

УДК 541.182.43

*А. Б. Миргородская, Е. И. Яцкевич, С. С. Лукашенко, А. Д. Волошина,
Н. В. Кулик, В. В. Зобов, Л. Я. Захарова*

**АГРЕГАЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ, МИЦЕЛЛЯРНЫЙ КАТАЛИТИЧЕСКИЙ
ЭФФЕКТ И АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕМИНАЛЬНЫХ
АЛКИЛАММОНИЙНЫХ ПАВ С ВАРЬИРУЕМОЙ ДЛИНОЙ
ГИДРОФОБНОГО РАДИКАЛА**

**AGGREGATION BEHAVIOR, MICELLAR CATALYTIC EFFECT AND
ANTIMICROBIAL ACTION OF GEMINI ALKYLAMMONIUM SURFACTANTS
WITH VARIED LENGTH OF HYDROPHOBIC RADICAL**

Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии
им. А. Е. Арбузова Казанского научного центра РАН
420088 Казань, Россия, ул. акад. Арбузова, д. 8. E-mail: mirgorod@iopc.ru

Получены количественные данные, характеризующие агрегационное поведение, каталитическую активность в процессах щелочного гидролиза эфиров карбоновых кислот и антимикробное действие гомологического ряда геминальных алкиламмонийных ПАВ.

Ключевые слова: геминальные ПАВ, агрегация, тензиометрия, гидролиз, кинетика, бактериостатический и фунгистатический эффект.

Quantitative data describing aggregative behavior, catalytic activity in base hydrolysis of carbonic acid esters and antimicrobial effect of the homological series of gemini alkylammonium surfactants have been obtained.

Key words: gemini surfactants, aggregation, tensiometry, hydrolysis, kinetics, bacteriostatic and fungistatic effect.

Геминальные ПАВ содержат два гидрофобных радикала и две головные (как правило, заряженные) группы, связанные спейсерными фрагментами различной длины и строения. Дикаатионные ПАВ отличаются от мономерных аналогов тем, что сочетают в себе высокий положительный поверхностный заряд, конформационную подвижность и способность к пространственной «подстройке» в процессах ассоциации. Они характеризуются морфологическим разнообразием образуемых ими супрамолекулярных агрегатов, высоким солюбилизующим действием и возможностью значительного снижения диапазона используемых концентраций [1 – 3]. Показана перспективность применения геминальных ПАВ в качестве среды для химических реакций [4 – 7]. Есть сведения о высокой бактерицидной активности геминальных ПАВ [8, 9], а также о способности образовывать комплексы с ДНК и играть роль вектора в генной инженерии [10, 11]. О структурных свойствах систем на основе геминальных ПАВ в последние годы появилось большое число публикаций, однако работ, направленных на изучение их влияния на скорости химических процессов, существенно меньше.

Настоящее исследование посвящено получению данных об агрегационном поведении, каталитической активности в процессах расщепления сложноэфирных связей и антимикробном действии гомологического ряда геминальных алкиламмонийных ПАВ, содержащих спейсерную группу из шести метиленовых звеньев общей формулы $[R(CH_3)_2N(CH_2)_6N(CH_3)_2R]^{2+}2Br^-$, где R = C₁₀H₂₁ (Гем-10), C₁₂H₂₅ (Гем-12), C₁₄H₂₉ (Гем-14), C₁₆H₃₃ (Гем-16). Свойства этих соединений обсуждены в сопоставлении с поведением аналогичных мономерных катионных ПАВ.

Экспериментальная часть

Образцы геминальных ПАВ были синтезированы при взаимодействии N,N,N',N'-тетраметил-1,6-гексаметилендиамина с алкилбромидами в ацетоне с последующей двукратной перекристаллизацией из этилового спирта. Строение полученных соединений подтверждали данными элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии. Для исследований применяли коммерческие мономерные ПАВ («Sigma») и эфиры карбоновых кислот («Fluka»), содержащие 99 % основного вещества.

Поверхностные свойства изучали методом отрыва кольца на тензиометре Du Nouy фирмы «Krus».

Кинетику щелочного гидролиза *n*-нитрофениловых эфиров карбоновых кислот изучали в 0,001M растворе гидроокиси натрия спектрофотометрическим методом на приборе Specord UV-VIS в термостатируемых кюветах. За протеканием процесса следили по изменению оптической плотности растворов при длине волны 400 нм (образование *n*-нитрофенолят-аниона). Начальная концентрация субстрата составляла $2 - 8 \cdot 10^{-5}$ M, степень превращения – более 90 %. Наблюдаемые константы скорости псевдопервого порядка (k_{obs}) определяли из зависимости $\lg(D_{\infty} - D_{\tau}) = -0,434 k_{obs}\tau + const$ (D_{τ} и D_{∞} – оптическая плотность растворов в момент времени τ и после завершения реакции). Значения k_{obs} рассчитывали с привлечением метода наименьших квадратов.

При исследовании противомикробной активности в качестве тест-объектов были использованы следующие микроорганизмы: Staphylococcus aureus-209 P (St.aureus), Escherichia coli F50 (E. coli), Bacillus cereus 8035 (B. cereus), Pseudomonas aeruginosa 9027 (Ps. aeruginosa), Trichophyton gypseum (Tr. gypseum), Candida albicans (C. alb.). Бактериостатические свойства изучены методом серийных разведений. Бактериальная нагрузка в опыте составляла 300000 микробных клеток в 1 мл (кл/мл). Фунгистатическая активность соединений изучена методом серийных разведений на жидкой среде Сабуро.

Обсуждение результатов

Методом тензиометрии показано, что исследованные геминальные ПАВ обладают выраженной поверхностной активностью, а значения их критической концентрации мицеллообразования (ККМ), определенные из изотерм поверхностного натяжения, на порядок ниже, чем у соответствующих мономерных ПАВ (табл. 1). Кроме того у соединений Гем-14 и Гем-16 на изотерме поверхностного натяжения, наблюдается еще один перлом в области более высоких концентраций, который может отражать мицеллярные перестройки в системе. Для геминальных ПАВ, также как и у мономерных аналогов, наблюдается линейная зависимость между ККМ и числом углеродных атомов (*n*) в гидрофобном радикале, описываемая следующими уравнениями:

$$\text{для монокатионных ПАВ } \lg(\text{ККМ}) = 1,804 - 0,303 n \quad (R=0,999),$$

$$\text{для дикатионных ПАВ } \lg(\text{ККМ}) = 1,448 - 0,368 n \quad (R=0,998).$$

Значения свободного члена и углового коэффициента для геминальных ПАВ несколько иные, чем типичные для ионных ПАВ (обычно $A = 1,5-1,9$, и $B = 0,3$ [12]). Вероятно, присутствие в структуре ПАВ двух положительно заряженных головных групп, ковалентно связанных спейсерным фрагментом, вносит свою специфику в их электростатические взаимодействия с диполями воды по сравнению с монокатионными аналогами.

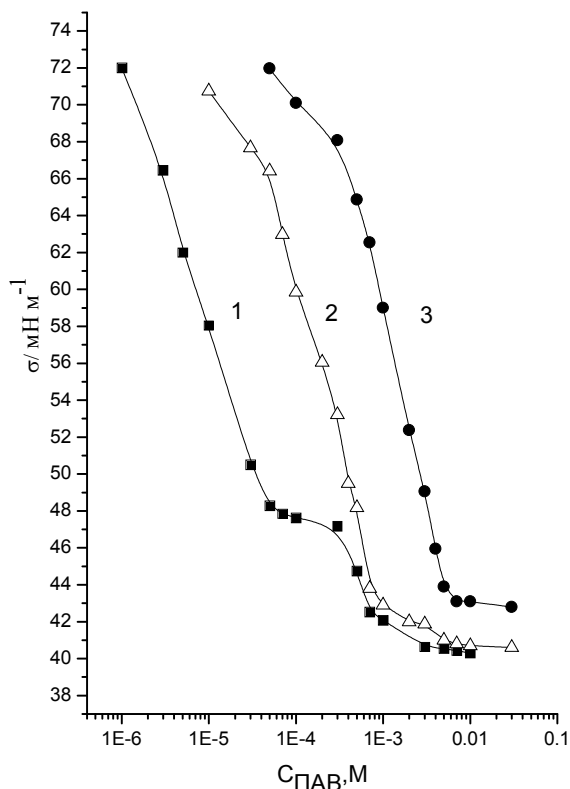


Рис. 1. Изотермы поверхностного натяжения геминальных ПАВ (25 °С). 1 – Гем-16, 2 – Гем-12, 3 – Гем-10

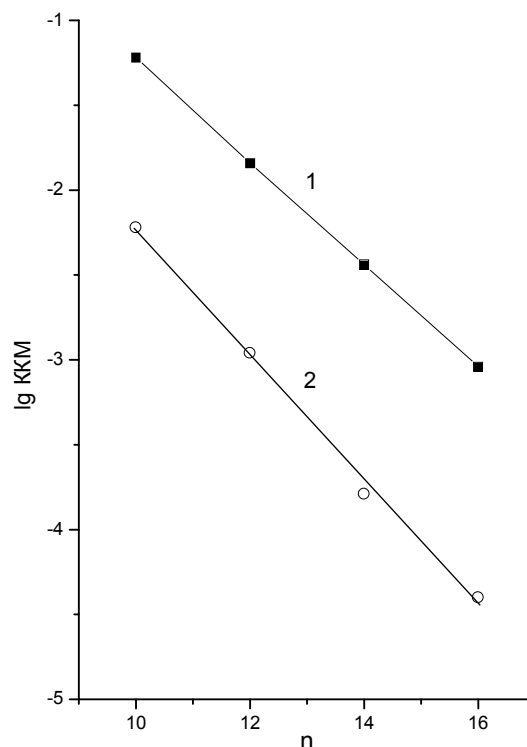


Рис. 2. Зависимость ККМ от числа углеродных атомов (n) в гидрофобном радикале. 1 – монокатионные ПАВ, 2 – геминальные ПАВ

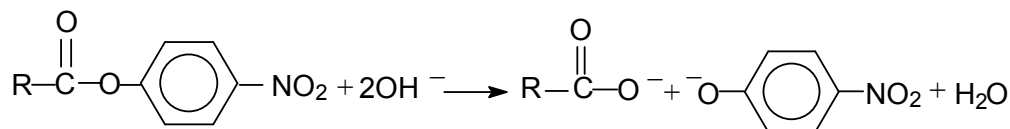
Таблица 1

Значения ККМ моно- и дикатионных ПАВ, 25 °С

R	ККМ, М	
	$R(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{Br}^-$	$[\text{R}(\text{CH}_3)_2\text{N}(\text{CH}_2)_6\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{R}]^{2+}2\text{Br}^-$
$\text{C}_{10}\text{H}_{21}$	0,061	0,0060
$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	0,014	0,0011
$\text{C}_{14}\text{H}_{29}$	0,0036	0,00014
$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	0,00092	0,00004

Значения ККМ определяют концентрационные области, в которых можно ожидать функциональной активности соединения, например каталитического действия в

процессах гидролитического расщепления сложноэфирных связей. Нами изучена кинетика щелочного гидролиза эфиров карбоновых, отличающихся гидрофильно-липофильным балансом, следовательно, характером локализации в мицеллярном растворе – *n*-нитрофенилацетат (ПНФА) и *n*-нитрофениллаурат (ПНФЛ). Схема процесса может быть представлена следующим образом:



R = CH₃ (ПНФА), n-C₁₁H₂₃ (ПНФЛ)

Каталитический эффект, ожидаемый для этого процесса в растворах катионных ПАВ, связан с концентрированием гидроксид-ионов у положительно заряженной межфазной поверхности, что увеличивает вероятность реакционного контакта гидрофильного нуклеофила с субстратом, солюбилизированным мицеллой. Кинетические данные, полученные спектрофотометрическим методом, отражающие изменение наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза в зависимости от концентрации геминальных ПАВ и цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ) представлены на рис. 3, а, б и 4.

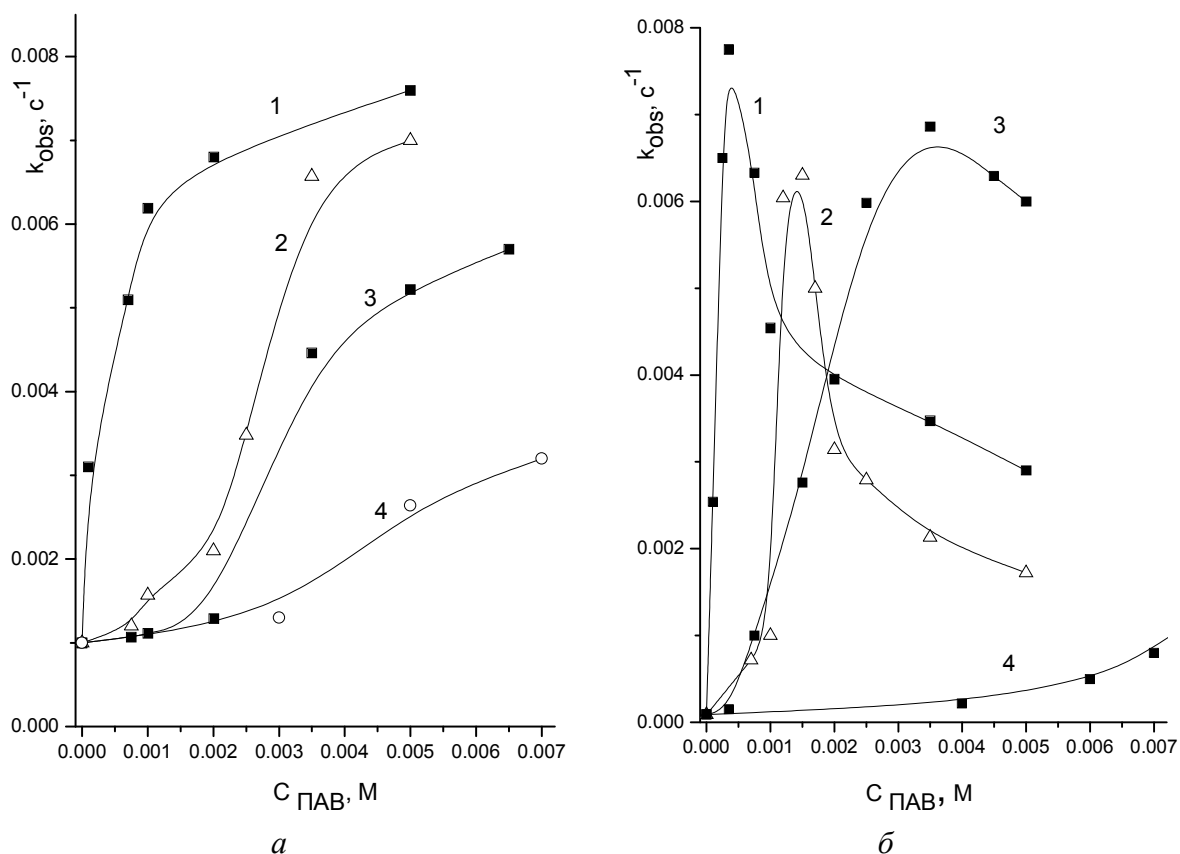


Рис. 3. Изменение наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза ПНФА (а) и ПНФЛ (б) в зависимости от концентрации геминальных ПАВ (25 °С, 0,001н NaOH): 1 – Гем-16; 2 – Гем-14; 3 – Гем-12; 4 – Гем-10

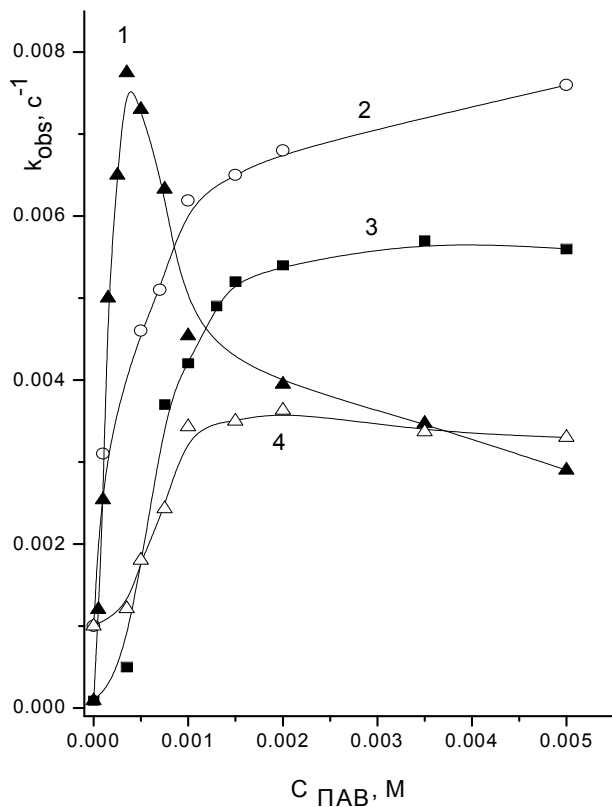


Рис. 4. Изменение наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза ПНФА и ПНФЛ в зависимости от концентрации ПАВ (25 °С, 0,001н NaOH): 1 – Гем-16, ПНФЛ; 2 – Гем-16, ПНФА; 3 – ЦТАБ, ПНФЛ; 4 – ЦТАБ, ПНФА

Из полученных данных видно, что изучаемые геминальные ПАВ обладают выраженным каталитическим действием в процессах гидролиза сложноэфирных связей, которое проявляется при их существенно меньшем содержании в растворе, чем в случае мономерных аналогов. Величина каталитического действия несколько увеличивается с ростом длины гидрофобного радикала геминального ПАВ. Кроме того, по мере уменьшения ККМ область наибольшего эффекта смещается к более низким концентрациям.

Исследованные эфиры отличаются по своим гидрофильно-липофильным свойствам, что отражается во влиянии ПАВ на скорость их гидролиза: для ацетата константа скорости увеличивается примерно в 4–8 раз, а для лаурата ускорение достигает двух порядков. Известно, что ПНФЛ склонен к самоассоциации, и это является причиной его пониженной (по сравнению с немицеллообразующими гомологами) реакционной способности в процессах нуклеофильного замещения в отсутствие ПАВ. Вероятно, в мицеллярных растворах происходит изменение структуры этих ассоциатов, возникают смешанные мицеллы, характеризующиеся более высокой реакционной способностью. Для ПНФЛ характерен экстремальный тип концентрационных зависимостей, что позволяет предположить, что наибольшая активность наблюдается при определенном составе смешанных мицелл ПАВ – субстрат.

Полученные кинетические данные, представленные на рис. 4, проанализированы в рамках псевдофазного подхода [13] с использованием уравнения (1):

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_m K_S C_{\text{ПАВ}} + k_0}{1 + K_S C_{\text{ПАВ}}} \quad (1)$$

где k_0 и k_m (c^{-1}) – константы скорости первого порядка в водной среде и в мицеллярной фазе, соответственно, K_S (M^{-1}) – константа связывания субстрата; $C_{ПАВ}$ – общая концентрация ПАВ за вычетом ККМ.

Таблица 2

Параметры мицеллярно-катализируемой реакции гидролиза ПНФА и ПНФЛ в водных растворах на основе Гем-16 и ЦТАБ (25 °С, 0,001н NaOH)

	k_0, c^{-1}	ККМ, М	K_s, M^{-1}	k_m, c^{-1}	k_m/k_0^*
ЦТАБ+ПНФА	0,001	$3,3 \cdot 10^{-4}$	2600	0,0042	4
Гем-16+ПНФА	0,001	$1,3 \cdot 10^{-4}$	2700	0,0081	8
ЦТАБ+ПНФЛ	0,000089	$3,3 \cdot 10^{-4}$	3600	0,0061	68
Гем-16+ПНФЛ**	0,000089	$3,66 \cdot 10^{-5}$	8560	0,0099	110

* Соотношение k_m/k_0 характеризует мицеллярный каталитический эффект системы

** Результаты анализа по уравнению (1) проведены в концентрационном интервале до максимума на кривой 4, рис. 4

Из результатов анализа, приведенных в табл. 2, видно, что ПНФЛ лучше связывается мицеллами катионных ПАВ, чем его менее гидрофобный гомолог – ПНФА. Наибольшее значение K_S наблюдается для системы ПНФЛ – Гем-16. Для нее же отмечается наибольший мицеллярный каталитический эффект, определяемый как отношение наблюдаемых констант скорости в мицеллярной фазе и в воде. Значения ККМ, вычисленные из кинетических данных, несколько отличаются от тех, которые определены тензиометрией, что может отражать влияние субстрата на свойства мицеллярного раствора.

Другое функциональное свойство геминальных ПАВ, исследованное в настоящей работе – антимикробная активность. Известно, что алкиламмонийные ПАВ обладают выраженными биоцидными свойствами, связанными с возможностью этих соединений за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий встраиваться в клеточную мембрану микроорганизмов, изменяя ее проницаемость и нарушая метаболические циклы. Для монокатионных ПАВ показано, что длина алкильного радикала оказывает существенное влияние на их антимикробные свойства, и в гомологических рядах наблюдается усиление активности по мере роста числа углеродных атомов (n), достигающее максимума при $n = 14 - 16$ [15]. Однако анализ данных по бактериостатической и фунгистатической активности исследуемых геминальных ПАВ, приведенных в табл. 3, не позволяет говорить, что антимикробные свойства этих соединений определяются длиной алкильного радикала. Кроме того, мы полагали, что более высокий поверхностный потенциал мицелл геминальных ПАВ по сравнению с монокатионными аналогами (150 мВ для Гем-16 и 130 мВ для ЦТАБ [15]) усилит вклад электростатических взаимодействий с клеточной мембраной, и станет существенным фактором, определяющим их антимикробное действие, но это предположение не подтвердилось. Вероятно, геометрия молекулы геминальных ПАВ, ее значительный, по сравнению с мономерными ПАВ, молекулярный объем, затрудняет их проникновение в клеточную мембрану и не дает проявить высокую биологическую активность.

Для исследованных ПАВ не наблюдается корреляции между антимикробным действием и мицеллообразующими свойствами. Более того, в ряде случаев, в том числе и для наиболее эффективного соединения Гем-12, действие проявляется при концентрациях меньших, чем ККМ, что указывает на участие индивидуальных молекул ПАВ.

Таблица 3

Бактериостатическая и фунгистатическая активность (мкг/мл)

Соединение	St.aureus 209p	E.coli F50	B.cereus 8035	Ps.aeru- ginosa9027	Tr.gyp- seum	Candida albicans
Гем -10	31,25	250	125	>500	250	7,8
Гем -12	0,78	7,8	0,78	62,5	12,5	3,1
Гем -14	62,5	500	250	500	500	15,6
Гем -16	31,25	250	62,5	500	62,5	15,6
Гем -16 (Cl)	62,5	500	125	>500	250	31,25
Гем-16 (CH ₂ CH ₂ OH)	31,25	250	62,5	500	62,5	15,6
ЦТАБ	0,5	6,3	3,1	250	31,3	3,1
Ципрофлоксацин	0,25	0,5	0,25	0,5		
Клотримазол					3,13	0,39

Таким образом, нами установлено, что исследованные геминальные ПАВ проявляют высокую каталитическую активность в процессах щелочного гидролиза сложных эфиров при существенно меньших концентрациях, чем их мономерные аналоги. По мере уменьшения ККМ геминальных ПАВ область наибольшего каталитического действия смещается к более низким концентрациям. Возможность образования смешанных агрегатов геминальное ПАВ – гидрофобный субстрат приводит к ускорениям гидролиза, превышающим два порядка. При исследовании антимикробного действия ряда геминальных алкиламмонийных ПАВ показано, что бромид гексалиден-бис-(диметилдодecilаммония) (Гем-12) при концентрациях меньших, чем ККМ, проявляет высокое бактериостатическое и фунгистатическое действие, сопоставимое с действием эталонных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (гос. контракт № 14.740.11.0384).

Список литературы

1. Menger F. M., Keiper J. S. // *Angew. Chem.* 2000. Vol. 112. P. 1980.
2. Hait S. K., Moulik S. P. // *Current science.* 2002. Vol. 82. P. 1101.
3. Groth C., Nyden M., Holmberg R. et al. // *J. Surfactant and Detergents.* 2004. Vol. 7. P. 247.
4. Bhattacharya S., Kumar V. P. // *Langmuir.* 2005. Vol. 21. P. 71.
5. Geng Y., Romsted L. S., Menger F. // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. Vol. 128. P. 492.
6. Миргородская А. Б., Кудрявцева Л. А. // *ЖОХ.* 2009. Vol. 79. P. 44.
7. Kabir-ud-Din, W. Fatma // *J. Phys. Org. Chem.* 2007. Vol. 20. P. 440.

8. *Devinsky F., Masarova L., Lacko I., Mlynarchik D.* // J. Biopharm. Sci. 1991. Vol. 2. P. 1.
9. *Laatiris A., Achouri M. E., Iufante M. R., Bensouda Y.* // Microbiol. Research. 2008. Vol. 163. P. 645.
10. *Jiang N., Li P., Wang Y. et al.* // J. Phys. Chem. B. 2004. Vol. 108. P. 15385.
11. *Wettig Sh. D., Badea I., Donkuru M. et al.* // J. Gen. Med. 2007. Vol. 9. P. 649.
12. *Русанов А. И.* Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. СПб. : Химия, 1992. 280 с.
13. *Березин И. В., Мартинек К., Яцимирский А. К.* // Успехи химии. 1973. Vol. 42. P. 1729.
14. *Тишкова Е. П., Федоров С. Б., Кудрявцева Л. А. и др.* // Хим. фарм. журн. 1989. С. 592.
15. *Миргородская А. Б., Кудрявцева Л. А., Вылегжанина Н. Н. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2010. С. 768.

Поступила в редакцию 21.04.2011 г.