

О. Е. Журавлев, Л. И. Ворончихина

## СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕЙ N-ДЕЦИЛПИРИДИНИЯ С НЕОРГАНИЧЕСКИМИ АНИОНАМИ

Тверской государственный университет, Россия, Тверь, Желябова, 33; e-mail: pifchem@mail.ru

Получены соли N-децилпиридиния с различными неорганическими анионами. Методами ИК-спектроскопии и элементного анализа подтверждена структура и состав солей. Изучена их антимикробная активность в отношении нескольких штаммов грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов, а так же дрожжеподобных грибов. Показано, что все исследованные соединения обладают широким спектром антибактериальной активности. Установлено, что замена хлорид иона на исследованные неорганические анионы приводит к увеличению антимикробной активности.

**Ключевые слова:** антимикробная активность; ионные жидкости; четвертичные соли пиридиния.

Соединения, содержащие в своей структуре четвертичные атомы азота с длинноцепочечными алкильными заместителями, уже много лет применяют в медицинской практике в качестве противомикробных средств. Установлены важные закономерности связи между химической структурой этих веществ и их противомикробным действием [1–3], позволившие создать ряд эффективных препаратов. Потребность в подобных препаратах определяется, прежде всего, выраженной изменчивостью микроорганизмов, формированием и широким распространением их резистентных вариантов.

Известно, что производные четвертичного аммония и гетероциклических аминов сравнительно легко могут быть синтезированы. Несомненно, что на биологическую активность четвертичных солей аминов оказывает влияние как природа катиона, так и аниона, поэтому замена традиционных галогенид-анионов в структуре соли на объемные типа  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ , и другие анионы должна сказаться на изменении их биологической активности. Подобные соединения — четвертичные соли аммония, пиридиния, имидазолия, содержащие объемные гидрофобные или гидрофильные анионы вместо галогенид-анионов и находящиеся в жидком состоянии в широком интервале температур, получили название ионные жидкости (ИЖ). Широкое использование ИЖ связано с их исключительным набором свойств, главными из которых являются: низкое давление насыщенных паров, широкий интервал жидкого состояния, термическая и электрохимическая устойчивость, высокая электропроводность, малотоксичность, негорючесть [4–7].

На данный момент известны работы, посвященные токсичности и биоразлагаемости ряда ИЖ на основе солей имидазолия и пиридиния с радикалами  $\text{C}_1$ – $\text{C}_8$  [8], а также антимикробной активности гексафторфосфатов и тетрафторборатов имидазолия с длинноцепочечными алкильными радикалами [9] и противогрибковым свойствам производных хинолина [10]. Отмечается достаточно высокая противомикробная активность исследованных соединений и сравнительно

невысокая токсичность. Литература по исследованию антимикробной активности четвертичных солей пиридиния с длинноцепочечными радикалами и неорганическими анионами отсутствует. В опубликованных исследованиях не приводятся данные о влиянии аниона (при одноименном катионе) на противомикробную активность четвертичных солей пиридиния. Известно лишь, что замена хлорид-аниона на  $\text{BF}_4^-$  и  $\text{PF}_6^-$  анионы не влияет на противомикробную активность 1,3-диалкилимидазолиевых ИЖ [8].

Целью данной работы был синтез солей N-децилпиридиния с различными неорганическими анионами (схема) и оценка их противомикробной активности в сравнении с их базовым соединением хлоридом N-децилпиридиния, а также изучение влияния замены аниона на их активность.

### Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры снимали на Фурье-спектрометре ALPNA (Германия). Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах сделано на основании литературных данных [11]. Элементный анализ выполняли на анализаторе Perkin Elmer CHNS/O PE 2400-II (Германия).

**Хлорид N-децилпиридиния (I)** был коммерческим продуктом марки х.ч. Перед использованием I перекристаллизовывают из ацетона и сушат в вакууме.

