

УДК 542.952:547.442:542.978

**И. С. Волошановский, О. Ю. Зинченко, О. В. Шевченко,
Е. В. Буренкова**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра органической химии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина.
E-mail: volis15@ukr.net

БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК С β-ДИКЕТОНАТНЫМИ ГРУППАМИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

Синтезированы полистиролы и полиметиметакрилаты, содержащие в макромолекуле фрагменты β-дикетонатов серебра (I), кобальта(II), (III) и меди(II). Изучены их бактерицидные свойства по отношению к грамотрицательным микроорганизмам *P. aeruginosa* и *E. coli*. Показана высокая бактерицидная активность полистирольных пленок, содержащих хелаты серебра.

Ключевые слова: винил-β-дикетонаты, полимерные металлокомплексы, бактерицидные полимерные покрытия.

В последние годы наблюдается значительный интерес к исследованиям и целенаправленному синтезу антимикробных добавок. Разработана система их классификации. Антимикробными свойствами обладают разнообразные органические соединения, неорганические и органические производные металлов. В качестве металлосодержащих компонентов антимикробных соединений часто применяли токсичные металлы мышьяк, ртуть, свинец и др. В настоящее время появляется тенденция к использованию минимально токсичных соединений, таких, как серебро- и цинксодержащие. Это особенно важно в случае их применения для медицинских и бытовых целей, а также в изделиях, контактирующих с продуктами питания.

Существуют два направления в разработке антимикробных компонентов — бактерицидные и фунгицидные добавки. В связи с тем, что в настоящее время производство и применение синтетических полимерных соединений превышает другие природные и искусственные материалы, появилось отдельное направление в этих исследованиях. Разрабатываются способы придания полимерам антимикробных свойств. С этой целью используется два подхода. Наиболее простым является создание антимикробных добавок. Поэтому большая часть публикуемых работ посвящена этому вопросу. Более сложным является модификация полимерных материалов, когда в структуру макромолекулы вводятся антимикробные органические группы или фрагменты, содержащие металлы. К антимикробным добавкам предъявляется ряд требований. Это низкая токсичность и высокая активность, отсутствие негативного влияния на свойства полимеров, легкость переработки и совместимость с полимерами. Одной из важных про-

блем применения антимикробных добавок является обеспечение однородного распределения добавки в полимере. Кроме того, эти добавки, имея большую или меньшую токсичность, представляют опасность. Поэтому модификация полимеров, которая обеспечивает им антимикробные свойства, является наиболее востребованным направлением исследований, но публикаций в этом направлении крайне мало.

Противомикробная активность координационных соединений меди и никеля описана в работе [1]. Исследован синтез и противомикробная активность координационных соединений меди, цинка, кобальта, никеля на штаммы стафилококка, сибирской язвы, кишечной палочки. Показано, что наибольшую активность проявляют соединения меди [2].

Исследована грибостойкость полимерных материалов, содержащих металлы. При иницировании полимеризации металлоорганическими соединениями (МОС) в сочетании с другими компонентами, металлодержательные группы входят в полимер в виде концевых групп и частично механически захватываются полимерными молекулами. Так, при полимеризации ММА, иницированной МОС ртути и олова, получены полимеры, стойкие к воздействию плесени [3]. Применение МОС в качестве компонентов иницирующих систем при полимеризации ММА описано в работах [4,5]. Получены свинец-, ртуть- и оловосодержащие полимеры, стойкие к грибковой инфекции. Биостойкость этих полимеров сохраняется после трехкратного переосаждения, что свидетельствует о вхождении металлов в состав полимерной молекулы. В работах [6,7] исследовано влияние порфириносоединений и их металлокомплексов с цинком и никелем на грамположительные и грамотрицательные бактерии. При исследовании влияния порфиринов на *S. aureus* и *E. coli* было установлено, что грамположительные *S. aureus* более чувствительны к действию порфиринов в темновых условиях и на свету [6]. Это соответствует известному факту, что в большинстве случаев грамотрицательные бактерии более устойчивы к действию антимикробных соединений, чем грамположительные, так как обладают дополнительной мембраной, которая создает барьер для проникновения через нее молекул порфиринов [8]. При действии порфиринов на *P. aeruginosa* было установлено, что максимальный антимикробный эффект в темновых условиях проявляет цинковый комплекс порфина. При фотоиндуцированном действии порфиринов цинковый комплекс не оказывал никакого влияния [7]. Было установлено, что наиболее выраженный антимикробный эффект проявляют порфирины, которые обладают избытком электронной плотности.

