

Biological activity of the salts containing a quaternary nitrogen atom

Aktywność biologiczna soli zawierających czwartorzędowy atom azotu

Please cite as: *Przem. Chem.* 2013, 92, 9, 1653.

A review, with 28 refs., of authors' own papers on quaternary ammonium chlorides and ionic liqs. with an activity against bacteria and fungi.

Związki zawierające czwartorzędowy atom azotu stanowią liczną grupę organicznych soli. Są wśród nich ciecze jonowe i ich prekursorzy. Przedstawiono aktywność wobec bakterii i grzybów oraz pokazano potencjał aplikacyjny soli zawierających czwartorzędowy atom azotu.

Sole zawierające czwartorzędowy atom azotu są to związki jonowe składające się z kationu i anionu. Stanowią liczną grupę organicznych soli. Biorąc pod uwagę historię tej grupy można podzielić je na czwartorzędowe halogenki amoniowe i halogenki iminiowe oraz ciecze jonowe. Halogenki te są często w literaturze nazywane prekursorami ciecze jonowych. W tabeli 1 przedstawiono najważniejsze historyczne odkrycia dotyczące soli zawierających czwartorzędowy atom azotu.

Czwartorzędowe halogenki amoniowe są znane od przełomu XIX i XX w. za sprawą Menshutkina. Opisana przez niego reakcja pomiędzy trzeciorzędową aminą a halogenkiem alkilowym przebiega wg mechanizmu substytucji nukleofilowej S_N2 . Jest to uniwersalna i najskuteczniejsza metoda syntezy czwartorzędowych halogenków amoniowych i halogenków iminiowych, nazwana reakcją Menshutkina.

Właściwości bakteriostatyczne halogenków zostały zauważone przez Jacobsa w 1916 r.¹⁾. Opisane przez niego pochodne urotropiny nie przekonywały środowisk medycznych o ich aktywności biologicznej. Sugerowano, że może uwalniać się formaldehyd i to on działa

Table 1. History of salts containing a quaternary nitrogen atom

Tabela 1. Historia soli zawierających czwartorzędowy atom azotu

Rok	Zastosowanie praktyczne	Autor
1890 1902	Synteza – czwartorzędowych chlorków amoniowych, – halogenków iminiowych	Menschutkin
1916	Właściwości bakteriobójcze	Jacobs
	Właściwości powierzchniowe	
1935	Dezynfekcja	Domagka
1960–1969	Zmiękczacze tkanin	
1960	Kataliza przeniesienia międzyfazowego	Jarousse, Mąkosza
1970–1979	Antyelektrostatyki	
1977 1980–1989	Ochrona drewna – czysta forma, – w preparatach z biocydami	Butcher i współpr.
1980–1989	Modyfikatory asfaltów	
1990–1999	Modyfikatory gliny	
1996	Ciecze jonowe	Seddon, Rogers

bakteriobójczo. Dopiero w 1935 r. za sprawą Domagka²⁾ uznano czwartorzędowe halogenki amoniowe za skuteczne związki dezynfekcyjne.

Od końca lat siedemdziesiątych XX w. w Politechnice Poznańskiej badano sole zawierające czwartorzędowy atom azotu. Do końca XX w. obiektem badań były czwartorzędowe chlorki amoniowe i chlorki iminiowe z podstawnikiem alkoksymetylowym i alkilotiometylowym przy czwartorzędowym atomie azotu. W XXI w. kontynuowano badania nad cieczami jonowymi. Rok 1996 jest uważany za początek intensywnego zainteresowania się środowisk naukowych cieczami jonowymi³⁾.

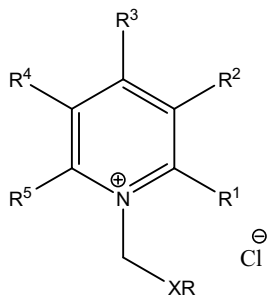
Szczególnym przypadkiem reakcji Menshutkina jest reakcja czwartorzędowania eterami lub sulfidami chlorometyloalkilowymi, która przebiega wg mechanizmu substytucji nukleofilowej $S_N1^{4,5)}$. Te etery i sulfidy są bardzo reaktywne za sprawą powstającego mezo-merycznego kationu. Reakcja czwartorzędowania przebiega szybko w temperaturze pokojowej z wydajnością praktycznie 100%. Jedynym mankamentem jest wrażliwość czynnika czwartorzędującego na wodę (reakcje należy prowadzić w warunkach bezwodnych). Zsyntezowane zostały czwartorzędowe chlorki amoniowe, pirydyniowe i imidazolowe z podstawnikiem $ROCH_2$ i $RSCH_2$. W przypadku chlorków pirydyniowych o ogólnym wzorze:



Prof. dr hab. inż. Juliusz PERNAK w roku 1971 ukończył studia na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Pracuje w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej na stanowisku profesora zwyczajnego. Był laureatem programu MISTRZ Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (edycja 2009 – nauki techniczne). Specjalność – technologia chemiczna.

* Adres do korespondencji:

Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, pl. M. Skłodowskiej-Curie 2, 60-965 Poznań, tel.: (61) 665-36-82, fax: (61) 665-36-49, e-mail: juliusz.pernak@put.poznan.pl



istnieje możliwość syntezy dużej liczby soli poprzez zmianę podstawników R^1 – R^5 . Podstawnikiem X w prowadzonych badaniach był tlen lub siarka, a R liniowy alkil o liczbie atomów węgla 1–18. W podstawniku przy czwartorzędowym atomie azotu jest obecny heteroatom. Taka zmiana wpłynęła na właściwości chlorków. Są one mniej stabilne termicznie i łatwiej ulegają utlenieniu. W świetle prac Domągka sprawdzono, czy chlorki pirydyniowe i imidazoliowe z podstawnikiem ROCH i RSCH₂ wykazują aktywność wobec mikroorganizmów.

Na początek wybrano do badań bakterie chorobotwórcze: *Micrococcus luteus* NCTC 7743, *Staphylococcus aureus* NCTC 4163, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 49134, *Enterococcus faecium* ATCC 49474, *Moraxella catarrhalis* ATCC 25238, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Proteus vulgaris* NCTC 4635, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 oraz *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ze znanych światowych kolekcji i dwa grzyby: *Candida albicans* ATCC 10231 oraz *Rhodotorula rubra* (Demml 1889, Lodder 1934). Wyznaczane były minimalne stężenie bakteriostatyczne MIC oraz minimalne stężenie bakteriobójcze MBC.

Chlorki 1-alkoksymetylopirydyniowe i 1-alkilotiometylopirydyniowe okazały się bardzo aktywne wobec mikroorganizmów w szerokim spektrum działania i bardziej skuteczne niż handlowy chlorek 1-heksadecylopirydyniowy. Wyznaczona aktywność była zależna od rodzaju podstawnika przy czwartorzędowym atomie azotu, od liczby atomów węgla i od rodzaju heteroatomu (tlen lub siarka). Okazało się, że właściwości bakteriostatyczne są podobne do właściwości bakteriobójczych (różnice pomiędzy MIC a MBC były nieznaczne). Na rys. 1 przedstawiono wpływ podstawnika alkilowego grupy

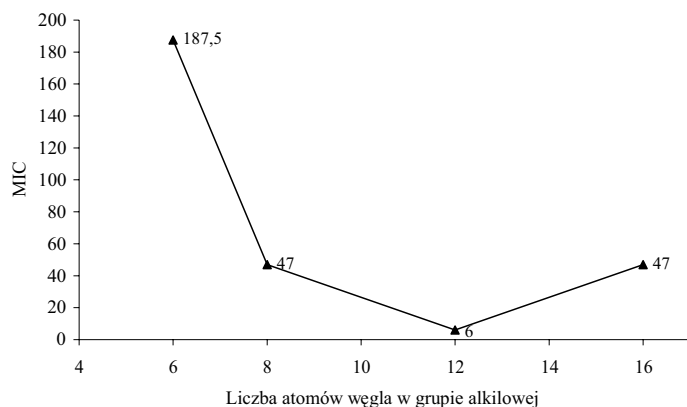


Fig. 1. MIC values against *Escherichia coli* for 1-alkylthiomethylammonium chloride

Rys. 1. Wartości MIC wobec *Escherichia coli* dla chlorków 1-alkilotiometyloamoniowych

RSCH₂ na wartość MIC wobec *Escherichia coli*. Najskuteczniejszy okazał się chlorek 1-dodecylopirometylopirydyniowy⁶. Na rys. 2 pokazano różnice w działaniu chlorków z podstawnikami ROCH₂ i RSCH₂. W obszarze najskuteczniejszego działania obserwuje się brak różnic w wartościach MIC. Różnice uwidaczniają się dopiero przed i po optimum⁷. Dysponując dużą bazą danych, możliwe było usystematyzowanie wartości MIC. Dla wybranego chlorku 1-dodecyloksymetylo-3-X-pirydiniowego podano wartości MIC w tabeli 2. Rodzaj podstawnika w pozycji 3 pierścienia pirydyny decyduje o aktywności mikrobiologicznej. Jednocześnie należy zaznaczyć, że

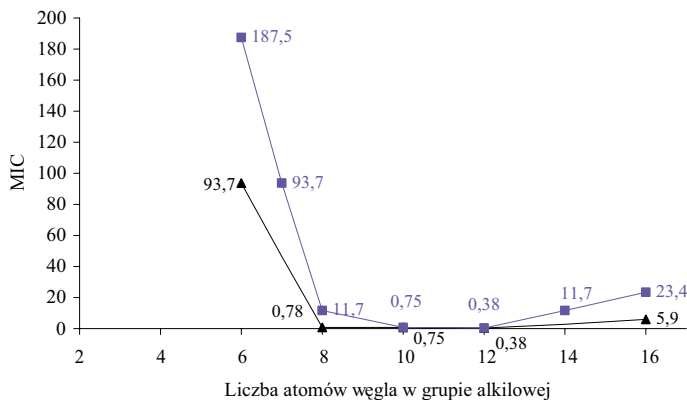
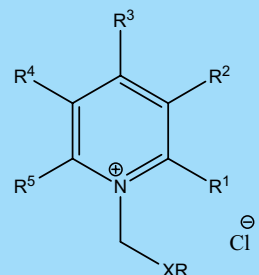


Fig. 2. MIC values against *Escherichia coli* for 1-alkoxyethyl-4-dimethylaminopyridinium chlorides (▲) and 1-alkylthiomethyl-4-dimethylaminopyridinium chlorides (■)

Rys. 2. Wartości MIC wobec *Escherichia coli* dla chlorków 1-alkoksymetylo-4-dimetyloamipirydiniowych (▲) i 1-alkilotiometylo-4-dimetyloamipirydiniowych (■)

Table 2. MIC values of 1-dodecyloxyethyl-X-pyridinium chloride against two bacteria and one fungus

Tabela 2. Wartości MIC dla chlorku 1-dodecyloksymetylo-X-pirydiniowego wobec dwóch bakterii i jednego grzyba



X	MIC (ΔM)		
	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
H	75	0,6	19
Cl	67	2	4
Br	3,6	1,8	1
CH ₃	18	0,5	1,2
C ₂ H ₅	34	0,3	8,5
CH ₂ OC ₂ H ₅	504	126	252
CONH ₂	351	44	44
CONHCH ₂ OCH ₂ C ₁₂ H ₂₅	>855	855	855
OH	1520	1520	380
N(CH ₃) ₂	175	1,4	11
NHCH ₂ Bt	70	35	70
NHCH ₂ Bim	135	68	17,5

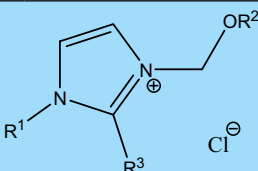
Bt = benzotriazol-1-il, Bim = benzimidazol

jest to uprzywilejowana pozycja dla naturalnych pochodnych pirydyny (niacyna czy dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy). Chlorek 1-dodecyloksymetylo-3-hydroksypirydiniowy jest nieaktywny wobec mikroorganizmów⁸.

Chlorki 1-alkilo-3-alkoksymetyloimidazoliowe są również bardzo skuteczne w działaniu wobec mikroorganizmów. Analizując wyniki badań, obserwuje się, jak istotna jest rola podstawnika alkilowego. Wydłużając podstawnik alkilowy w pozycji jeden, należy skracać podstawnik alkoksymetylowy w pozycji 3 pierścienia imidazolu w celu wyszukania chlorku, dla którego MIC będzie miało najniższą wartość. Ta zależność okazała się skuteczna w poszukiwaniu najaktywniejszych

Table 3. The most active imidazolium chlorides from seven homologous series against microorganisms

Tabela 3. Najaktywniejsze chlorki imidazoliowe z siedmiu szeregów homologicznych wobec mikroorganizmów

				
R ¹	R ²	R ³	Suma węgla R ¹ + R ²	Literatura
C ₈ H ₁₇	C ₁₀ H ₂₁	H	18	9
C ₁₀ H ₂₁	C ₈ H ₁₇	H	18	9
C ₁₂ H ₂₅	C ₆ H ₁₃	H	18	9
C ₆ H ₁₃	C ₁₁ H ₂₃	C ₆ H ₅	17	10
C ₈ H ₁₇	C ₉ H ₁₉	C ₆ H ₅	17	11
C ₁₀ H ₂₁	C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	17	12
C ₁₂ H ₂₅	C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	17	13

* Literatura

chlorków imidazoliowych z podstawnikiem ROCH₂. W tabeli 3 przedstawiono chlorki o najniższych wartościach MIC. Dla szeregów homologicznych chlorków 1-alkilo-3-alkoksymetyloimidazoliowych sumaryczna liczba atomów węgla w podstawniku alkilowym w pozycji jeden i alkilowym w grupie ROCH₂ wynosi 18, a dla szeregów 1-alkilo-3-alkoksymetylo-2-fenylimidazoliowych przyjmuje wartość 17. Wpływ dużej grupy fenylowej w pozycji 2 okazuje się niewielki, ale wprowadzenie chloru w pozycję 5 całkowicie zablokowało aktywność biologiczną omawianych chlorków¹⁴.

Czwartorzędowe chlorki amoniowe z grupą ROCH₂ okazały się one również bardzo skuteczne w zwalczaniu bakterii i grzybów. Na rys. 3 przedstawiono wartości MIC dla chlorku (alkoksymetylo)decylodimetyloamoniowego wobec wybranej bakterii. Widoczna jest różnica w działaniu chlorków zawierających liczbę atomów węgla parzystą i nieparzystą w alkilu grupy ROCH₂¹⁵.

Wykorzystując metodę QSAR (*quantitative structure-activity relationships*) dla badanych chlorków, uzyskano poprawną zależność¹⁶ $\log(1/MIC) = a + b \log P$, w której P jest współczynnikiem podziału oktanol/woda. Pełniejszy obraz aktywnych związków można uzyskać, stosując teorię zbiorów przybliżonych¹⁷. Ta niestatystyczna metoda jest prosta i bezpośrednio ocenia zależność pomiędzy MIC a budową związku. Parametr P nie musi być znany.

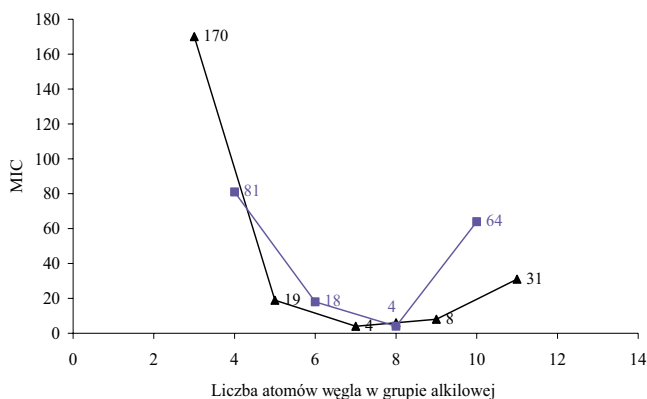


Fig. 3. MIC values against *Escherichia coli* for (alkoxymethyl)decylodimethylammonium chlorides

Rys. 3. Wartości MIC wobec *Escherichia coli* dla chlorków (alkoksymetylo)decylodimetyloamoniowych

Uzyskane wyniki z użyciem czwartorzędowych chlorków amoniowych, chlorków pirydyniowych i imidazoliowych z podstawnikiem ROCH₂ lub RSCH₂ pokazały, jak szerokie mają spektrum i jak skuteczne są one wobec mikroorganizmów. Aktywność biologiczna zależy od rodzaju podstawnika przy czwartorzędowym atomie azotu: od jego długości, od rodzaju heteroatomu (tlen lub siarka), jak i od parzystej lub nieparzystej liczby atomów węgla. Są szczególnie przypadki, kiedy halogenek pirydyniowy lub imidazoliowy traci aktywność wobec bakterii i grzybów. Odpowiedzialny za to jest rodzaj podstawnika w pierścieniu.

Od 1996 r. środowiska akademickie, a w ślad za nimi przemysłowe, rozpoczęły badania nad cieczami jonowymi. Ciecze jonowe definiowane są jako związki jonowe o temperaturze topnienia poniżej 100°C. Jest to olbrzymia grupa soli, w której dominują związki zawierające czwartorzędowy atom azotu. Ładunek ujemny jest zlokalizowany w anionie pochodzenia nieorganicznego lub organicznego, głównie na atomie tlenu lub azotu. Ciecze jonowe są związkami wielofunkcyjnymi, w wielu przypadkach skuteczniejszymi w działaniu niż ich prekursorzy. Nurt badań nad syntezą, właściwościami i aplikacją cieczy jonowych przyspieszył pod koniec XX w. Na samym początku wykazano, że ciecze jonowe są skuteczne wobec drobnoustrojów. Na rys. 4 przedstawiono wartości MIC dla prekursora, czyli chlorku, i dwóch cieczy jonowych z anionami BF₄ i PF₆¹⁸. Rodzaj anionu nieorganicznego praktycznie nie zmienił aktywności biologicznej. Za działanie wobec testowanych mikroorganizmów jest odpowiedzialny kation 1-alkoksymetylo-3-metyloimidazoliowy. Wykazanie, że funkcja biologiczna kationu zostaje zachowana w cieczach jonowych mimo drastycznych zmian właściwości (np. zmiana hydrofilowego charakteru soli na hydrofobowy) pozwoliła ustalić trzecią generację cieczy jonowych^{19, 20}.

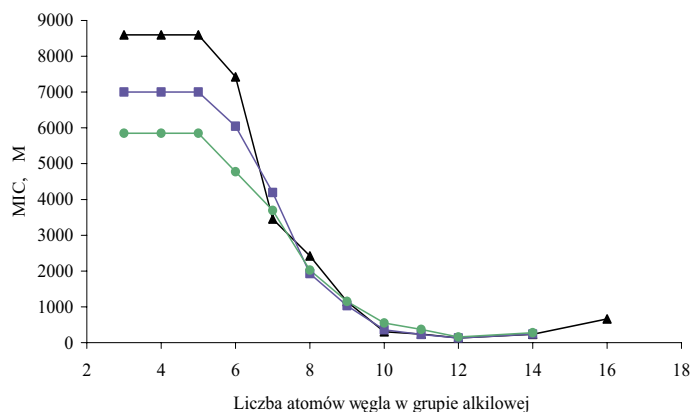


Fig. 4. MIC values of precursor and ionic liquids (1-alkoxymethyl-3-methylimidazolium cation) (▲ – Cl, ■ – BF₄, ● – PF₆)

Rys. 4. Wartości MIC prekursora i cieczy jonowych (kation 1-alkoksymetylo-3-metyloimidazoliowy) (▲ – Cl, ■ – BF₄, ● – PF₆)

Pracując z octanem alkilocykloheksylo-dimetyloamoniowym, zauważono, że sól ta skutecznie rozpuszcza celulozę. Efekt rozpuszczania jest zależny od długości podstawnika alkilowego. Kiedy octan przestał rozpuszczać celulozę, stał się silnie aktywny wobec bakterii i grzybów²¹.

Ciecze jonowe ze swoimi właściwościami fizykochemicznymi (stabilność termiczna, lepkość, gęstość, współczynnik załamania światła) w powiązaniu z aktywnością wobec bakterii i grzybów są związkami chemicznymi o dużym potencjale aplikacyjnym. Mogą być zastosowane w dezynfekcji jako preparaty myjąco-dezynfekcyjne, płukanki jamy ustnej, preparaty dezynfekcyjno-konserwujące w konserwacji drewna użytkowego (preparaty grzybobójcze), zabytkowego²²) (preparaty konserwujące, preparaty grzybobójczo-konserwujące) lub w utrwalaniu tkanek miękkich²³) jako preparaty balsamujące lub preparaty utrwalające.

Do trzeciej generacji cieczy jonowych należy zaliczyć ostatnio rozpoznane herbicydowe ciecze jonowe²⁴⁻²⁹). W tym przypadku aktywny biologicznie jest anion, a jego właściwości użytkowe znacząco wspomaga kation.

Podsumowanie

Znaczenie soli zawierających czwartorzędowy atom azotu należy rozpatrywać jako znaczenie związków wielofunkcyjnych. Wprowadzanie do środowiska naturalnego jednego związku chemicznego o wielu właściwościach spełniającego oczekiwania musi eliminować preparaty wieloskładnikowe. Obciążać środowisko można związkiem, nad którym ma się kontrolę. Jednocześnie należy spodziewać się rozpoznania nowych właściwości omawianych związków. W konsekwencji sole zawierające czwartorzędowy atom azotu będą przedmiotem intensywnych badań przez cały XXI w.

Praca finansowana z działalności statutowej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej DS 32/378/13.

Otrzymano: 17-07-2013

LITERATURA

1. W.A. Jacobs, *J. Exp. Med.* 1916, **23**, 563; W.A. Jacobs, M. Heidelberger, H.L. Amoss, *J. Exp. Med.* 1916, **23**, 569; W.A. Jacobs, M. Heidelberger, C.G. Bull, *J. Exp. Med.* 1916, **23**, 577.
2. G. Domagk, *Deut. Med. Wochenschr.* 1935, **61**, 829.
3. P.D. McCrary, R.D. Rogers, *Chem. Comm.* 2013, **49**, 6011.
4. J. Pernak, W. Walkiewicz, *Polish J. Chem.* 1981, **55**, 1109.
5. J. Pernak, *Polish J. Chem.* 1985, **59**, 439.
6. J. Pernak, J. Szymanowski, M. Pujanek, S. Kucharski, J. Broniarz, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1979, **56**, 830.
7. J. Pernak, L. Michalak, J. Krysiński, *Pharmazie* 1994, **49**, 532.
8. J. Pernak, M. Branicka, *J. Surfactants Deterg.* 2003, **6**, 119.
9. J. Pernak, J. Krysiński, A. Skrzypczak, *Tenside, Surfactants, Detergents* 1987, **24**, 276.
10. J. Pernak, A. Skrzypczak, L. Michalak, J. Krysiński, B. Peterko, *Pharmazie* 1990, **45**, 688.
11. J. Pernak, J. Krysiński, A. Skrzypczak, L. Michalak, *Arch. Pharmazie* 1990, **323**, 307.
12. J. Pernak, A. Skrzypczak, L. Michalak, J. Krysiński, *Arch. Pharmazie* 1992, **325**, 455.
13. J. Pernak, J. Krysiński, A. Skrzypczak, *Pharmazie* 1992, **47**, 623.
14. J. Pernak, J. Krysiński, A. Skrzypczak, L. Michalak, *Arch. Pharmazie* 1988, **321**, 193.
15. B. Brycki, A. Skrzypczak, I. Mirska, J. Pernak, *Arch. Pharmazie* 1996, **329**, 279.
16. J. Pernak, J. Zabielska-Matejuk, E. Urbanik, *Holzforchung* 1998, **52**, 249.
17. A. Skrzypczak, B. Brycki, I. Mirska, J. Pernak, *Eur. J. Med. Chem.* 1997, **32**, 661.
18. J. Pernak, K. Sobaszekiewicz, I. Mirska, *Green Chem.* 2003, **5**, 52.
19. W.L. Hough, M. Smiglak, H. Rodriguez, R.P. Swatloski, S.K. Spear, D.T. Daly, J. Pernak, J.E. Grisel, R.D. Carliss, D.M. Soutullo J.H. Davis, R.D. Rogers, *New J. Chem.* 2007, **31**, 1429.
20. W.L. Hough, R.D. Rogers, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2007, **80**, 2262.
21. J. Pernak, R. Kordala, B. Markiewicz, F. Walkiewicz, M. Poplawski, A. Fabiańska, S. Jankowski, M. Łożyński, *RSC Advances* 2012, **2**, 8429.
22. J. Pernak, N. Jankowska, F. Walkiewicz, A. Jankowska, *Polish J. Chem.* 2008, **82**, 2227.
23. A. Pernak, K. Iwanik, P. Majewski, M. Grzymisławski, J. Pernak, *Acta Histochem.* 2005, **107**, 149.
24. J. Pernak, A. Syguda, D. Janiszewska, K. Materna, T. Praczyk, *Tetrahedron* 2011, **67**, 4838.
25. T. Praczyk, P. Kardasz, E. Jakubiak, A. Syguda, K. Materna, J. Pernak, *Weed Sci.* 2012, **60**, 189.
26. J. Pernak, A. Syguda, K. Materna, E. Janus, P. Kardasz, T. Praczyk, *Tetrahedron* 2012, **68**, 4267.
27. J. Pernak, M. Niemczak, K. Materna, K. Marcinkowska, T. Praczyk, *Tetrahedron* 2013, **69**, 4665.
28. O.A. Cojocar, J.L. Shamsina, G. Gurau, A. Syguda, T. Praczyk, J. Pernak, R. D. Rogers, *Green Chem.* 2013, **15**, 2110.
29. J. Pernak, M. Niemczak, K. Zakrocka, T. Praczyk, *Tetrahedron* 2013, **69**, 8132.



Institut Nawozów Sztucznych, Grupa Azoty Zakłady Azotowe „Puławy” S.A., Stowarzyszenie Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego Oddział w Puławach, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych Politechniki Wrocławskiej, Instytut Przemysłu Organicznego organizują

Konferencję Naukowo-Techniczną **SALETRA 2013**

Postęp i bezpieczeństwo techniczne oraz regulacje prawne dotyczące technologii wytwarzania i obrotu nawozami saletrzanymi oraz kwasem azotowym
która odbędzie się w dniach 23-25 października 2013 r. w Puławach

Tematyka konferencji będzie obejmowała:

- ❖ Obowiązujące i planowane regulacje prawne dotyczące obrotu nawozami saletrzanymi i kwasem azotowym zaliczanymi do, tak zwanych, prekursorów materiałów wybuchowych.
- ❖ Kryteria i metody badań oraz wymagania jakościowe produktów.
- ❖ Zagrożenie bezpieczeństwa w procesach wytwórczych, awarie przemysłowe oraz zagrożenie zamachami terrorystycznymi.
- ❖ Nowe produkty i nowe rozwiązania technologiczne w przemyśle kwasu azotowego nawozów saletrzanym oraz przemysłach pokrewnych.
- ❖ Ochrona środowiska w przemyśle kwasu azotowego i nawozów saletrzanym.

Koszty uczestnictwa:

- przy zakwaterowaniu w pokoju 1-os. – 1500 zł netto/os.
- przy zakwaterowaniu w pokoju 2-os. – 1370 zł netto/os.
- bez noclegów – 1200 zł netto/os.

Informacje nt. Konferencji: pod nr tel. 604 515 309
lub na stronie www.sitpchem.pulawy.pl

Serdecznie zapraszamy do udziału w Konferencji.

W imieniu,

Komitetu Naukowego
prof. dr hab. inż. Henryk Górecki

Komitetu Organizacyjnego
mgr inż. Jerzy Marcinko