

УДК 541.64:547.458

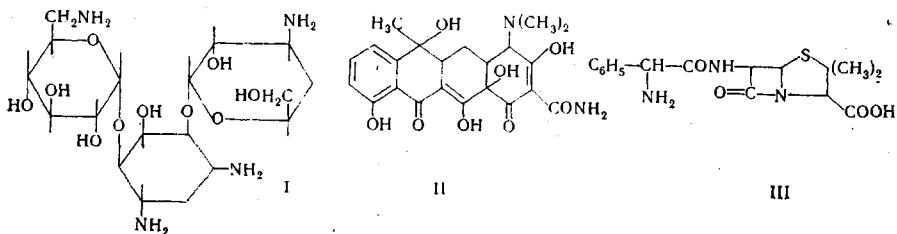
**СИНТЕЗ ВОДОРАСТВОРIMЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДЕКСТРАНА,
СОДЕРЖАЩИХ ХИМИЧЕСКИ ПРИСОЕДИНЕННЫЕ АНТИБИОТИКИ**

*В. А. Снежко, В. П. Комар, К. П. Хомяков,
А. Д. Вирник, Р. Г. Жбанков, Г. Я. Розенберг,
З. А. Роговин*

Разработаны методы синтеза водорастворимых производных декстрина, содержащих антибиотики канамицин, ампициллин и тетрациклин, присоединенные к макромолекулам полимеров различными типами химической связи. Методом ИК-спектроскопии подтверждено химическое строение полученных соединений.

Химическое присоединение лекарственных веществ к полимерам является одним из методов изменения фармакологических и физико-химических свойств лекарственных соединений. Таким образом, может быть достигнуто увеличение продолжительности их действия, стабильности при хранении, растворимости, уменьшения токсичности. Для этой цели используются синтетические полимеры — плазмозаменители: поливинилпирролидон, поливиниловый спирт и их сополимеры [1—5], а также декстран и его производные [6—10].

Цель данной работы — разработка методов химического присоединения антибиотиков — канамицина (I), тетрациклина (II) и ампициллина (III) — к производным декстриана разными типами химической связи. Выбор указанных антибиотиков обусловлен их широким антибактериальным спектром действия, а также необходимостью устранения некоторых свойственных им недостатков.



Результаты и их обсуждение

Присоединение I и III к диальдегиддекстриану (АД) [11] осуществляется при взаимодействии аминогрупп этих антибиотиков с альдегидными группами полимера. Влияние условий проведения реакций на состав образующихся продуктов показано в таблице.

При увеличении основности среды содержание I и III в продуктах реакции возрастает (таблица), что, вероятно, связано с увеличением количества непротонированных аминогрупп антибиотиков, способных реагировать с альдегидными группами полимера, а также с тем, что гидролиз азотометиновых соединений, которые, по-видимому, образуются в результате реакции, протекает в кислой среде с большей скоростью, чем в щелочной.

**Влияние условий проведения реакций на состав продуктов взаимодействия
ДА с I и III**

Препаратор, №	Степень окисления АД *	Условия реакции (при 20°)			Содержание антибиотика в синтезированном продукте		Растворимость в воде **
		соотношение I(III) : АД, моль/ моль окисленное звено	pH	продолжительность реакции, часы	%	моль/ моль окисленное звено	
Канамицин							
1	10	8	4,5	24	8,6	0,27	+
2	10	8	7,0	24	10,4	0,33	+
3	10	2	9,5	24	17,2	0,6	+
4	10	8	9,5	24	30,0	1,2	+
5	10	16	9,5	48	30,0	1,2	+
6	20	4	9,5	24	47,2	1,45	-
7	33	4	9,5	24	55,8	1,25	-
Амициллин							
8	10	4	3,2	24	8,3	0,4	+
9	10	4	4,6	24	10,8	0,55	+
10	10	4	6,7	24	11,6	0,6	+
11	10	4	8,2	24	18,8	1,0	+
12	10	4	8,2	72	18,8	1,0	+
13	10	4	9,5	24	18,8	1,0	+
14	10	8	8,2	24	18,8	1,0	+
15	10	16	8,2	24	18,8	1,0	+
16	33	8	6,7	24	39,8	0,9	+
17	33	8	8,2	24	45,1	1,0	+

* Степень окисления (СО) — количество окисленных звеньев из каждого 100 звеньев полимера.

