. Специфическим свойством поликатионов является кооперативное взаимодействие с биополимерами бактерий с последующим образованием межполимерных комплексов или адсорбция на химически комплементарных участках бактериальной клетки.

Для решения многих проблем в области химической терапии большое внимание уделяется получению полимерных производных гуанидина. Очевидно, что это связано с возможностями разработки новых макромолекулярных систем, обладающих ценными физико-химическими и антимикробными свойствами [4,5]. Поскольку молекула гуанидина содержит в структуре реакционно-способные аминогруппы, то трансформация его из низкомолекулярного в полимерное состояние может быть осуществлена различными путями. Наличие гуанидиновых фрагментов в повторяющихся звеньях полимера придает всей макромолекуле свойства поликатионов и обеспечивает выраженное противомикробное действие [6-8]. Согласно литературным данным [9], последовательность летального действия полимерных производных гуанидина на бактериальные клетки может быть представлена следующим образом: адсорбция положительно заряженной макромолекулы на поверхности бактериальной клетки; диффузия через клеточную стенку; связывание с цитоплазматической мембраной; разрушение или дестабилизация цитоплазматической мембраны; выделение из клетки компонентов цитоплазмы.

Среди широкого спектра полимерных антимикробных средств полиалкиленгуанидин считается одним из наиболее эффективных соединений, который активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [10,11]. В зависимости от соотношения исходных реагентов и условий проведения реакции поликонденсации, удается получать полиалкиленгуанидины с различными молекулярно-массовыми характеристиками, формой макромолекулы (линейная, разветвленная или сшитая) и физико-химическими свойствами. Изначально полиалкиленгуанидины были синтезированы сразу в нескольких конденсационных процессах: взаимодействием α,ω -диаминов с основанием гуанидина, галоидцианом или N,N-алкилендицианамидами. Недостатками этих реакций считалось использование высокотоксичного галоидциана и неоднородность полученного полимера (в цепи полимера присутствовала мочевиная группа, образующаяся при термической деструкции гуанидина). Позднее П.А. Гембицким был разработан простой способ получения полиалкиленгуанидина в виде соли [12] путем поликонденсации гексаметилендиамина с гидрохлоридом гуанидина. Полиалкиленгуанидины сшитой структуры получают реакцией поликонденсации гуанидингидрохлорида и гексаметилендиамина в две стадии, которые во времени накладываются друг на друга [13]. На первой стадии получают макромолекулы линейного строения с концевыми аминогруппами, причем с повышением температуры длина этих молекул возрастает. На второй стадии линейные макромолекулы полиалкиленгуанидина взаимодействуют с аминогруппой гуанидина с последующим образованием сшитого продукта. Разветвленные полиалкиленгуанидины также получают реакцией конденсации гуанидингидрохлорида и гексаметилендиамина при молярном

соотношении 1,0:1,0-1,2, при 180-230°C, в течение 3-12 часов. Сополимеры, получаемые этим способом, представляют собой гидрохлориды полиалкиленгуанидина разветвленной структуры со средним количеством разветвлений 0.16-1.08 на молекулу [14]. Перспективность использования полиалкиленгуанидина в качестве антимикробных препаратов и антисептиков обусловлена тем, что они имеют пролонгированное действие, хорошо растворяются в воде, не токсичны и не обладают кумулятивными свойствами [15]. Кроме того, полиалкиленгуанидины эффективны в отношении некоторых вирусов и грибов.

В работе [16] синтезированы сополимеры с использованием в качестве бифункциональных мономеров 1,2-этилендиамина, 1,6-гексаметилендиамина, 1,8-октаметилендиамина и трифункционального гуанидин гидрохлорида. Образование сополимеров происходило по реакции трансаминирования. При изменении количества 1,2-этилендиамина и 1,8-октаметилендиамина в реакционной смеси удавалось получить образцы с различной вязкостью и степенью растворимости. С увеличением количества 1,8-октаметилендиамина в реакционной смеси, возрастала вязкость образцов и наблюдалась потеря растворимости, в результате повышения их гидрофобности. Микробиологические исследования показали, что с ростом гидрофобности макромолекулы увеличивается антибактериальная активность синтезированных сополимеров. Имеются сведения о ранозаживляющем гидрогеле на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и формальдегида [17]. На модели линейной кожной раны доказано, что гидрогель способствует ускоренному созреванию грануляционной ткани и более раннему формированию рубца.

