

ХИМИЯ ИЛИМДЕРИ
ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ
CHEMICAL SCIENCES

Матаипова А.К., Джуманазарова А.З., Маметова А.С., Сариева Ж.К.

**ТӨМӨНКҮ КОНЦЕНТРАЦИЯДАГЫ ГЛИЦИРАМ ЖАНА ЦИСТИНКҮМҮШ
СУЮКТУКТАРЫНЫН НЕГИЗИНДЕГИ СУПРАМОЛЕКУЛАЛЫК ГИДРОГЕЛДИН
ТҮЗҮЛҮҮ МЕХАНИЗМИ ЖАНА МИКРОБИОЛОГИЯЛЫК АКТИВДҮҮЛҮГҮ**

Матаипова А.К., Джуманазарова А.З., Маметова А.С., Сариева Ж.К.

**МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОГО ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ
НИЗКОКОНЦЕНТРИРОВАННОГО ГЛИЦИРАМА И
ЦИСТИНСЕРЕБРЯНОГО РАСТВОРА**

A.K. Mataipova, A.Z. Dzhumanazarova, A.S. Mametova, J.K. Sarieva

**FORMATION OF MECHANISM AND MICROBIOLOGICAL ACTIVITY
OF SUPRAMOLECULAR HYDROGEL BASED ON A LOW-CONCENTRATED
GLYCYRAM AND CYSTINE SILVER SOLUTION**

УДК: 547 (575.2)

Төмөнкү концентрациядагы глицирам жана цистин кумүш эритмесинин негизинде тиксотроптук касиетке ээ болгон супрамолекулалык гидрогель алынган. Супрамолекулалык гидрогелдин түзүлүү механизми, структуралык жана бекемдик касиеттери изомолярдык катарлар методу менен антибаттык катнашта изилденген. Гидрогелдин бекемдик жана илээшкектик касиеттери беш баллдык шкала боюнча бааланды. Сунушталган беш баллдык шкаланын жардамы менен гидрогелдердин бекемдик жана илээшкектик касиеттерин баалоого жана компоненттердин опималдуу концентрациясын аныктоого мүмкүндүк болду. Алынган гидрогелдин түзүлүш өзгөчөлүктөрү, атап айтканда бекемдиги жана илээшкектиги, супрамолекулалык системанын компоненттеринин концентрациясы жана температура туруктуу болгондо, белгилүү изомолярдык катнаштарга көз каранды экендиги белгиленди. Супрамолекулалык системанын жана гидрогелдин изомолярдык үлгүлөрүнүн кенири таралган патогендүү микрофлораларга тийгизген таасиринде бактерияларга каршы касиетине салыштырмалуу анализ жүргүзүлгөн. Алынган супрамолекулалык гидрогель, глицирамдын эритмесине караганда, бактерияларга каршы жогорку активдүүлүккө ээ экендиги көрсөтүлдү. Глицирам менен цистинкүмүш эритмесинин супрамолекулалык гидрогелинин бактерияларга каршы аракетин медицинада келечектүү экендиги жана жаны микробдорго каршы препараттарды түзүүгө мүмкүндүк берет тургандыгы белгиленди.

Негизги сөздөр: супрамолекулалык гидрогель, глицирам, цистинкүмүш эритмеси, изомолярдык катар, бактерияларга каршы активдүүлүгү.

Получен супрамолекулярный гидрогель на основе низкоконцентрированного глицирама и цистинсеребряного раствора, обладающий тиксотропными свойствами. Исследован механизм формирования, структурные и прочностные свойства гидрогеля методом изомолярной серий в антибатных соотношениях. Прочностные и вязкостные свойства гидрогеля оценены по пятибалльной шкале. С помощью предложенной пятибалльной шкалы удалось оценить прочностные и вязкостные свойства гидрогеля и определить наиболее оптимальные концентрации компонентов. Установлено, что структурные особенности, в частности прочность и вязкость полученного гидрогеля, зависят от определенных изомолярных соотношений при постоянной концентрации компонентов супрамолекулярной системы и температуры. Проведен сравнительный анализ антибактериальных свойств изомолярных образцов супрамолекулярного гидрогеля при воздействии на широко распространенную патогенную микрофлору. Установлено, что супрамолекулярный гидрогель обладает более высокой антибактериальной активностью, чем раствор глицирама. Установлено, что антибактериальное действие супрамолекулярного гидрогеля глицирама и цистинсеребряного раствора является перспективным в медицине и дает возможность создания новых антимикробных препаратов.