** + — растворим, — — нерастворим.

Вопрос о строении полученных на основе АД полимерных соединений, содержащих антибиотики, сложен, так как в продуктах реакции может одновременно образовываться несколько различных структур. Однако некоторые выводы можно сделать на основании следующих сравнительных наблюдений.

1. Предельные количества молекул присоединенных антибиотиков, приходящиеся на одно окисленное звено исходного АД, различаются (1 молекула III и 1,45 молекулы I).

2. Соединения альдегидов и алифатических аминов в зависимости от их строения и типа образовавшейся между ними химической связи проявляют различную устойчивость к гидролизу в кислой или щелочной среде [12], а также к действию ароматических альдегидов (например, бензальдегида), способных вытеснить алифатические из соединений типа шиффовых оснований [13]. Нами установлено, что продукты присоединения III к АД более устойчивы к действию соляной кислоты и бензальдегида, чем продукты присоединения I. В результате обработок соляной кислотой и бензальдегидом содержание III в соединениях с АД (СО=10) уменьшается на 17–25%, а I — на 50–65%.

3. При присоединении I к АД его антибактериальная активность *in vitro* изменяется незначительно, в то время как присоединение III сопровождается понижением активности антибиотика в два — четыре раза при проведении синтеза при pH 6,7 и в 10–15 раз, если синтез проводили при pH 8,25 [14].

4. В ИК-спектре соединения I с АД (рис. 1, кривая 4) полосу при 1660 см^{-1} можно отнести к валентным колебаниям групп C=N; наличие полосы 1600 см^{-1} (деформационные колебания аминогрупп I). В спектрах продуктов присоединения III к АД, полученных при pH 6,7 и 8,2 (препараторы 16 и 17, таблица и кривые 6 и 7 на рис. 1), обнаруживаются полосы III (1670, 1610,

