

А. К. Довлатян, П. А. Казарян, Р. С. Арутюнян

**НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ ЦЕТИЛПИРИДИНИЙ ПЕРОКСОДИСУЛЬФАТА**

Ереванский государственный университет, Армения, Ереван.

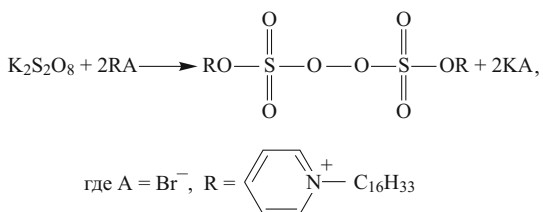
Методами калориметрии, ИК-спектроскопии изучены некоторые физико-химические свойства пероксодисульфата цетилпиридиния — продукта взаимодействия персульфата калия с бромидом цетилпиридиния. Исследована его противомикробная и противогрибковая активность. Установлено, что пероксодисульфат цетилпиридиния обладает слабой антибактериальной активностью по сравнению с использованными тест-культурами, но имеет высокую антимикотическую активность относительно *Candida Albicans*.

**Ключевые слова:** персульфат калия; бромид цетилпиридиния; пероксодисульфат цетилпиридиния; биологическая активность.

Поверхностно-активные вещества (ПАВ), которые помимо алкильных цепочек содержат также пероксидные группы, являются многофункциональными. Один из приемлемых способов их получения — это ионообменная реакция между персульфатом калия (I) и поверхностно-активными четвертичными аммониевыми соединениями. Первый находит применение в промышленности как водорастворимый свободнорадикальный инициатор [1 – 4], вторые являются стабилизаторами эмульсий [4 – 6], а также проявляют определенную биологическую активность [5, 7 – 10]. Можно ожидать, что вещества, содержащие и пероксидную группу, и функциональные поверхностно-активные группы, будут способны стабилизировать эмульсии и инициировать радикальные процессы, а также проявлять биологическую активность.

В данной работе показана возможность получения пероксодисульфата цетилпиридиния (II) при взаимодействии I с бромидом цетилпиридиния (III), проведены калориметрические и спектральные исследования и изучена противогрибковая и противомикробная активность.

Целевое соединение получено реакцией ионного обмена I и III по следующей схеме:

**Экспериментальная химическая часть**

Во всех опытах применяли I, подвергнутый пятикратной перекристаллизации из бидистиллята воды и высушенный под вакуумом при комнатной температуре. Очищенный продукт содержал 99,9 % основного вещества.

В качестве ПАВ использовали анионный додецилсульфат натрия (IV), катионный III, додецилпиридиний хлорид (V) и неионный оксиэтилированный моно-

алкил спирт  $C_{16}H_{33}O(C_2H_4O)_{25}H(OC-25)$ . Все ПАВ фирмы “SIGMA Aldrich” (степень чистоты > 99,5 %).

Калориметрические исследования проводили при 25 °С с помощью микрокалориметра ДАК 1 – 1 типа Калве, который работает в изотермическом режиме [11, 12].

ИК-спектры снимали на приборе “Nicolet/FT-IR” Nexus по технике ATR в таблетках с KBr.

Элементный анализ проводили, используя метод сжигания [13].

**Пероксодисульфат цетилпиридиния (II).** К водному раствору III при постоянном перемешивании и комнатной температуре медленно добавляют водный раствор I при мольном соотношении I:III = 1:2 (объемы растворов I и III равны). Выпавший белый осадок отделяют центрифугированием. Осадок многократно промывают дистиллированной водой и высушивают при температуре 40 °С. Элементный анализ %: N — 3,54, S — 7,68. Молекулярная формула  $C_{42}H_{76}N_2S_2O_8$ , что соответствует строению соединения II (I + III). По данным элементного анализа нами установлено, что молекулы II действительно образуются при взаимодействии 1 моль I с 2 моль III.

Образовавшийся II практически не растворим в воде, в сравнительно полярном формамиде и в таких неполярных растворителях, как толуол, бензол, четыреххлористый углерод. Растворяется в диметилформамиде (ДМФА) и диметилсульфоксиде (ДМСО) [11, 12].

