

КРАТКИЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИОЦИАНИНА

К.А. Худеева, Е.К. Прохорец

Научный руководитель: доцент, к.п.н., Е.К. Прохорец

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: hudeeva@mail.ru

A BRIEF ANALYSIS OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF PYOCYANIN

K.A. Hudeeva, E. Prokhorets

Scientific Supervisor: Fr. Dr. E. Prokhorets

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: hudeeva@mail.ru

Abstract. *The aim of this work is to study the properties of the pigment Pyocyanin, one of the metabolites of Pseudomonas aeruginosa. An important phase of the study is the producer. In addition, a mechanism for Williamson ether synthesis is explored.*

Исследование относится к области биотехнологии. Целью данной работы является изучение свойств пигмента пиоцианина, одного из метаболитов бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. В начале исследования, мы исследовали *Pseudomonas aeruginosa* как продуцента пиоцианина. Эти грамотрицательные бактерии растут на питательных средах простого состава. Важным аспектом при получении конечного продукта является изучение условий культивирования продуцента.

Pseudomonas aeruginosa (далее *P. aeruginosa*) представляет собой грамотрицательные, палочковидные, оксидазопозитивные бактерии рода *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* приближенно имеют размеры 0,5 - 0,8 мкм x 1,5 - 3,0 мкм, бактерия имеет 1 полярный жгутик., впервые была описана в 1882 году Гессардом [1].

P. aeruginosa распространена в почве, воде, растениях и животных. *P. aeruginosa* является оппортунистическим патогеном и вызывает различные острые и хронические (внутрибольничные) инфекции или интубации механически вентилируемых пациентов. Спектр заболевания колеблется от раневой инфекции, сепсиса (например, после обширных ожогов), инфекции мочевыводящих путей и инфекций дыхательных путей вплоть до гнойного кератита глаза.

Название было получено от сине-зеленого цвета гноя при гнойных инфекциях. Пигменты *P. aeruginosa* обладают сильным антибиотическим действием. Питательные среды при культивировании окрашиваются. Это, как правило, блестящие, металлически-зеленые колонии. Характерным является запах, похожий на запах цветущей липы или жасмина.

Многие антибиотики сегодня теряют свой терапевтический эффект, таким образом, поиск новых веществ, таких как пиоцианин (рис. 1), очень важен. Причина данного явления кроется в бесконтрольном использовании антибиотиков.

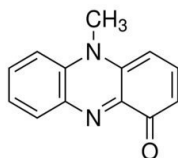


Рис. 1. Структурная формула пиоцианина

Темно-синие кристаллы в виде игл. Свободно растворяется в хлороформе, а также в нитробензоле, хлористом метиле, пиридине, феноле, уксусной кислоте, горячей воде, горячем спирте; слабо - в холодной воде и бензоле. При действии кислот раствор его краснеет и дает новое кристаллическое соединение. Не ядовит. На воздухе, под влиянием кислорода, равно как и при действии других окислителей, пиоцианин переходит в желтую, также кристаллизующуюся пиоксантозу (pyoxanthose) [2].

На основе данных веб-сайта Sigma-Aldrich [3], мы определили основные химические параметры пиоцианина. Эти данные приведены в таблице 1.

Таблица 1

Свойства пиоцианина

Название	Pyocyanin
Синонимы	5-Methyl-1 (5H) -phenazinone, Sanasin
Регистрационный номер	85-66-5
Молекулярная формула	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O
Молекулярная масса	210,23
Температура плавления	133 °C

Пиоцианин является антибактериальным красителем. Благодаря своим редуцирующим свойствам пиоцианин генерирует оксидативный стресс у бактерий и клеток млекопитающих [4].

Экстракция является важным этапом при получении кристаллического пиоцианина. Типичная методика экстракции представлена Rabaey и его исследовательской группой [5]. Ученые используют хлороформ в качестве растворителя. Мы обнаружили, что метилхлорид так же подходит для экстракции, потому что его технологические параметры имеют наилучшие характеристики для этого.

Важным шагом в исследовании является изучение бактериальных метаболитов продуцента. Кроме того, важно поддерживать антибиотические свойства и агрегатное состояние для изучения химической модификации пиоцианина. Для химической модификации, мы предлагаем использовать синтез Вильямсона. Информация об этой реакции можно почерпнуть из учебника Лауэ [6].

Синтез Вильямсона (смотри также синтез простых эфиров) используется для производства симметричных и асимметричных эфиров. Реакция была разработана в 19-м веке Александром У. Вильямсоном и названа в его честь. Синтез Вильямсона представляет собой частный случай нуклеофильного замещения (S_N), в котором алколюлят (Alkyl-O⁻, Aryl-O⁻) используется в качестве нуклеофильного агента. Механизм реакции может проходить как реакция S_N1, так и реакция S_N2.

Синтез Вильямсона представляет собой двухступенчатый процесс в его технической реализации. Во-первых, из спиртового компонента реакции должен быть получен алкоголят, как правило, путем реакции спирта с металлическим натрием или калием. В качестве альтернативы можно также работать с соответствующими гидридами, гидридом натрия или гидридом калия. Последний вариант имеет то преимущество, что гидриды могут храниться на воздухе, и более стабильны, чем порошковые материалы. На втором этапе, алкоголят подвергают взаимодействию с электрофильным агентом. В качестве электрофильных агентов используют алкилхлориды, алкилбромиды или алкилиодиды, а также сложные эфиры сульфокислоты, п-толуолсульфоновой кислоты или метансульфоновой кислоты [7].

Также важным является следующий аспект. Пиоцианин является цвиттер-ионом. Цвиттер-ион является молекулой, имеющей две или более функциональные группы, одна из которых несет положительный заряд, а другая - отрицательный. Если, например, у цвиттер-иона две функциональные группы с противоположными зарядами, так что молекула является электрически нейтральной в целом. В какой-то степени, термин "внутренняя соль" используется для цвиттер-иона. Это наше преимущество, потому что мы предполагаем опустить первую стадию синтеза Вильямсона.

В заключении хотелось бы сделать следующие выводы. В работе были проанализированы структура и свойства пиоцианина. Было обнаружено, что пиоцианин обладает высокой антибиотической активностью, а так же является цвиттер-ионом, что имеет важное значение для его дальнейшей химической модификации. Кроме того, было обнаружено, что хлористый метилен подходит для лучшей экстракции конечного продукта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steinmetz, I. (2009). Nichtfermentierende Bakterien (Nonfermenter): Pseudomonas, Burkholderia, Stenotrophomonas, Acinetobacter. Springer-Lehrbuch, no. 5, pp 275-285.
2. Leitermann F., Biotechnologische Herstellung mikrobieller Rhamnolipide. – Karlsruhe: Universitätsverlag Karlsruhe, 2008 - 156 p.
3. Сайт Sigma-Aldrich [электронный ресурс] // Copyright © 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. All Rights Reserved. URL: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p0046?lang=de®ion=DE> (Дата обращения: 16.02.2016).
4. Ehrismann O. (1934). Pyocyanin und Bakterienatmung. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, no. 116, pp 209-224.
5. Rabaey K. Boon N. Hofte M. Yverstraete W. (2005). Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. Environ. Sci. Technol, no. 39 (9), pp 3401–3408.
6. Laue T., Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie. – Stuttgart-Leipzig-Wiesbaden: Teubner, 1998. – 365 p.
7. Blumenthal G., Chemie. Grundwissen für Ingenieure. - Stuttgart-Leipzig-Wiesbaden: Teubner, 2006. – 584 p.