Целью настоящего исследования является синтез полистиролов и полиметилметакрилатов, содержащих β -дикетонаты серебра(I), кобальта(II), (III) и меди(II). Эти металлокомплексы входят в структуру макромолекулы. Изучена бактерицидная активность полученных полимерных покрытий по отношению к грамотрицательным микроорганизмам.

Материалы и методы исследования

Образцы полимеров с β -дикетонатными фрагментами получали двумя методами. Первый метод предусматривает синтез продуктов полимеризацией стирола или метилметакрилата, иницированной 5-метил-5-гексен-2,4-дионатами металлов (МГД-Ме). При этом наличие двойной связи в МГД-Ме приводит к его сополимеризации с основным мономером, что обеспечивает вхождение хелата в полимерную молекулу [9]. Второй метод состоит из двух стадий. На первой стадии получают сополимер винилового мономера с МГД мономером в соотношении 30:1. Далее сополимерный лиганд в реакции комплексообразования с солью соответствующего металла образует конечный продукт [10]. Содержание металлов определяли методом атомно-адсорбционной спектроскопии на приборе «Сатурн». Полимерные пленки получали на поверхности стандартных предметных стекол. Для этого полимеры растворяли в толуоле (~3 %) и наносили на поверхность стекла. Затем образцы сушили под инфракрасной лампой. Перед исследованием образцы прогревались в сушильном шкафу при 100 °С для удаления неконтролируемой микрофлоры. Полученные пленки в основном прочные и достаточно хорошо держатся на поверхности стеклянной пластины.

Определение бактерицидных свойств полимерных покрытий проводилось следующим образом. Исследуемые образцы наносили на поверхность стандартных полимерных стекол, складывали в чашки Петри и стерелизовали в сушильном шкафу. Как тест-объекты использовали суспензии клеток бактерий *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, полученных из музея культур микроорганизмов Института эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л. В. Громашевского АМН Украины. Сохранение тест-штампов осуществляли на поверхности скошенного мясопептонного агара (МПА) при температуре 4 °С. Для исследования использовали суточные культуры, выращенные в пробирках на скошенном МПА при 37 °С. Культуры тест-микроорганизмов, выращенных на МПА в пробирках, смывали стерильным физиологическим раствором. Концентрацию полученной суспензии определяли с помощью калибровочной кривой, измеряли оптическую плотность с помощью спектрофотометра «Spekol-10» (Германия). Суспензию клеток разбавляли физиологическим раствором до концентрации $5 \cdot 10^3$ клеток/мл и наносили на стерильные пластины с исследуемыми образцами в чашках Петри. Пластины выдерживали 30 минут, после чего заливали стерильным МПА. Чашки с образцами инкубировали в термостате при 37 °С в течение 24 часов. После чего подсчитывали количество колоний в контрольных и исследуемых образцах (КОЕ).

Результаты эксперимента и их обсуждение

По представленным выше методикам было получено 10 образцов полимеров. Полученные результаты представлены в табл. 1. Два образца I и IX — это полимеры, полученные при иницировании бензоилпероксидом, использовались в качестве образцов сравнения.

Таблица 1

Условия получения образцов полимеров, содержание в них металла и обозначение

Обозначение образца	Мономер	Инициатор	$C_{ин} \cdot 10^3$, моль/л	w_{Me} , мас. %	Особые условия
I	стирол	ПБ	5,0	–	
II	стирол	МГД-Со	5,0	0,19	
III	стирол	–	–	0,92	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Со(II)
IV	стирол	–	–	0,53	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Со(III)
V	стирол	–	–	1,90	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Cu(II)
VI	стирол	–	–	1,57	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Ag(I)
VII	стирол	–	–	0,02	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Ag(I) и к нему привит полистирол
VIII	стирол	–	–	0,05	Образец получен комплексообразованием ПС, содержащего лигандные группы, с солью Ag(I) и к нему привит ПММА
IX	ММА	ПБ	5,0	–	
X	ММА	МГД-Со	10,0	0,23	Образец получен полимеризацией ММА в растворе МЭК
XI	–	–	–	–	Контроль. Поверхность стеклянной пластины

Образец XI представлял собой чистую стеклянную пластину и служил контролем. Образцы II и X получены методом сополимеризации, остальные — методом комплексообразования. Во всех синтезированных образцах определено содержание металлов.

