

# АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНОВ

А.И. Гамзаде\*, С.М. Насибов\*, О.В. Лукин\*\*

\*Институт элементоорганических соединений А.Н.Несмеянова РАН,  
Москва, E-mail: agamzazade@ineos.ac.ru

\*\*РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CHITOSANS

A.I. Gamzazade\*, S.M. Nasibov\*, O.V. Lukin\*\*

\*Institute of Organo-element Compounds, Russian Academy of Sciences, Moscow,  
E-mail: agamzazade@ineos.ac.ru

\*\*Mendeleyev University of Chemical Technology of Russian, Moscow

### ABSTRACT

Antibacterial activity of various chitosans compositions and disinfectants and also N-replaced derivative of chitosan concerning some microorganisms and fungi (*E.coli*; *S. aureus*; *C.xerosis*; *C.albicans*; *P. Aeroginosae*; *K. Pneumoniae*; *B. cereus*) was investigated. It is shown, the preparations containing chitosan with high molecular mass and average acetylation degree possess most activity concerning tested microorganisms.

Хитозан способен ингибировать рост бактериальных микроорганизмов [1]. Предполагается, что антибактериальная активность обусловлена связыванием макромолекул поликатиона с клеточной стенкой микроорганизмов [2]. Противомикробный эффект олигомеров хитозана объясняется их способностью проникать внутрь бактерий и влиять на механизм репродукции микробных тел. Кроме собственного антибактериального действия хитозан может способствовать чувствительности, устойчивых к некоторым антибиотикам микроорганизмов [3].

Целью настоящей работы является исследование антибактериальной активности смеси различных хитозанов и дезинфицирующих средств, а также сульфопроизводных хитозана в отношении некоторых микроорганизмов и грибов (*E.coli*; *S. aureus*; *C.xerosis*; *C. albicans*; *P. Aeroginosae*; *K. Pneumoniae*; *B. cereus*).

### Экспериментальная часть

В качестве дезинфицирующих добавок (далее дезинфектантов) были использованы: № 1 – 1%-ный раствор иодиола; № 2 – 2%-ный раствор колларгола; № 3 – 0,1 г гидроперита и № 4 – 5%-ный раствор полисепта;

Смеси образцов хитозана различной концентрации и микробной взвеси инкубировали при 37°C и pH 5,5 в течение 4 ч. Далее исследуемые образцы были тестируются посевом на чашки Петри с соответствующими питательными средами: для *E.coli* – на агаре Эндо, для *S. aureus* и *C.xerosis* – на агаре Мюллера-Хинтона, для *P. Aeroginosae* – на цетримид агаре и для грибка *C.albicans* – на среде Сабуро. Чашки с посевами были инкубированы при 37°C в течение 24–48 ч, после чего учитывали наличие или отсутствие роста тест-культур при соответствующих разведениях тестируемых препаратов.

Антибактериальную активность N-замещенных производных хитозана в отношении штаммов микроорганизмов определяли методом перпендикулярных штрихов на плотной питательной среде в чашках Петри (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика исследованных образцов хитозана

Шифр образца	Степень замещения, %	Молекулярная масса, кДа
НХТ-0*	5,5	< 2000
СХТ-0*	16,0	100
ВХТ-0*	18,0	200
ВХТ-01**	40	200
ВХТ-02**	65	200
ВХТ-03**	83	200

\*Содержание N-ацетильных групп. \*\*Содержание N-сульфатных групп ( $-N=CH_2SO_3^- Na^+$ ).

### Обсуждение результатов

Результаты исследования показывают, что антимикробный эффект препаратов хитозана в отношении каждого из тест-микробов проявляется по-разному. Сравнительно низкую активность показывает низкомолекулярный хитозан (НХТ-0) и его композиции с дезинфицирующими добавками в отношении штамма *E.coli* и *S. aureus*. В то же время для препаратов этой группы наблюдается более высокий уровень чувствительности в отношении культур *C.albicans* (отсутствие роста при 0,01%) и *C.xerosis* (отсутствие роста при 0,005%).

Наиболее выраженный антимикробный эффект в отношении всех изученных тест-культур показывают препараты группы ВХТ (табл. 2). Более высокие концен-

Таблица 2. Антимикробный и антигрибковый эффект композиции хитозана и дезинфектантов в отношении штаммов *E.coli*; *S. aureus*; *C.xerosis*; *C.albicans*

Препарат	Тест-культура	Концентрация препаратов, подавляющие рост тест-культур, %										
		1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,02	0,01	0,005	0,0025	К
ВХТ-0	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
ВХТ+1		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ВХТ+2		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+3		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+4		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
ВХТ-0	<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+1		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ВХТ+2		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+3		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+4		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ-0	<i>C.albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+1		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+2		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+3		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+4		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ-0	<i>C.xerosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+1		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ВХТ+2		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+3		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ВХТ+4		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Примечание. ВХТ-0 – высокомолекулярный хитозан; ВХТ-1 – ВХТ-0 + 1%-ный раствор иодиола; ВХТ-2 – ВХТ-0 + 2%-ный раствор колларгола; ВХТ-3 – ВХТ-0 + 0,1 г гидроперита; ВХТ-4 – ВХТ-0 + 5%-ный раствор полисепта.

Условные обозначения: "+" – подавление роста тест-культур; "-" – отсутствие подавления роста тест-культур.

трации ВХТ задерживали рост штамма кишечной палочки (0,015–0,03%), тогда как рост остальных трех видов микроорганизмов подавляется при более низких концентрациях препаратов (0,0005–0,01%).

Препараты группы СХТ (1–4), в отличие от исходного хитозана (СХТ-0), который не задерживал рост штамма кишечной палочки в концентрации 1%, подавляют ее рост при концентрации 0,015%. Отсутствие роста штамма золотистого стафилококка для образца СХТ-1 (СХТ-0 + 1%-ный раствор иодиола) наблюдается при концентрации 0,01%, все остальные препараты же этой группы задерживают рост данного штамма при 0,02%.

Штаммы *C. albicans* и *C. xerosis* также более чувствительны в отношении препаратов этой группы (0,0005–0,005%).

Изучение влияния дезинфектантов на антибактериальную активность ВХТ-0 показывает (см. табл. 2), что в присутствии первых пороговая (минимальная) концентрация препарата, при котором не наблюдается рост *E. coli* и *S. aureus* снижается 3–6 раз. При этом лучший эффект проявляет препарат, содержащий раствор колларгола. В то же время дезинфектанты практически не влияют на антибактериальную активность хитозана в отношении штаммов грибов *C. albicans* и *C. xerosis*.

В работах, посвященных механизму антибактериальной активности хитозана, подчеркивается решающая роль положительного заряда хитозана в проявлении искомого эффекта [4,5]. Однако из рассмотренных выше данных можно сделать вывод о том, что при прочих равных условиях ингибирующий эффект хитозанов в значительной степени зависит от их молекулярной массы. Для выяснения влияния содержания аминокрупп на антибактериальную активность хитозанов были исследованы частично N-замещенные производные высокомолекулярного хитозана (ВХТ-0). Как показывают полученные результаты, увеличение степени замещения (СЗ) аминокрупп хитозана приводит к заметному снижению его антибактериальной активности в отношении микроорганизмов *E. Coli*, *C. albicans* и *K. pneumoniae* (табл. 3).

Таблица 3. Антибактериальная активность образцов хитозана различной степени N-замещения в отношении условно патогенных микроорганизмов (С=0,01%, рН 7,4)

Тест-культура	ВХТ-0	ВХТ-01	ВХТ-02	ВХТ-03
<i>B. cereus</i>	++	-	-	-
<i>C. albicans</i>	+++	++	++	+
<i>E. coli</i>	++	+	+	-
<i>S. aureus</i>	++	-	-	-
<i>P. aeruginosae</i>	++	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+++	++	++	+

Условные обозначения: “-” – отсутствие подавления роста, т.е. наблюдается рост тест-культуры по штриху хитозана; “+” – незначительное подавление роста, т.е. рост тест-культуры останавливается в 1–2 мм от штриха хитозана; “++” – умеренное подавление роста, т.е. рост тест-культуры останавливается в 2–5 мм от штриха хитозана; “+++” – значительное подавление роста, т.е. рост тест-культуры останавливается в 50 мм от штриха хитозана.

В то же время подавление роста микроорганизмов *B. Cereus*, *S. aureus* и *P. aeruginosae* производными хитозана с большей степенью замещения (ВХТ-01-03) практически не наблюдается.

На основании представленных данных можно заключить, что известные дезинфектанты в присутствии хитозана сохраняют свою эффективность в различной степени. Наибольший эффект наблюдается в случае колларгола для всех исследованных хитозанов. Антимикробная активность в отношении исследуемых микроорганизмов и грибов достоверно выше для образцов хитозана с высокой молекулярной массой при наличии некоторого количества первичных аминокрупп. Очевидно, результирующий антибактериальный эффект хитозанов в значительной мере связан со степенью заряженности этих аминокрупп, а не общим

их содержанием в полимере. Из полученных данных также видно, что введение по аминок группам хитозана заместителей с анионными группами приводит к практически полной потере их первоначальной активности, что подтверждает решающую роль положительного заряда в угнетении роста условно-патогенных микроорганизмов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Uchida, Y.* Antibacterial activity by chitin and chitosan // Food Chemical. 1988. V. 2. P. 22-29.
2. *Tsai, G.J., Su, W.H. Y.* Antibacterial activity of shrimp chitosan against E. Coli. // J.Food Prot. 1999. V. 62. P. 239-243.
3. *Насибов С.М., Большаков И.Н., Кулаев Д.В.* Антибактериальная активность сорбентов на основе хитозана // Материалы III конференции по хитину и хитозану. 1991. С. 55-64.
4. *Leuba J.L., Stossel P.* Chitosan and other amines: Antifungal activity and interaction with biological membranes // Chitin in Nature and Technology / Muzzarelli R., Jeuniaux C., Goodey G (eds). Hlenum Press, New York. 1986. P. 215-221.
5. *Tsai G.J., Su W.H., Chen H.C., Pan C.L.* Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments // Fisheries Science. 2002. V. 68. P. 170-177.