

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ СУКЦИНАТАХИТОЗАНА

В. Л. Лапенко¹, А. И. Сливкин¹, А. С. Беленова¹, Д. А. Сливкин², С. Н. Суслина²

¹Воронежский государственный университет

²Российский университет дружбы народов

Поступила в редакцию 16.01.2013 г.

Аннотация. Предложен способ синтеза комплекса N-сукцинатахитозана, полученного известным методом с диоксидином, и получения композиции этого комплекса с хлоргексидином. Полученное фармакологическое средство демонстрирует высокую антибактериальную активность по сравнению с применяемыми в лечебной практике антимикробными средствами типа хлордикс.

Ключевые слова: хитозан, сукцинатхитозана, диоксидин, хлоргексидин, ранозаживление.

Abstract. It is offered by way of synthesis of the complex N-succinate chitosan, received by a known method with dioksidiny, and receiving composition of this complex with the hlorgeksidiny. The received pharmacological means shows high bacterial activity in comparison with antimicrobic means applied in medical practice like hlordiks.

Keywords: chitosan, succinate chitosan, dioksidiny, hlorgeksidiny, wound repair.

ВВЕДЕНИЕ

Возможность использования хитозана и его аналогов в фармации в большинстве случаев связано с показателем их гидрофильности. Особое практическое значение имеют полимерные соединения такого типа, хорошо растворимые в воде и в физиологических растворах. При этом, в ряде проведенных вариантов синтеза биологически-активных соединений таким свойством должны обладать производные хитозана не зависимо от их степени полимеризации. Одно из технологических направлений по созданию подобных структур предусматривает введение в состав макроцепей хитозана заместителей, несущих ионогенные группировки, благодаря которым матрица приобретает дополнительный отрицательный заряд. Один из распространенных методов является модификация хитозанов путем введения в их структуру карбоксилсодержащих компонентов с разной степенью ионизации.

Эта возможность осуществляется, например, при организации процесса с образованием N – O – карбоксилклатов хитозана, оксалатов, глутаминатов, а так же производных двухосновной янтарной кислоты. Известен способ получения водорастворимых аналогов аминокликан в виде натриевых солей сукцинатахитозана. Все стадии синтеза этого аналога проводятся в среде органического растворителя, что является существен-

ным недостатком методики. Затруднение вызывает заключительная стадия процесса глубокой очистки полученных аналогов от примесей летучих органических соединений.

Более прогрессивным является способ включающий использование органических растворителей на всех стадиях процесса синтеза натриевых солей сукцинатахитозана, в котором на протяжении всего процесса синтеза используется водная среда. Это достигается путем проведения предварительной активации исходного аминокликан с применением метода механо-физической обработки с эффектом повышения степени диспергирования частиц полимера.

Нарушение кристаллоидной структуры полимера, снижение степени кристалличности, при этом, имеет своим следствием возрастание реакционной способности функциональных групп в составе звеньев хитозана за счет более открытого доступа реагентов аминокликанам. Для гидратации синтезированных материалов используются методы распылительной или сублимационной сушки. Конечный продукт – пористый или мелкодисперсный порошок, хорошо растворимый в воде.

Экспериментально показана возможность использования натриевых солей сукцинатахитозана обладающих противовоспалительным и регенерирующим действием для применения при создании биологически активных добавок (БАД), косметических средств и изделий медицинского назначения [1-5].

В этой связи целью данной работы является получение композиции, обладающей расширенным диапазоном антисептического действия и высокой ранозаживляющей активностью.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Сукцинат хитозана получали следующим образом: 2.8 г (0.017 моль) хитозана 29 дл/г (мм=600-650 цДА, СДА>0.9) с гранулометрическим составом, соответствующем содержанию частиц с диаметром 0.5 мм 70% и раствор 418 г (0.04 моль) янтарной кислоты (ХЧ) в 100 мл дистиллированной воды поместили в плоскодонную колбу емкостью 200 мл, снабженную обратным холодильником. Соотношения реагентов 1:2.4 моль. Образовавшуюся суспензию термостатировали при 65-70 °С и перемешивали на магнитной мешалке.

В течение 120 минут гранулы полимера набухают и переходят в гелеобразное состояние.