Получены комплексы на основе разветвленного гидрохлорида олигогексаметиленгуанидина и пара-аминосалициловой кислоты [18], обладающие антимикробным действием в отношении *Mycobacterium smegmatis*. При этом, минимальная подавляющая концентрация всех комплексов находится в пределах от 0,1 до 1 мкг/мл культуральной жидкости. Алкилированием олигогуанидина октилбромидом, этилхлорацетатом, октилхлорацетатом, додецилхлоридом, октилбромидом и бензилхлоридом увеличена гидрофобность катионного олигомера [19]. Изучена зависимость противотуберкулезной активности полученных производных гуанидина от характера заместителя и степени алкилирования. Показано, что более гидрофобные алкильные производные разветвленного олигогуанидина активнее против микобактерий, чем незамещенный олигогуанидин гидрохлорид. Среди алкильных производных олигогуанидина бензильные производные со степенью замещения 0,2 проявляли высокую активность в отношении микобактерий, при дальнейшем увеличении степени замещения активность постепенно снижалась. Вероятно, возрастание активности до определенного значения степени замещения связано с оптимальной гидрофобностью и структурой бензильного производного катионного олигомера.

Фосфонат полигексаметиленгуанидина, полученный последовательной обработкой гидрохлорида катионного сополимера этилатом натрия и раствором 1-гидроксиэтилен-бис-фосфоновой кислоты, обладал одновременно антисептическим и антидотным свойствами [20]. Антидотные свойства фосфоната полигексаметиленгуанидина обусловлены способностью полимера связывать и выводить металлы из организма теплокровных животных.

В работе [21] антимикробные интерполимерные комплексы были получены простым смешиванием водных растворов натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и полиалкиленгуанидина. Также, известны биоцидные комплексы на основе полигексаметиленгуанидина и полиакриловой кислоты, использованные в дальнейшем для придания антимикробных свойств волокнистым материалам [22]. Взаимодействием полифосфорной кислоты [23] и бактериальной целлюлозы [24] с полигексаметиленгуанидином, получены интерполимерные системы с высоким биоцидным действием. Привитый сополимер, синтезированный на основе олигогуанидина и хитозана, также обладал высоким антимикробным действием и был применен в качестве биосовместимого материала.

Олигомерные гуанидины линейного и макроциклического строения синтезированы путем реакции поликонденсации солей гуанидина с 2,2-этилендиокси-бис-этиламином. Наилучшими биоцидными свойствами обладали олигомерные образцы с молекулярной массой 1000 Да. Увеличение длины олигомерной цепи привело к падению уровня биологической активности [25].

Полисахариды, благодаря сочетанию уникальных физико-химических свойств, практически полной безвредности и высокой доступности, остаются наиболее перспективной группой макромолекулярных веществ, широко используемых для создания физиологически активных полимеров прививочного типа. Кроме того, полисахаридам характерны многообразные химические превращения основной цепи и склонность к образованию комплексных соединений [26,27], что облегчает процесс модификации биологически активных веществ. К примеру, среди полимерных носителей низкомолекулярных биологически активных соединений практическое применение нашли окисленные производные полисахаридов, содержащие в макромолекуле реакционно-способные альдегидные группы. Синтезируемые по реакции Малапрада диальдегиды полисахаридов чаще всего применяют для модификации химических агентов, имеющих в структуре первичную $-NH_2$ группу. В результате конденсации альдегидных групп окисленных полисахаридов с аминами образуются основания Шиффа, в которых действующее вещество оказывается привязанным к полимерной матрице, через легкогидролизуемые азометиновые связи [28-31]. Пользуясь высокой реакционной способностью альдегидных групп окисленных полисахаридов, были получены производные биополимеров, содержащие в макромолекулярной цепи гуанидиновые группы [32]. Варьируя степень окисления полиальдегидпектина, синтезированы соединения, отличающиеся степенью замещения, содержанием гуанидина, молекулярной массой и значением рКа. Установлено, что выраженность антибактериальной и противогрибковой активностей исследованных образцов зависит от степени замещения и природы противоиона. С увеличением количественного содержания гуанидиновых групп в макромолекулярной цепи полисахарида, возрастает противомикробное действие. Обнаружено, что замена низкомолекулярных Cl^- , NO_3^- , F^- , I^- противоионов на карбоксилат-анионы приводит к резкому уменьшению антимикробных свойств.

