

УДК 547.233.4.057:615.012

Т.М. Бойчук,

А.І. Лопушанський,

І.П. Бурденюк,

В.Ф. Мислицький,

В.О. Чорноус

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ НОВИХ ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ У РЯДУ МОНО- ТА БІС-ЧЕТВЕРТИННИХ АМОНІЙНИХ СОЛЕЙ

Ключові слова: органічний синтез,
бактерицидна активність, четвер-
тинні амонійні солі.

Резюме. У роботі вивчено оптимальні шляхи синтезу нових типів моно- та біс-четвертинних амонійних солей і проведено аналіз їх бактерицидної та протигрибкової активності. Досліджено вплив типу амонійної солі, довжини вуглецевого ланцюга та будови аліфатичного замісника на величину бактерицидної дії.

Вступ

Четвертинні амонійні солі (ЧАС) з одним або двома амонійними центрами відомі своїм широким спектром бактерицидної та протигрибкової дії по відношенню до типових штамів бактерій і грибів [1]. В ранніх роботах професора Денисенко В.П. та співробітників Чернівецького медичного інституту (сьогодні ВДНЗУ "Буковинський державний медичний університет"), присвячених дослідженню цього класу препаратів було детально вивчено залежності між структурою та біологічною активністю найбільш доступних представників ЧАС [2], які містять в своєму складі залишок нерозгалужених аліфатичних спиртів або ментолу. Результатом цієї роботи стало впровадження в медичну практику двох відомих препаратів - "Етоній" та "Декаметоксин", які впродовж багатьох десятиліть використовувались для лікування цілого ряду захворювань, викликаних патогенними та умовно патогенними штамми мікроорганізмів і грибів.

Разом із тим, зважаючи на значний ріс кількості пацієнтів, інфікованих антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів та зниження активності лікарських засобів, які використовуються у медицині [3, 4], пошук більш ефективних сполук з високою бактерицидною та антимікробною дією на сьогодні є важливим завданням науковців [5, 6].

Дослідження, проведені свого часу завідувачем кафедри загальної хімії ЧМІ Лопушанським А.І. показали, що похідні четвертинних амонійних солей не вичерпали своїх потенційних можливостей і в їх ряду є об'єкти, здатні за величиною протимікробної дії конкурувати з відомими антисептиками [7]. Нами здійснено серію експериментів по синтезу нових типів моно- та біс-четвертинних

амонійних солей [8-10], дослідження бактерицидної активності яких підтвердило дане припущення. Зокрема встановлено, що оптимальними характеристиками бактерицидної та протигрибкової дії володіє молекула, яка містить фрагмент естеру хлороцтової кислоти з довжиною вуглецевого ланцюга 9-12 одиниць, аліциклічного фрагменту з 6 атомами в циклі або етеру, який містить жирноароматичний фрагмент. Присутність в молекулі ЧАС двох амонійних центрів, як правило, сприяє збільшенню бактерицидної та протигрибкової дії цих сполук за умови довжини між ними 10 вуглецевих одиниць. Досить важливим фактом, встановленим експериментально, є незначний вплив неамонійного фрагменту молекули на величину її бактерицидної дії, що відкриває широкі можливості для функціоналізації ЧАС фармакофорними фрагментами. Такими чином було синтезовано четвертинні амонійні солі, що містять у своєму складі фрагмент димедролу - антигістамінного та седативного засобу і новокаїну - місцевого анестетика.