В табл.2 приведены результаты исследований для двух типов грамотрицательных микроорганизмов *P. aeruginosa* и *E. coli*. Известно, что *P. aeruginosa* имеет хорошую адгезию к различным поверхностям. Поэтому уменьшение адгезивных свойств этого микроорганизма уменьшает их активность. С этой целью для *P. aeruginosa* оценены адгезивные свойства поверхностей. Для этого на поверхность пленки наносят микроорганизмы и через 0,5 ч их смывают физиологическим раствором. Оставшиеся на поверхности пленки колонии считают.

Таблица 2

**Бактерицидные свойства полимерных пленок по отношению
к грамотрицательным микроорганизмам *P. aeruginosa* и *E. coli***

Образец	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Escherichia coli</i>	
	Кол-во колониеобразующих единиц (КОЕ)	Диаметр колоний, мм	Адгезивные свойства КОЕ	Кол-во колониеобразующих единиц (КОЕ)	Диаметр колоний, мм
I	24±3	3 и менее	38±6	58±6	1–2
II	21±6	5	50±3	400±25	до 1
III	251±36	2 и менее	180±16	66±5	1
IV	168±24	2–5	100±12	388±42	1–5
V	104±18	3 и менее	94±11	100±11	1–3
VI	0	0	0	32±4	1–3
VII	–	–	–	109±9	1–2
VIII	–	–	–	66±7	2
IX	112±16	1–2	131±11	24±3	2–7
X	103±7	3–5	142±9	86±10	до 1
XI	175±19	3–5	208±14	440±61	1–3

Как следует из табл. 2, полимерные пленки стирола (образец I) и ММА (образец IX) обладают бактерицидными свойствами по сравнению с контролем (образец XI). Но в случае *P. aeruginosa* большую бактерицидную активность показала пленка ПС, а для *E. coli* — пленка ПММА. Для *P. aeruginosa* введение в пленку ПС ионов кобальта приводит к росту КОЕ, причем, чем больше концентрация кобальта в полимере, тем больше КОЕ. В случае пленки из ПММА введение кобальта практически не влияет на бактерицидные свойства. В случае пленки ПС, содержащей 1,57 мас.% серебра, на ней полностью отсутствуют колонии *P. aeruginosa*, т.е. она обладает абсолютной бактерицидностью по отношению к этому микроорганизму. Адгезионные свойства *P. aeruginosa* к исследованным пленкам симпатны с бактерицидными свойствами этих пленок.

Для *E. coli* введение в пленки ПС ионов кобальта приводит к неоднозначным результатам. Образцы II и IV с содержанием кобальта 0,19 и 0,53 мас.% дают увеличение количества КОЕ, т. е. способствуют росту микроорганизма, как это было и для *P. aeruginosa*. Но для образца III, содержащего 0,92 мас.% кобальта, количество КОЕ резко падает. Возможно, это связано с нелинейными зависимостями бактерицидной активности, либо с тем, что кобальт в этом образце двухвалентен. Этот факт говорит о том, что бактерицидная активность полимерных пленок имеет сложную зависимость. Это может быть использовано для создания структур с контролируемой

бактерицидной активностью. Введение в пленку ПС ионов серебра обеспечивает их определенную бактерицидную активность, которая снижается с уменьшением концентрации серебра. Но пленка ПММА, не содержащая атомы металла, обладает большей бактерицидной активностью. Введение в нее ионов кобальта приводит к уменьшению бактерицидной активности. Следует подчеркнуть, что создание очень эффективных бактерицидов для *E. coli* является сложной задачей. Так, в работе [11] исследована бактерицидная активность олово- и цинксодержащих сополимеров с 5 микроорганизмами. Наиболее устойчивыми к действию этих бактерицидов является *E. coli*. Авторы утверждают также, что для исследованных сополимеров бактерицидная активность всегда меньше, чем фунгицидная. Это позволяет предположить, что предложенные нами бактерицидные полимерные пленки будут обладать и фунгицидной активностью.

