

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 616.988.23

Антимикробная активность новых синтезированных ненасыщенных аммониевых солей и композиций на их основе**А. В. Бабаханян¹, М. О. Манукян¹, Ж. Р. Бабаян²,
Ю. Т. Алексанян², А. В. Маргарян², А. Э. Казарян²**

¹*Армянский государственный педагогический университет им. Х. Абовяна
0010, Ереван, пр. Тигран Меци, 17*

²*НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии
им. А. Б. Алексаняна МЗ РА
0060, Ереван, ул. Худякова, 1*

Ключевые слова: патогенные и условнопатогенные микроорганизмы, чувствительность, дезинфицирующие средства, четвертичные аммониевые соединения, бактерицидная активность, грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы

В непрекращающемся процессе распространения инфекционных заболеваний просматривается такой важный факт, как возрастающая роль внутрибольничных инфекций, вызываемых патогенными и условнопатогенными микроорганизмами, которые представляют для практического здравоохранения весьма значительную эпидемиологическую проблему.

В числе первостепенных актуальных задач в дезинфектологии, требующих неотложных мероприятий, – организация борьбы с микробным загрязнением предметов окружающей среды, являющихся источником и одним из главных путей передачи возбудителей инфекций. Следует отметить, что вероятность эпидемиологических вспышек острых кишечных и внутрибольничных инфекций в лечебных учреждениях, а также их распространение в быту вызваны не только по причине микробной загрязненности предметов окружающей среды, но и вследствие приобретения микроорганизмами устойчивости к применяемым на практике дезинфектантам [1, 9, 13]. В результате проведенных за последние годы исследований выявлен также высокий процент устойчивых и среднеустойчивых к хлорамину (маркеру госпитальных штаммов) микроорганизмов [6]. Наибольшее значение проблема устойчивости приобрела для возбудителей инфекционных заболеваний, среди которых часто встречаются и полирезис-

тентные штаммы. Предотвращение передачи и распространения возбудителей инфекций может быть обеспечено при организации предусмотренных профилактических и противоэпидемических мероприятий. Однако, из-за проявления резистентности бактерий, проведение текущей и заключительной дезинфекции иногда оказывается малоэффективным.

Радикальной мерой предотвращения развития и преодоления резистентности является своевременное чередование дезинфицирующих средств, часто посредством перехода к новым препаратам или их комбинации с синергистами.

В этом плане, с целью расширения арсенала антимикробных средств, несомненный интерес представляют поверхностно-активные четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), содержащие непредельные группы [7]. Дальнейший поиск в этом направлении привел к целенаправленному синтезу ряда моно- и бисаммониевых солей, обладающих антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [2, 3, 5]. Несомненно, получение новых аналогов позволит при наличии строгой корреляции между антимикробным действием и химической структурой создать предпосылки для необходимого варьирования строения соединений с планируемой способностью подавлять рост бактерий. Это поможет отойти от эмпирического принципа создания антимикробных препаратов к направленному синтезу целевых ЧАС. Зависимость антимикробного действия от химической структуры последних, как правило, удается выявить в особенности в гомологических рядах. Важное значение для проявления антибактериального эффекта аммониевой соли имеет строение исходного для их синтеза третичного амина. Ранее нами показана возможность получения антимикробных препаратов на основе третичных аминов – продуктов перегруппировки Стивенса аммониевых солей различного строения [4, 11]. Используемый метод получил очень большое значение в синтетической органической химии, поскольку позволяет с хорошими выходами получать функционально замещенные амины определенного строения.

Для решения неотложных задач получения дезинфектантов и повышения их эффективности перспективным направлением является разработка бактерицидных композиций на основе соединений с разным механизмом и спектром действия. Компонентами могут быть вещества, содержащие различные функциональные группы и, соответственно, проявляющие различную антибактериальную активность. Известно, что значительный интерес представляет создание бактерицидных композиций на основе ЧАС с пероксидом водорода (ПВ) и катамина АБ [12].

Целью настоящей работы является изучение антимикробной активности вновь синтезированных поверхностно-активных ЧАС и композиций на их основе в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Материал и методы

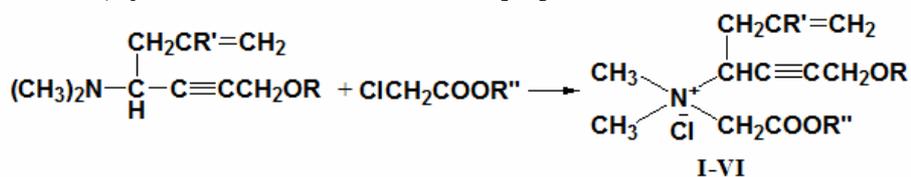
ЧАС I-VI синтезированы при комнатной температуре взаимодействием эквимольных количеств диметил(1-(алкен-2-ил))-4-аллилокси(фенилокси)бутин-2-иламина и алкиловых эфиров монохлоруксусной кислоты. Чистота полученных соединений проверена методом ТСХ, а строение подтверждено данными ИК спектров.

Антимикробную активность определяли методом обеззараживания батистовых тест-объектов размером 5×10мм, обсемененных взвесью микробной культуры, приготовленной на стерильной водопроводной воде, содержащей 2млрд микробных клеток в 1мл, из расчета 20мл суспензии на 50 штук батистов [8]. В опытах использовали бактерии в виде суспензии суточных эталонных культур кишечной палочки (штамм 1257) и золотистого стафилококка (штамм 906). Контаминированные тест-объекты, подвергнутые воздействию дезинфектанта (из расчета на каждый тест-объект 0.5мл раствора), после истечения определенного времени (5, 10, 15, 20, 25 и 30 минут) отмывали в растворе нейтрализатора (0.5% раствор гипосульфита натрия для хлорамина и 0.1% раствор сульфанола для ЧАС и композиций), стерильной водопроводной воде и помещали в пробирки с мясо-пептонным бульоном. Посевы с культурами бактерий выращивали в термостате при температуре 37⁰С в течение 7 суток. О наличии роста судили по помутнению бульона. Окончательные результаты учитывали после высева на твердые питательные среды и микроскопирования мазков, приготовленных с проросших колоний.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

В продолжение наших исследований для синтеза поверхностно-активных ЧАС I-VI в качестве исходных третичных аминов использованы продукты перегруппировки Стивенса диметил-2-алкенил-4-аллилокси(фенилокси)бутин-2-иламмониевых солей [10].



R' = H, R = CH₂CH=CH₂, R'' = C₁₀H₂₁ (I), R' = H, R = CH₂CH=CH₂, R'' = C₁₂H₂₅ (II),
 R' = CH₃, R = CH₂CH=CH₂, R'' = C₁₀H₂₁ (III), R' = H, R = C₆H₅, R'' = C₁₀H₂₁ (IV), R' =
 CH₃, R = C₆H₅, R'' = C₁₀H₂₁ (V), R' = CH₃, R = C₆H₅, R'' = C₁₂H₂₅ (VI)

Результаты изучения антимикробной активности синтезированных ЧАС (табл. 1) свидетельствуют о наличии бактерицидной активности ЧАС I-VI, которая наиболее выражена у соединений I, III-V с децильной группой в сложноэфирном радикале. Сравнение полученных данных подтверждает зависимость антимикробной активности от длины гидрофобного радикала, природы и положения заместителей в непредельном радикале ЧАС.

Таблица 1

Антимикробная активность ЧАС I-VI

Соединение	R	R'	R''	Концентрация, %	Время гибели микроорганизмов, мин	
					кишечная палочка (шт.1257)	золотистый стафилококк (шт. 906)
I	CH ₂ CH=CH ₂	H	C ₁₀ H ₂₁	0.1	5	5
				0.05	10	10
				0.025	25	20
				0.0125	>30	>30
II	CH ₂ CH=CH ₂	H	C ₁₂ H ₂₅	0.1	20	20
				0.05	30	25
				0.025	>30	>30
III	CH ₂ CH=CH ₂	CH ₃	C ₁₀ H ₂₁	0.1	5	5
				0.05	10	10
				0.025	15	15
				0.0125	>30	30
IV	C ₆ H ₅	H	C ₁₀ H ₂₁	0.1	5	5
				0.05	10	10
				0.025	20	15
				0.0125	>30	>30
V	C ₆ H ₅	CH ₃	C ₁₀ H ₂₁	0.05	10	5
				0.025	25	20
				0.0125	>30	30
VI	C ₆ H ₅	CH ₃	C ₁₂ H ₂₅	0.1	15	10
				0.05	25	20
				0.025	>30	30

Результаты изучения антимикробной активности разработанных нами композиций K1-K12 на основе синтезированных ЧАС с ПВ и катамином АБ, приведенные в табл. 2, подтверждают проявление ожидаемого синергического эффекта.

Таблица 2

Антимикробная активность композиций К1-К12

Композиция	Состав, %	Время гибели микроорганизмов, мин	
		кишечная палочка (шт. 1257)	золотистый стафилококк (шт. 906)
К1	ЧАС I 0.025% + 0.01% катамин	25	20
	АБ	10	5
	0.05% + 0.01% 0.025% + 0.025%	10	10
К2	ЧАС I 0.025% + 3% ПВ	20	20
	0.025% + 1.5%	25	25
К3	ЧАС II 0.1% + 0.025% катамин	10	10
	АБ	20	15
	0.1% + 0.01%	20	15
	0.05% + 0.025% 0.025% + 0.025%	30	25
К4	ЧАС II 0.1% + 3% ПВ	15	15
	0.05% + 3%	25	25
	0.1% + 1.5%	20	20
К5	ЧАС III 0.025% + 0.01% катамин	10	10
	АБ	30	30
	0.0125% + 0.01% 0.025% + 0.025%	5	5
К6	ЧАС III 0.025% + 3% ПВ	10	5
	0.025% + 1.5%	15	10
К7	ЧАС IV 0.025% + 0.01% катамин	15	15
	АБ	5	5
	0.05% + 0.01% 0.025% + 0.025%	10	10
К8	ЧАС IV 0.025% + 3% ПВ	15	10
	0.025% + 1.5%	20	15
К9	ЧАС V 0.05% + 0.025% катамин	5	5
	АБ	15	10
	0.025% + 0.025%	25	20
	0.0125% + 0.025% 0.05% + 0.01%	10	5
К10	ЧАС V 0.05% + 3% ПВ	5	5
	0.025% + 3%	15	15
	0.0125% + 3%	30	30
	0.025% + 1.5%	20	20
К11	ЧАС VI 0.1% + 0.025% катамин	10	5
	АБ	15	10
	0.05% + 0.025%	25	20
	0.025% + 0.025% 0.1% + 0.01%	15	10
К12	ЧАС VI 0.01% + 3% ПВ	10	10
	0.05% + 3%	20	20
	0.1% + 1.5%	15	10
	0.05% + 1.5%	25	25

При сравнении полученных данных (табл. 2) видно, что сочетание ЧАС III с катамином АБ (0.025 %) – К5 обеспечивает бактерицидное

действие в течение 5 минут. Наряду с высокой бактерицидной активностью соединения III, время гибели изученных штаммов кишечной палочки и золотистого стафилококка при действии K5 сокращается в 3 раза. Показано также, что при замене катамина АБ на ПВ наиболее эффективна композиция K6 (ЧАС III 0.025%, ПВ 1.5%). Бактерицидное действие наступает в течение 10-15 минут.

Экспериментальная часть

ИК спектры сняты на приборе Specord IR-75 в вазелиновом масле. Чистота полученных солей проверена методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254 в системе растворителей *n*-бутанол- этанол- вода- уксусная кислота, 10:7:6:4. Проявитель – пары йода.

Синтез ЧАС I-VI. Смесь 0.01 моля диметил(1-(алкен-2-ил))-4-аллилокси(фенилокси)бутин-2-иламина и 0.01 моля соответствующего алкилового эфира монохлоруксусной кислоты выдерживали при комнатной температуре 7 суток, после чего образовавшуюся соль промывали абсолютным эфиром и высушивали в эксикаторе над CaCl₂ (табл. 3). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1075, 1230, 1725 (COO, C-O-C), 2240 (-C≡C-).

Таблица 3
Выходы, константы и данные элементного анализа соединений I-VI

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	Найдено, %		Формула	Вычислено, %	
			N	Cl		N	Cl
I	73	вязк.	3.09	8.52	C ₂₃ H ₄₂ NCIO ₃	3.27	8.3
II	57	92-93	3.15	7.64	C ₂₆ H ₄₆ NCIO ₃	3.07	7.79
III	90	106-108	3.35	8.26	C ₂₅ H ₄₄ NCIO ₃	3.17	8.04
IV	64	вязк.	3.25	7.25	C ₂₇ H ₄₂ NCIO ₃	3.02	7.66
V	60	108-110	3.06	7.12	C ₂₈ H ₄₄ NCIO ₃	2.93	7.43
VI	89	вязк.	2.98	6.76	C ₃₀ H ₄₈ NCIO ₃	2.76	7.02

Таким образом, полученные нами ЧАС, а также разработанные на их основе композиции с учетом эффективности активно действующих концентраций и времени бактерицидного действия могут быть использованы в качестве антимикробных средств.

Поступила 06.06.13

**Նոր սինթեզված չհագեցած ամոնիումային աղերի և դրանց
հիման վրա համախառնությունների հակամանրեային
ակտիվությունը**

**Ա.Վ. Բաբախանյան, Մ.Օ. Մանուկյան, Ժ.Ռ. Բաբայան,
Յու.Թ. Ալեքսանյան, Ա.Վ. Մարգարյան, Ա.Է. Ղազարյան**

Հակամանրեային հատկությունների ուսումնասիրման նպատակով սինթեզվել են հիդրոֆոբ ալկիլօքսիկարբոնիլմեթիլ ռադիկալ և 1-(ալկեն-2-իլ)-4-ալիլօքսի(ֆենիլօքսի)բութին-2-իլ խումբ պարունակող մի շարք նոր չորրորդային ամոնիումային միացություններ (ՉԱՄ): Նշված աղերը ստանալու համար օգտագործվել են դիմեթիլ(ալկեն-2-իլ)-4-ալիլօքսի(ֆենիլօքսի)բութին-2-իլամոնիումային աղերի Ստիվենս-սի վերախմբավորման արգասիք հանդիսացող երրորդային ամինները:

Հակամանրեային ակտիվության ուսումնասիրման արդյունքները վկայում են, որ նշված ՉԱՄ-երը օժտված են մանրէասպան ազդեցությամբ ադիքային ցուպիկի (շտամ 1257) և ոսկեգույն ստաֆիլակոկի (շտամ 906) նկատմամբ, ինչն առավել արտահայտված է էսթերային խմբում դեցիլ ռադիկալ պարունակող միացությունների մոտ: Ստացված արդյունքների համեմատումը հաստատում է հակամանրեային ակտիվության կախվածությունը նաև ՉԱՄ-ի կառուցվածքում չհագեցած խմբերի բնույթից:

Նշված ՉԱՄ-երի և ջրածնի պերօքսիդի ու կատամին ԱԲ-ի հիման վրա ստեղծված համախառնությունների հակամանրեային ակտիվության ուսումնասիրման արդյունքում ատացված տվյալները վկայում են սինթեզիկ էֆեկտի մասին, որը հանգեցնում է բաղադրիչների մանրէասպան կոնցենտրացիաների իջեցմանը և մանրէների ոչնչացման ժամանակի կրճատմանը:

**Antimicrobial activity of newly synthesized unsaturated ammonium
salts and compositions on their basis**

**A.V. Babakhanyan, M.O. Manukyan, Zh.R. Babayan, Yu.T. Aleksanyan,
A.V. Margaryan, A.E. Ghazaryan**

With the purpose of studying of antimicrobial activity a number of new quaternary ammonium compounds (QAC) containing hydrophobic alkoxy-carbonylmethyl radical and 1-(alken-2-yl)-4-allyloxy(phenyloxy)butyn-2-yl group were synthesized. For obtaining of these salts the tertiary amines - products of Stevens' rearrangement of dimethyl(alken-2-yl)-4-allyloxy(pheny-

loxy)butyn-2-ylammonium salts were used. The results of investigation of antimicrobial activities have shown that these salts reveal bactericidal properties towards standard strains of *Escherichia coli* (st. 1257) and *Staphylococcus aureus* (st. 906). The most active are ammonium salts containing decyl radical in ether function. The comparison of the obtained results confirms the dependence of antibacterial activity from the nature of unsaturated groups in the structure of QAC.