Осуществлено гуанидирование аминных группировок хитозана с помощью карбодиимида [33]. Бактериостатическая активность гуанидированного хитозана на штамме *Pseudomonas aeruginosa* наблюдалась при концентрации 0,075%, а бактерицидная - при 0,15%. Также отмечена повышенная противотуберкулезная активность производного

хитозана по сравнению со стрептомицином и немодифицированным полисахаридом. Путем гидролиза поливинилформамида с последующей модификацией полученного поливиниламина цианамидом, синтезирован поливинилгуанидин, обладающий высоким антимикробным действием [34].

Другой исследовательской группой предложено использовать диоксид тиомочевины в процессах химической модификации хитозана [35]. Взаимодействие диоксида тиомочевины с хитозаном в присутствии щелочи дает возможность получить гуанидированный хитозан, степень гуанидирования составляет 0,25-0,27. Модификация хитозана осуществляется в мягких условиях. Показано, что, в отличие от хитозана, его гуанидированное производное обладает бактерицидными свойствами в близких к нейтральным средам (рН 6,2) как по отношению к грамотрицательным, так и грамположительным бактериям. Это объясняется частичной заменой аминогрупп гуанидиновыми, находящимися в нейтральной среде преимущественно в протонированной форме.

Таким образом, соединения на основе полимерных производных гуанидина могут рассматриваться как перспективные антимикробные агенты. Варьируя условия синтеза можно целенаправленно изменять физико-химические свойства и спектр антимикробного действия гуанидинсодержащих биополимеров. Следует отметить, что рациональное конструирование макромолекулярных систем, несущих в цепи гуанидиновые группировки, является многообещающей и перспективной областью науки и медицинской практики.

Работа выполнена при финансовой поддержке Агентства Инновационного развития Республики Узбекистан (проект № MRB-2021-539) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № M21УЗБГ-021).

REFERENCES

1. Andersson D. I., Hughes D. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations // FEMS Microbiology Reviews. 2011. V.35(5). P.901-911.
2. Roberts M.C. Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. Periodontology 2000. 2002. V.28(1). P.280-297.
3. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры - СПб: Гиппократ. 1993. 264 с.
4. Qian L., Guan Y., He B., Xiao H. Modified guanidine polymers: Synthesis and antimicrobial mechanism revealed by AFM // Polymer. 2008. V.49(10). P.2471-2475.
5. Bromberg L., Hatton T.A. Poly(N-vinylguanidine): Characterization, and Catalytic and Bactericidal Properties // Polymer. 2007. V.48(26). P.7490-7498.
6. Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Garkusheva N.M., Lebedeva S.N., Ochirov O.S., Mogonov D.M., ... Batoev V.B. Studies of new biocidal polyguanidines: antibacterial action and toxicity // Polymer Bulletin. 2021. V.78. P.1997-2008.
7. He N., Li H., Li L., Cheng C., Lu X., Wen J., Wang X. Polyguanidine-modified adsorbent to enhance marine applicability for uranium recovery from seawater // Journal of Hazardous Materials. 2021. V.416. 126192.
8. Collares F.M., Garcia I.M., Bohns F.R., Motta A., Melo M.A., Leitune V.C.B. Guanidine hydrochloride polymer additive to undertake ultraconservative resin infiltrant against *Streptococcus mutans* // European Polymer Journal. 2020. V.133. 109746.