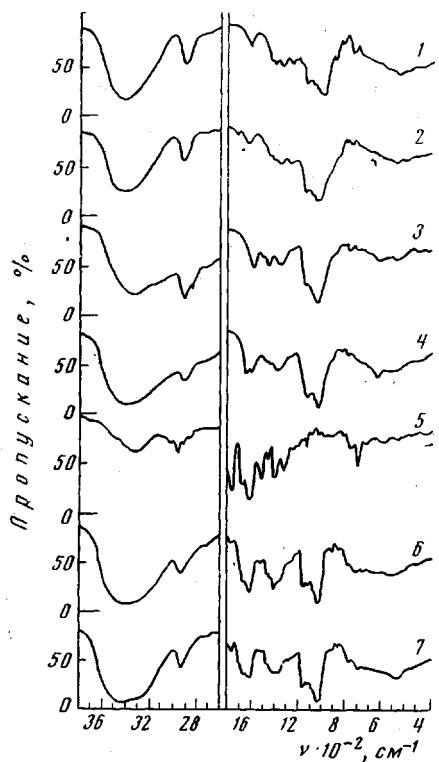


Рис. 1

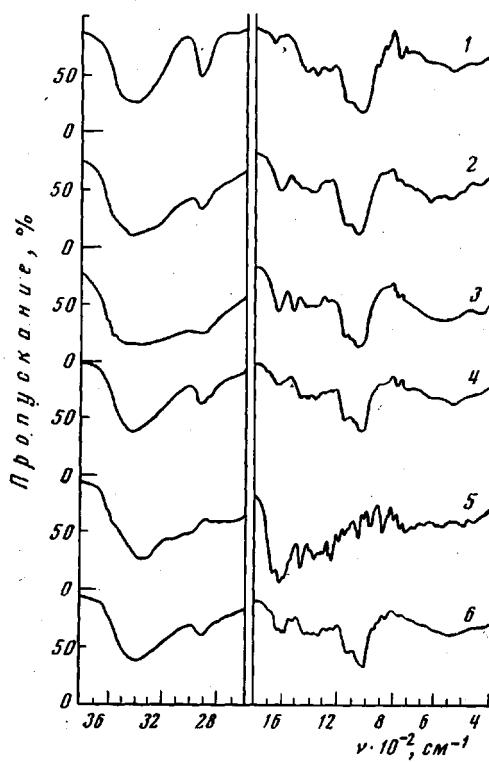


Рис. 2

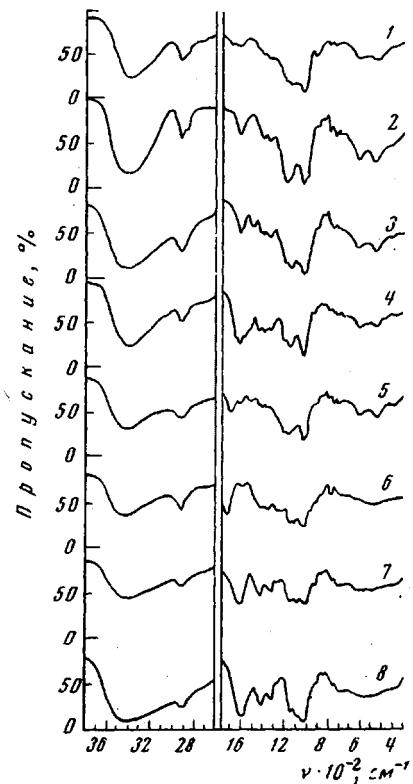


Рис. 3

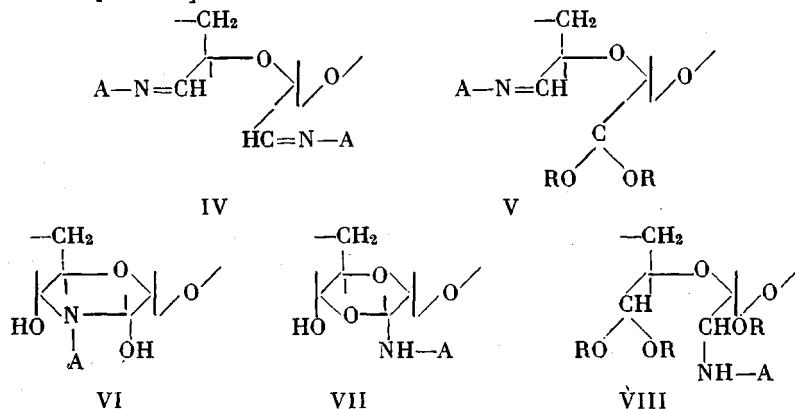
Рис. 1. ИК-спектры декстрана (1), АД со степенью окисления 33 (2), I (основания) (3) и продуктов присоединения I к АД (препарат 6) (4); ампилиллина к АД: препараты 16 (6) и 17 (7), натриевой соли ампилиллина (5)

Рис. 2. ИК-спектры ХД с СЗ=0,52 (1), продуктов присоединения канамицина к ХД (2), канамицина к ХД, обработанного НСl (3), ИД (4), тетрациклингидрохлорида к ИД (6), тетрациклингидрохлорида (5)

Рис. 3. ИК-спектры СД в Н-форме с СЗ=0,4 (1), СД в Na-форме (2) и продуктов присоединения канамицина к СД (3), тетрациклина к СД (4), ампилиллина к СД (5), карбоксиметилового эфира декстрана (КМД) в Н-форме с СЗ=0,6 (6), КМД в Na-форме (7), продукта присоединения канамицина к КМД (8)