Ключевые слова: супрамолекулярный гидрогель, глицирам, цистинсеребряный раствор, изомолярная серия, антибактериальная активность.

It has been obtained a supramolecular hydrogel based on the low-concentrated glycyram and 26ysteine silver solution possessing with thixotropic properties. The formation of mechanism, structural and strength properties of a supramolecular hydrogel are investigated by the method of isomolar series in antibate ratios. The strength and viscous properties of the hydrogel are rated on a five-point scale. With the assistance of the five-point, it was possible to evaluate the strength and viscous properties of the hydrogel and to determine the most optimal system of the component concentration. It is established that structural features, in particular, strength and viscosity of the obtained hydrogel depend on certain isomolar ratios at a constant concentration of the supramolecular system and temperature. It is carried out comparative analysis of antibacterial properties of isomolar samples of supramolecular system and hydrogel under the influence of widespread pathogenic microflora. The obtained supramolecular hydrogel has a higher antibacterial activity than the glycyram solution. It has been established that the antibacterial effect of the supramolecular hydrogel of glycyram and 26ysteine silver solution is promising in medicine and makes it possible to create new antimicrobial preparations.

Key words: supramolecular hydrogel, glycyram, 26 ysteine silver solution, isomolar series, antibacterial activity.

Актуальность. Получение новых супрамолекулярных систем (СМС) и супрамолекулярного гидрогеля (СМГ) и изучение их структурных особенностей, механизмов формирования и биологических активностей остается актуальным для прикладной фундаментальной химической и медицинской науки. Это связано с получением и широким применением гелеобразных систем в научно-технических процессах и практической медицине, так, как они способны к структурированию при низких концентрациях дисперсной фазы (<0,01%) в водном растворе, тиксотропному поведению и включает биологически активные вещества [1].

Многими авторами подробно изучен механизм синтеза и биологическая активность супрамолекулярного комплекса глицирама (моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты) с различными биологически активными соединениями, в том числе лекарственными препаратами, с целью снижения терапевтических доз, улучшения растворимости, повышения биодоступности и расширения спектра биологической активности [2,3].

В последнее время интенсивно изучается новая супрамолекулярная система, синтезированная на основе L-цистеина и нитрата серебра (цистеинсеребряный раствор, ЦСР) и формирование гидрогелей на его основе с применением инициаторов – электролитов гелеобразования. Авторами было установлено, что

ЦСР и его гидрогели обладают тиксотропными свойствами и являются, во-первых, удобной модельной системой для изучения процессов самоорганизации и гелеобразования, во-вторых, могут служить матрицей для создания новых биологически активных веществ и медицинских препаратов [4].

Экспериментальная часть. Для исследования использовали образец глицирама, полученный в лаборатории Института химии и фитотехнологий НАН КР, четырежды перекристаллизованный в 85% горячем этиловом спирте. Для исследования готовили водные растворы глицирама с концентрациями 10^{-3} М и 10^{-4} М. Раствор ЦТСП (цистинсеребряный раствор) 1,25 (L-цистин $3,02 \cdot 10^{-3}$ М и AgNO_3 $3,85 \cdot 10^{-3}$ М) с оптимальным мольным соотношением готовили в соответствии с методами, описанными в работах [1,5,6].

