

Алкилированные производные 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана: самоассоциация, катализитические свойства и биологическая активность*

**Е. П. Жильцова,^а Т. Н. Паширова,^а Р. Р. Кашапов,^а Н. К. Гайсин,^б О. И. Гнездилов,^б С. С. Лукашенко,^а
А. Д. Волошина,^а Н. В. Кулик,^а В. В. Зобов,^а Л. Я. Захарова,^{а*} А. И. Коновалов^а**

^аИнститут органической и физической химии им. А. Е. Арбузова
Казанского научного центра Российской академии наук,
Российская Федерация, 420088 Казань, ул. Акад. Арбузова, 8.
Факс: (843 2) 273 2253. E-mail: lucia@iopc.ru

^бКазанский государственный технологический университет,
Российская Федерация, 420015 Казань, ул. К. Маркса, 68

^вКазанский физико-технический институт им. Е. К. Завойского
Казанского научного центра Российской академии наук,
Российская Федерация, 420029 Казань, ул. Сибирский тракт, 10/7

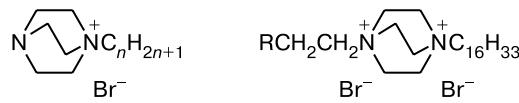
Методом спектроскопии ЯМР ¹Н изучена агрегация 1-гексадецил-4-аза-1-азониа-бицикло[2.2.2]октанбромуида в присутствии 4-нитрофенилдиэтилфосфата, определены количественные характеристики агрегации. Полученные данные использованы для объяснения катализитического влияния мицелл на гидролиз фосфата. Выведены корреляционные соотношения между агрегационными свойствами алкилированных моно- и дикарионных производных 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана и их биологической активностью.

Ключевые слова: алкилированные производные 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, ассоциация, критическая концентрация мицеллообразования, число агрегации, гидролиз, биологическая активность.

Растворы поверхностно-активных веществ (ПАВ) находят широкое применение в современных технологиях, в том числе в синтезе наночастиц и мезопористых материалов, диспергировании углеродных нанотрубок, нефтедобыче, катализе, биодиагностике и т.д.^{1–5} Катионные ПАВ (КПАВ) вызывают особый интерес исследователей по нескольким причинам. Благодаря наличию гидрофобного фрагмента и положительно заряженных групп КПАВ способны встраиваться в липидные бислои, эффективно взаимодействовать с внутриклеточными мембранами, фосфатными группами нуклеиновых кислот и другими отрицательно заряженными биосубстанциями. Это обуславливает привлекательность КПАВ с точки зрения разработки невирусных векторов, переносчиков лекарственных и диагностических средств, антимикробных препаратов. КПАВ традиционно используются в мицеллярном катализе с целью разложения фосфорорганических экотоксикантов по механизму щелочного гидролиза⁶. Вместе с тем для КПАВ характерно значительное разнообразие химической структуры головных групп, включая варьирование природы заряженного атома (N, P, S) и строения его заместителей, а также переход к циклическим головным группам. Это позволяет проводить систематические

исследования гомологических рядов и устанавливать корреляции структура—свойство. Применение ПАВ с арильными⁷ и различными функциональными заместителями в головной группе⁸, а также переход от гексадецилтриметиламмонийбромуида к гексадецилпиридинийбромуиду⁹ дают возможность повысить катализитическую активность мицеллярных систем в процессах разложения эфиров кислот фосфора. В ряду КПАВ примеры использования ПАВ с бициклической головной группой в качестве мицеллообразующих каталитических агентов единичны^{10,11}. Вместе с тем их применение позволяет увеличить комплексообразующую способность ПАВ по отношению к ионам металлов, а следовательно, усилить катализитическую активность систем за счет перехода от обычных мицелл к металломицеллам¹⁰, а также провести функционализацию ПАВ и перейти от моно- к дикарионному типу ПАВ.¹¹