1770 и 1400 см^{-1}), и по сравнению со спектром исходного АД (кривая 2) наблюдается изменение поглощения в области 700–1000 см^{-1} . Спектр АД имеет плечо 870 см^{-1} и слабые полосы при 800 и 770 см^{-1} . В спектре препарата 17 наблюдаются, как и в спектре декстрана, три полосы при 770, 870, 920 см^{-1} . Спектр препарата 16 имеет полосы 770 и 920 см^{-1} и размытое поглощение около 870–850 см^{-1} , т. е. набор полос, характерный для пульсационных колебаний пиранозных колец декстрана. Указанные изменения, по-видимому, можно рассматривать как свидетельство того, что при взаимодействии III с АД происходит восстановление циклической формы пиранозного звена, разомкнутого при окислении. В ИК-спектрах продуктов 16 и 17 полоса при 1660 см^{-1} , характерная для связи C=N, выражена значительно слабее, чем в спектре продукта взаимодействия АД с I.

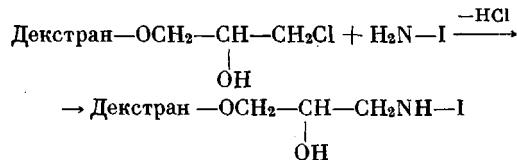
Описанные выше данные позволяют сделать вывод о том, что значительная часть молекул I присоединена к макромолекулам АД сравнительно легко гидролизуемыми связями C=N (структуры IV, V). Химический состав продуктов взаимодействия III с АД, их большая химическая стойкость и значительное понижение активности присоединенного III (по сравнению с аналогичными свойствами соединений АД и I), а также восстановление в ИК-спектрах этих соединений интенсивности полос, характерных для колебаний пиранозных колец, позволяет предположить, что в этом случае образуются в основном структуры другого типа (VI)–(VIII). Доля таких структур в соединении АД с I, по-видимому, ниже, чем в продукте взаимодействия АД с III. Возможность образования одной или одновременно нескольких структур типа IV–VIII при взаимодействии окисленных иодной кислотой углеводов с аминами, гидразинами и гидразидами показана в работах [15–20].



(A – остаток молекулы антибиотика; R – H или ангидроглюкозное звено, принадлежащее той же или соседней макромолекуле.)

При pH 9,5 в водном растворе альдегидные группы АД не превращаются в гидроксильные и карбоксильные по реакции Канницаро, и, следовательно, исключается возможность присоединения I и III к полимеру солевыми связями.

Взаимодействие 3-хлор-2-оксипропилового эфира декстрана (ХД) [21] с I может быть представлено схемой



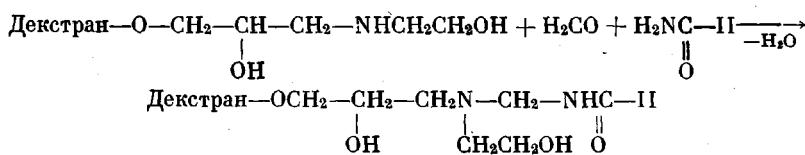
Синтез осуществляли в гомогенной среде при pH 9,5. В реакцию вводили пятикратный избыток I. При обработке препаратов ХД со степенями за-

мещения (С3)* 0,28 (20°, 48 час.) и 0,52 (100°, 2 часа) получали продукты, содержащие 26,8 и 54,0% I соответственно. В этих продуктах на каждую алкильную группу приходится в среднем 0,5 и 0,9 остатков I.

Так как в молекуле I содержится четыре аминогруппы, принципиально возможно взаимодействие одной молекулы I с несколькими хлоргидринными группами эфира декстрана. Однако растворимость продуктов реакции в воде позволяет сделать вывод о том, что количество образующихся поперечных связей незначительно или они совсем отсутствуют. Продукты реакции, синтезируемые при комнатной температуре, теряют растворимость после сушки в вакууме над P_2O_5 . По-видимому, в этих условиях происходит образование межмолекулярных связей в результате взаимодействия непропеагировавших хлоргидринных групп и свободных аминогрупп присоединенного I. Для предотвращения потери растворимости в реакционную среду после завершения реакции перед осаждением полимера необходимо вводить соляную кислоту (4 моля на 1 моль I). Как указывалось выше, при 100° в результате реакции происходит почти полное превращение хлоргидринных групп полимера. В этом случае продукты реакции не теряют растворимости даже после сушки.