Полученная смесь, выдержанная при температуре окружающей среды в течение 120 часов представляет собой однородный прозрачный раствор, окрашенный в желтый цвет. Процесс комплексообразования полученного сукцината хитозана с диоксидином и получения композиции с хлоргексидином проводили путем взаимодействия раствора сукцината хитозана и стандартной лекарственной формы препарата хлордекса – водного раствора, содержащего 1% (масс.) диоксида и 0.05% (масс.) хлоргексидина. В подготовленный раствор (100 мл) сукцината хитозана, содержащий избыток янтарной кислоты, вводили 100 мл раствора хлордекса. Количество введенного в реакционную систему диоксида 0.004 моль, количество введенного хлоргексидина 0.00009 моль. Соотношение полимерной матрицы и лекарственных компонентов соответственно 4.25:1.188, 9:1.

Реакционную смесь термостатировали (70°С) при механическом перемешивании в течение 160 минут и выдерживали в статическом состоянии в течение 24 часов. Получен слегка опалесцирующий раствор, окрашенный в слабо-желтый цвет. Показатели вязкости 19,5 – 20 дл/г.

Для проведения аналитических исследований, в том числе ИК-спектрального анализа, синтезированную композицию комплекса сукцината хитозана с диоксидином и хлоргексидином выделяли из раствора путем удаления летучих компонентов в условиях термостатирования при t 55°С в открытой системе. Раствор распределяли слоем толщиной 3.5-5.0 мл по стеклянной поверхности кри-

сталлизатора и сушили на воздухе до постоянной массы остатка. Продукт выделен в виде хрупкой полупрозрачной пленки.

Визуально отмечены образования макромолекулярных ассоциатов, полученной композиции.

Для проведения биологических испытаний были использованы водные растворы композиции комплекса сукцината хитозана с диоксидином и хлоргексидином.

Регулирование концентраций этих растворов в условиях биологических тестов производилось путем расчетного разбавления стартового раствора дистиллированной водой.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Синтез комплекса N-сукцината хитозана, полученного известным методом с диоксидином, и получения композиции этого комплекса с хлоргексидином, осуществляли взаимодействием сукцината хитозана, представляющего собой N-сукциноилцикламидаминогликана и хлордекса (водный раствор, содержащий 0.5% диоксида и 0.025% хлоргексидина). Для полимерной матрицы сукциноилимида хитозана характерно наличие практически в каждом звене использованного аналога хитозана (при C₂), структурного элемента (пятичленного цикла), несущего две карбонильные группировки. Фиксирование диоксида в процессе иммобилизации на полимерную матрицу происходит путем образования координационных связей между первичными гидроксильными группами диоксида и карбонильными функционалами в составе сукциноилимида хитозана.

Структура полученного комплекса диоксида с полимерной матрицей подтверждена данными ИК-спектрального анализа. В составе спектров обнаружена полоса 1311 см⁻¹, свидетельствующая о наличии незамещенных структурных элементов диоксида (N→O), а также максимум, соответствующий плоскостным колебаниям ароматического цикла диоксида 1508 см⁻¹, 1596 см⁻¹, отмечены плоскостные колебания скелета C=C ароматического типа, 779 см⁻¹ – внеплоскостные колебания СН для ароматической структуры, 3074 см⁻¹ валентные колебания =C-H в ароматическом цикле 970 см⁻¹, колебания характерны для 1,2-замещенных ароматических циклов. Приведенные данные свидетельствуют об образовании комплекса матрицы сукциноилимида хитозана с диоксидином через координационные связи между карбонильными группами ана-

логов полимера и первичными гидроксильными группами диоксида.

Иммобилизация присутствующего в составе хлордиксахлоргексидина происходит за счет образования солевых связей между структурными элементами полимерной матрицы (циклоимидными группировками анионоактивного характера) и катионоактивными элементами структуры хлоргексидина.

Наличие в составе композиции иммобилизованного хлоргексидина характеризуется частотными максимумами, наблюдаемыми для ароматических соединений, а также полосой 630-640 см⁻¹, проявляющейся за счет наличия хлор-углеродных связей в составе хлоргексидина.

В целях выявления антибактериальной активности заявленной композиции наиболее часто встречающиеся в хирургической практике микроорганизмы, такие как *Enterobacter SPP*, *Citobacter SPP*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, были высеваны питательные среды общепринятыми методами [6].

Поведено несколько серий опытов, в которых использован контрольный посев, без добавления к питательным средам антисептических средств и опытные посева с добавлением композиции Хлордикса и заявляемой композиции отражают антисептические свойства заявляемой компози-

ции при различных концентрациях диоксида и хлоргексидина.