В данной работе исследована катализитическая и биологическая активность ряда КПАВ (**1–6**), содержащих бициклический фрагмент в головной группе,



1–4

5, 6

n = 12 (**1**), 14 (**2**), 16 (**3**), 18 (**4**)

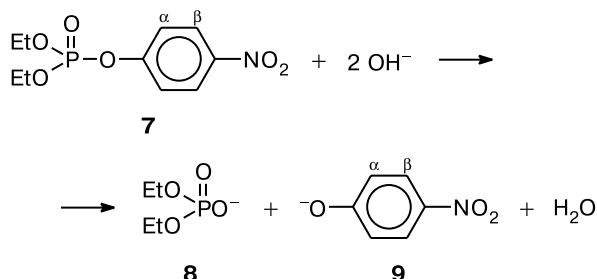
R = H (**5**), OH (**6**)

* Посвящается академику Российской академии наук В. Н. Чарушину в связи с его 60-летием.

и проведен анализ полученных результатов с учетом данных по мицеллообразованию и солюбилизирующими свойствам КПАВ **1–6**.

Каталитическая активность изучена на примере щелочного гидролиза 4-нитрофенилдиэтилфосфата (**7**) (схема 1) в мицеллярном растворе монокатионного производного 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (**3**). Предварительно методом ЯМР с фурье-преобразованием и импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР-ИГМП) исследована агрегация КПАВ **3** в присутствии фосфата **7**, что позволило оценить влияние солюбилизата на агрегационные характеристики и количественно охарактеризовать его связывание мицеллами **3**. Кинетика гидролиза фосфата **7** изучена методами спектроскопии ЯМР ^1H и ^{31}P , а также УФ-спектрофотометрии. Кроме того, исследована биологическая активность моно- и дикатионных производных 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана **1–6** и ее взаимосвязь с агрегационными свойствами исследуемых ПАВ.

Схема 1



Экспериментальная часть

Соединения **1–4** получены взаимодействием 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (DABCO) с соответствующими алкилбромидами по описанной ранее методике¹².

4-Гексадецил-1-этил-1,4-диазониабицикло[2.2.2]октан-дигидробромид (5). Раствор смеси 3 г (7.2 ммоля) КПАВ **3** и 7.8 г (10-кратный избыток) этилбромида в 30 мл ацетонитрила кипятили 10 ч в колбе с обратным холодильником. По окончании реакции отогнали растворитель и остаток этилбромида. Выпавший солевой продукт растворили в небольшом количестве этанола, осадили из горячего раствора ацетоном, высушили в вакууме. Выход 2.95 г (78%), т.пл. 216–218 °C. ИК-спектр (KBr), $\nu/\text{см}^{-1}$: 2960, 2920, 2850, 1464, 1397, 1113, 1058, 855, 806, 724. Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.): 0.85 (т, 3 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$, $J = 6.6 \text{ Гц}$); 1.28–1.40 (м, 26 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$); 1.44 (т, 3 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.3 \text{ Гц}$); 1.88 (ущ.с, 2 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$); 3.70–3.71 (м, 4 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3 + \text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.05–4.15 (м, 12 H, 2 $\text{N}^+(\text{CH}_2)_3$).

1-Гидроксиэтил-4-гексадецил-1,4-диазониабицикло[2.2.2]-октандигидробромид (6). Раствор смеси 1 г (2.4 ммоля) КПАВ **3** и 0.359 г (1.2-кратный избыток) 2-бромуэтанола в 20 мл ацетонитрила кипятили 20 ч в колбе с обратным холодильником. Выпавший солевой продукт отделили фильтрованием, перекристаллизовали из этанола и высушили в вакууме. Выход 0.82 г (63%), т.пл. 190–192 °C. ИК-спектр (KBr), $\nu/\text{см}^{-1}$: 3346, 2958, 2920, 2851, 1468, 1398, 1378, 1123,

1087, 1056, 865, 722. Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.86 (т, 3 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$, $J = 8.6 \text{ Гц}$); 1.27–1.39 (м, 26 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$); 1.86 (ущ.с, 2 H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$); 3.79 (с, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4.11–4.18 (м, 14 H, 2 $\text{N}^+(\text{CH}_2)_3 + \text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$).