Изомолярную серию образцов для получения СМГ из СМС готовили следующим образом: первая серия глицирам 10^{-3} М и ЦТСП 1,25 и вторая – глицирам 10^{-4} М и ЦТСП 1,25 в антибатных соотношениях (от 1:9 до 9:1) при неизменном общем объеме и постоянной концентрации компонентов системы. Смеси перемешивали и выдерживали при комнатной температуре 24 часа и далее наблюдали за формированием и состоянием супрамолекулярного гидрогеля.

Основным параметром, характеризующим взаимоотношения между микробом и антимикробным препаратом, является величина минимальной подавляющей концентрации (МПК) препарата. МПК определяют, как минимальную концентрацию, подавляющую видимый рост микроба. Антибактериальную активность данного СМГ для определения МПК проводили по методике, описанной в приказе №139 [7]. Исследования проводили на базе бактериологической лаборатории Ошского городского центра госсанэпиднадзора. Разбавленные образцы от 1:10 до 1:100 готовили из устойчивого гидрогеля изомолярной серии. Антибактериальная активность разбавленных образцов глицирама 10^{-3} М и ЦТСП 1,25 и гидрогелей на их основе определялась методом диско-диффузии в агар на газоне тест-культур. Заранее готовили диски из фильтровальной бумаги, равным размеру стандартного диска и стерилизовали при 180°C . Затем пропитывали диски исследуемыми образцами, помещали на засеянную тестовой культурой микроорганизмов, поверхность, оптимальной питательной средой и культивировали при 37°C в течение суток. После инкубации оценивали наличие или отсутствие видимого роста в мм, диаметра.

Результаты и обсуждения. Известно, что структурными свойствами гидрогеля являются вязкость и прочность, что зависит от формирования пространственной сетки, образованной частицами дисперсной фазы, за счет слабых межмолекулярных связей и сил

(водородные, Ван-дер-Ваальсовы, диполь-дипольные и др.) [1]. Оценка прочности гидрогеля по пяти-балльной шкале [8], позволила нам легко определить степень структурированности супрамолекулярной системы и выбрать оптимальные объемные соотношения глицирама и ЦТСП для получения наиболее прочных и устойчивых гидрогелей.

Из результатов исследований структурированности гидрогеля глицирама 10^{-3}M с ЦТСП 1,25 нами было отмечено (рис.1), что соотношения 4:6, 5:5, 6:4 и 7:3 оказались оптимальными для образования достаточно устойчивых гидрогелей, отвечающих полностью 5-и баллам по шкале.

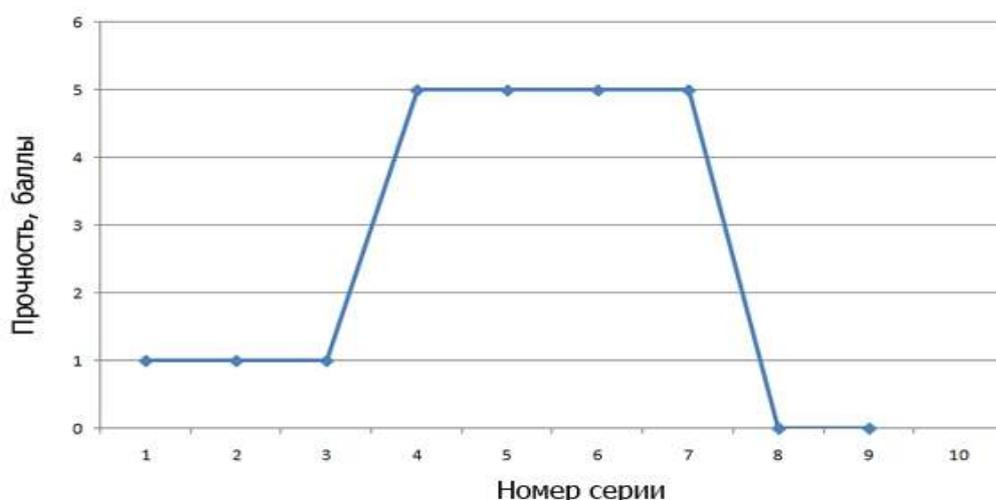


Рис. 1. Зависимость прочности гидрогеля от объемных отношений глицирама и ЦТСП.

Полученные в указанных соотношениях гидрогели оказались устойчивыми, не деформируются, не стекают при переворачивании и долго сохраняют форму при комнатной температуре. Другие соотношения 1:9, 2:8 и 3:7, образуют очень слабый, легко стекающий гель, но обладают тиксотропными свойствами и способны к восстановлению. Соотношения 8:2, 9:1 и глицирам с концентрацией 10^{-4}M с ЦТСП 1,25 не дали положительные результаты, то есть гидрогель не образовался. Нами отмечено, что синтезированный гидрогель обладает тиксотропными свойствами - при энергичном встряхивании пробирки разрушается, а при переводе в состояние покоя он образовался вновь. Такую процедуру повторяли в течение 2-3 недель.

Ранее авторами [1,4,6] получен СМГ на основе L-цистеина и нитрата серебра, обладающий тиксотропными свойствами при добавлении низкоконтрированных инициаторов-электролитов (несколько раз ниже суммарного содержания ЦСР), в частности, растворов некоторых солей, содержащие, двухзарядные (SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , MO_2^{2-}) ионы. В результате структурных исследований геля с помощью УФ- и ИК-спектроскопии, ротационной вискозиметрии, дина-

мического светорассеяния и просвечивающей электронной микроскопии, авторами установлено, что система имеет тенденцию к самоорганизации, вплоть до образования нитевидных структур и пространственной сетки.

В данной работе получен СМГ на основе низкоконтрированного раствора глицирама 10^{-3}M и ЦТСП 1,25 без участия инициаторов-электролитов гелеобразования.

Формирование прочного гидрогеля в исследуемой системе при определенных объемных соотношениях, вероятно образование супрамолекулярного соединения за счет слабых межмолекулярных взаимодействий между глицирамом и ЦТСП. Возможно, имеет место взаимодействие между анионными (COO^-) группами глицирама с катионом Ag^+ в молекуле ЦТСП.

Далее изучены антибактериальные свойства полученного гидрогеля и его разбавленных образцов на широко распространенной патогенной микрофлоре. По данным литературы [1,4] известно, что гидрогели ЦСР проявляет антимикробную активность даже при разбавлении в 10 и 20 раз.

Исследование микробиологических свойств глицирама 10^{-3} М и 10^{-4} М и их разбавленных образцов показали следующие результаты (табл. 1). Бактерии рода *Bacillus* ser., *Bacillus* sub. И *Pseudomonas aeru*. Показали среднюю чувствительность, а *Candida albicans* имеет чувствительность к глицираму 10^{-3} М, а к 10^{-4}

М резистентны. К разбавленным образцам резистентны все тест-культуры. По результатам исследований видно, что разбавленные образцы изначально имеют низкую концентрацию компонентов системы и поэтому концентрации недостаточны для подавления роста патогенных микробов.

Таблица 1

Микробиологическая активность глицирама 10^{-3} М и 10^{-4} М по отношению к тест-культурам патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	Глицирам 10^{-3} М / 10^{-4} М	Разведения глицирама и зоны подавления роста тест-культур в мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	5/8	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Bacillus subtilis</i>	7/7	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Escherichia coli</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Salmonella abony</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6/6	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Candida albicans</i>	8/-	-/-	-/-	-/-	-/-

Примечание: В числителе: чувствительность к глицираму 10^{-3} М; а в знаменателе – чувствительность к глицираму 10^{-4} М. Цифры показывают зоны подавления роста микроорганизмов в мм, минус – их отсутствие.

Результаты наших исследований антимикробной активности полученного гидрогеля и разбавленных образцов на его основе показали (табл. 2), что гидрогель проявляет высокую чувствительность к бактериям рода *Pseudomonas aeru*. До разведения 1:20, более низкую в разведении 1:50 и 1:100. Для *Staphylococcus aur*. И *Escherichia coli* высокая чувствительность обна-

ружена при разведении 1:10 и низкая при – 1:20. Бактерии рода *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis* к СМГ и разбавленным образцам имели более слабую чувствительность до разведения 1:10 и низкую при разведении 1:20. Бактерии рода *Salmonella ab*. Имеют слабую чувствительность к гидрогелю и резистентны к разбавленным образцам. А *Candida albicans* резистентны ко всем исследуемым образцам.

Таблица 2

Микробиологическая активность супрамолекулярного гидрогеля глицирама 10^{-3} М с ЦТСР по отношению к тест-культурам патогенных микроорганизмов.

Тест-культуры	Гидрогель (глицирам 10^{-3} М и ЦТСР 1,25)	Разведения гидрогеля и зоны подавления роста тест-культур, в мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	7	7	3	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	6	7	3	-	-
<i>Escherichia coli</i>	17	18	6	-	-
<i>Salmonella abony</i>	8	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	15	14	10	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	12	6	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-

Примечание: Цифры показывают зоны подавления роста микроорганизмов в мм, минус – их отсутствие.

Результаты исследований позволяет предположить, что формируемый гидрогель глицирама с ЦТСР имеет супрамолекулярную сетчатую структуру [1,4], которая, действительно затрудняет или полностью блокирует транспорт питательных веществ и ферментов к бактериям, в результате чего прекращается их

жизнедеятельность. Следует отметить, что данная супрамолекулярная система глицирама с ЦТСР имеет способность подавлять рост патогенных бактерий даже при разбавлении в 10 и 20 раз, за исключением *Pseudomonas aeru*., которая показала чувствительность до разведения 1:100.

Заключение. Структурные особенности полученного супрамолекулярного гидрогеля, в частности прочность и вязкость зависят от определенных изомерных соотношений при постоянной концентрации компонентов системы и температуры. Супрамолекулярный гидрогель, формируемый из глицирама и ЦТСР обладает антибактериальными свойствами и может быть применен для разработки новых antimicrobial препаратов.

Литература:

1. Пахомов П.М., Овчинников М.М., Хижняк С.Д., Рошина О.А., Комаров П.В. Супрамолекулярный гидрогель медицинского назначения на основе L-цистеина и ионов серебра. // Журн. Высокомолекулярные соединения, Серия А, 2011, том 53, №9. - С. 1574-1581.
2. Толстикова Т.Г., Толстикова А.Г., Толстикова Г.А. На пути к малодозным лекарствам. // Вестник Российской академии наук, 2007, том 77, №10. - С. 867-874.
3. Джуманазарова А.З. Разработка и испытание низкодозных высокоэффективных препаратов на основе клатратных комплексов глицирризиновой кислоты. 6-ой Международный семинар «Специальные полимеры для охраны окружающей среды, нефтяной отрасли, био-, нанотехнологии и медицины». - Семей, 2015.
4. Спиридонова В. М., Савельева В. С., Овчинников М. М. Гидрогель на основе L-цистеина и нитрата серебра как основа для создания новых лекарственных препаратов. // Журн. Ползуновский вестник, 2009, №3. - С. 324-327.
5. Овчинников М.М., Пахомов П. М. Хижняк С.Д. Способ получения супрамолекулярного геля. Патент. 2317305. - Россия, 2008.
6. Баранова О.А. Физико-химические аспекты самоорганизации супрамолекулярной системы на основе водного раствора L-цистеина и нитрата серебра. 02.00.04. – физическая химия. Автореф. дисс. - Тверь, 2013. - С. 22.
7. Приказ Минздрава Кыргызской Республики «Об утверждении методических рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к antimicrobial препаратам» от 25.02.2016, №139.
8. Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Комаров П.В. Супрамолекулярные гели. - Тверь: ТвГУ. 2011. 272.