В таблицах рост и отсутствие роста штаммов микроорганизмов обозначены знаками «+» и «-» соответственно.

В таблице 1 приведены данные о бактерицидной активности Хлордикса. Рост наблюдается по одному виду при концентрации 1.0% и двум видам микроорганизмов при концентрациях 0.5% раствор диоксида + 0.025% раствор хлоргексидина и по четырем видам микроорганизмов при концентрациях 0,25% раствор диоксида + 0,0125% раствор хлоргексидина.

Данные таблицы 2 (Композиция + хитозан) демонстрируют более высокую бактерицидную активность заявляемой композиции по сравнению с Хлордиксом. Рост наблюдается по одному виду микроорганизмов при концентрациях 0,5% раствор диоксида + 0,025% раствор хлоргексидина и по трем видам микроорганизмов при концентрациях 0,25% раствор диоксида + 0,0125% раствор хлоргексидина.

В обоих опытах практически полное отсутствие роста штаммов микроорганизмов наблюдается при концентрациях 1% диоксида и 0,5% раствор хлоргексидина.

Таким образом, полученное фармакологическое средство демонстрирует более высокую

Таблица 1

Штаммы микроорганизмов	Концентрация ингредиентов		
	1% диоксида + 0.05% раствор хлоргексидина	0.5% диоксида + 0.025% раствор хлоргексидина	0.25% диоксида + 0.0125% раствор хлоргексидина
<i>Enterobacter SPP</i>	-	-	+
<i>Citobacter SPP</i>	-	-	+
<i>Klebsiella</i>	-	-	-
<i>E.coli</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+

Таблица 2

Штаммы микроорганизмов	Концентрация ингредиентов + хитозан		
	1% диоксида + 0.05% раствор хлоргексидина	0.5% диоксида + 0.025% раствор хлоргексидина	0.25% диоксида + 0.0125% раствор хлоргексидина
<i>Enterobacter SPP</i>	-	-	+
<i>Citobacter SPP</i>	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	-	-
<i>E.coli</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+

антибактериальную активность по сравнению с применяемыми в лечебной практике антимикробными средствами типа Хлордикс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. Г.Б. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова // М.: Наука, 2002.— 368с.

2. Hanson J.C. Structure of a copper-isoniazid complex / J.C. Hanson, N. Camerman, A. Camerman // J Med Chem. — 1981. — V. 24, № 11. — P.1369-71.

3. Комаров Б.А. Способ получения водорастворимых форм хитозана / Б.А. Комаров, А.И. Албулов / Патент РФ 2215749 от 10.11.2003.

4. Хитозан и дезоксирахмал в качестве полимерных матриц для иммобилизации биологически активных компонентов / В.А. Кузнецов [и др.] // Вестник МИТХТ. — 2009. — №3. — С. 42-47.

5. Наночастицы и наносистемы на основе хитозана с синтетическими полимерами // С.Ш. Рашидова [и др.] // Тезисы докладов Седьмой международной конференции Российского хитинового общества. Санкт-Петербург - Репино, 15-18.03.2003. — С. 57-59.

6. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л.Б.Борисов // М.: Мед.информ. агентство, 2005. — 734 с.

Сливкин Алексей Иванович — зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии ВГУ, доктор фармацевтических наук, профессор; e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Slivkin Alexsey Y. — professor, head of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department, Voronezh State University; doctor of pharmaceutical science; e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Лапенко Виктор Лаврентьевич — младший научный сотрудник кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ВГУ, кандидат химических наук

Lapenko Viktor L. — junior researcher of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department, Voronezh State University candidate of chemical science

Беленова Алена Сергеевна — младший научный сотрудник кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ВГУ, кандидат биологических наук

Belenova Alena S. — junior researcher of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department, Voronezh State University candidate of biology science

Сливкин Денис Алексеевич — аспирант Российского университета дружбы народов; e-mail: slivkindenis@hotmail.com

Slivkin Denis A. — postgrad of Russian State University of Friendship ; e-mail: slivkindenis@hotmail.com

Суслина Светлана Николаевна — доцент кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии медицинского факультета Российского университета дружбы народов, доцент, кандидат фармацевтических наук; e-mail: svetlana-suslina@yandex.ru

Suslina Svetlana N. — docent of the medical faculty Russian State University of Friendship, candidate of pharmaceutical science; e-mail: svetlana-suslina@yandex.ru