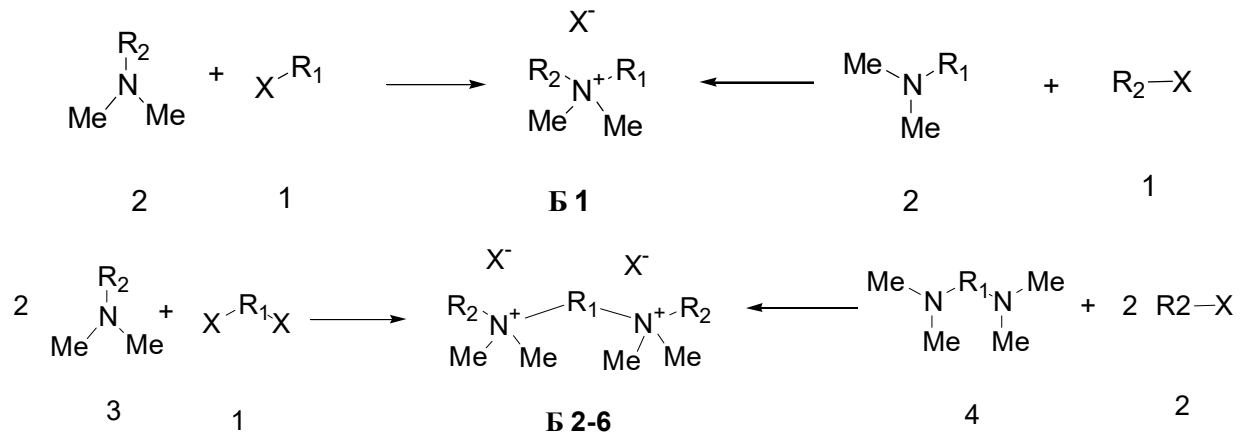
Мета дослідження

Здійснити синтез нових типів моно- та біс-четвертинних амонійних солей і дослідити їх бактерицидну активність.

Матеріал і методи

Синтез цільових моно- (Б 1) та біс-амонійних солей (Б 2-6) здійснювали в залежності від типу сполуки двома шляхами: кватернізацією третинних амінів 1 моно- та дигалогеналканами 2 або алкілюванням естерами хлороцтової кислоти 3 етилен- або гексаметилен- тетраметиламінів 4. Модифікований метод синтезу передбачав 5-ти годинне кип'ятіння реагентів у мінімальній

кількості безводного ацетону з подальшим виділенням солей фільтруванням. Виходи цільових сполук коливалися в межах 89-97% що дозволяє пропонувати цю методику синтезу для фармацевтичних виробництв.



послідовних серійних розведень з використанням рідких та твердих живильних середовищ в залежності від роду та виду тест-мікроорганізмів [3]. Для бактеріальних культур брали 1%-ний м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) з рН 7,2. Культури - гемолітичних стрептококів досліджували з використанням 1%-ного глюкозного МПБ.

Визначення біологічної активності сполук музейних і свіжовиділених штамів патогенних грибів роду *Candida* проводили в рідких середовищах Сабуро при рН 6,8.

Для визначення чутливості використано добові культури бактерій, що вирости на відповідних живильних середовищах при температурі 37°C. Дріжджеподібні гриби роду *Candida* для дослідів брали у дводобовому віці.

Культури бактерій мікрофлори вносили в пробірки титраційних рядів досліджуваних препаратів у дозі 100000 мікробних клітин на 1,0мл живильного середовища. Культуру роду *Candida* вносили у дозі 10000 клітин на 1,0мл відповідно.

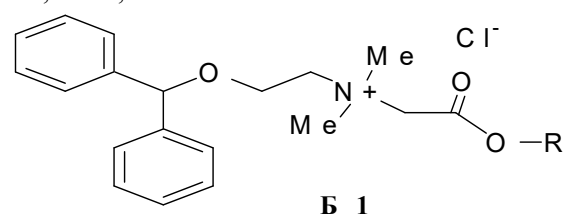
Підрахунки результатів проводили через 20-24 год. від початку інкубації. Останнє розведення препарату з відсутністю росту культури приймали за мінімальну бактериостатичну (МБСК) концентрацію. За мінімальну бактерицидну (МБЦК) концентрації препаратів приймали найменшу концентрацію у розчині, висіви з якого на відповідні тверді живильні середовища через 20-24 години (для грибів 48 год) термостатування ріст мікроорганізмів був відсутній.

Обговорення результатів дослідження

Отримані амонійні солі Б 1-6 - тверді, гігроскопічні речовини, добре розчинні у воді. Їх будова та склад доведені сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

Первинний мікробіологічний скринінг і вивчення антибактеріальної активності синтезованих сполук Б 1-6 проводили згідно методичних рекомендацій по вивченню активності протимікробних та протигрибкових лікарських засобів методом

