

ПРОИЗВОДНЫЕ ХИТОЗАНА, ПРОЯВЛЯЮЩИЕ АНТИМУТАГЕННУЮ АКТИВНОСТЬ

*В.А. Александрова**, *Г.П. Снизирева***, *Л.Ф. Бокша**, *Н.Н. Новицкая***

*Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва,
E-mail: alexandrova@ips.ac.ru

**Российский научный центр рентгенорадиологии Федерального агентства
по высокотехнологичной медицинской помощи, Москва

THE CHITOSAN DERIVATIVES EXHIBITTING ANTIMUTAGENIC ACTIVITY

*V.A. Alexandrova **, *G.P. Snigireva***, *L.F. Boksha**, *N.N. Novitzkaya***

*A.V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis RAS, Moscow,
E-mail: alexandrova@ips.ac.ru

**Russian Scientific Center of Roentgeno-Radiology of Federal Agency
or High-tech medical Assistance, Moscow

ABSTRACT

Taking into account the dependencies found in model synthetic polycations, modification of chitosan was fulfilled. A correlation between the total positive charge of a macro-ion and the polymer efficiency as a bioprotector was found. This study reveals that incorporation of relatively low quantity of plant antioxidant into chitosan side chain, enhance substantial (up to 70–75%) antimutagenic activity of the derived macromolecular systems.

В связи с глобальным радиационным загрязнением окружающей среды поиск новых подходов к созданию веществ, способных снизить уровень генетического поражения и уменьшить риск канцерогенеза, становится все более актуальным. Этим обусловлен значительно возросший интерес к разработке новых эффективных защитных веществ разных классов химических соединений, в том числе и полимерной природы, что обеспечивает ряд специфических преимуществ (продолжительный характер действия, улучшенная растворимость в воде, направленная доставка и др.).

В предыдущих исследованиях на модельных системах — синтетических поликатионах (ряда диаллилдиметиламмония) нами было показано, что сочетание поликатионной природы полимерной матрицы и антирадикальной активности структурных фрагментов поли(фенольного) типа, введенных в боковую цепь полимера, приводит к значительному усилению антимутагенной эффективности полимерной системы [1].

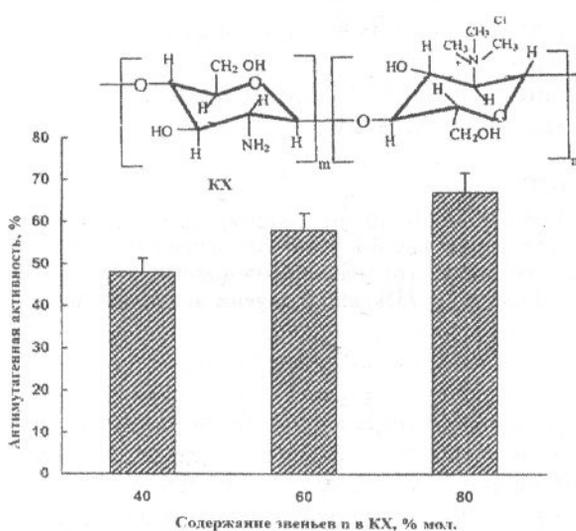
Биодеградируемый поликатион природного происхождения — хитозан представляет значительный интерес как базовая полимерная матрица для создания защитных веществ.

Выбор хитозана в качестве исходной полимерной матрицы для указанной цели был обусловлен широким спектром полезной биологической активности, характерной для этого полимера (противоопухолевая, иммуностимулирующая и др.). Такая макромолекула могла бы не только нести функции полимера — носителя для веществ, усиливающих антимутагенный эффект системы, но и способствовать повышению неспецифической резистентности организма к неблагоприятным факторам окружающей среды вследствие иммуностимулирующего действия исходного полимера [2]. Помимо этого, хитозан хорошо известен как малотоксичный биодеградируемый и биосовместимый поликатион природного происхождения, широко применяемый в биологии и медицине [3].

С учетом выявленных ранее закономерностей [1] была осуществлена направленная модификация хитозана. Проведена частичная кватернизация хитозана (для усиления положительного заряда макроиона).

Принимая во внимание выявленную ранее на синтетических поликатионах корреляцию между зарядом макроиона и антимуtagenной активностью полимера [4], мы предположили, что увеличение числа четвертичных аммониевых групп в структуре хитозана будет способствовать усилению его защитной эффективности. С целью проверки правильности такого предположения был синтезирован ряд производных хитозана с различным соотношением четвертичных аммониевых (n) и первичных аминогрупп (m) в структуре (рис.).

Оценку антимуtagenной активности частично кватернизованных хитозанов (КХ) проводили с использованием растительной тест-системы (семена ячменя). Из данных, представленных на рис., видно, что увеличение числа звеньев, содержащих четвертичные аммониевые группы в структуре хитозана, приводит к усилению антимуtagenной эффективности системы. Таким образом, данные, полученные с использованием как синтетических поликатионов, так и производных хитозана, подтверждают наличие корреляции между зарядом макроиона (определяемым структурой полимера) и его эффективностью как биопротектора.



Антимуtagenная активность производных хитозана, содержащих четвертичные аммониевые группы (растит. тест-сист. 15Гр)

Для усиления антирадикальной активности в боковую цепь полимера (путем образования ковалентной связи) вводили относительно небольшое (1–5% масс.) количество растительного АО — кверцетина (Кв) или дигидрокверцетина (ДГКв). В результате были синтезированы конъюгаты КХ с Кв или ДГКв, КХ-Кв и КХ-ДГКв, соответственно. В качестве исходной полимерной матрицы для получения водорастворимых конъюгатов с АО растительного происхождения мы также использовали низкомолекулярный ($M_w = 30000$) хитозан (X_{30}). Были синтезированы конъюгаты X_{30} с Кв и ДГКв, а именно X_{30} -Кв и X_{30} -ДГКв соответственно. Анализ с использованием ИК-Фурье-спектроскопии и гель-хроматографии подтвердил предполагаемую структуру конъюгатов.

Оценку антимуtagenной активности конъюгатов хитозана с АО растительного происхождения проводили с использованием цитогенетического метода — анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови человека, возникающих при гамма-облучении. Метод позволяет учитывать все типы хромосомных нарушений (парные и одиночные фрагменты, дицентрики, циклические кольца и др.). Полученные результаты подтверждают, что введение относительно небольшого количества (~2% масс.) АО в боковую цепь хитозана приводит к существенному увеличению антимуtagenной активности X_{30} -ДГКв (до 70%) полученного конъюгата (по сравнению с исходным хитозаном — 40%).

Это, по-видимому, обусловлено тем, что благодаря поликатионному характеру исходной матрицы возможно увеличение концентрации защитного вещества вблизи мишени его действия, обусловленное электростатической адсорбцией положительно заряженной макромолекулы на отрицательно заряженной мембране [4]. Наличие антирадикальных фрагментов в боковой цепи полимера, по всей вероятности, препятствует развитию окислительных радиационно-химических реакций (ответственных за повреждение клетки), протекающих как в водной, так и липидной фазе.

В качестве биологически активных веществ полифенольного типа в данной работе использовали эффективные ингибиторы радикальных реакций — кверцетин и дигидрокверцетин, относящиеся к обширной группе антиоксидантов (АО) растительного происхождения — флавоноидов.

Разработанные макромолекулярные системы (конъюгаты и полиэлектролитные комплексы) могут быть использованы для защиты организма в случае свободнорадикальной патологии, вызванной радиационным поражением.

ЛИТЕРАТУРА

1. *V.A. Alexandrova, G.V. Obukhova, D.A. Topchiev* // J. Bioact. Compat. Polym. 17, 321–324, 2002.
2. *Goncharenko E.N. and Kudryashov V.B.* // Radiotziionnaya biologiya. Radioecologia, 1996. V. 36. P. 573–550.
3. *Хитин и хитозан: получение, свойства, применение* / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова.— М.: Наука, 2002. 368 с.
4. *Один А.П., Александрова В.А., Соколов В.С. и др.* // Биологические мембраны. 1995. Том 12. № 2. С. 185–190.