4-Нитрофенилдиэтилфосфат (**7**) («Sigma») использовали без предварительной очистки.

Измерение зависимости коэффициента самодиффузии (D) молекул ПАВ и солюбилизата (фосфата **7**) выполняли на ЯМР-спектрометре с фурье-преобразованием «Bruker AVANCE 400» с использованием импульсного градиента G поляризующего магнитного поля. Спектрометр снабжен приставкой ИГМП, создающей градиенты до 0.53 Тл·м⁻¹. Значение D определяли по спаду интегральной интенсивности сигналов стимулированного спинового эха протонов различных групп алкильного и циклического фрагментов ПАВ, который вызван изменением градиента поля в серии последовательности трех 90-градусных импульсов:

$$I(G) = I_0 \exp\{(\gamma\delta G)^2 D[\Delta - (\delta/3)]\}, \quad (1)$$

где γ — гиромагнитное отношение ядра (протона), δ — длительность градиентного импульса, Δ — промежуток времени между градиентными импульсами. В зависимости от величины измеряемых коэффициентов самодиффузии постоянные значения времен δ и Δ изменялись в пределах 5–10 и 50–70 мс соответственно. Эти времена значительно больше времени обмена молекулами между свободной и мицеллярной компонентами раствора. Величины D молекул ПАВ определяли усреднением значений, полученных по сигналам протонного резонанса их различных фрагментов, а для молекул солюбилизата **7** — по сигналам ЯМР протонов фенильной группы молекулы. Погрешность измерения D при больших концентрациях ПАВ составляла ~2%, при малых — ~5%. Температуру образцов поддерживали с помощью терmostатирующей системы спектрометра.

Спектры ЯМР ^1H и ^{31}P регистрировали на приборе «Bruker AVANCE 400» (162 МГц). Химические сдвиги линий ^{31}P определяли относительно внешнего эталона H_3PO_4 .

Кинетику реакций (УФ-спектрофотометрический метод) изучали путем измерения увеличения оптической плотности полосы поглощения 4-нитрофенолят-аниона при 400 нм на спектрофотометре «Specord UV–Vis» в термостатируемых кюветах. Наблюдаемые константы скорости реакции ($k_{\text{app}}/\text{с}^{-1}$) определяли по уравнению первого порядка. Концентрация субстрата **7** в начале реакции составляла $5 \cdot 10^{-5}$ моль·л⁻¹.

Обсуждение полученных результатов

Зависимости величин D молекул ПАВ и солюбилизата (фосфата **7**) в растворах тяжелой воды от общей концентрации ПАВ (C_t) показаны на рисунке 1. При концентрациях ниже критической концентрации мицеллообразования (ККМ) величины D молекул ПАВ и солюбилизата имеют постоянные значения, равные $4.2 \cdot 10^{-10}$ и $6.2 \cdot 10^{-10} \text{ м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$ соответственно (см. рис. 1, вставка). Это означает, что молекулы ПАВ и фосфата при концентрациях ниже ККМ диффундируют в растворе как свободные мономерные частицы. Кроме того, близость областей перегиба (см. рис. 1, вставка) указывает на то, что самодиффузия молекул солюбилизата связана с самодиффузией молекул ПАВ, образующих мицеллы.

