

РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ

А.С. КРИТЧЕНКОВ, Н.З. ЯГАФАРОВ, В.Н. ХРУСТАЛЕВ

**ПРОИЗВОДНЫЕ ХИТОЗАНА:
СИНТЕЗ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ
И ТРАНСФЕКЦИОННАЯ
АКТИВНОСТЬ**

Москва
2020



Издание осуществлено при финансовой поддержке Российского фонда
фундаментальных исследований по проекту № 20-13-00004, не подлежит продаже

Рецензенты:

заведующий лабораторией инженерии биополимеров Института биоинженерии ФИЦ
Биотехнологии РАН, президент Российского хитинового общества
доктор химических наук, профессор *В.И. Варламов*;
заведующий кафедрой органической химии МГУ им. Ломоносова
доктор химических наук, профессор *В.Г. Ненайденко*

Критченков, А. С.

К82 Производные хитозана: синтез, антибактериальная и трансфекционная актив-
тивность : монография / А. С. Критченков, Н. З. Ягафаров, В. Н. Хрусталеv. –
Москва : РУДН, 2020. – 207 с. : ил.

Хитозан представляет собой природный полимер, характеризующийся биосовместимостью, биodeградируемостью, а также отсутствием токсичности, иммуногенности и канцерогенности. Это аминополисахарид, содержащий первичную аминогруппу, которая может быть протонирована в водной среде, в результате чего образуется поликатион. Именно поликатионная природа хитозана является основой его важнейших фармакологических свойств – антибактериальной и трансфекционной активности. Антибактериальная активность хитозанового поликатиона обуславливается тем, что положительно заряженная макромолекула взаимодействует с отрицательно заряженными фрагментами на поверхности бактериальной клетки, провоцируя тем самым резкое увеличение проницаемости клетки бактерии, что приводит к осмотическому дисбалансу и утечке содержимого бактериальной клетки во внешнюю среду. Кроме того, хитозановый поликатион проникает внутрь бактериальной клетки и связывается с полианионом ДНК бактерии, блокируя репликацию ДНК. Последствием этого является гибель бактерий или, как минимум, резкая задержка их роста. Данные свойства антибактериального действия хитозана являются универсальными физико-химическими механизмами, в связи с чем выработка резистентности бактерий к хитозану крайне затруднена, если вообще возможна.

Трансфекционная активность хитозана обусловлена тем, что хитозановый поликатион способен связываться с полианионом ДНК с образованием полиэлектролитного комплекса, нуклеиновая кислота в составе которого надёжно защищена от клеточных нуклеаз.

Однако как антибактериальная, так и трансфекционная активность хитозана сильно ограничены его низкой растворимостью в воде и достаточно низкой катионной плотностью. В настоящей монографии детально рассматриваются синтетические подходы к химической модификации хитозана, позволяющие получать хорошо растворимые его производные с повышенной катионной плотностью и высокой антибактериальной и трансфекционной активностью. Пристальное внимание уделяется как классическим способам химической модификации хитозана, так и современным «модным» подходам, основанным на использовании так называемой «клик-химии». Кроме того, рассматриваются подходы дериватизации хитозана с помощью одновременного использования методов клик-химии и сонохимии (ультразвука), впервые описанных в хитинологии научной группой авторов данного труда. Детально описываются наиболее эффективные антибактериальные и трансфекционные производные хитозана, особое внимание уделено взаимосвязи «структура–действие».

Книга будет полезна научным работникам в области синтетической химии, высокомолекулярных соединений, биохимии, медицинской химии, молекулярной биологии, генетики, микробиологии, а также студентам и аспирантам, изучающим перечисленные и смежные с ними области.

Chitosan is a natural polymer characterized by biocompatibility, biodegradability, and the absence of toxicity, immunogenicity, and carcinogenicity. Chitosan is an aminopolysaccharide containing a primary amino group that can be protonated in an aqueous medium, resulting in the formation of a polycation. It is the polycationic nature of chitosan that determines its most important pharmacological properties – antibacterial and transfection activity. The antibacterial activity of the chitosan polycation is due to the fact that a positively charged macromolecule interacts with negatively charged fragments on the surface of the bacterial cell, thereby provoking a sharp increase in the permeability of the bacterial cell, leading to osmotic imbalance and leakage of the contents of the bacterial cell into the external environment. In addition, the chitosan polycation penetrates the bacterial cell and binds to the bacterial DNA polyanion, blocking DNA replication. The consequence of these effects is the death of bacteria or, at least, a sharp delay in the growth of bacteria. These mechanisms of the antibacterial action of chitosan are universal physicochemical mechanisms, and therefore the development of bacterial resistance to chitosan is extremely difficult, if at all possible.