В ИК-спектре продукта взаимодействия I и ХД (рис. 2, кривая 2) имеются полосы поглощения I при 540 , 620 и 1600 см^{-1} . После обработки этого соединения соляной кислотой полоса при 1600 см^{-1} (деформационные колебания аминогрупп) исчезает и появляется полоса при 1530 см^{-1} (рис. 2, кривая 3). По-видимому, эта полоса обусловлена деформационными колебаниями групп NH_3^+ .

II присоединяли кovalентной связью к производному декстрапана, содержавшему иминогруппы 3-(N-оксиэтил)-амино-2-оксипропиловому эфиру декстрапана (ИД) [22] по следующей схеме:



ИД с СЗ=0,5, тетрациклингидрохлорид и формальдегид вводили в реакцию в эквимольных количествах. Реакцию проводили в гомогенной среде при 20°. Растворителем служила смесь воды и этанола, взятых в объемном соотношении 2,5 : 3,0. Концентрация II в растворе составляла 4,5 %, а эфира декстрана — 3,2 %. При этих условиях был получен растворимый в воде продукт, содержащий 16,7 % II, в ИК-спектре которого (рис. 2, кривая б) имеются сильные полосы поглощения в области 1700—1550 см^{-1} с максимумами 1640, 1605 и 1575 см^{-1} и слабая полоса при 1520 см^{-1} . Контур и относительная интенсивность полос в области 1700—1550 см^{-1} аналогичны контуру полос в области 1800—1550 см^{-1} и относительной интенсивности максимумов 1680, 1625, 1595 см^{-1} спектра II. Сдвиг частот на 40 и 20 см^{-1} может быть объяснен тем, что в исследуемом полимерном соединении на сложные колебания группы C=O в амидной группе, а также группы C=O, сопряженной с бензольным кольцом, влияют группы, входящие в состав макромолекулы эфира декстрана. Наиболее сильно изменяется полоса при 1680 см^{-1} (сдвиг на 40 см^{-1}), что, вероятно, обусловлено влиянием групп алкильных остатков ИД на связь C=O в амидной группе. Поглощение в области, близкой к 1530 см^{-1} , характерно для монозамещенных амидов; появление новой полосы 1520 см^{-1} в спектре продукта взаимодействия тетрациклина и ИД обусловлено, по-видимому, образованием связи N—C—N, соединяющей молекулы полимера и антибиотика. Таким образом, данные ИК-

* С3 эфира декстрана — количество алкильных групп, приходящееся на одно элементарное звено декстрана.

спектроскопии могут служить подтверждением приведенной выше схемы реакции между II, формальдегидом и ИД.

Молекулы II и III содержат основные и кислотные группы, что позволяет присоединять указанные антибиотики ионными связями к производным декстрана, содержащим кислотные и основные группы: соответственно сульфопропиловому (СД) и 3-(триэтил)-аммоний-2-оксипропиловому (ТЭАД) эфирам декстрана [21, 22].

К водным растворам указанных производных декстрана добавляли эквивалентные количества II (основания) или III, которые в воде практически нерастворимы. Быстрое и полное (или почти полное) растворение антибиотиков свидетельствовало об образовании полимерных солевых соединений. На основе СД ($C_3=0,4$) были получены соединения, содержащие 39,0 % III и 39,8 % II (в реакцию с антибиотиками вступило 100 и 93 % сульфогрупп соответственно). Синтезированные на основе ТЭАД ($C_3=0,25$) полимеры содержали 26,3 % III и 24,0 % II, т. е. в реакцию вступало 96 и 84 % четвертичных аммониевых групп исходного эфира декстрана.