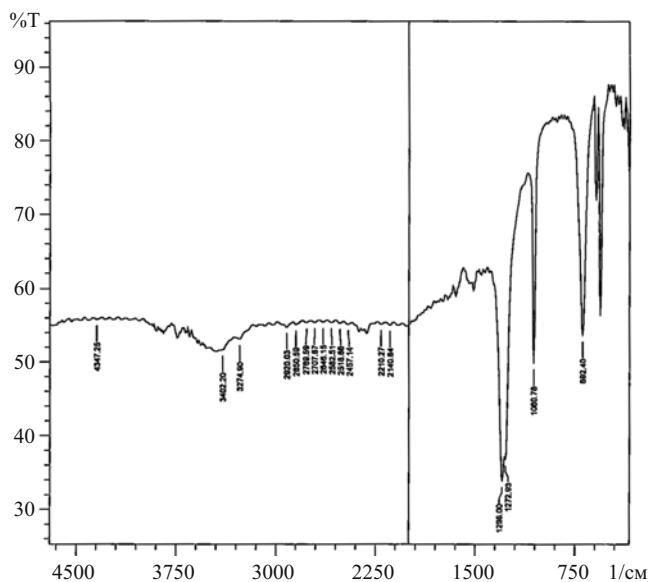
**Калориметрические измерения.** Прибор ДАК 1 – 1 имеет специально приготовленные калориметрические ячейки по образцу калориметров SETARAN. Ячейка имеет 2 изолированных отсека объемом 1 и 2 мл, в которых находятся изучаемые растворы. После

Таблица 1

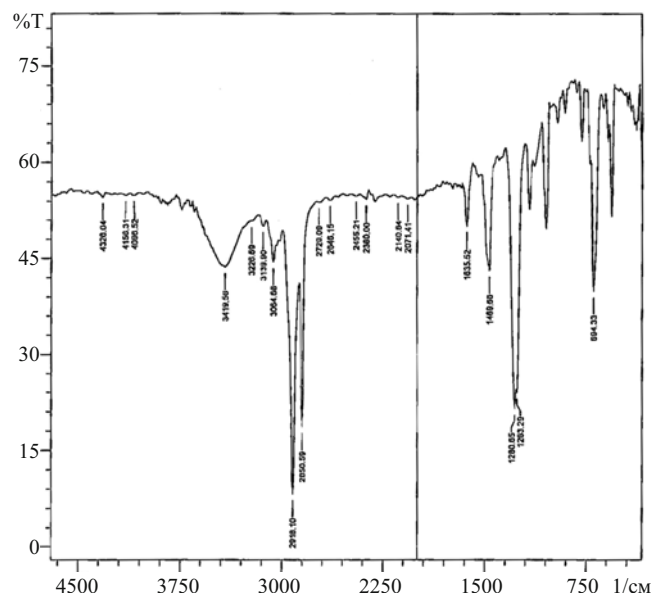
Значения теплоты взаимодействия ПАВ с I.

 $C_{ПАВ} = 10^{-4}$  моль · л<sup>-1</sup>

| ПАВ   | III   | V     | IV     | OC-25  |
|---|-------|-------|--------|--------|
| $\Delta Q_{ПАВ}$ , кДж · моль <sup>-1</sup> | + 9,4 | + 6,2 | - 13,2 | - 13,4 |



**Рис. 1.** ИК-спектры Фурье соединения I. По оси абсцисс — волновые числа  $\nu^{-1}$ , по оси ординат — % пропускания.



**Рис. 2.** ИК-спектры Фурье соединения II, по оси абсцисс — волновые числа  $\nu^{-1}$ , по оси ординат — % пропускания.

термостатирования ячейки отсеки открываются и растворы смешиваются. Калибровка прибора проводилась внутренним стандартом.

**ИК-Спектрометрия.** FT-IR спектроскопические исследования показали, что в спектрах чистых образцов I, II и III имеются существенные различия (рис. 1–3). Так, в образце I (рис. 1) валентное колебание  $-\text{O}-\text{SO}_2-$  наблюдалось при  $1270 \text{ см}^{-1}$ , а в случае II (рис. 2) происходило смещение в низкочастотную область при  $1253 \text{ см}^{-1}$ . Кроме того, имело место смещение полосы поглощения валентных колебаний  $\text{S}=\text{O}$  группы от  $1066 \text{ см}^{-1}$  в I до  $1047 \text{ см}^{-1}$  в II. Полученные данные свидетельствуют о взаимодействии  $-\text{O}-\text{SO}_2-$  группы I при образовании II с катионом цетилпириди-

ния (рис. 3). В спектре II смещение полосы валентных колебаний  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$  в высокочастотную область свидетельствует о наличии взаимодействия группы  $-\text{O}-\text{SO}_2-$  с катионом цетилпиридиния (в III).