**Нитрат N-децилпиридиния (II).** Навеску 4 г (16 ммоль) N-децилпиридиний хлорида растворяют в 10 мл воды и прибавляют по каплям при перемешивании раствор нитрата серебра 2,66 г (16 ммоль) в 10 мл воды. Смесь перемешивают в течение 2 ч в темноте. Осадок  $\text{AgCl}$  отфильтровывают, полученный фильтрат упаривают на ротационном испарителе. Сушат в вакууме в течение 1 сут. Продукт — светло-жёлтая вязкая жидкость. Выход 3,93 г (96 %). ИК-спектр,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3060 ( $\text{C-H}_{\text{ар}}$ ), 2955, 2925, 2855 ( $\text{C-H}_{\text{алиф}}$ ), 1489, 1466 ( $\text{C-C}_{\text{ар}}$ ), 1350, 830 ( $\text{NO}_3^-$ ), 777, 687 ( $\delta_{\text{C-Налиф}}$ ).  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ .

**Тетрафторборат N-децилпиридиния (III).** В плоскодонной колбе объемом 100 мл растворяют при на-

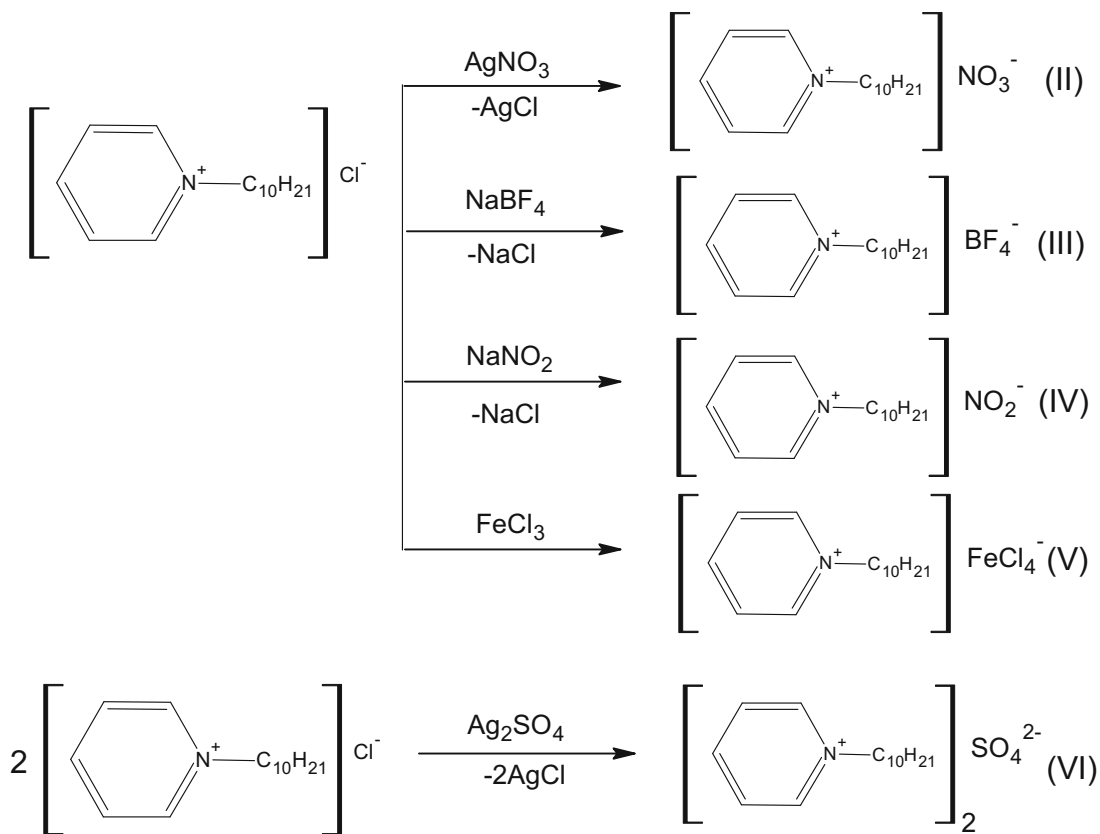


Схема синтеза соединений.