9. Gilbert P., Moore L.E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet (A Review) // J. of App. Microbiology. 2005. V.99. P.703-715.
10. Исупова З.Ю. Водорастворимые металлокомплексы акрилатных полигуанидинов и композитов на их основе / дис. на хим. наук. Нальчик. 2018. 136 с.
11. Walczak M., Richert A., Burkowska-But A. The effect of polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMG) derivatives introduced into polylactide (PLA) on the activity of bacterial enzymes // J. Ind Microbiol Biotechnol. 2014. V.41(11). P.1719-1724.
12. Гембицкий П.А., Воинцева И.И. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин / Запорожье: Полиграф. 1998. 42-43 с.
13. Стельмах С.А., Базарон Л.У., Могнонов Д.М. О механизме поликонденсации гексаметилендиамина и гуанидин гидрохлорида // ЖПХ. 2010. Т.83. Вып.2. С.244-246.
14. Шаталов Д.О. Разработка и стандартизация методов контроля качества, разветвленного олигогексаметиленгуанидин гидрохлорида / дис. канд. фарм. наук. -Москва. 2015. 137 с.
15. Воинцева И.И., П.А.Гембицкий Полигуанидины - дезинфекционные средства и полифункциональные добавки / - М.: ЛКМ-пресс. 2009. 304 с.
16. Стельмах С.А., Григорьева М.Н., Очиров О.С. Новые сополимеры полиалкилгуанидинового ряда и их антимикробная активность научное издание // Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. Улан-Удэ. 2015. Ч.2. С.131-132.
17. Очиров О.С., Разуваева Я.Г., Бадмаев Н.С., Стельмах С.А., Могнонов Д.М. Ранозаживляющий гидрогель на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и формальдегида // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2016. №26. Вып.36. С.137-142.
18. Кедик С.А., Шаталов Д.О., Исайкина П.М., Аскретков А.Д. Получение и активность комплекса олигогексаметиленгуанина с производными пара-аминосалициловой кислоты // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т.51. №9. С.24-27.
19. Кедик С.А., Шаталов Д.О., Аскретков А.Д., Исайкина П.М., Седишев И.П., Панов А.В., Евсеева А.С. Химическая модификация олигогексаметиленгуанидина - получение алкильных производных и испытание их активности в отношении *Mycobacterium smegmatis* // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т.51. №8. С.34-38.
20. Пат. RU 2147299С1. Гидроксиэтиленбифосфонат полигексаметиленгуанидина, обладающий антисептическими и антидотными свойствами / Лопырев В.А., Антоник Л.М., Баркова В.К., Кухарев Б.Ф. 1998.
21. Взаимодействие метацида с натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы в водной среде // Вестник КазНУ. Сер. хим. 2004. №1. С.102-105.
22. Пат. RU 2264337. Антимикробный полимерный материал / Гембицкий П.А., Ефимов К.М., Снежко А.Г., Дитюк А.И. 2005.
23. Тарасевич В.А. Органо-минеральные биоцидные комплексы на основе полигексаметиленгуанидина // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2014. Т.58. №2. С.59-62.
24. Kukharenko O., Bardeau J.F, Zaets I., Ovcharenko L., Tarasyuk O., Porhyn S., Mischenko I., Vovk A., Rogalsky S., Kozyrovska N. Promising low cost antimicrobial composite

- material based on bacterial cellulose and polyhexamethylene guanidine hydrochloride // European Polymer Journal. 2014. V.60. P.247-254.
25. Feiertag P., Albert M., Ecker-Eckhofen E., Hayn G. Structural Characterization of Biocidal Oligoguanidines // Macromolecular Rapid Communications. 2003. V.24. P.567-570.
26. Cumpstey I. Chemical Modification of Polysaccharides // ISRN Organic Chemistry. 2013. P.1-27.
27. Luo Y., Wang Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery // International Journal of Biological Macromolecules. 2014. V.64. P.353-367.
28. Zhang L., Wang R., Liu R., Du X., Meng R., Liu L., Yao J. Rapid capture and visual detection of copper ions in aqueous solutions and biofluids using a novel cellulose-Schiff base // Cellulose. 2018. V.25. P.6947-6961.
29. Шомуротов Ш.А., Ахмедов О.Р., Тураев А.С., Мамадуллаев Г.Х. Противотуберкулезная активность и фарма-кокинетика полимерных конъюгатов изониазида и этамбутола // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т.55. №6. С.67-71.
30. Сюткин В.Н., Николаев А.Г., Сажин С.А., Попов В.М., Заморянский А.А. Азотсодержащие производные диальдегидцеллюлозы. 2. Синтез производных диальдегидцеллюлозы с азотистыми гетероциклами // Химия растительного сырья. 2000. №1. С.5-25.
31. Иозеп А.А. Разработка путей модификации природных полисахаридов с целью создания новых биологически активных веществ: автореф. дис. ... докт. фарм. наук. СПб., 1999. 48 с.
32. Ахмедов О.Р., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С., Сидоренко А.В. Зависимость антимикробных эффектов гуанидинсодержащих производных пектина от некоторых структурных характеристик // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022. Т.11. №2. С.38-45.
33. Пат. РФ. 2269542. Модифицированный хитозан / Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Мартыненко С.В. 2006.
34. Bromberg L., Hatton T.A. Poly(N-vinylguanidine): Characterization, and catalytic and bactericidal properties // Polymer. 2007. V.48(26). P.7490-7498.
35. Найдено Е.В., Макаров С.В., Покровская Е.А., Никулин А.М. Модификация хитозана диоксидом тиомочевин // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2021. Т.64. Вып.1. С.73-78.