УДК 547. 543: 547. 26. 122

Н.Л. Заярнюк, М.І. Солод*, С.В. Хом'як, В.Г. Червецова,
О.С. Заіченко*, В.І. Лубенець, В.В. Новіков
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології,
* кафедра органічної хімії

ОДЕРЖАННЯ НОВИХ СОЛЮБІЛІЗАТІВ НА ОСНОВІ АЛКІЛЕСТЕРІВ ТІОСУЛЬФАНІЛОВОЇ КИСЛОТИ

© Заярнюк Н.Л., Солод М.І., Хом'як С.В., Червецова В.Г., Заіченко О.С., Лубенець В.І., Новіков В.В., 2005

Одержано та досліджено нові водорозчинні препарати з використанням функціонально активних полімерів на основі алкілестерів тіосульфанілової кислоти, які мають бактерицидну та фунгіцидну активність.

Water-soluble preparations on the basis of alkyl ester of thiosulfanilic asid solubilized by polymeric surfactant possessing bactericidal and fungicidal activities have been obtained and studied.

Постановка проблеми і її зв'язок з важливими науковими завданнями. Використання фізіологічно активних полімерів (ФАП) із заданими властивостями є перспективним напрямком у створенні нових лікарських субстанцій. Безумовно особливу цікавість викликає створення водорозчинних полімерних препаратів, що містять фізіологічно активні речовини. Водорозчинні препарати мають широкий діапазон застосування, надають можливість транспортування лікарської речовини до органа-мішені, забезпечують за потреби пролонгованість дії та максимальний терапевтичний ефект.

Мета роботи. Одержання водорозчинних препаратів створенням надмолекулярних міцелоподібних структур ФАП, здатних утримувати есулан із збереженням бактерицидної та фунгіцидної активності останнього.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Серед біологічно активних сполук ми обрали S-етиловий та S-метиловий естери n-амінобензолтіосульфокислоти, синтезовані на кафедрі технології біологічно активних сполук, формації та біотехнології. Алкілестери тіосульфанілової кислоти вирізняються високими бактерицидними, фунгіцидними, а також деякими пестицидними властивостями. Антимікробна активність етилтіосульфанілату визначалася різними методами, починаючи від мікробного скринінгу до вивчення побічних впливів на людину у разі застосування препарату "Есулан" для лікування дермофітії стоп. Токсичність препарату низька, LD_{50} = 2000 мг/кг. Метилсульфонілат проявляє бактерицидну та фунгіцидну дію навіть у менших концентраціях, що свідчить про його більшу біологічну активність, але токсичність вивчена недостатньо. Широкому використанню цих біологічно активних сполук, особливо в медичній галузі, перешкоджає складність створення зручних лікарських форм, найнегативнішою рисою вищезазначених алкілестерів тіосульфанілової кислоти є нерозчинність у воді. Перспективним напрямком створення водорозчинних біологічно активних препаратів нового покоління є використання фізіологічно активних полімерів, як носіїв активної сполуки. Це може бути здійснено синтезом кополімеру, у склад якого як мономер входила б діюча речовина, або створенням солюбілізованого препарату. Принципову можливість одержання таких препаратів на основі етилтіосульфанілату (есулану) було показано в попередніх дослідженнях.

Проведення експерименту. Серед ФАП ми обрали полімери складу: вінілацетат (ВА)-монопероксин (МП)-бутилакрилат (БАК)-малеїновий ангідрид (МАНГ) (2:5:3:4) та вінілацетат (ВА)-2-трет-бутилперокси-2-метил-5-гексен-3-ін (ВЕП)-малеїновий ангідрид (МАНГ) (1:1:1), які мають значну поверхневу активність.

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

Умови проведення солюбілізації вибирали таким чином, щоб отримана сполука зберігала бактерицидні та фунгіцидні властивості, і це можна було б підтвердити результатами мікробіологічних досліджень.

По-перше, враховувалось pH середовища. Полімер розчиняли у слабколужному аміачному водному розчині з pH = 7,0–7,6. Після проведення попередніх досліджень розчинності полімеру, етилтіосульфанілату (ЕТС) та метилтіосульфонілату (МТС) для розчинення останніх обрали етилацетат (ЕТА) та толуол.