Содержащий аминогруппы I был присоединен ионной связью к СД и карбоксиметиловому эфиру декстрана (КМД), C_3 которых были равны 0,40 и 0,60 соответственно. При увеличении количества вводимого в реакцию I (основания) от 0,25 моля до 1 моля на моль карбоксильных групп КМД содержание I в продукте реакции возрастает с 24,9 до 40,4 %, а при дальнейшем увеличении количества вводимого в реакцию антибиотика оно практически не изменяется. На основании этих данных можно сделать вывод, что не все аминогруппы присоединяющегося I вступают в реакцию с карбоксильными группами КМД (в противном случае количество химически связанного I должно было бы составлять только 15,5 %). При действии I (основания) на СД (в реакцию вводили 1 моль антибиотика на 1 моль сульфогрупп полимера) был получен продукт, содержащий 31,1 % I. В этом продукте на одну сульфогруппу эфира декстрана приходится в среднем 0,86 молекулы I.

При превращении сульфогрупп СД из кислой формы в солевую в ИК-спектре (рис. 3, кривые 1, 2) резко изменяется вид поглощения в области 1100–1300 cm^{-1} . Вместо размытой полосы с небольшими выступами 1210, 1160 и 1120 cm^{-1} , обусловленной в основном валентными колебаниями групп SO_3H , в спектрах всех продуктов взаимодействия СД с антибиотиками (рис. 3, кривые 3–5), как и в спектре натриевой соли эфира, появляется сильная полоса 1210 cm^{-1} с выступом 1160 cm^{-1} . Этот факт доказывает образование ионной связи между сульфогруппами полимера и антибиотиками.

Образование ионной связи между КМД и I подтверждается наличием в спектре этого полимерного соединения (рис. 3, кривая 8) сильной полосы антисимметричных колебаний ионизированной группы COO^- (1590 cm^{-1}). В спектре натриевой соли КМД антисимметричным колебаниям групп COO^- соответствует полоса 1620 cm^{-1} . Смещение этой полосы в спектре солевого соединения КМД и I обусловлено, по-видимому, большим молекулярным весом катиона и его структурой. Карбоксильные группы в Н-форме в этом соединении спектроскопически не обнаруживаются.

Сведения об антибактериальной активности синтезированных полимерных соединений приведены в работе [14].

Экспериментальная часть

В качестве исходного продукта использовали декстран с $M_v=55\,000$, полученный путем кислотного гидролиза из нативного декстрана, образованного штаммом *Leuconostoc mesenteroides*, СФ-4. Диальдегиддекстран, сульфопропиловый, 3-хлор-2-окси-пропиловый, 3-(N-оксиэтил)амино-2-оксипропиловый эфиры декстрана, 3-(триэтил)-аммоний-2-оксипропиловый эфир декстрана синтезировали по методикам, описанным

в работах [11, 21, 22]. В качестве исходных препаратов антибиотиков использовали канамициндисульфат, ампициллинтригидрат, тетрациклингидрохлорид и тетрацилин-основание.

Продукты реакций очищали от невступивших в реакцию антибиотиков переосаждением из воды в органический растворитель (метанол, этанол, ацетон), который не вызывал осаждения неприсоединившегося к полимеру антибиотика. Обычно было достаточно двух-трех переосаждений для того, чтобы содержание антибиотика в очищаемых продуктах переставало изменяться. Перед анализом препараты сушили в вакууме над P_2O_5 до постоянного веса.

Методом бумажной хроматографии было показано, что очищенные указанным выше способом продукты не содержат примесей антибиотиков. Для хроматографирования продуктов, содержащих I и II, использовали систему *n*-бутанол – уксусная кислота – вода в соотношении 4 : 1 : 5, а для III – систему пиридин – этилацетат – уксусная кислота – вода в соотношении 4 : 6 : 1 : 3. Время разделения составляло 20 час. II и его полимерные производные проявляли 2%-ным раствором *n*-диметиламинобензальдегида в 1,2 н. растворе HCl. I, III и их производные проявляли 0,2%-ным раствором инигидрина в этаноле. На стартовую линию хроматограммы наносили антибиотик (A), очищенный продукт присоединения антибиотика к производному дексстрана (B) и этот же продукт, к которому добавлен (как примесь) антибиотик в количестве 10% от его содержания в полимерном соединении (B). Очищенные продукты взаимодействия антибиотиков с производными дексстрана (B) при проявлении хроматограмм не давали пятен, соответствующих чистым антибиотикам (A). В то же время на хроматограммах смесей (B) проявлялись как пятна полимерных соединений, так и пятна антибиотиков, причем R_f пятен антибиотиков в смеси соответствовало этому показателю чистых антибиотиков.

