

УДК 541.64:547.455

СОПОЛИМЕРЫ СТИРОЛСУЛЬФОНАТА НАТРИЯ И 2-ДЕОКСИ-2-МЕТАКРИЛАМИДО-D-ГЛЮКОЗЫ С ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2023 г. Е. Ф. Панарин^а, О. Н. Журавская^{а,*}, А. А. Штро^б

^аИнститут высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31, Россия

^бНаучно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева
197376 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17, Россия

*e-mail: efra99@mail.ru

Поступила в редакцию 15.11.2022 г.

После доработки 01.12.2022 г.

Принята к публикации 29.12.2022 г.

Исследована радикальная сополимеризация в воде стиролсульфоната натрия с винилсахаридом 2-деокси-2-метакриламидо-D-глюкозой. Определены константы относительной активности, которые составили для стиролсульфоната натрия $r_1 = 1.58 \pm 0.05$, для 2-деокси-2-метакриламидо-D-глюкозы $r_2 = 0.18 \pm 0.01$. Синтезированы водорастворимые сополимеры разного состава с варьируемой молекулярной массой, обладающие высокой противовирусной активностью.

DOI: 10.31857/S2308113923700390, EDN: WYTLPP

Респираторные вирусные инфекции остаются важной проблемой здравоохранения, несмотря на значительные достижения вакцинотерапии. Появление устойчивых к вакцинам штаммов происходит очень быстро. Кроме того, транспортировка и хранение вакцин требует соблюдения жесткого температурного режима. В условиях сезонных респираторных вирусных инфекций особенно актуальна потребность в новых эффективных средствах противовирусной химиотерапии. Решение этой задачи заключается в поиске и разработке новых низкотоксичных противовирусных средств широкого спектра действия. Среди перспективного класса противовирусных веществ особый интерес представляют высокомолекулярные соединения. Еще в середине XX века было найдено, что некоторые водорастворимые синтетические полимеры обладают противовирусной активностью: анионные полиэлектролиты, полиакриловая и полиметакриловая кислоты, сополимеры малеинового ангидрида, полимерные производные *n*-аминосалициловой кислоты, полимеры, содержащие сульфо- и фосфатные группы [1–7]. Высокую противовирусную активность демонстрируют и природные полимеры — сульфаты и фосфаты полисахаридов [8, 9]. Их активность обусловлена способностью блокировать взаимодействие вирусов с клеткой “хозяина”, индуцировать выработку организмом интерферона, активировать макрофаги и стимулировать вы-

работку неспецифической резистентности организма к внешним инфекциям. Среди большого числа различных полианионов наиболее подробно изучен полистиролсульфонат [9, 10], действующий на респираторные вирусы. Он особенно активен как анти-ВИЧ агент, обладает широким спектром действия против заболеваний, передающихся половым путем. Модификация полистиролсульфоната путем введения в его структуру звеньев иного строения представляет интерес с целью установления влияния химического строения сополимера на противовирусную активность и поиска новых полимеров с улучшенным спектром действия и более высокой активностью.

Цель настоящей работы заключалась в модификации полистиролсульфоната путем сополимеризации стиролсульфоната натрия (M_1) с нейтральным гидрофильным мономером 2-деокси-2-метакриламидо-D-глюкозой (M_2), синтезе новых сополимеров различного состава и варьируемой молекулярной массой, а также исследовании их противовирусной активности и цитотоксичности.

В работе использовали стиролсульфонат натрия (СС-Na) — фирмы “Aldrich” (Германия). Инициатор 2,2-азо-бис-метилпропионамидиндигидрохлорид (МПХ) фирмы “Aldrich” (Германия).

Мономер 2-деокси-2-метакриламидо-D-глюкоза (МАГ) получали по известному методу

Таблица 1. Выход и ММ сополимеров СС-На (растворитель вода, $[M_1] + [M_2] = 20$ мас. %, МПХ — 3 мас. %, $T = 60^\circ\text{C}$, продолжительность 24 ч)

Содержание МАГ в исходной смеси, мол. %	Выход, мас. %	Содержание звеньев M_2 в сополимере, мол. %	$[\eta]^{25}$ в 0.2 NaCl, дл/г	$M \times 10^{-3}$
10	61	23	1.45	850
20	66	29	1.25	690
30	68	34	1.0	490
50	88	51	1.10	570
0*	90	—	0.63	255