Працювали з розчинами полімерів з концентраціями від 0,25 до 10 %, розчини ЕТС в етилацетаті були 20, 10, 5, 1 %-х концентрацій, в толуолі концентрації 2,25 %, МТС в етилацетаті 7,5 %. Дані про проведення експерименту наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Співвідношення компонентів для солюбілізації

№ з/п	Концентрація розчину полімеру, взятого для солюбілизації, %	Концентрація розчину, взятого для солюбілізації, %					
		ЕТС, %					МТС, %
	Полімер ВА-МП-БАК-МАНГ	ЕТА 1,0	ЕТА 5,0	ЕТА 10,0	ЕТА 20,0	толуол 2,25	ЕТА 7,5
1	10,00	+	+			+	
2	7,50	+	+			+	
3	6,25	+	+	+	+	+	
4	5,00	+	+			+	
5	2,50	+	+			+	
6	1,00	+	+	+	+	+	
7	0,50	+	+			+	
8	0,25	+	+			+	
	Полімер ВА-ВЕП-МАНГ						
1	10,00	+	+	+			
2	7,50	+	+				+
3	5,00	+	+	+			+
4	2,50	+	+				+
5	1,00	+	+	+			+
6	0,50	+	+				+
7	0,25	+	+				

З результатів попередніх досліджень із зміною відношення фаз (водний розчин полімеру: розчин есулану в толуолі) зроблено висновок, що чим більше концентрація полімеру у водному розчині, тим більша кількість есулану захоплюється молекулою полімеру. За більшої кількості води есулану важко добратися до полімерної глобули внаслідок появи додаткового стеричного бар'єру, що ускладнює зближення частинок. Тому при проведенні експерименту ми брали рівні співвідношення об'ємів водного розчину полімеру та розчину ЕТС або МТС в одному з обраних розчинників (2 мл: 2 мл).

Розділення фаз проводили відстоюванням, відділяли водну фазу, проводили її дослідження. Чітка межа розділу фаз спостерігалась при концентраціях полімеру не нижче критичної концентрації міцелоутворення. Полімер (або солюбілізат) деякою мірою переходить в ЕТА, що було видно по забарвленню верхньої фази. У серіях при збільшенні концентрації від 0,5 до 10 % інтенсивність забарвлення зростала.

Досліджування солюбілізату проводилися на приладі SPECORD M-40 в області 220–310 нм. Результати УФ-спектроскопії дають можливість стверджувати про наявність біологічно активної

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

сполуки в ядрі полімерної глобули та залежність кількості солюбілізованого есулану від його концентрації в початковому розчині, що показано на рис. 1, 2.

Для дослідів з полімерами ВА-МП-БАК-МАНГ та ВА-ВЕП-МАНГ вимірювалась кількість есулану, що залишилась в початковому розчині в ЕТА. Зроблено висновок, що кількість солюбілізованої біологічно активної речовини напряму залежить від її концентрації у вихідному розчині.

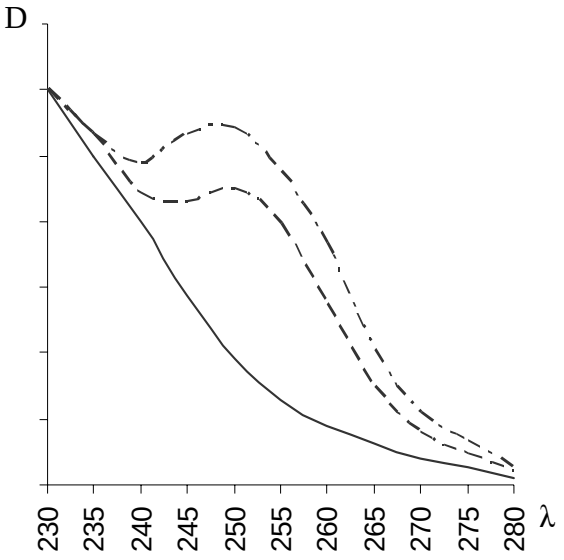

Рис. 1. Результати УФ-спектроскопії, розчин порівняння аміачна вода pH = 7,2
——— – розчин полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ, концентрація 6,25 мг/ мл;
— — – солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ та есулану з розчину в ЕТА, концентрація 10 %;
— · — · – солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ та есулану з розчину в ЕТА, концентрація 20 %