The transfection activity of chitosan is due to the fact that the chitosan polycation is able to bind to the DNA polyanion with the formation of a polyelectrolyte complex, the nucleic acid in which is reliably protected from cell nucleases.

However, both the antibacterial and transfection activities of chitosan are greatly limited by its low solubility in water and a fairly low cationic density. In this monograph, synthetic approaches to the chemical modification of chitosan are considered in detail, which make it possible to obtain its highly soluble derivatives with increased cationic density and high antibacterial and transfection activity. The monograph pays close attention to both classical methods of chemical modification of chitosan and modern «fashionable» approaches based on the use of so-called «click chemistry». In addition, chitosan derivatization approaches are considered using the simultaneous use of click chemistry and sonochemistry (ultrasound) methods, first described in chitinology by a scientific group of authors of this work. The most effective antibacterial and transfection derivatives of chitosan are described in detail, special attention is paid to the relationship «structure–action».

The book will be useful for researchers in the field of synthetic chemistry, high-molecular compounds, biochemistry, medical chemistry, molecular biology, genetics, microbiology, as well as students and postgraduates studying these and related this fields.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
1. Растворимость хитозана	9
2. Классические реакции хитозана	12
2.1. N-ацилирование хитозана	12
2.2. O-ацилирование хитозана	20
2.3. N,O-ацилирование хитозана	22
2.4. Подходы к синтезу арилкарбаматов	23
2.5. Синтез простых эфиров хитозана (O-алкилирование)	24
2.6. N-алкилирование и N-арилирование хитозана	26
2.6.1. Реакции с алкил- и арилгалогенидами	26
2.6.2. Восстановительное алкилирование	27
2.6.3. Реакции хитозана с эпоксидами	29
2.6.4. Реакции хитозана с сульфонами	33
2.7. Основания Шиффа	34
2.8. Взаимодействие хитозана с галогенированными гетероциклическими системами	37
2.9. Тозилирование и тритилирование хитозана	39
3. Клик-химия в хитинологии	44
3.1. Медь-катализируемое азид-алкиновое [3+2]-циклоприсоединение ...	45
3.1.1. Введение азидной группы в положение 6	45
3.1.2. Введение азидной группы через спейсер	51
3.1.3. Замена аминогруппы хитозана на азидную группу	55
3.1.4. Введение алкинового фрагмента в молекулу хитозана	57
3.2. Безметалльные клик-реакции	60
4. Совместное использование ультразвука и клик-реакций в химии хитозана	65
5. Антибактериальная активность хитозана и его производных	75
5.1. Общие положения	75
5.2. Влияние катионной плотности и способы ее увеличения	78
5.3. Влияние молекулярной массы на антибактериальный эффект	82
5.4. Влияние гидрофильно-гидрофобного баланса и растворимости на антибактериальную активность. Антибактериальная активность нерастворимых форм хитозана	82
5.5. Влияние pH на антибактериальную активность хитозана	87
5.6. Влияние ионной силы на антибактериальную активность хитозана ..	88
5.7. Стабильность растворов хитозана. Влияние температуры	88

5.8. Действие хитозана и его производных на грамположительные и грамотрицательные бактерии	89
5.9. Примеры действия хитозана и его производных на грамположительные бактерии	96
5.9.1. N-замещенные производные	99
5.9.2. N,O-замещенные производные	99
5.10. Примеры действия хитозана и его производных на грамотрицательные бактерии	100
5.10.1. N-производные	102
5.10.2. N,O-производные	103
6. Трансфекционная активность хитозана и его производных	104
6.1. Трансфекционные свойства хитозана. Общие положения	104
6.2. Вопросы токсичности и биodeградируемости хитозана	105
6.3. Факторы, влияющие на доставку нуклеиновых кислот хитозаном ...	106
6.4. Нековалентная модификация хитозана	110
6.5. Ковалентная модификация хитозана	111
6.5.1. Введение катионных заместителей. Гидрофильная и гидрофобная модификация хитозана	111
6.5.2. Модификация хитозана лигандами, обеспечивающими адресную доставку. Другие способы ковалентной модификации хитозана	115
Приложение	118
Литература	173