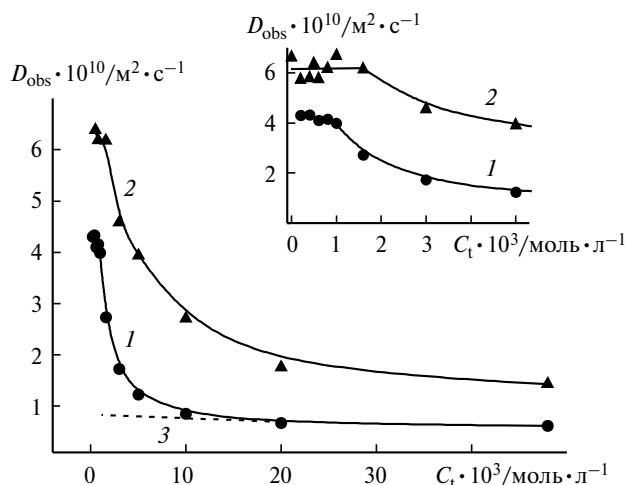


Рис. 1. Зависимость наблюдаемого коэффициента самодиффузии КПАВ 3 (1) и фосфата 7 (2) от концентрации ПАВ при 30 °C, $C_f = 10^{-3}$ моль·л⁻¹; касательная к кривой 1 при высоких концентрациях ПАВ (3). На вставке — зависимость 1 и 2 в области низких концентраций ПАВ.

Согласно опубликованным данным¹³ величину ККМ наиболее точно можно определить с помощью зависимости D_{obs} от $1/C_t$ (рис. 2). Точки излома на зависимостях 1 и 2 отвечают концентрациям ПАВ $9 \cdot 10^{-4}$ и $1.6 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹ соответственно. Более высокое значение ККМ, определенное на основе зависимости 2, может быть обусловлено тем, что снижение коэффициента самодиффузии ПАВ отражает образование не только мицелл, но и предмицеллярных агрегатов, имеющих низкие числа агрегации и не способных к солюбилизации органических субстратов. Подобное расхождение величин ККМ характерно при использовании зондов¹⁴. Определенное нами ранее значение ККМ КПАВ 3 в тяжелой воде, не содержащей субстрата, равно $8.5 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹,¹⁵ т.е. присутствие фосфата практически не влияет на мицеллообразующие свойства ПАВ.

При анализе экспериментальных результатов использовали псевдофазную модель мицеллообразования, или модель двух состояний^{13,16,17}. В рамках этого

подхода наблюдаемая величина D молекул ПАВ и солюбилизата при условии быстрого обмена между свободным и мицеллярным компонентами раствора может быть представлена в виде вкладов молекул в свободном (D_f) и мицеллярном (D_m) состояниях:

$$D_{\text{obs}} = p_f D_f + p_m D_m, \quad (2)$$

где p_f и p_m — относительное содержание в растворе свободного и мицеллярного компонентов соответственно,

$$p_f = C_f / C_t, \quad p_m = C_m / C_t, \quad p_f = 1 - p_m. \quad (3)$$

Уравнения (2) и (3) позволяют перейти к уравнению для выражения концентрации свободного (C_f) и мицеллярного (C_m) компонентов ПАВ и солюбилизата:

$$C_f = C_t - C_m = C_t (D_{\text{obs}} - D_m) / (D_f - D_m). \quad (4)$$

Считается, что влияние мицеллобразования на коэффициент самодиффузии молекул ПАВ незначительно и в области концентраций выше ККМ он мало отличается от такового в области ККМ ($D_{f,CMC}$), а для концентраций выше ККМ вводится незначительная поправка, учитывающая эффект препятствий со стороны мицелл:

$$D_f = D_{f,CMC} (1 + \phi/2)^{-1},$$

где ϕ — объемная фракция мицеллярного ПАВ; $\phi = M(C_t - CMC)/\rho$, где M — мольная масса ПАВ, ρ — его плотность, СМС — критическая концентрация мицеллообразования. Мольную массу ПАВ 0.393 кг·моль⁻¹ определяли с учетом степени связывания противоионов Br⁻, считая ее равной 0.7.¹⁸ Мольная масса солюбилизата равна 0.275 кг·моль⁻¹.