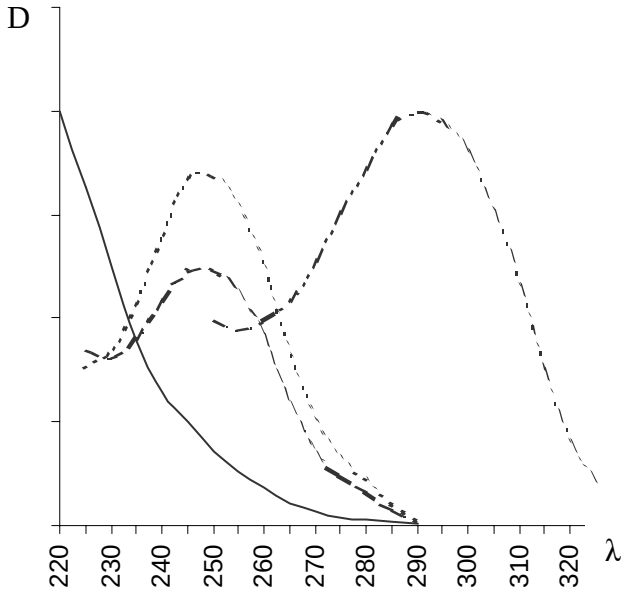

Рис. 2. Результати УФ-спектроскопії,
——— – розчин полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ, концентрація 6,25 мг/ мл (р-н порівн. ам. вода)
— — – солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ та есулану з розчину в ЕТА, концентрація 10 % (розчин порівняння полімер ВА-МП-БАК-МАНГ, концентрація 6,25 мг/ мл);
- – – – – – – – солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ та есулану з розчину в ЕТА, концентрація 20 % (розчин порівняння полімер ВА-МП-БАК-МАНГ, концентрація 6,25 мг/ мл);
— · — · – розчин есулану в ЕТА (р-н порівняння ЕТА)

У деяких випадках на інтенсивність і розташування смуги поглинання впливала природа розчинника, в результаті смуга могла зсуватися як в довгохвильову, так і в короткохвильову область. Так, з рис. 2 бачимо, що під впливом полімеру пік есулану в солюбілізаті дещо зміщений в бік полімеру.

Під час солюбілізації есулану водним розчином полімеру відбувається зменшення поверхневого натягу в зв'язку з утворенням міцелоподібних структур. Вимірювання поверхневого натягу водно-аміачних розчинів вихідних полімерів та солюбілізатів для різних вихідних концентрацій проводили методом Ребіндера, який базується на вимірюванні максимального тиску в бульбашці на приладі ППНЛ-1 .

Виміри поверхневого натягу дали можливість відзначити зниження σ в міру збільшення кількості ЕТС або МТС в частинках, що зображено на рис. 3.

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

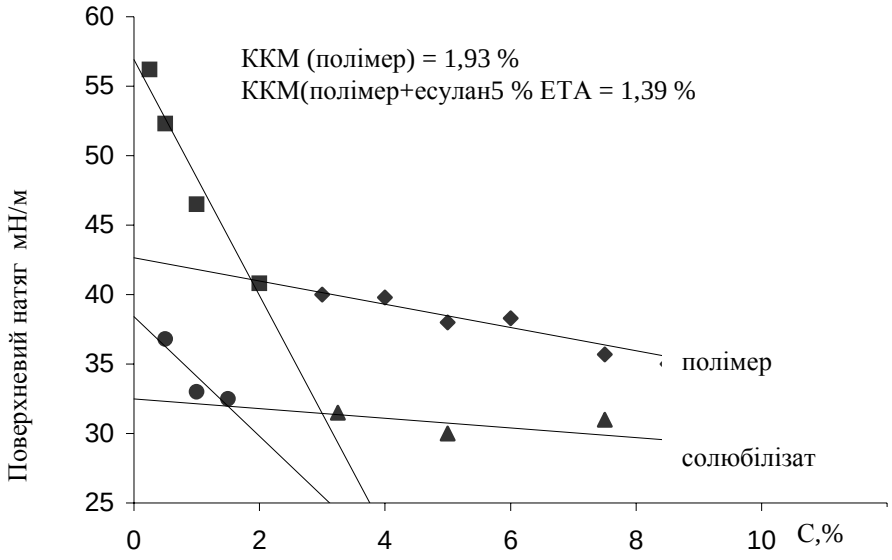

Рис. 3. Залежність поверхневого натягу водних розчинів солюбілізатів від вмісту есулану для різних вихідних концентрацій у водному розчині