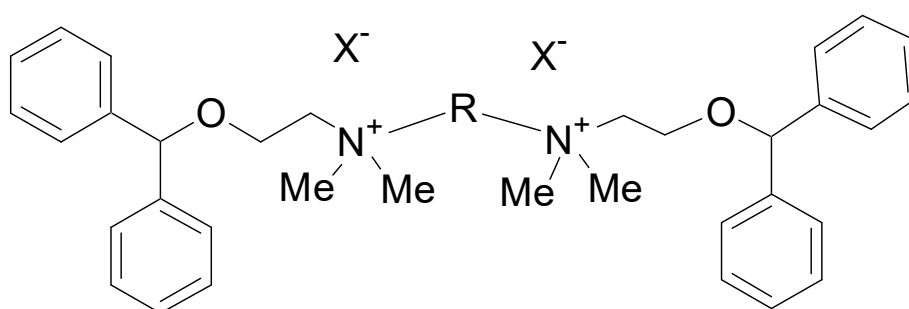
Дослідження бактерицидної та протигрибової активності показали, що у концентраціях 0,06-1000 мкг/мл всі досліджувані сполуки пригнічують ріст більшості штамів бактерій. Порівняно з моно-четвертинними амонійними солями, біс-четвертинні солі подібної будови мають дещо вищу активність, і володіють ширшим спектром бактерицидної дії. Встановлено, що на величину біологічної активності ЧАС впливає довжина аліфатичного радикалу. Оптимальними параметрами, які забезпечують найбільшу бактерицидну дію моно-четвертинних амонійних солей Б 1 є наявність у молекулі неполярного радикалу, що містить 10-12 атомів Карбону. У випадку біс-четвертинних солей найбільш активними є солі, у яких відстань між амонійними центрами становить 10 атомів Карбону. У цьому випадку залежність впливу структури бічного замісника на активність є незначною. Найкращі показники бактерицидної дії зафіксовані для моно-четвертинної солі Б 1 з (0,12-250 мкг/мл), біс-амонійних солей Б 2 б (0,12-62,5 мкг/мл), Б 3 в (0,48-250 мкг/мл), Б 4 б (0,92-500 мкг/мл), Б 5 а (0,06-500 мкг/мл), Б 6 в (0,12-62,5 мкг/мл). Їх активність практично дорівнює активності препаратів "Етоній" та "Декаметоксин" [1]. В цілому отримані дані свідчать, що найбільшу ефективність досліджувані речовини мають по відношенню до Золотистого стафілококу, мінімальна бактериостатична концентрація для яких коливається в межах 0,06-15,6 мкг/мл.



R = C₆H₁₃ (а), C₇H₁₅ (б), C₈H₁₇(в), C₉H₁₉(г), C₁₀H₂₁(д), C₁₂H₂₅(е), C₁₆H₃₃(є), C₁₈H₃₇(ж), L-ментил(з).

Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 1 (мкг/мл)

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P.aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C.albicans ATCC-885-653		S.aureus*		S.pyogenes**		C.albicans*	
	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MФ}{cK}$	$\frac{MФ}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MФ}{cK}$	$\frac{MФ}{цK}$
а	0,24	3,9	62,5	125	125	250	125	250	31,3	62,5	0,24	7,8	0,24	3,9	15,6	62,5
б	0,12	0,97	31,3	62,5	62,5	250	31,3	62,5	3,9	7,8	0,12	7,8	0,12	3,9	1,95	7,8
в	0,12	0,97	31,3	62,5	31,3	62,5	31,3	62,5	0,97	1,82	0,12	3,9	0,12	3,9	0,48	3,9
г	0,06	0,48	31,3	62,5	31,3	62,5	31,3	62,5	0,97	3,9	0,06	1,95	0,12	3,9	0,48	3,9
д	0,24	1,97	62,5	125	125	250	125	250	1,97	3,9	0,12	3,9	0,24	3,9	0,97	3,9
з	0,12	1,95	62,5	125	62,5	125	125	250	0,97	1,95	0,12	7,8	0,24	3,9	0,48	3,9



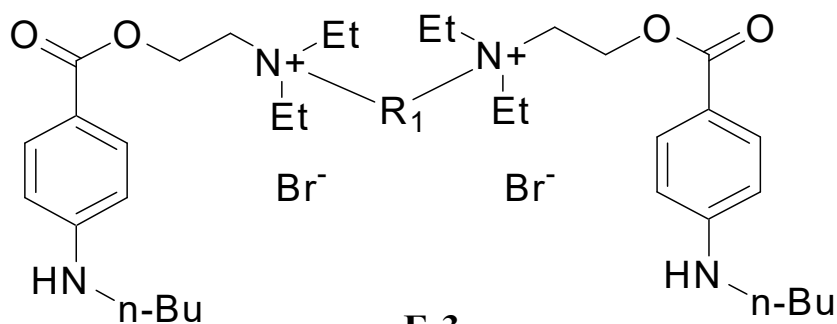
Б 2

R = C₅H₁₀, X = Br (а), R = C₁₀H₂₀, X = Br (б), R = CH₂CO₂(CH₂)₁₀O₂CCH₂, X = Cl (в).

Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 2 (мкг/мл)

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P.aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C.albicans ATCC-885-653		S.aureus*		S.pyogenes*		C.albicans*	
	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MФ}{cK}$	$\frac{MФ}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MB}{cK}$	$\frac{MB}{цK}$	$\frac{MФ}{cK}$	$\frac{MФ}{цK}$
а	0,48	3,9	250	500	250	500	250	500	125	250	1,25	15,6	0,98	2,8	125	250
б	0,24	1,25	62,5	125	62,5	125	62,5	125	0,24	0,48	0,12	1,25	0,24	1,95	0,48	3,9
в	0,24	0,97	31,3	62,5	15,6	31,3	62,5	125	0,24	0,48	0,12	1,25	0,48	1,95	0,24	0,48

* - 10 свіжовиділених штамів

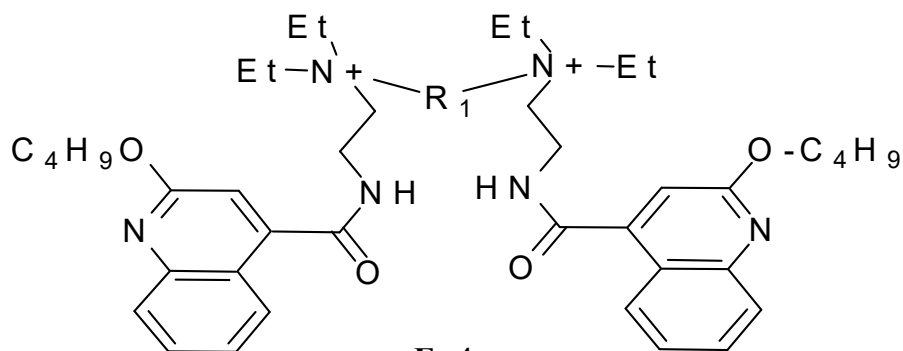


Б 3

R₁ = (CH₂)₂ (а), (CH₂)₅ (б), (CH₂)₁₀ (в), CH₂COO(CH₂)₂OOCCH₂(г).

**Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 3
(мкг/мл)**

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P. aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C. albicans ATCC-885-653		S. aureus*		S. pyogenes*		C. albicans*	
	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК
а	0,48	1,95	125	250	500	1000	31,5	62,5	3,9	3,9	0,97	1,95	0,97	1,95	0,97	1,95
б	0,48	0,97	62,5	250	250	500	15,5	31,5	3,9	7,8	3,9	7,8	3,9	7,8	0,97	1,95
в	0,48	0,97	125	250	125	250	3,4	7,7	3,9	7,8	1,95	3,9	3,9	15,5	0,97	1,95
г	0,97	3,9	500	1000	500	1000	3,9	15,5	1,95	3,9	1,95	3,9	1,95	3,9	1,95	3,9

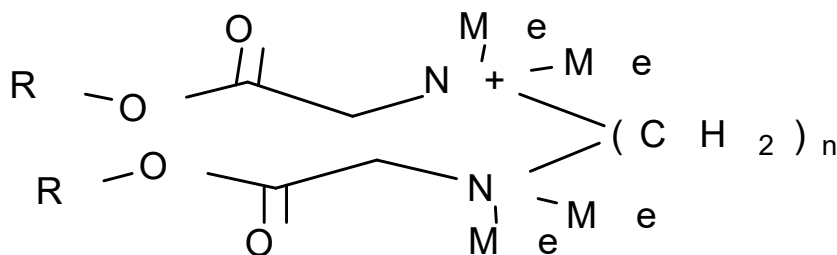
**Б 4**

R1 = C2H4 (а), C10H20 (б)

**Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 4
(мкг/мл)**

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P. aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C.albicans ATCC-885-653		S.aureus*		S. pyogenes*		C. albicans*	
	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК
а	0,92	3,9	500	1000	500	1000	500	1000	3,9	7,8	0,97	3,9	3,9	7,8	3,9	7,8
б	0,92	3,9	250	500	250	500	250	500	1,95	3,9	0,97	3,9	1,95	3,9	0,97	3,9

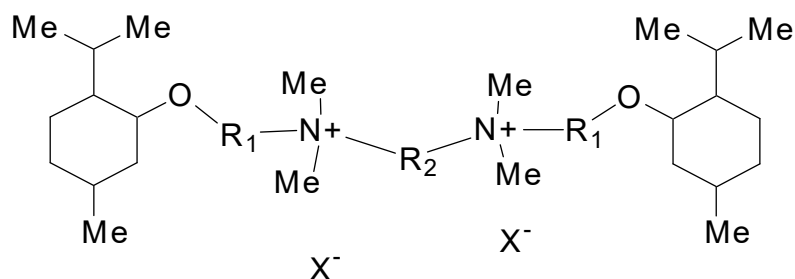
* - 10 свіжовиділених штамів

**Б 5**

R = 3,3,5-(Me)3C6H8, n=10, Hal = Cl (а).

**Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 5
(мкг/мл)**

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P. aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C.albicans ATCC-885-653		S. aureus*		S. pyogenes*		C. albicans*	
	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК
а	0,06	0,49	1,95	3,9	250	500	125	250	31,2	62,5	0,06	0,49	0,24	0,48	7,8	15,6

**Б 6**

R1 = (CH₂)₆, R2 = CH₂, X = Cl (а); R1 = (CH₂)₁₀, R2 = CH₂, X = Cl (б); R1 = (CH₂)₂, R2 = (CH₂)₁₀, X = Cl (в); R2 = (CH₂)₅, X = Br (г); R1 = (CH₂)₆, R2 = (CH₂)₅, X = Br (д); R1 = (CH₂)₁₀, X = Cl (е), R2 = (CH₂)₁₀, X = Br (з); R1 = (CH₂)₆, R2 = (CH₂)₁₀, X = Br (ж); R1 = (CH₂)₁₀, R2 = (CH₂)₁₀, X = Br (з).

Протимікробна та протигрибкова активність четвертинних амонійних солей Б 6 (мкг/мл)

Сполуки	S.aureus ATCC-25923		E.coli ATCC-25922		P.aeruginasa ATCC-2523		B.subtilis ATCC-6633		C.albicans ATCC-885-653		S.aureus*		S.pyogenes*		C.albicans*	
	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК	МБ сК	МБ цК
а	0,97	15,6	500	1000	250	500	250	500	31,2	62,5	0,48	15,6	0,48	3,9	7,8	31,3
б	0,24	0,48	31,3	62,5	62,5	125	15,6	62,5	3,9	7,8	0,12	3,9	0,24	1,95	1,95	7,8
в	0,24	0,48	62,5	125	15,6	62,5	7,8	15,6	3,9	7,8	0,12	1,95	0,24	1,95	1,25	7,8
г	0,24	0,48	31,2	62,5	15,6	62,5	15,6	62,5	1,95	3,9	0,12	1,25	0,12	0,97	1,25	7,8
д	0,24	0,48	31,3	62,5	7,8	31,3	7,8	15,6	0,97	1,95	0,12	1,95	0,12	0,96	0,48	1,95
е	0,97	3,9	15,6	31,3	62,5	125	125	250	7,8	15,6	0,48	3,9	7,8	31,3	3,9	15,6
ж	0,97	3,9	250	1000	125	500	250	500	7,8	15,6	0,48	7,8	1,95	7,8	3,9	15,6
з	0,97	3,9	250	500	125	500	125	250	1,95	3,9	0,48	15,6	0,95	7,8	1,95	7,8

* - 10 свіжовиділених штамів

Висновки

1. Синтезовані моно- та біс-четвертинні амонійні солі володіють вираженою протимікробною активністю проти широкого спектру штамів бактерій.

2. Досліджувані речовини в більшій мірі виявляють антисептичну дію по відношенню до тест культур грампозитивних штамів мікроорганізмів порівняно з грамнегативними.

3. Встановлено оптимальні параметри розмірів молекули ЧАС, які забезпечують найвищу бактерицидну активність

Перспективи подальших досліджень

Синтезовані моно- та біс-четвертинні амонійні солі, володіють високою бактерицидною активністю, що дає підґрунтя для впровадження їх в медичну практику. Перспективними є сполуки Б 1-4, які містять фрагменти димедролу, совкаїну та фрагменту цинхонінової кислоти. Зазначені сполуки окрім високої бактерицидної дії можуть мати і інші види активності, що може бути предметом їх ґрунтовніших досліджень.