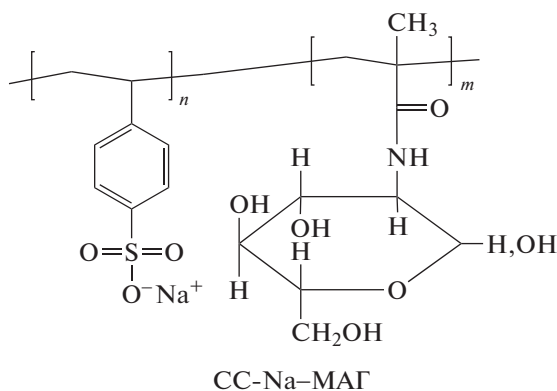
*Гомополимер ПСС-На синтезирован методом радикальной полимеризации в ДМФА в присутствии 1 мас. % ДАК.

Кляйна [11] ацилированием глюкозамина солянокислого метакрилоилхлоридом в присутствии триэтиламина. После его перекристаллизации $T_{\text{пл}} = 197\text{--}198^\circ\text{C}$, что соответствует литературным данным.

Сополимеры СС-На—МАГ с разным молярным соотношением и молекулярной массой синтезировали свободнорадикальной полимеризацией в воде, применяя водорастворимый инициатор МПХ, в атмосфере аргона и запаянных ампулах при температуре 60°C в течение 1 суток. Сополимеры очищали от низкомолекулярных компонентов диализом против воды с использованием по-

лупроницаемой мембраны фирмы “Биолот” (предел пропускания 1 кДа) и выделяли путем лиофильной сушки. Условия сополимеризации и характеристики полученных сополимеров СС-На—МАГ представлены в табл. 1.

Характеристическую вязкость определяли при 25°C в 0.2 М NaCl на вискозиметре Уббеллоде. Диапазон молекулярной массы сополимеров находили по уравнению Марка—Куна—Хаувинка для полистиролсульфоната натрия (ПСС-На) в 0.2 М NaCl при 25°C : $[\eta] = 1.17 \times 10^{-2} \times M^{0.69 \pm 0.06} \text{ см}^3/\text{г}$ [12].



Для оценки относительной активности СС-На и МАГ сополимеризацию проводили до степени превращения 10 мас. % при исходном молярном соотношении сомономеров от 90 : 10 до 10 : 90. При вычислении относительной активности сомономеров использовали математическую обработку экспериментальных данных с помощью метода Файнемана—Росса [13]. На рис. 1 представлена зависимость состава сополимеров СС-На и

МАГ от состава исходной смеси сомономеров. Для СС-На значение r_1 составило 1.58 ± 0.05 , для МАГ величина $r_2 = 0.18 \pm 0.01$. Значения r_1 и r_2 указывают на более высокую реакционную способность СС-На. Полученные сополимеры обогащены звеньями СС-На.

Состав сополимеров определяли с помощью УФ-спектроскопии при длине волны 260 нм на приборе “SHIMADZU UV-1280”. ИК-спектры

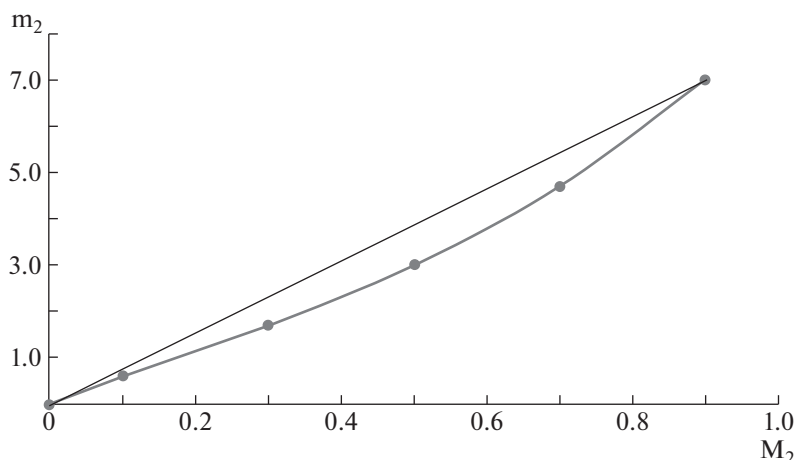


Рис. 1. Диаграмма составов сополимеризации СС-На-МАГ. m_2 — мольная доля МАГ в сополимере, M_2 — мольная доля МАГ в смеси мономеров.

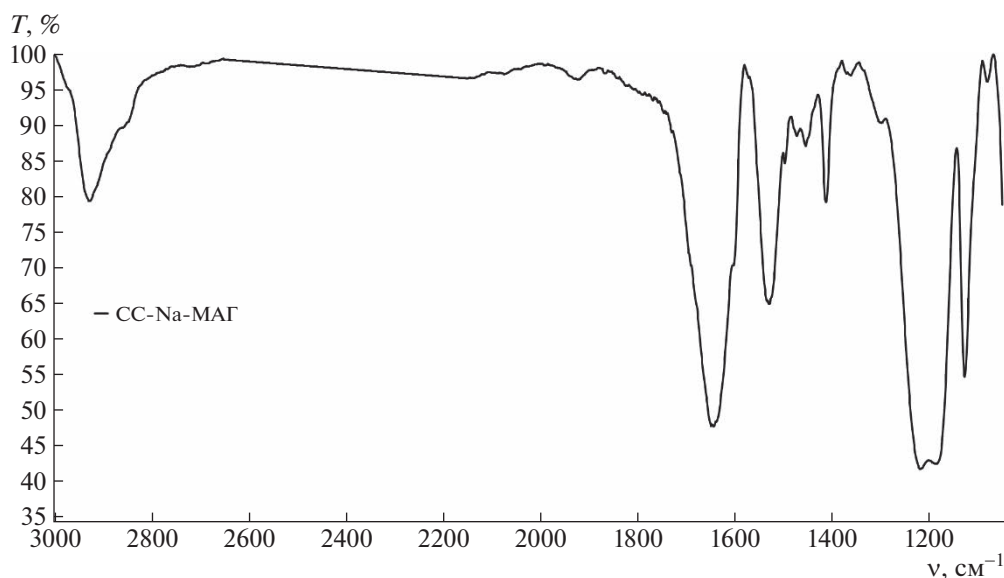


Рис. 2. ИК-спектр сополимера СС-На-МАГ состава 49 : 51 мол. %.

регистрировали на спектрометре фирмы “SHIMADZU” “IRAFFINITY-1S” в таблетках KBr (рис. 2). В спектрах сополимеров ССNa–МАГ имеются полосы, характерные для обоих типов звеньев. О наличии звеньев СС-На судили по поглощению при $\sim 1450\text{--}1580\text{ см}^{-1}$, соответствующему бензольному кольцу. В спектрах сополимеров присутствуют полосы поглощения, относящиеся к звеньям S=O ($1050\text{--}1200\text{ см}^{-1}$). Звеньям МАГ соответствуют полосы колебаний групп $\text{CH}_3\text{-}$ и $\text{CH}_2\text{-}$ при 2900 и 1550 см^{-1} . Имеются также полосы Амид I (1650 см^{-1}) и Амид II (1524 см^{-1}); колебаниям пиранозного кольца отвечает полоса 1000 см^{-1} .

Строение сополимеров подтверждали дополнительно методом спектроскопии ЯМР ^1H (400 МГц , D_2O). В спектрах сополимеров наблюдаются сигналы протонов гликозильного кольца звеньев МАГ ($\delta_{\text{H}} = 0.9\text{--}2.0, 3.3\text{--}3.8, 4.6\text{--}5.2\text{ м.д.}$), а также сигнал протонов бензольного кольца $\delta_{\text{H}} = 7.4\text{ м.д.}$

Для определения цитотоксичности и противовирусной активности брали клеточную культуру Нер-2, эпидермоидную карциному гортани человека, коллекции клеточных культур ФГБУ “НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева”. В работе использовали респираторно-синцитиальный вирус

Таблица 2. Показатели цитотоксичности (ЦТД₅₀) и противовирусной активности (ЭД₅₀) синтезированных сополимеров СС-Na-МАГ

Содержание МАГ в исходной смеси, мол. %	$M \times 10^{-3}$	ЦТД ₅₀ , мкг/мл	ЭД ₅₀ , мкг/мл	Химиотерапевтический индекс
23	850	37.3	1.0	39
29	690	35.6	0.3	137
34	490	90.5	1.1	82
51	570	110	5.7	19
0	255	163	3.5	47