Значення концентрацій міцелоутворення для початкових полімерів та солюбілізатів наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Значення критичних концентрацій міцелоутворення

Розчин, поверхневий натяг якого вимірювався	Значення ККМ, %
полімер ВА-МП-БАК-МАНГ	1,93
солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ + ЕТС 5 % /ЕТА	1,39
солюбілізат полімеру ВА-МП-БАК-МАНГ + ЕТС 2,25 % /толуол	1,46
полімер ВА-ВЕП-МАНГ	2,36
солюбілізат полімеру ВА-ВЕП-МАНГ + ЕТС 5 % /ЕТА	1,70
солюбілізат полімеру ВА-ВЕП-МАНГ + ЕТС 10 % /ЕТА	1,60
солюбілізат полімеру ВА-ВЕП-МАНГ + МТС 7,5 % /ЕТА	1,85

Визначення бактерицидної та фунгіцидної активностей одержаних препаратів проводили методикою “колодязів”.

Як тестові культури використовували такі мікроорганізми: бактерії Staphylococcus aureus, дріжджі Candida tenuis, цвільові гриби Mucor plumbeus, Penicillum chryzogenum, Aspergillus niger.

Добові культури бактерій і дріжджів та три добові культури цвілей суспендували у стерильній водопровідній воді до концентрації 10^9 кл/мл (за стандартом мутності). У стерильну чашку Петрі вносили по 1 мл суспензії мікроорганізмів і заливали середовищем у кількості 20–30 мл. Для бактерій як поживне середовище використовували м’ясо-пептонний агар (МПА), для інших мікроорганізмів – сусло-агар (СА). Ретельно перемішували вміст чашки. Після застигання агару вирізали скляними стерильними циліндриками ямки-“колодязі” діаметром 6–7 мм, не більше 5-ти на чашку. У кожний “колодязь” вносили по 20 мкл досліджуваної речовини. Як контроль вносили 20 мкл розчинника, стандартні диски з канаміцином або 1 %-й розчин есулану в етилацетаті

Вивчення активності солюбілізата 5 %-го полімеру з 1 %-м ЕТС показало відсутність зон затримок росту дріжджів C. tenuis і S. cerevisiae. Тому в наступних дослідах використовували продукт 6,25 %-го полімеру і 20 %-го есулану під час завантаження.

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

Попередні досліди показали, що продукт полімеру з такою кількістю есулану давав дуже велику зону затримки росту St.aureus – 52 мм в діаметрі. Зменшення вмісту есулану під час завантаження до 10 % теж дало аналогічні результати (48–50 мм). Внесення 1 %-го розчину есулану призводило до виникнення зони затримки росту в 35–36 мм.

Внесення 20 мкл 6,25 %-го полімера в "колодязь" не викликало припинення росту мікроорганізмів, навпаки, навколо такої лунки спостерігалося збільшення густини біомаси, що свідчить про біодеградабельність полімеру.

З літературних джерел відомо, що при використанні агаризованих середовищ немає прямої кореляції між концентрацією діючої речовини і діаметром зон затримки росту. Це явище, очевидно, можна пояснити полімерними властивостями агар-агару та нелінійністю дифузії в нього органічних речовин. Тому, базуючись на попередніх даних, ми вирішили перевірити різні розведення початкового розчину полімеру (полімера 6,25 %, есулану 20 %). Одержані розчини полімеру позначили таким чином:

1. Розведення в 2 рази.
2. » в 5 разів.
3. » в 10 разів.
4. » в 15 разів.
5. » в 20 разів.

Як стандартизований контроль брали 1 %-й розчин есулану.

Одержані дані подано в табл. 4.