Значения D мицелл (D_m) находили с помощью касательной 3 (см. рис. 1) при больших концентрациях раствора. Этот подход основан на данных работы¹⁵, полученных при использовании гидрофобного зонда гексаметилдисилоксана. Было показано, что при больших концентрациях 3 ($> 10^{-2}$ моль·л⁻¹) концентрационная зависимость D солюбилизата (D_m) сливается с зависимостью для ПАВ (D_{obs}). В предшествующей области концентраций КПАВ 3 ($2 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$ моль·л⁻¹) концентрационная зависимость D_m совпадает с касательной к зависимости D_{obs} для ПАВ на участке с концентрацией $3 > \sim 10^{-2}$ моль·л⁻¹.¹⁵ На основе данных о D_{obs} , D_f и D_m по формуле (4) удается найти концентрации молекул ПАВ и солюбилизата в свободном состоянии и в составе мицелл.

Полученные результаты могут быть использованы для оценки числа молекул ПАВ и солюбилизата (фосфата), включенных в мицеллы. Объем мицеллы (V_m) складывается из объемов, занятых молекулами ПАВ (V_{Surf}) и солюбилизата (V_{Ph})

$$V_m = V_{\text{Surf}} n_{\text{Surf}} + V_{\text{Ph}} n_{\text{Ph}}, \quad (5)$$

где $V_{\text{Surf}} = M_{\text{Surf}} / (\rho_{\text{Surf}} N_A)$ — объем, занимаемый молекулой ПАВ, $V_{\text{Ph}} = M_{\text{Ph}} / (\rho_{\text{Ph}} N_A)$ — объем, занимаемый

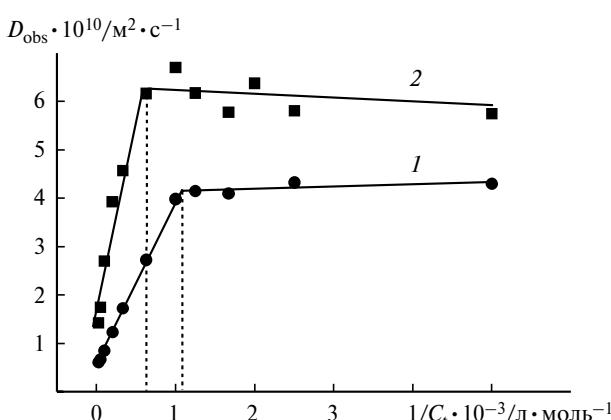


Рис. 2. Зависимость наблюдаемого коэффициента самодиффузии КПАВ 3 (1) и фосфата 7 (2) от обратной концентрации ПАВ при 30 °C.

молекулой солюбилизата в мицелле, M_{Surf} и M_{Ph} — молекулярные массы ПАВ и солюбилизата, ρ_{Surf} и ρ_{Ph} — плотности ПАВ и солюбилизата, n_{Surf} и n_{Ph} — числа молекул ПАВ и солюбилизата в мицелле, N_A — число Авагадро. С учетом числа агрегации мицеллы $N = n_{\text{Surf}} + n_{\text{Ph}}$ уравнение (5) можно привести к следующему виду:

$$\frac{V_m}{N} = \frac{M_{\text{Surf}}}{\rho_{\text{Surf}} N_A} \frac{n_{\text{Surf}}}{n_{\text{Surf}} + n_{\text{Ph}}} + \frac{M_{\text{Ph}}}{\rho_{\text{Ph}} N_A} \frac{n_{\text{Ph}}}{n_{\text{Surf}} + n_{\text{Ph}}}. \quad (6)$$