гревании в минимальном количестве воды 5,1 г (20 ммоль) децилпиридиний хлорида. Затем по каплям при перемешивании добавляют эквимолярное количество тетрафторбората натрия ( $\text{NaBF}_4$ ). В результате реакции образуются 2 фазы: верхняя — водный раствор  $\text{NaCl}$ , нижняя — ионная жидкость. Фазы разделяют на делительной воронке. Сушат в вакууме в течение 24 ч. Полученный III после сушки представляет собой прозрачные кристаллы, плохо растворимые в воде, хорошо растворимые в полярных органических растворителях (спирт, ацетон, ацетонитрил и т.д.). Выход 5,71 г (93 %);  $T_{\text{пл}}$  48 – 50 °С. ИК-спектр,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3045 ( $\text{C-H}_{\text{ар}}$ ), 2978, 2843 ( $\text{C-H}_{\text{алиф}}$ ), 1490, 1473 ( $\text{C-C}_{\text{ар}}$ ), 1048 ( $\text{BF}_4^-$ ), 721, 684 ( $\delta_{\text{C-Налиф}}$ ).  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{BF}_4\text{N}$ .

**Нитрит N-децилпиридиния (IV).** Навеску 4 г (16 ммоль) N-децилпиридиний хлорида растворяют в 10 мл воды и добавляют по каплям при перемешивании раствор нитрита натрия 1,05 г (16 ммоль) в 10 мл воды. Смесь перемешивают в течение 3 ч. Полученную смесь упаривают на ротационном испарителе для удаления воды. Затем добавляют сухой ацетон, для растворения нитрита N-децилпиридиния осадок хлорида натрия отфильтровывают, а фильтрат упаривают на ротационном испарителе. Сушат в вакууме в течение 1 сут. Продукт — светло-жёлтая аморфная масса. Выход 3,44 г (85 %);  $T_{\text{пл}}$  81 – 83 °С. ИК-спектр,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3061 ( $\text{C-H}_{\text{ар}}$ ), 2956, 2925, 2855 ( $\text{C-H}_{\text{алиф}}$ ), 1489, 1466 ( $\text{C-C}_{\text{ар}}$ ), 1231 ( $\text{NO}_2^-$ ), 777, 687 ( $\delta_{\text{C-Налиф}}$ ).  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$ .

**Тетрахлорферрат N-децилпиридиния (V).** В колбе смешивают горячие растворы хлорида железа(III)

(50 ммоль) и хлорида N-децилпиридиния (50 ммоль) в ацетоне. Смесь кипятят при постоянном перемешивании в течение 10 – 15 мин. Ацетон упаривают, сушат в вакууме над  $\text{P}_4\text{O}_{10}$  в течение 1 сут. Продукт представляет собой темно-зеленую жидкость; растворяется в воде (сильно гидролизует, так как анион  $\text{FeCl}_4^-$  не устойчив в водном растворе) и других полярных растворителях (спирт, ацетон, ацетонитрил). Выход 20,4 г (98 %). ИК-спектр,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3052 ( $\text{C-H}_{\text{ар}}$ ), 2945, 2877 ( $\text{C-H}_{\text{алиф}}$ ), 1572, 1478, 1451 ( $\text{C-C}_{\text{ар}}$ ), 786, 684 ( $\delta_{\text{C-Налиф}}$ ).  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_4\text{FeN}$ .

**Сульфат N-децилпиридиния (VI).** К раствору сульфата серебра 2,12 г (6,8 ммоль) в 200 мл воды, предварительно разогретом до 80 °С (для полного растворения  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ), при тщательном перемешивании прибавляют раствор N-децилпиридиний хлорида 3,48 г (13,6 ммоль) в воде (10 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 3 ч при нагревании (50 – 60 °С). Осадок  $\text{AgCl}$  отфильтровывают, полученный фильтрат упаривают на ротационном испарителе. Сушат в вакууме в течение 1 сут. Продукт — светло-жёлтая аморфная масса. Выход 3,47 г (95 %);  $T_{\text{пл}}$  107 – 109 °С. ИК-спектр,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3062 ( $\text{C-H}_{\text{ар}}$ ), 2925, 2855 ( $\text{C-H}_{\text{алиф}}$ ), 1583, 1489, 1457 ( $\text{C-C}_{\text{ар}}$ ), 1083 ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), 780, 689 ( $\delta_{\text{C-Налиф}}$ ).  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ .

#### Экспериментальная биологическая часть

Антибактериальную активность полученных соединений изучали методом диффузии в агар на среде

Muller-Hinton в соответствии с методиками, рекомендованными CLSI Document M2-A9, M100-S18 [12, 13], по отношению к тест-культурам микроорганизмов, представленных грамположительными бактериями: *Bacillus subtilis* 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* NCTC 2696; грамотрицательными бактериями: *E. coli* ATCC 25922, *Shigella sonnei* III № 1908, *Salmonella typhimurium* 5715, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; противогрибковую активность изучали в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC 885 – 653.

Тест-культуры микроорганизмов засеивали газоном на питательные среды и исследуемые образцы с концентрацией 5 мг/мл помещали микропипеткой объемом 10 мкл на засеянную тестовой культурой микроорганизмов поверхность оптимальной питательной среды Muller-Hinton 2 и культивировали при 37 °С в течение 1 сут.

Антибактериальную активность образцов оценивали по диаметру зон задержки роста тест-штаммов в мм. Диаметры зон меньше 10 мм оценивали как отсутствие антимикробной активности, 10 – 15 мм — слабая активность, 15 – 20 мм — умеренно выраженная активность, свыше 20 мм — выраженная. Результаты микробиологического исследования приведены в таблице.

### Результаты и их обсуждение

Все соединения проявили среднюю и высокую противомикробную активность в отношении всех тест-культур микроорганизмов. Наиболее выраженной активностью соединения обладали в отношении гноеродного стрептококка (*Streptococcus pyogenes*), зоны задержки роста составляли от 20 до 31 мм в диаметре, и спорообразующей сенной палочки (*Bacillus subtilis*), диаметр зоны задержки роста — 18 – 40 мм. В отношении другого грампозитивного микроорганизма — золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) — высокой бактериостатической активностью (20 – 22 мм) обладали соединения II, IV – VI и средней (15 – 18 мм) соединения I и III.

Грамотрицательные микроорганизмы (кишечная палочка, шигеллы, сальмонеллы, псевдомонады) проявили промежуточную чувствительность к исследуемым соединениям. Диаметр зоны задержки роста составил 10 – 19 мм. Наиболее выраженную противомикробную активность по отношению к подавляющему большинству микроорганизмов показал тетрахлорферрат N-децилпиридиния (V), причем его активность к штаммам микроорганизмов *E. coli*, *Shigella sonnei*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* выше, чем у остальных изученных соединений. Такой эффект может быть обусловлен тем, что тетрахлорферрат анион в водном растворе подвергается гидролизу, и одним из продуктов гидролиза является соляная кислота, которая существенно подавляет рост микроорганизмов. Дрожжеподобные грибы *Candida albicans* проявили промежуточную чувствительность к исследуемым соединениям с одинаковой зоной задержки роста 15 мм в диаметре, кроме соединения V, которое проявило высокую активность.

Из данных таблицы можно заключить, что замена хлорид-аниона на исследованные неорганические анионы приводит к росту противомикробной активности соединений.

Таким образом, все исследованные соединения обладают широким спектром антибактериальной активности. Причем в большей степени их действие распространяется на грамположительные бактерии — стрептококки и стафилококки, которые вызывают в основном гноеродные инфекции, а также пневмонии, ревматизм, скарлатину, рожистые воспаления, колиты и другие заболевания кожи, слизистой оболочки, кишечника и др., включая кариез, и могут быть предложены в качестве противомикробных препаратов.