The results of investigation of antimicrobial activity of the compositions formed from synthesized ammonium salts, hydrogen peroxide and katamin AB, have revealed the synergic effect, leading to a decrease of bactericidal concentrations for all components and to shortening of time of annihilation of microorganisms.

Литература

1. Агаджанян С. М. Эпидемиологические вспышки кишечных инфекций в Республике Армения в последние 10 лет. Сб. материалов юбилейной науч. конф. "Диагностическая медицина", Ереван, 2004, с. 19.
2. Бабаханян А. В., Арутюнян Р. С., Саргсян А. Б., Григорян Дж. Д., Григорян Л. Г. Хлористые соли алкоксикарбонилметилдиметил(5-метил-2,4-гексаденил)аммония. Арм. хим. ж., 1991, т. 44, № 1, с. 54-57.
3. Бабаханян А. В., Манукян М. О., Бабаян Ж. Р., Арутюнян Р. С. Синтез антимикробных поверхностно-активных хлористых солей N,N'-(5-оксанонан-2,7-диин)бис-[N-(алкоксикарбонилметил)диметиламмония]. Журнал прикладной химии, СПб., 2008, т. 81, вып. 3, с. 467-469.
4. Бабаханян А. В., Манукян М. О., Бабаян Ж. Р. Синтез поверхностно-активных мономеров на основе продуктов перегруппировки Стивенса 4-аллилокси(фенилокси)бутин-2-иламмониевых солей. Сб. тезисов докл. первой науч. конф. Арм. хим. общества "Актуальные проблемы хим. науки Армении", Ереван, июль 17-18, 2008, с. 23.
5. Бабаханян А. В., Овакимян С. А., Арутюнян Р. С., Бабаян Ж. Р., Кочарян С. Т. Синтез поверхностно-активных хлористых солей алкоксикарбонилметил(бутин-2-ил)аммония, обладающих антимикробной активностью. Хим. ж. Арм., 2001, т. 54, 1-2, с. 97-101.
6. Бабаян Ж. Р., Алексанян Ю. Т., Маргарян А. В., Казарян А. Э., Бабаханян А. В. Чувствительность циркулирующих в Армении патогенных и условнопатогенных микроорганизмов к дезинфектантам. Мед. наука Армении НАН РА, 2011, т. LI, 2, с. 72-76.
7. Бабаян Ж. Р. Основные итоги и перспективы научных исследований по проблеме дезинфекции в Армении. Мат. науч. конф. "Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней", Ереван, 2003, с. 43-46.
8. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств. М., N 739-68, 12 с.
9. Казарян А. Э., Алексанян Ю. Т., Бабаян Ж. Р. Об изучении возможных генетических механизмов возникновения и распространения устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам. Мат. науч. конф. "Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней", Ереван, 2003, с. 77-81.
10. Манукян М. О., Бабаханян А. В., Паносян Г. А. Перегруппировка Стивенса аммониевых солей, содержащих наряду с 4-аллилокси(фенилокси)бутин-2-ильной бензильную или аллильного типа группу. Хим. ж. Арм., 2007, т. 60, 4, с. 865-872.
11. Овакимян С. А., Бабаханян А. В., Овсепян В. С., Бабаян Ж. Р., Кочарян С. Т. Синтез поверхностно-активных хлористых солей алкоксикарбонилметилдиметил(1-бензоилбутен-3-ил)аммония и изучение их антимикробной активности. Хим. ж. Арм., 2001, т. 54, 3-4, с. 73-78.

12. *Шандала М. Г.* Состояние и перспективы разработки новых дезинфектологических технологий. Журнал эпидемиол. и инф. болезни, 2000, 2, с. 4-7.
13. *Шкарин В.В., Саперкин Н.В., Ковалишена О.В., Благодирова А.С.* Характеристика чувствительности возбудителей кишечных инфекций к дезинфицирующим средствам. Мат. науч.-практич. конф. с международным участием. Ереван, 2009, с. 121-123.