Также ранее установлено, что некоторые физико-химические свойства II отличаются от свойств исходных веществ. В частности показано, что, в отличие от I и III, которые имеют кристаллическую структуру, II является аморфным веществом. Показано также, что II является более эффективным инициатором процесса окисления кумола, чем I [14–17].

Одним из методов, дающих определенную информацию о химическом взаимодействии 2 веществ, является калориметрия, которая применена для исследова-

Таблица 2

**Величина диаметра зоны задержки роста в мм**

| Соединение    | Микробные штаммы             |    |     |       |    |                   |                              |                 |                         |                         |    |
|---------------|------------------------------|----|-----|-------|----|-------------------|------------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|----|
|               | Грамположительные            |    |     |       |    | Грамотрицательные |                              |                 |                         |                         |    |
|               | <i>Staphylococcus aureus</i> |    |     |       |    | <i>E. coli</i>    | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>E. Typhi</i> | <i>Proteus Vulgaris</i> | <i>Candida Albicans</i> |    |
|               | 209 p                        | 1  | 118 | 25923 | 93 | 0–55              |                              | 79              | ATCC 13315              |                         |    |
| Соединение II | 17                           | 18 | 17  | 16    | 17 | 15                | 16                           | 16              | 14                      | 15                      | 22 |
| Тетрациклин   | 20                           | 18 | 20  | 21    | 20 | 20                | 16                           | 12              | 10                      | 10                      | 7  |
| Фуразолидон   | 22                           | 22 | 21  | 20    | 22 | 22                | 16                           | 20              | 16                      | 14                      | 8  |

Таблица 3

**Противомикробная и противогрибковая активность соединения II**

| Эксперимент | <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Proteus vulgaris</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Candida albicans</i> |
|-------------|-----------------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|
| 5/20        | мало                  |                              | нет                     | слабо                        | -                       |
| I + 5/50    | слабо                 | слабо-новый, нет             | –                       | +                            | ++                      |
| 6/20        | очень слабо           | слабо-новый                  | –                       | –                            |                         |
| II + 6/50   | очень слабо           | слабо-новый, нет             | –                       | –                            | +                       |
|             |                       | гр (+)                       |                         | гр (–)                       |                         |

Таблица 4

## МПК ЦППС (мг/мл)

| Соединение  | <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus Aureus</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Proteus vulgaris</i> ATCC13315 |
|-------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| II          | 48                    | 48                           | 48                           | 47                                |
| Тетрациклин | 38                    | 38                           | 38                           | 37                                |

ния взаимодействия I с ПАВ различной природы, среди которых были содержащие неионный — ОС-25, анионный — IV, катионные — III и V. Исследования проводили в водной среде при концентрациях ПАВ ниже критической концентрации мицеллообразования (КММ) [18]. Значения теплоты взаимодействия ПАВ с I ( $\Delta Q$ ) приведены в табл. 1. Отрицательное значение  $\Delta Q$  указывает на то, что между I и анионным IV или неионным ОС-25 нет химического взаимодействия и значения  $\Delta Q$  фактически относятся к процессу разведения. Положительные значения  $\Delta Q$  при взаимодействии ПК с четвертичными аммониевыми соединениями (III, V) говорят о наличии химического взаимодействия между ними.

## Экспериментальная биологическая часть

Противомикробную и противогрибковую активность соединения II изучали общепринятыми методами — методом “диффузии в агаре” (чашечным методом) и методом серийных разведений на мясопептонном бульоне (рН = 7,2–7,4) при бактериальной нагрузке 20 млн микробных тел в 1 мл среды [19]. В опытах использовали грамположительные стафилококки (*Staphylococcus aureus* 209 p, 1, 118, 25923, 93, 91), грамотрицательные палочки (*E. coli* 0–55, *Klebsiella pneumoniae*, *E. typhi* 79, *Proteus vulgaris* ATCC13315) и грибок (*Candida albicans*).

При изучении методом “диффузии в агаре” (чашечный метод) в чашки Петри диаметром 9 см с ровным и плоским дном, установленные на горизонтальном столике, разливали расплавленные среды определенного состава (сухой питательный агар) в 2 слоя. Для нижнего слоя использовали незасеянные среды в количестве 10 мл, для верхнего слоя — агаровую среду с соответствующей тест-культурой в количестве 5 мл.