Если в формулу (6) ввести фактор солюбилизации, определив его как $\beta = n_{\text{Ph}}/n_{\text{Surf}} = C_{\text{m,Ph}}/C_{\text{m,Surf}}$, где $C_{\text{m,Ph}}$ и $C_{\text{m,Surf}}$ — концентрации молекул солюбилизата и ПАВ в составе мицелл, то для числа агрегации мицелл получим выражение

$$N = V_m N_A (1 + \beta) / [M_{\text{Surf}}/\rho_{\text{Surf}} + (M_{\text{Ph}}/\rho_{\text{Ph}})\beta]. \quad (7)$$

Полагая, что мицеллы имеют сферическую форму, можно рассчитать объем мицелл по формуле $V_m = (4/3)\pi R^3$, где R — радиус «сухих» мицелл, т.е. радиус мицелл, свободных от гидратной оболочки. Если допустить, что гидратная оболочка мицелл состоит из одного слоя гидратированной воды, то радиус «сухих» мицелл может быть оценен как разность между гидродинамическим радиусом мицелл R_h , определенным с учетом соотношения Стокса—Эйнштейна

$$R_h = kT/(6\pi\eta D_m),$$

и диаметром молекул воды d , т.е. $R = R_h - d$. Коэффициент вязкости мицеллярного раствора можно определить с помощью формулы Эйнштейна—Симха¹⁹

$$\eta = \eta_0(1 + 2.5\phi),$$

где $\eta_0 = 0.969$ сПз — вязкость чистого растворителя (дейтерированной воды при 30 °C)²⁰. Значения плотности ПАВ и солюбилизата принимали равными 10^3 кг·м⁻³. Число молекул солюбилизата в мицеллах рассчитывали на основе выражения

$$n_{\text{Ph}} = N/(1 + 1/\beta).$$

Значения экспериментальных и вычисленных параметров представлены в таблице 1. Как видно, увеличение концентрации ПАВ в растворе приводит к возрастанию относительной доли молекул ПАВ,

Таблица 1. Параметры, характеризующие систему КПАВ 3—фосфат 7—D₂O при 30 °C*

$C_t \cdot 10^3$ моль·л ⁻¹	$C_{\text{m,Surf}} \cdot 10^3$ моль·л ⁻¹	$C_{\text{m,Ph}} \cdot 10^4$ моль·л ⁻¹	$D_m \cdot 10^{11}$ /м ² ·с ⁻¹	R /Å	β	N	n_{Ph}
3	2.2	2.9	7.6	28.3	0.134	151	18
5	4.3	4.5	7.0	30.3	0.095	183	16
10	9.5	6.3	6.6	32.5	0.066	224	14
20	19.5	8.0	6.2	34.3	0.040	261	10
48	47.0	8.5	5.2	37.5	0.018	338	6

* $C_7 = 10^{-3}$ моль·л⁻¹.

участвующих в мицеллообразовании, общей концентрации молекул фосфата, связанных с мицеллами, радиуса и числа агрегации мицелл, а также к уменьшению числа молекул солюбилизата в мицелле.

Полученные данные позволяют рассчитать коэффициент распределения солюбилизата между мицеллярной и водной фазами по соотношению соответствующих мольных концентраций: $C_{\text{Ph}}/(1 - C_{\text{m,Ph}})$, где C_{Ph} — общая концентрация фосфата 7 в растворе¹⁸. Как видно из рисунка 3, на начальном участке зависимости доля фосфата, связанного мицеллами, линейно увеличивается с ростом концентрации ПАВ с дальнейшей тенденцией к насыщению. Коэффициент распределения, рассчитанный с учетом наклона линейного участка зависимости, составляет 211, что хорошо согласуется с опубликованными ранее¹⁸ данными.

Связывание солюбилизата мицеллами ПАВ влияет не только на количественные характеристики мицеллярной системы, но и на его реакционную способность, что показано на примере щелочного гидролиза фосфата 7 (см. схему 1).

Методом спектроскопии ЯМР ¹H и ³¹P установлено, что в результате гидролиза фосфата 7 как в отсутствие, так и в присутствии ПАВ образуются продукты реакции 8 и 9, химические сдвиги сигналов которых указаны в таблице 2.