человека штамм А2, полученный из лаборатории биотехнологии диагностических препаратов, далее накопленный на культуре клеток НЕР-2, его хранили при температуре -80°C . Показатель цитотоксичности (ЦТД₅₀) полимеров оценивали по жизнеспособности клеток при помощи микро-тетразолиевого теста [14]. Противовирусную активность определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Готовили серию трехкратных разведений полимеров [15]. Критерием оценки противовирусной активности является статистически значимое снижение титра вируса в клетках при применении полимера по сравнению с контролем. На основании этих данных производили расчет ЭД₅₀. Чтобы оценить перспективность применения сополимеров, в качестве противовирусного средства использовали такой показатель, как химиотерапевтический индекс, равный отношению значений ЦТД₅₀ к ЭД₅₀. Вещества, имеющие химиотерапевтический индекс более 8, считались перспективными.

Из представленной табл. 2 следует, что гомополимер СС-Na и все синтезированные сополимеры проявляют высокую противовирусную активность, их цитотоксичность и активность зависят от состава сополимера и понижаются при повышении содержания звеньев винилсахарида. Соплимеры с составом СС-Na-МАГ, равным 71–29 и 66–34 мол. %, имеющие наиболее высокий химиотерапевтический индекс по сравнению с гомополимером, представляют интерес для дальнейшего углубленного изучения.

Таким образом, в работе исследована радикальная сополимеризация стиролсульфоната натрия с метакриламидоглюкозой в воде, определены константы относительной активности сомономеров, синтезированы сополимеры разного состава с варьируемой молекулярной массой. Установлена их высокая противовирусная актив-

ность в отношении респираторного-синцитиального вируса человека.

Авторы выражают благодарность В.В. Глебенковой, принимавшей участие в экспериментальной части работы.

Работа выполнена по госзаданию, химическая часть — регистрационный номер проекта 122012100171-8, биологические эксперименты — регистрационный номер проекта НИОКТР в ЕГИСУ НИОКТР 121051900142-0 “Генетическая и антигенная вариабельность современных штаммов респираторно-синцитиальных вирусов (РСВ), циркулирующих на территории Российской Федерации”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Regelson W.U. // Adv. Chemotherapy. 1968. V. 3. P. 303.
2. Зейтленок Н.А., Вильнер Л.М., Трухманов Л.Б., Кропачев В.А., Родин И.М., Маркелов Т.М., Гольдфарб М.М. // Вопросы иммунологии. 1968. № 4. С. 401.
3. Еришов Д.И., Виноградов И.А., Козловский М.М., Пендарский В.А., Стоцкая Л.Л. // Полимеры медицинского назначения. М.: ИНХС, 1988. С. 11.
4. Абдуходжаев Т.С., Кропачев В.А., Трухманова Л.Б., Вильнер Л.М. // Физиологически активные полимерные вещества. Ташкент. Изд-во ТашГУ, 1976. С. 170.
5. De Clerg E. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1998. V. 63. P. 450.
6. Schandck F., Riber C.F., Rucker A. // Adv. Healthcare Mater. 2017. V. 6. № 23. P. 1700748.
7. Зарубаев В.В., Бучков Е.В., Назарова О.В., Золотова Ю.И., Панарин Е.Ф. // Докл. биохим. биофиз. 2022. Т. 506. С. 227.
8. Jabeen M., Dutot M., Fagon R., Verrier B., Monge C. // Pharmaceutics. 2021. V. 13. № 5. P. 733.

9. *Anderson A., Feathergill K., Diao X., Cooper M., Kirkpatrick R., Spear P., Waller D., Chany C., Doncel G., Herold B., Zaneveld L.* // J. Andrology. 2000. V. 21. № 6. P. 862.
10. *Контаров Н.А., Ермакова А.А., Гребенкина Н.С., Юминова Н.В., Зверев В.В.* // Вопр. вирусологии. 2015. Т. 60. № 4. С. 5.
11. *Klein J., Herzog D.* // Makromol. Chem. 1987. V. 188. № 6. P. 1217.
12. *Pavlov G.M., Zaitseva I.I., Gubarev A.S., Gavrilova I.I., Panarin E.F.* // Macromol. Chem. Polym. Mater. 2006. V. 79. № 9. P. 1490.
13. *Fineman M., Ross S.D.* // J. Polym. Sci. 1950. V. 5. № 2. P. 259.
14. *Niks M., Otto M.* // J. Immunol. Methods. 1990. V. 130. P. 149.
15. *Reed L.J., Muench H.* // J. Am. Hygiene. 1983. V. 27. P. 493.