Образцы препаратов для записи ИК-спектров готовили прессованием с КВг. Спектры записывали на спектрофотометре UR-10 при следующих условиях записи: щелевая программа – 4, скорость сканирования – 50 $\text{см}^{-1}/\text{мин}$, время записи полного отклонения пира – 50 сек., масштаб регистрации – 12 $\text{мм}/100 \text{ см}^{-1}$.

Московский текстильный институт

Поступила в редакцию
22 III 1973

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Н. Ушаков, Синтетические полимеры лекарственного назначения, Медгиз, 1962.
2. К. П. Хомяков, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, Успехи химии, 33, 1054, 1964.
3. И. М. Рабинович, ЖВХО им. Д. И. Менделеева, 10, 687, 1965.
4. Е. Ф. Панарин, С. Н. Ушаков, Хим.-Фарм. ж., 2, 28, 1968.
5. Л. Л. Щуковская, А. М. Думова, Р. И. Пальчик, Н. Н. Филиппова, О. Н. Экземпляров, В. А. Кропачев, Антибиотики, 1970, 775.
6. Т. И. Козулицына, А. Д. Вирник, К. П. Хомяков, Вопр. мед. химии, 14, 375, 1968.
7. Г. А. Чернов, А. Н. Шевченко, К. П. Хомяков, А. Д. Вирник, Фармакол. и токсикология, 34, 328, 1974.
8. М. Н. Трушина, К. П. Хомяков, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, В. Д. Роговкин, Вопр. мед. химии, 16, 195, 1970.
9. P. Wolf, W. D. Wiesorek, A. Gabert, F. Kretzschmann, Deutsche Gesundheitswesen, 20, 1160, 1965.
10. О. А. Аксенов, Б. П. Головин, А. А. Смородинцев, Вестник АМН СССР, 25, 51, 1970.
11. К. П. Хомяков, М. А. Пененжик, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, Высокомолек. соед., 7, 1030, 1965.
12. Б. Н. Степаненко, В. А. Игнатюк-Майстренко, Докл. АН СССР, 154, 650, 1964.
13. Б. А. Порай-Кошиц, З. М. Познанская, В. С. Шевченко, Л. А. Павлова, Ж. общ. химии, 17, 1774, 1947.
14. В. А. Снежко, Л. Н. Самойлова, К. П. Хомяков, А. И. Валаханович, Р. В. Зарецкая, А. Д. Вирник, Г. Я. Розенберг, З. А. Роговин, Антибиотики, 1972, 48.
15. J. Mester, J. Amer. Chem. Soc., 77, 5452, 1955.
16. J. McCormick, J. Chem. Soc., C, 1966, 2121.
17. R. D. Guthrie, Adv. in Carbohydr. Chem., 16, 105, 1961.
18. Р. Г. Крылова, С. Н. Рядовская, О. П. Голова, Высокомолек. соед., А9, 993, 1967.
19. Н. Я. Кузнецова-Леншина, Г. А. Тимохина, В. Е. Жаворонков, В. И. Иванов, Изв. АН КиргССР, 1968, № 3, 59.
20. К. П. Хомяков, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, С. Н. Ушаков, Высокомолек. соед., 7, 1035, 1965.
21. К. П. Хомяков, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, Химия природн. соед., 3, 213, 1966.
22. А. Д. Вирник, О. И. Лалетина, М. А. Пененжик, К. П. Хомяков, З. А. Роговин, Г. Я. Розенберг, Высокомолек. соед., А10, 362, 1968.
23. П. Н. Кашкин, А. И. Безбородов, Н. П. Елинов, Антибиотики, «Медицина», 1970, стр. 55.