Література. 1. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. - М: Новая волна, 2014. - 1216 с. 2. Денисенко В.П., Палий Г.К., Травень Г.А., Невская Т.Л. / Изучение антимикробных и фармакологических свойств аммониевых солей - производных гекса- и гептаметилена-

мина // В кн: Антибиотики. - Вып. 2. - Киев. - 1957. - С.156-162. 3. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів / [Ю. Л. Волянський, Ю. Л. Гриценко, І. С. Гриценко та ін.]. - К, 2004. - 38 с. 4. Воротей Є. С. Чутливість плівкоутворюючих та неплівкоутворюючих штамів St. aureus до антибіотиків та лікувальних препаратів - бактеріофагів / Є. С. Воротей, Л. С. Воронкова, А.І. Вінніков. // Вісник проблем біології та медицини. - 2015. - Вып. 2, т.4 - С. 227-282. 5. Синтез та оцінка бактерицидної активності 4-(4-хлоро-1Н-імідазол-5-іл)-2-оксо-1, 2-дигідро піридин-3-карбонітрилів / [О. У. Мел'ник, В. А. Чорноус, Н. Д. Яковичук та ін.]. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. - 2016. - Т. 4, №52. - С. 57-61. 6. Яковичук Н. Д. Протимікробна активність некоторых производных тиосемикарбазонов [1 арил 1 н имидазол 4 ил] тию] укусуных кислот / Н. Д. Яковичук, В. А. Чорноус. // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. - 2015. - №5. - С. 88-91. 7. Бактерицидна та протигрибкова активність нових біс-четвертинних амонієвих солей / І. П. Бурденюк, В. Ф. Мислицький, К. Г. Ташук, В. О. Чорноус. // Клінічна та експериментальна патологія. - 2016. - Вып. 15, №1. - С. 22-24. 8. Бактерицидна активність нових моно-та біс-четвертинних похідних цинхонінової кислоти / І. П. Бурденюк, В. Ф. Мислицький, В. М. Ходоровський, В. О. Чорноус. // Клінічна та експериментальна патологія. - 2016. - Вып. 15, №1. - С. 25-27. 9. Бурденюк І. П. Синтез та бактерицидна активність нових типів біс-четвертинних амонієвих солей / І. П. Бурденюк, В. Ф. Мислицький, В. О. Чорноус. // Клінічна та експериментальна патологія. - 2016. - Вып. 15, №1. - С. 18-21. 10. Нові типи моно- та біс-четвертинних амонієвих солей з потенційною бактерицидною активністю / І. П. Бурденюк, В. Ф. Мислицький, В. О. Чорноус, К. Г. Ташук. // Клінічна та експериментальна патологія. - 2015. - №4. - С. 17-21.

**ПЕРСПЕКТИВИ ПОИСКА НОВЫХ
ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В РЯДУ
МОНО- И БИС-ЧЕТВЕРТИННЫХ АММОНИЕВЫХ
СОЛЕЙ**

*Т.М. Бойчук, А.І. Лопушанський, І.П. Бурденюк,
В.Ф. Мыслицкий, В.О. Черноус*

Резюме. В работе изучены способы синтеза новых моно- и бис- четвертичных аммонийных солей и проведен анализ их бактерицидной и противогрибковой активности. Изучено влияние типа аммонийной соли, длины углеродной цепи и строения алифатического заместителя на величину бактерицидного действия.

Ключевые слова: органический синтез, бактерицидная активность, четвертичные аммонийные соли.

**PROSPECTS THE SEARCH FOR NEW
ANTIMICROBIAL AGENTS INCLUDE MONO- AND
BIS-QUATERNARY AMMONIUM SALTS**

*T.M. Boichuk, A.I. Lopushinsky, I.P. Burdenyuk,
V.F. Mylytsky, V.A. Chornous*

Abstract. We studied new methods for the synthesis of mono- and bis-quaternary ammonium salts and their analysis of bactericidal and antifungal activity. The influence of the type of the ammonium salt, the carbon chain length and structure of the aliphatic substituents on the amount of bactericidal action.

Key words: organic synthesis, bactericidal activity, quaternary ammonium salts.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol.- 2016.- Vol.15, №3 (57).-P.16-21.

Надійшла до редакції 9.08.2016

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© Т.М. Бойчук, А.І. Лопушанський, І.П. Бурденюк,

В.Ф. Мыслицкий, В.О. Черноус, 2016