Среднюю по выраженности противомикробную активность соединения оказывали на грамотрицательные микроорганизмы кишечной группы бактерий (сальмонеллы, псевдомонады), возбудителей эшерихиозов, бактериальной дизентерии, сальмонеллеза и на дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых кандидатов наук (грант

### Антимикробная активность солей N-децилпиридиния

Соединение*	Диаметр зон задержки роста, мм							Дрожжеподобные грибы
	gram <sup>+</sup>			gram <sup>-</sup>				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus subtilis</i> 6633	<i>Streptococcus pyogenes</i> NCTC 2696	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Shigella sonnei</i> III №1908	<i>Salmonella typhimurium</i> 5715	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
I	18	21	20	12	15	13	10	15
II	20	26	30	14	17	11	12	15
III	15	20	31	14	16	10	11	15
IV	20	24	23	12	19	13	10	15
V	40	22	18	29	30	0	25	25
VI	20	20	30	14	18	13	11	15

\* Номера соединений соответствуют номерам на схеме.

№ 14.Z56.15.4358-МК), а также при софинансировании Министерства образования и науки РФ в рамках проектной части Государственного задания в сфере научной деятельности (проект № 4.1325.2014/К).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Ляпунов, Л. Г. Бобылева, Л. В. Иванов и др., *Фармация*, **33**(3), 26 – 30 (1984).
2. О. В. Гудзь, Г. Т. Писько, *Микробиол. ж.*, **50**(3), 75 – 78 (1988).
3. А. Г. Голиков, П. В. Решетов, А. П. Кривенько и др., *Хим.-фарм. журн.*, **39**(9), 23 – 25 (2005); *Pharm. Chem. J.*, **39**(9), 473 – 475 (2005).
4. J. P. Hallett and T. Welton, *Chem. Rev.*, **111**(5), 3508 – 3576 (2011).
5. T. Torimoto, and T. Tsuda, K. I. Okazaki, et al., *Adv. Mater.*, **22**(11), 1196 – 1221 (2010).
6. H. Olivier-Bourbigou, and L. Magna, D. Morvan, *Appl. Catal., A: General*, **373**(1 – 2), 1 – 56 (2010).
7. R. Giernoth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**(16), 2834 – 2839 (2010).
8. K. M. Docherty and C. F. Kulpa, *Green Chem.*, № 7, 185 – 189 (2005).
9. J. Pernak, and K. Sobaszekiewicz, I. Mirska, *Green Chem.*, № 5, 52 – 56 (2003).
10. Г. А. Александрова, Н. Е. Щепина, С. Ю. Баландина и др., *Инфекция и иммунитет*, **3**(4), 365 – 370 (2013).
11. Л. А. Казицина, Н. Б. Кушлетская, *Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии*, Высшая школа, Москва (1971), сс. 257 – 258.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS), Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Ninth Edition, Document M2-A9, Wayne, Pa (2006).
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement, Document M100-S18, Wayne, Pa (2008).

Поступила 06.02.16

## SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF N-DECYLPYRIDINIUM SALTS WITH INORGANIC ANIONS

O. E. Zhuravlev and L. I. Voronchikhina

Tver State University, Tver, 170100 Russia;

\* e-mail: pifchem@mail.ru

A series of N-decylpyridinium salts with various inorganic anions have been obtained. The IR spectroscopy and elemental analysis confirmed the proposed structure and composition of the salts. Their antimicrobial activity was studied against several strains of Gram positive and Gram negative microorganisms as well as yeasts. It is found that all investigated compounds possess a broad spectrum of antibacterial activity. It is established that the replacement of chloride ion by the proposed inorganic anions leads to increase in the antimicrobial activity.

**Keywords:** ionic liquids; quaternary pyridinium salt; antimicrobial activity.