Литература

1. Координационные соединения меди [2+] и никеля [2+] с β -семикарбазонами изатина и 5-бромизатина и их противомикробная активность / Н. М. Самусь, Э. И. Шляхов, Т. А. Бурденко [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. — 1985. — Т. 9, № 6. — С. 705–709.
2. Синтез и противомикробная активность координационных соединений 3d-элементов с основаниями Шиффа, полученными из салицилового альдегида, анилина и его *n*-замещенных / И. Н. Самусь, Фам Нгок Фунг, В. И. Цапков [и др.] // Координационные и полимерные соединения. Синтез и свойства. — Кишинев: Штиинца, 1991. — 160 с.
3. Получение биостойких виниловых полимеров / С. Ф. Жильцова, В. А. Соколова, Л. М. Мазанова [и др.] // Пласт. массы. — 1976. — № 6. — С. 18–19.
4. Иницирующая способность систем на основе органических соединений ртути, олова, свинца и хлорида кремния / Г. А. Разуваев, С. Ф. Жильцов, Ю. Д. Семчиков [и др.] // Высокомолекул. соед. — 1983. — Т. 25Б, № 2. — С. 122–125.
5. Иницирование радикальной полимеризации виниловых мономеров системами, содержащими органические соединения металлов II–IV групп / Ю. Д. Семчиков, Л. М. Мазанова, Г. В. Воскобойник [и др.] // Физико-химия процессов синтеза и свойства полимеров. — Горький: Изд-во Горьк. ун-та, 1988. — 119 с.
6. Зінченко О. Ю. Вплив порфіринів на ріст грамположитивних і грамнегативних бактерій / О. Ю. Зінченко // Вісник Одеського нац. університету. Біологія. — 2003. — Т. 8, № 2. — С. 157–160.
7. Темнова та фотоіндукована дія синтетичних порфіринів на клітини *Pseudomonas aeruginosa* / Т. О. Філіпова, О. Ю. Зінченко, Б. М. Галкін [и др.] // Одеський медичний журнал. — 2004. — Т. 81, № 1. — С. 29–32.
8. Шлегель Г. Общая микробиология / Шлегель Г. — М.: Мир, 1987. — 566 с.
9. Новые макроинициаторы с β -дикетонатными фрагментами в привитой полимеризации метилметакрилата / Шевченко О. В., Буренкова Е. В., Волошановский И. С. // Высокомолекул. соед. — 2006. — Т. 48А, № 9. — С. 1573–1578.
10. Синтез макрохелатов с β -дикетонатными фрагментами / Шевченко О. В., Буренкова Е. В., Волошановский И. С. // Вісник Одеськ. ун-ту. Хімія. — 2006. — Т. 14, №. 4. — С. 119–126.
11. Биологически активные олово- и цинксодержащие сополимеры широкого спектра действия / Черноорукова З. Г., Новоспасская Н. Ю., Смирнов В. Ф. [и др.] // Вестник ННГУ. Сер. Химия. — Н. Новгород, 2001. — С. 14–18.

**І. С. Волошановський, О. Ю. Зінченко, О. В. Шевченко,
К. В. Буренкова**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра органічної хімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна
E-mail: volis15@ukr.net

БАКТЕРИЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОЛІМЕРНИХ ПЛІВОК З β -ДИКЕТОНАТНИМИ ГРУПАМИ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ГРАМНЕГАТИВНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Резюме

Синтезовані полістироли та поліметилметакрилати, які містять у макромолекулі фрагменти β -дикетонатів срібла, кобальту та купрум. Вивчені їх бактерицидні властивості по відношенню до грамнегативних мікроорганізмів *P.aeruginosa* и *E. coli*. Показано високу бактерицидну активність полістирольних плівок, які містять хелати срібла.

Ключові слова: вініл- β -дикетонати, металокомплекси, бактерицидні полімерні покриття.

**I. S. Voloshanovsky, O. U. Zinchenko, O. V. Shevchenko,
K. V. Burenkova**

Odessa I. I. Mechnikov National University,
Organic Chemistry Department,
Dvorianskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BACTERICIDAL PROPERTIES OF POLYMER FILMS WITH β -DIKETONATE GROUPS AGAINST GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS.

Summary

Polystyrenes and polymethylmethacrylates containing fragments of silver, cobalt and copper β -diketonates in macromolecule are synthesized. Their bactericidal properties against gram-negative microorganisms *P.aeruginosa* and *E.coli* are studied. High bactericidal activity of polystyrene films, containing silver chelates is indicated.

Key words: vinyl- β -diketonates, metal complex, bactericidal polymer coating.