Температура расплавленной для засева среды не должна превышать 48–50 °С. После застывания агара на поверхность чашки расставляли стерильные цилиндрики из нержавеющей стали, высотой 10 мм и внутренним диаметром 6 мм. В цилиндрики вносили по 0,1 мл раствора испытуемого вещества. Растворы готовили в ДМСО в разведении 1:20. Учет результатов производили по диаметру (d, мм) зон отсутствия роста микроорганизмов на месте нанесения препаратов после суточного выращивания в термостате при температуре 37 °С. В качестве положительного контроля 2 методами исследования использовали известные лекарственные препараты — тетрациклин и фуразолидон [20].

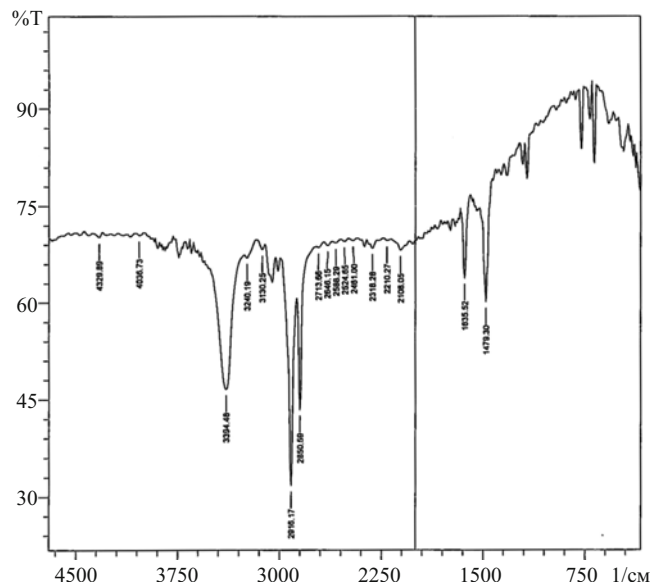


Рис. 3. ИК-спектры Фурье соединения III. По оси абсцисс — волновые числа  $\nu^{-1}$ , по оси ординат — % пропускания.

Исследования проводились также методом серийного разведения, при этом на каждый подопытный микроорганизм составляли ряды по 5–7 пробирок, содержащие питательную среду (мясопептонный бульон) с различными концентрациями испытуемого вещества. Первой в ряд ставилась пробирка с 4 мл раствора (начальная концентрация), а последующие пробирки содержали по 1 мл мясопептонного бульона с  $2 \cdot 10^6$  бактериальной нагрузкой. Затем в стерильных условиях проводились серийные разведения. 1 мл из последней пробирки переносили в пустую стерильную пробирку, которая служила контролем стерильности разведения вещества (в нее культура не закапывалась). Опыт учитывали только в отсутствие роста микробов в этой пробирке. Контрольной в каждом ряду являлась пробирка со средой той же серии без вещества (контроль роста культуры). Пробирки засеивали одинаковым количеством бактериальной взвеси, приготовленной из 18-часовой культуры. Исходное разведение культуры готовили по оптическому стандарту мутности. Результаты опыта учитывали по росту культуры после 20–24 ч инкубации в термостате при 37 °С.

## Результаты и их обсуждение

Большой интерес представляет найденная биологическая активность II. Экспериментальные данные подтвердили наше предположение о синергетическом эффекте по сравнению с активностью соединения III. Ранее нами показаны противовоспалительные свойства соединения II в условиях экспериментального ожога [21]. В данной работе представлены результаты исследований по противогрибковой и противомикробной активности II.

Изучение противомикробного действия II методом “диффузии в агаре” в разведении 1:20 показало, что II

обладает слабой противобактериальной активностью по отношению к использованным микробным тест-культурам, угнетая рост микробов в зоне диаметром 15 – 18 мм, а по отношению к *Candida* II обладает высокой активностью (табл. 2).

В опытах использовали штаммы *Staphylococcus* (непатогенный) и *Staphylococcus aureus* (патогенный, грамположительный), *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* (грамотрицательный) и *Candida albicans*. Установлено, что II обладает слабой антибактериальной активностью по сравнению с использованными микробными тест-культурами, угнетая рост микробов в зоне диаметром 15 – 18 мм, но относительно *Candida albicans* II проявляет более высокую активность (табл. 3). За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) принимали ту наименьшую концентрацию препарата, которая задерживает рост микроорганизмов. МПК для II примерно в 1,3 раза больше МПК тетрациклина (табл. 4).

Таким образом, полученный II можно рассматривать как эффективный противогрибковый препарат, что закреплено получением соответствующего патента РА [22].

## ЛИТЕРАТУРА

1. I. M. Kolthoff, E. Meehan, E. M. Carr, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1439 – 1441 (1953).
2. P. D. Bartlett, K. Nozaki, *J. Polym. Sci.*, **3**(2), 216 – 222 (1948).
3. В. И. Елисеева, С. С. Иванчев, С. И. Кучанов, А. П. Лебедев, *Эмульсионная полимеризация и ее применение в промышленности*, Химия, Москва (1976).
4. В. И. Елисеева, *Полимерные дисперсии*, Химия, Москва (1980).
5. R. S. Harutunian, A. Babakhanian and N. M. Beylerian, *J. Surf. Sci. Technol.*, **14**(1 – 4), 55 – 69 (1998).
6. Дж. Г. Чшмаритян, М. В. Григорян, Р. С. Арутюнян, *Физико-химия полимеров (Тверь)*, № 14, 230 – 232 (2008).
7. T. Zhao, G. Sun, *J. Appl. Microbiol.*, **104**(3), 824 – 830 (2008).
8. G. McDonnell, A. D. Russell *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**(1), 147 – 149 (1998).
9. S. J. Broadley, P. A. Jenkins, J. R. Furr, A. D. Russell, *J. Med. Microbiol.*, **43**(6), 458 – 460 (1995).
10. M. V. Jones, T. M. Herd, H. J. Christie, *Microbios.*, № 58, 49 – 61 (1989).
11. Э. Кальве, А. Прам, *Микрокалориметрия*, Иностранная литература, Москва (1963).
12. K. I. Seo, I. J. Chung, *J. Polym. Sci.*, **41**(12), 4491 – 4499 (2000).
13. Р. Шрайнер, Р. Фьюзон, Д. Кёрвин, Т. Морилл, *Идентификация органических соединений*, Мир, Москва (1983), с. 108.
14. Р. С. Арутюнян, А. К. Довлатян, Г. А. Габриелян, *Хим. ж. Армении*, **63**(4), 538 – 540 (2010).
15. А. К. Довлатян, *Ученые записки ЕГУ (Ереван)*, № 2, 13 – 16 (2011).
16. А. К. Dovatyan, R. S. Harutyunyan, *Investigation of physicochemical and biological activities of cetylpyridinium peroxydisulfate*, “*Colloids and Nanomedicine 2012*”, Amsterdam, The Netherlands, 15 – 17 July (2012), p. 1.9.
17. Л. Р. Варданян, А. К. Довлатян, Р. Л. Варданян, Р. С. Арутюнян, *Хим. ж. Армении*, **66**(1), 26 – 31 (2013).
18. *Поверхностно-активные вещества*, Справочник, А. А. Абрамзон, Г. М. Гаевая (ред.), Химия, Ленинград (1979).
19. Н. С. Егоров, *Основы учения об антибиотиках*, Высшая школа, Москва (1979), сс. 168 – 176.
20. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2007).
21. А. К. Довлатян, Р. С. Арутюнян, Г. В. Гаспарян, С. А. Булюян, *Кровь*, **14**(2), 81 – 84 (2012).
22. А. К. Довлатян, Р. С. Арутюнян, П. А. Казарян, *Использование цетилпиридиниум пероксодисульфата как антигрибковое вещество*, Патент Армении № 2788 А, № АМ 20120069 (2013).

Поступила 30.01.15

## SOME PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CETYLPYRIDINIUM PEROXODISULFATE

A. K. Dovatyan\*, P. A. Kazaryan, R. S. Harutyunyan

Yerevan State University, Yerevan, Armenia

\* e-mail: adovatyan@ysu.am

Some physicochemical properties of cetylpyridinium peroxydisulfate (CPPS) resulting from the interaction of potassium persulfate with cetylpyridinium bromide have been studied using calorimetry, Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, and scanning electron microscopy (SEM) methods. The antifungal and antibacterial properties of CPPS have been estimated. It is established that CPPS possesses weak antibacterial activity with respect to all test cultures. At the same time, CPPS exhibited high activity against *Candida albicans* fungus.

**Keywords:** potassium persulfate; cetylpyridinium bromide; cetylpyridinium peroxydisulfate; biological activity; antimycotic activity.