Таблиця 4

Вплив продукту солюбілізації (ВА-МП-БАК-МАНГ + ЕТС 20 % /ЕТА) на різні види мікроорганізмів

Культура мікроорганізмів	Діаметр зон затримки росту, мм					
	1	2	3	4	5	1 %-й есулан
Бактерії						
St. Aureus	27	23,5	19	17,5	12,5	33,5
Дріжджі						
C. tenuis	23	20	19	17	15	27
Міцеліальні гриби						
M.plumbeus	0	0	0	0	0	22
P. chryzogenum	27	27	21	18,5	13,5	36
A.niger	30	27,5	25	20	17,5	47

З табл. 4 бачимо, що одержаний нами солюбілізат проявляє високу антибактеріальну і антигрибкову активність, нечутливим до нього виявився лише M plumbeus.

Дослідили біологічну активність солюбілізатів з різними співвідношеннями полімеру ВА-ВЕП-МАНГ та есулану під час завантаження

№	Полімер, %	Есулан, %
1	10	10
2	10	5
3	5	10
4	5	5
5	10	0
6	0	1 %-й розчин есулану

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

Результати наведено в табл. 5.

Таблиця 5

Вплив продукту солюбілізації на різні види мікроорганізмів

Культура Мікроорганізмів	Діаметр зон затримки росту, мм					
	1	2	3	4	5	6
Бактерії St. Aureus	30,0	26,5	23,0	20,0	0	32,0
Дріжджі C. tenuis	21,5	19,5	16,0	14,0	0	26,0
E. coli	34,0	29,0	26,0	20,0	0	36,0

Висновки. Отримано нову серію водорозчинних препаратів етилтіосульфанілату та водорозчинні препарати метилтіосульфанілату. Проведено фізико-хімічні дослідження одержаних препаратів, які доводять наявність лікарського препарату в ядрі полімерної глобули. Можна зробити висновок про доцільність створення препарату з розчину полімеру концентрації не нижче ККМ. Мікробіологічний аналіз показав активність одержаних сполук. Звичайно, робота потребує подальших досліджень у виборі оптимальних умов солюбілізації (pH середовища, співвідношення фаз, вибір оптимальної концентрації вихідних розчинів тощо) з метою збереження та, можливо, підсилення протигрибкової та протибактеріальної активності препарату, зменшення його токсичності.

1. Zaichenco A.S., Voronov S.A., Kuzayev A.I., Shevchuk O.M., Vasiyev V.P., Control Orf Microstructure And Molecular Weight Distribution Of Carbon-Chain Heterofunctional Oligoperoxidic Curing Agent // J. Of Applied Polymer Science. – 1998. – Vol. 70. – P. 2449–2455. 2. Валуев Л.И., Валуева Т.А., Валуев И.Л., Платэ Н.А. Полимерные системы для контролируемого выделения биологически активных соединений // Успехи биологической химии. – 2003. – Т. 43. – С. 307–328. 3. А. с. 198538 СССР. Способ лечения грибковых заболеваний кожи "Эсуланом" / Б.Г. Болдырев, Л.Е. Колпакова, Г.М. Першин, С.Н. Милованова, Л.М. Пожарская, М.А. Королева (СССР) // Бюл. Изобрет. – 1967. – № 14. 4. Болдырев Б.Г., Колпакова Л.Е., Першин Г.М., Милованова С.Н., Пожарская Л.М. Эсулан – новое средство для лечения епидермофитии стоп // Хим. фарм. журн. – 1968. – Т. 2. – № 4. – С. 12–16.

УДК 543.54+547.381.5+547.812

Н.М. Карп'як, Г.О. Маршалок, Й.Й. Ятчишин, М.Д. Федевич
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра аналітичної хімії

СИНТЕЗ ДИМЕРУ α-БУТИЛАКРОЛЕЇНУ

© Карп'як Н.М., Маршалок Г.О., Ятчишин Й.Й., Федевич М.Д., 2005

Розглянуто методики синтезу димерів α-алкілакролеїнів. На основі кінетичних досліджень визначено оптимальні умови димеризації α-бутилакролеїну та встановлено фізико-хімічні характеристики його димеру.

The obtaining methods of α-alkylacrolein dimers were investigated. The most optimal conditions of α-buthylacrolein dimerization were selected on the basis of the kinetics investigations and physico-chemical characteristics of it dimer were determined.

Постановка проблеми. Димери α-алкілакролеїнів належать до маловивченого класу хімічних сполук – піранів. Вони є цінними вихідними речовинами для синтезу барвників, пластифікаторів, поверхнево-активних речовин, фунгіцидів, інсектицидів, лікарських препаратів [1]. Крім

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua