
МЕДИЦИНСКИЕ
ПОЛИМЕРЫ

УДК 541.(64 + 49 + 18 + 13)

**АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТ–АМФИФИЛЬНОЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНОЕ
ВЕЩЕСТВО, СОДЕРЖАЩИХ ЧЕТВЕРТИЧНЫЕ
АММОНИЕВЫЕ ГРУППЫ**

© 2019 г. Е. А. Дешевая^а, Е. В. Долгова^{б,*}, М. Г. Дьякова^с,
Н. Д. Новикова^а, В. А. Тверской^с

^аГосударственный научный центр Российской Федерации
Институт медико-биологических проблем Российской академии наук
123007 Москва, Хорошёвское ш., 76А, Россия

^бВсероссийский научно-исследовательский институт авиационных материалов
105005 Москва, ул. Радио, 17, Россия

^сМИРЭА – Российский технологический университет
Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова
119571 Москва, пр. Вернадского, 86, Россия

* e-mail: dolgova_ev@bk.ru

Поступила в редакцию 15.01.2019 г.

После доработки 28.02.2019 г.

Принята к публикации 07.03.2019 г.

Синтезированы полимер-коллоидные комплексы полистиролсульфоната и полиакрилата натрия с диметилалкил(C₈₋₁₆)бензиламмоний хлоридами и поливинилбензилтриметиламмоний хлорида с додецилсульфатом и лауратом натрия, имеющих близкую структуру ионной пары макромолекулярный ион–противоион. Проведен анализ состава образующихся комплексов. Изучены их антимикробные свойства и показано, что комплексы, в которых четвертичные аммониевые группы являются противоионами и связаны с цепью макромолекулы электростатическим взаимодействием, обладают более высокой антифунгальной активностью, чем комплексы, в которых эта группа связана с цепью макромолекулы ковалентной связью. Показана важная роль ассоциированных в составе комплекса молекул аммониевого соединения, содержащего в своей структуре длинноцепной алкильный заместитель, на антифунгальную активность комплексов. Проведен сравнительный анализ свойств пленочных покрытий из синтезированных комплексов.

DOI: 10.1134/S2308112019040047

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что соединения, содержащие четвертичные аммониевые группы (СЧАГ), обладают антимикробными свойствами [1–4]. В многочисленных обзорах, в частности [5–7], рассмотрены возможности синтеза полимеров, обладающих антимикробными свойствами и содержащих четвертичные аммониевые группы как ковалентно связанные с цепью макромолекулы, так и являющиеся противоионами и связанные с цепью макромолекулы кулоновским взаимодействием в составе полимер-коллоидных комплексов (ПКК) полиэлектролит–катионоактивное поверхностно-активное вещество. В указанных работах показано влияние на их антимикробную активность концентрации четвертичных аммониевых групп и природы заместите-

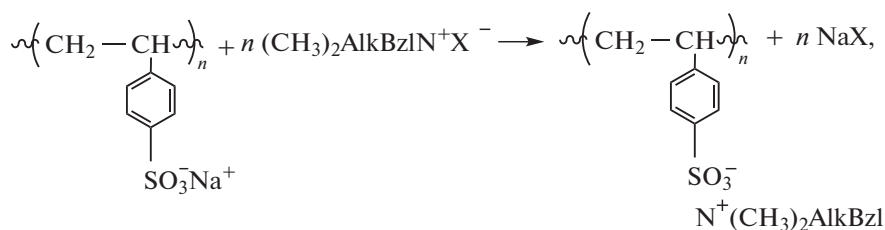
лей у атома азота, а также рассмотрены возможности применения этих полимеров.

В цитируемых выше и других работах [8–10] рассмотрены ПКК, в которых четвертичные аммониевые группы являются противоионами карбоксилатных групп, входящих в состав полиэлектролита. В литературе также имеются сведения о синтезе и свойствах ПКК, где четвертичная аммониевая группа – противоион сильноокислотной группы, такой как сульфокислотная [11, 12]. Полиэлектролиты, содержащие данную группу, могут быть получены гомо- и сополимеризацией стиролсульфоната щелочного металла [13].

Однако до настоящего времени отсутствуют исследования антимикробных свойств ПКК полимерных сульфокислот с СЧАГ. В связи с этим

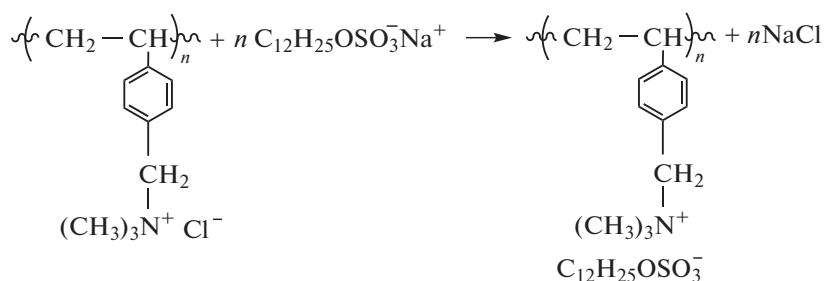
цель настоящей работы — синтез и исследование антимикробных свойств комплексов полисти-

ролсульфоната натрия (**ПССН**) с диметилалкилбензиламмонийгалогенидами



в которых четвертичная аммониевая группа связана с цепью макромолекулы электростатическим взаимодействием, и сравнение свойств дан-

ных комплексов со свойствами комплекса поливинилбензилтриметиламмоний хлорида (полимер **I**) с додецилсульфатом натрия (**ДСН**):



В нем четвертичная аммониевая группа ковалентно связана с цепью макромолекулы. Оба комплекса имеют близкую структуру ионной пары макромолекулярный ион-противоион: $\sim \text{SO}_3^- \text{R}_3 \text{N}^+$. Представляло также интерес сравнение антимикробных свойств этих ПКК с антимикробными свойствами традиционных комплексов, где ионная пара состоит из карбоксилатной и четвертичной аммониевой групп.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты

Стиролсульфонат натрия (**ССН**), гидрат, 97,5% ("Aldrich"); смесь *мета*- и *пара*-винилбензилтриметиламмоний хлорида, 99% ("Aldrich"); диметилгексадецилбензиламмоний хлорид (**СЧАГ-С₁₆**), гидрат, 97% ("Aldrich"); N,N-диметилбензиламин, 99% ("Acros Organics"); *n*-октилбромид, 99% ("Aldrich"); *n*-додецилбромид, ≥95% ("Aldrich") и персульфат аммония, 98% (ROTH) использовали без дополнительной очистки. Полиакриловую кислоту (**ПАК**) с $M_n = 13.0 \times 10^4$, ("Aldrich") также применяли без дополнительной очистки.

Синтез полимеров

Полимеризацию **ССН** и винилбензилтриметиламмоний хлорида осуществляли в водном растворе при 60°C в запаянных ампулах, предвари-

тельно продутых азотом. Инициатором служил персульфат аммония. По окончании полимеризации полимеры очищали от остатков мономеров диализом (диализные мешки "ROTH" с отсежкой по молекулярной массе (MWCO) 4000–6000). Очищенные от мономеров растворы полимеров концентрировали на роторном испарителе и сушили при 50°C до постоянной массы.

Средневязкостную молекулярную массу **ПССН** рассчитывали по уравнению [14]:

$$\eta = 5.75 \cdot \bar{P} \quad (0.5 \text{ N водный раствор NaCl, } 30^\circ\text{C}),$$

где $\bar{P}$ — средневязкостная степень полимеризации.

Вискозиметрические измерения проводили в вискозиметре Уббелюде.

Полиакрилат натрия (**ПАК-Na**) получали нейтрализацией раствора **ПАК** эквимольным количеством щелочи.

Синтез четвертичных аммониевых соединений

Синтез N,N-диметилоктилбензиламмоний бромида (**СЧАГ-С₈**) и N,N-диметилдодецилбензиламмоний бромида (**СЧАГ-С₁₂**) проводили в ДМФА при 90°C в течение 34 ч при эквимольном соотношении N,N-диметилбензиламина и *n*-октилбромида (при синтезе **СЧАГ-С₈**) и *n*-додецилбромида (при синтезе **СЧАГ-С₁₂**). По окончании процесса образовавшиеся аммониевые соли осаждали из раствора диэтиловым эфиром и перео-

саждали им же из раствора в изопропиловом спирте. Осадок сушили сначала на роторном испарителе, затем на воздухе при 50°C.

Выход СЧАГ-С₈ 82%.

Найдено, %: С 61.2, Н 9.4, N 4.1, Br 25.1.

Вычислено, %: С 62.3, Н 9.1, N 4.3, Br 24.3.

Выход СЧАГ-С₁₂ 74%.

Найдено, %: С 62.8, Н 9.8, N 3.6, Br 20.9.

Вычислено, %: С 65.6, Н 9.9, N 3.6, Br 20.9.

Синтез полимер-коллоидных комплексов

Комплексы ПССН и ПАК-На со СЧАГ и комплексы полимера I с ДСН получали при смешивании компонентов в эквивалентных соотношениях в пересчете на ионные группы. Для этого к водным растворам полимеров при перемешивании по каплям добавляли водные растворы низкомолекулярных солей. Выделившийся осадок комплексов промывали на фильтре водой, сушили на воздухе и затем в вакуум-сушильном шкафу при температуре 50°C до постоянной массы.

Комплексы ССН со СЧАГ синтезировали смешиванием эквимольных количеств водных растворов компонентов. Выделившиеся в виде осадков комплексы очищали от исходных компонентов многократным промыванием водой. Полимеризацию мономерных комплексов проводили в изопропанолу при 70°C в течение 3 ч в ампулах, продутых азотом, с использованием ДАК (2 мас. % от массы комплексов) в качестве инициатора. Полученные полимеры осаждали водой и сушили на воздухе при 50°C до постоянной массы.

Формирование пленочных покрытий и исследование их свойств

Пленочные покрытия из всех полученных ПКК формировали из растворов в изопропанолу с концентрацией ~5 г/дл на пластинах из силикатного стекла размером 2.5 × 2.5 см, после чего сушили на воздухе в течение 1 суток при температуре 20–25°C.

Оценку твердости пленочных покрытий проводили с помощью карандаша согласно ГОСТ Р 54586-2011 (ISO 15184:1998).

Краевые углы смачивания на границе раздела образец–вода–воздух определяли методом сидячей капли.

Стойкость пленочных покрытий к воздействию плесневых грибов оценивали, используя штаммы микромицетов плесневых грибов: *Penicillium expansum*, *Penicillium aurantiogressum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus sydowii*, *Cladosporium cladosporioides*. Для заражения использовали ассоциацию спор грибов с концентрацией 5 × 10⁶ в 1 мл (по 1 × 10⁶ в 1 мл по каждому виду спор). Заражение образцов, помещенных в стерильные

Таблица 1. Шкала роста грибов в баллах

Балл	Характеристика балла
0	При осмотре под микроскопом рост плесневых грибов не виден
1	При осмотре под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий в виде неветвящихся гиф
2	При осмотре под микроскопом виден мицелий в виде ветвящихся гиф, возможно спороношение
3	При осмотре невооруженным глазом рост грибов едва виден, но отчетливо виден под микроскопом
4	При осмотре невооруженным глазом отчетливо виден рост грибов, покрывающих менее 25% испытываемой поверхности
5	При осмотре невооруженным глазом отчетливо виден рост грибов, покрывающих более 25% испытываемой поверхности

чашки Петри, осуществляли путем равномерного нанесения приготовленной взвеси спор грибов в растворе минеральных солей без сахара (среда Чапека–Докса) на их поверхность. Открытые чашки Петри с образцами выдерживали в течение 28 суток, после чего проводили учет содержания и состава микроорганизмов на опытных образцах в соответствии с шестибальной шкалой ГОСТ 9.049-91 (ISO 846), представленной в табл. 1.

Параллельно определяли жизнеспособность всех культур плесневых грибов, используемых в данных испытаниях. По истечении 5 суток проводили осмотр контрольных чашек Петри с питательной средой и спорами грибов. Если на питательной среде рост грибов наблюдался, то споры грибов, которые применяли для заражения, считались жизнеспособными. Во всех экспериментах, описанных в настоящей статье, жизнеспособность спор грибов всегда подтверждалась.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 2 приведены условия получения ПКК, а в табл. 3 — их элементный анализ и состав. Видно, что состав полученных комплексов, рассчитанный по анализам на содержание в них серы и азота, близок к стехиометрическому. В обоих случаях выход ПКК не достигал 100%, т.е. реагенты не полностью участвуют в образовании не растворимых в воде стехиометрических комплексов. При этом присутствие брома в составе комплекса ПССН со СЧАГ указывает на то, что в комплексе имеется некоторое количество не связанных в виде противоионов молекул СЧАГ, ассоциированных за счет гидрофобного взаимодействия с катионами

Таблица 2. Условия синтеза комплексов ПССН со СЧАГ-С₁₂ и полимера I с ДСН

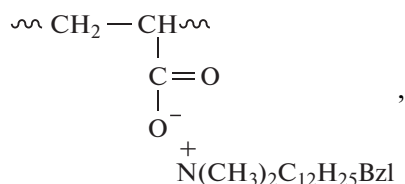
Полиэлектролит	СЧАГ (ДСН)	[Полиэлектролит], моль/звено	[СЧАГ] ([ДСН]), моль/л	Z*	Выход, %
ПССН	СЧАГ-С ₁₂	0.32	0.32	1.0	93
Полимер I	ДСН	0.46	0.34	1.0	79

*Отношение количества ионных групп реагентов, взятых в реакцию.

СЧАГ, являющимися противоионами. Присутствие в этом комплексе натрия, а в комплексе полимера I с ДСН хлора указывает на “дефекты” структуры комплексов: наличие в них ионогенных звеньев полиэлектролита, не прореагировавших с ПАВ.

Исследование биоцидных свойств пленок из этих комплексов показало полное подавление роста грибов комплексом ПССН со СЧАГ-С₁₂ и рост грибов, соответствующий 3 баллам, на пленке из комплекса полимера I с ДСН. Иными словами, ПКС, в котором четвертичная аммониевая группа является противоионом и связана с цепью макромолекулы электростатическим взаимодействием, обладает более высокой антифунгальной активностью, чем комплекс, в котором данная группа связана с цепью макромолекулы ковалентной связью. В монографии [15] сравниваются свойства полиметакрилатов, содержащих ковалентно связанные четвертичные аммониевые группы, с соответствующими мономерами. Более низкую антимикробную активность первых авторы объясняют низкой подвижностью ковалентно связанных с макромолекулой аммониевых групп.

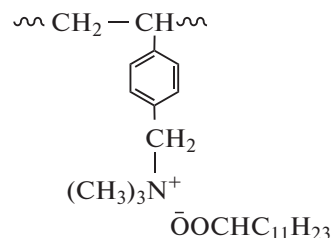
Такой вывод подтверждается и сравнением биоцидной активности комплексов ПАК-На и СЧАГ-С₁₂

**Таблица 3.** Элементный анализ и состав комплексов ПССН со СЧАГ-С₁₂ и полимера I с ДСН

Комплекс	Элементный анализ, %					φ*
	N	S	Br	Cl	Na	
ПССН–СЧАГ-С ₁₂	2.80	6.20	2.0	—	0.2	1.07
Полимер I–ДСН	3.17	7.01	—	0.69	0	0.97

*Отношение количества СЧАГ (ДСН) и звеньев полиэлектролита в комплексе.

а также полимера I с лауратом натрия



имеющих близкую структуру ионных пар.

Оказалось, что полимер-коллоидный комплекс ПАК-На со СЧАГ-С₁₂, в котором четвертичные аммониевые группы связаны с макромолекулой электростатическим взаимодействием, также полностью подавляет рост плесневых грибов и обладает фунгицидным эффектом, тогда как на пленках ПКС из полимера I с лауратом натрия их рост соответствует 1 баллу.

Безусловно, ассоциированное СЧАГ, катионы которого не связаны с макромолекулой в виде противоиона, повышает биоцидную активность комплекса ПССН со СЧАГ-С₁₂. Действительно, расчеты на основании элементного анализа состава этого комплекса показали, что в нем одна молекула ассоциированного СЧАГ-С₁₂ приходится на семь катионов СЧАГ-С₁₂, являющихся противоионами сульфокислотных групп.

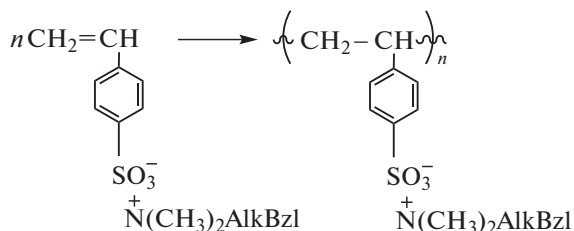
Чтобы исключить влияние ассоциированных молекул СЧАГ на биоцидные свойства данного комплекса последний был переосажден. После переосаждения содержание брома в комплексе уменьшилось с 2.0 до 0.9%, что соответствует содержанию в ПКС одной молекулы ассоциированного СЧАГ-С₁₂ на четырнадцать катионов СЧАГ-С₁₂, являющихся противоионами сульфокислотных групп. Однако и этот переосажденный комплекс полностью подавляет рост грибов. Кроме того, уменьшение содержания в комплексе ассоциированного СЧАГ в результате преосаждения приводит к увеличению гидрофобности комплекса: краевой угол смачивания покрытия увеличивается с 80° до 90°.

Помимо реакции комплексообразования полиэлектролит–СЧАГ синтез ПКС возможен полимеризацией комплексов мономерных электролитов с противоположно заряженными СЧАГ, в

Таблица 4. Свойства пленочных покрытий из переосажденных комплексов ПССН и ПАК-Na со СЧАГ-С₁₂

Полиэлектролит	Краевой угол смачивания, град	Твердость
ПССН	90	НВ
ПАК-Na	60	2В

частности, полимеризацией мономерного комплекса ССН со СЧАГ, содержащими длинноцепной алкильный заместитель



Данный способ позволяет получать комплексы со строго эквимольным соотношением компонентов, не содержащие в своей структуре молекул ассоциированного СЧАГ.

Действительно, элементный анализ полученных таким способом ПКК со СЧАГ-С₈ СЧАГ-С₁₂ и СЧАГ-С₁₆ показал отсутствие в них галогена, что подтверждает образование стехиометрических, строго эквимольных ПКК, не содержащих ассоциированных СЧАГ. Оказалось, что и эти комплексы со СЧАГ-С₁₂ и СЧАГ-С₁₆ полностью подавляют рост грибов. Более низкая биоцидная активность ПКК со СЧАГ-С₈ (рост грибов оценивался в 1 балл) связана с меньшей длиной алкильного заместителя в последнем, не достаточной для существенного нарушения жизнедеятельности клеток грибов [1, 16].

Итак, дифильные четвертичные аммониевые соединения в составе ПКК, являясь противоионами сильной полистирольсульфокислоты, сохраняют высокие биоцидные свойства, присущие этим соединениям как в составе ПКК на основе слабых карбоновых кислот [5], так и свободным СЧАГ, где противоионом является анион галогенида [16].

Сравнение свойств рассмотренных выше комплексов ПССН с четвертичными аммониевыми соединениями со свойствами аналогичных комплексов на основе ПАК-Na показало, что при одинаковом уровне биоцидной активности этих ПКК пленочные покрытия из комплексов на основе ПССН имеют большую твердость и гидрофобность (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе синтезированы ПКК, содержащие четвертичные аммониевые группы,

связанные с цепью макромолекулы как кулоновским взаимодействием, так и ковалентной связью, в обоих случаях являясь противоионом сульфонатной группы. Изучены антифунгальные свойства этих ПКК. Выявлено, что более высокой фунгицидной активностью обладают ПКК, в которых четвертичная аммониевая группа связана с цепью макромолекулы кулоновским взаимодействием. Присутствие в составе указанных стехиометрических комплексов ассоциированных молекул СЧАГ не является определяющим в высокой фунгицидной активности ПКК.

Сравнение свойств комплексов ПССН со СЧАГ и комплекса ПАК-Na со СЧАГ показало сопоставимый уровень антимикробных свойств, причем было обнаружено, что первые образуют более твердые и гидрофобные пленочные покрытия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gilbert P., Moore L.E. // J. Appl. Microbiol. 2005. V. 99. № 4. P. 703.
2. Timofeeva L., Kleshcheva N. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2011. V. 89. P. 475.
3. Kaur R., Liu S., // Progr. Surface Sci. 2016. V. 91. № 3. P. 136.
4. Siedenbiedel F., Tiller J.C. // Polymers. 2012. V. 4. № 1. P. 46.
5. Panarin E.F., Kopeikin V.V. // Polymer Science C. 2002. V. 44. № 2. P. 185.
6. Kenawy El-R., Worley S.D., Broughton R. // Biomacromolecules. 2007. V. 8. № 5. P. 1359.
7. Tashiro T. // Macromol. Mater. Eng. 2001. V. 286. № 2. P. 63.
8. Фельдштейн М.М., Зезин А.Б. // Молек. биология. 1974. Т. 8. № 1. С. 142.
9. Новаков И.А., Шулевиц Ю.В., Ковалева О.Ю., Навроцкий А.В., Навроцкий В.А. // Изв. ВолгГТУ. 2005. Т. 1. С. 5.
10. Goddard E.D. // Colloids Surf. 1986. V. 19. № 2–3. P. 301.
11. Antonietti M., Förster S., Zisenis M., Conrad J. // Macromolecules. 1995. V. 28. № 7. P. 2270.
12. Yoshimura T., Nagata Y., Esumi K. // J. Colloid Interface Sci. 2004. V. 275. № 2. P. 618.
13. Prokhorova E.V., D'yakova M.G., Zubov V.P., Shevlyakova N.V., Tverskoy V.A. // Polymer Science B. 2014. V. 56. № 1. P. 21.
14. Бектуров Е.А., Мягченков В.А., Куренков В.Ф. Полимеры и сополимеры стиролсульфокислоты. Алма-Ата: Наука, 1989.
15. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. СПб.: Гиппократ, 1993.
16. Gilbert P., Al-Taee A. // Lett. Appl. Microbiol. 1985. V. 1. P. 101.