Результаты измерения кинетики гидролиза фосфата 7 методом спектроскопии ЯМР ¹H представлены на рисунке 4. Как в отсутствие (см. рис. 4, a), так и в присутствии ПАВ (см. рис. 4, b) в процессе реакции (см. схему 1) происходит одновременное уменьшение интенсивности сигнала фосфата 7 (протоны H_α и H_β) и увеличение интенсивности сигналов продуктов 8 (протоны OCCH₂) и 9 (протоны H_α и H_β). Наблюдаемая константа скорости гидролиза составляет $2.5 \cdot 10^{-4}$ и

$$C_{\text{m,Ph}}/(C_{\text{Ph}} - C_{\text{m,Ph}})$$

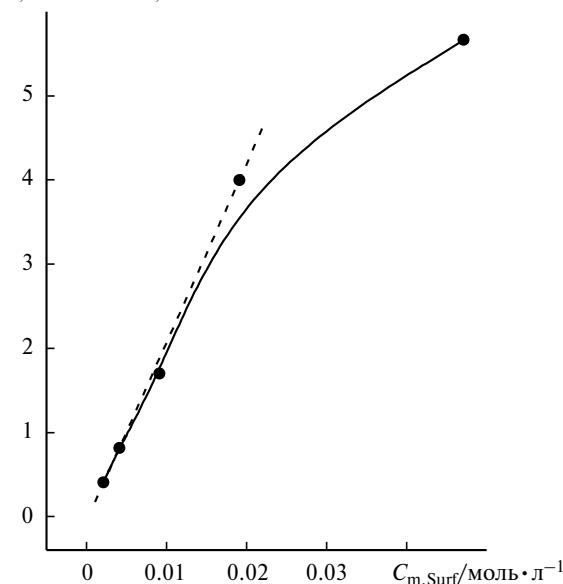


Рис. 3. Зависимость соотношения мольных концентраций фосфата 7 в мицеллярной и водной фазах от концентрации КПАВ 3 в составе мицелл.

Таблица 2. Химические сдвиги (δ , м.д.) сигналов ЯМР ^1H и ^{31}P соединений **7–9** в растворах КПАВ **3** (0.02 моль·л $^{-1}$) при 35 °C

Соединение	δ_{P}	δ_{H}^a			
		H_{α}	H_{β}	OCH_2	CH_3
7	-1.59	7.41; 7.42 ^b	8.31; 8.31 ^b	4.29; 4.30 ^b	1.33 ^b
8	2.29	—	—	3.88; 3.89 ^b	1.22 ^b
9	—	6.40; 6.49 ^b	7.95; 8.04 ^b	—	—

^a Обозначения протонов приведены на схеме 1. ^b Химический сдвиг в отсутствие ПАВ.

$9.1 \cdot 10^{-4}$ с $^{-1}$ в отсутствие и в присутствии 0.02 M ПАВ соответственно, т.е. в мицеллярном растворе КПАВ **3** реакция ускоряется в 3.6 раза.

Благоприятное влияние мицелл **3** на гидролиз фосфата **7** было подтверждено также при исследовании кинетики процесса УФ-спектрофотометрическим методом. Зависимость наблюдаемой константы скорости реакции гидролиза фосфата **7** от концентрации ПАВ представлена на рисунке 5, она имеет явно выраженный максимум. Подобный вид зависимости является типичным для катализируемых мицеллами процессов¹⁸ и свидетельствует о связывании фосфата

агрегатами ПАВ, т.е. об образовании комплекса мицелла—субстрат. Кинетические данные (см. рис. 5) проанализированы с помощью уравнения псевдофазной модели мицеллярного катализа¹⁸:

$$k_{2,\text{app}} = \frac{k_{2,0} + (k_{2,m}/V)K_{\text{Ph}}K_{\text{Nu}}(C_t - \text{CMC})}{(1 + K_{\text{Ph}}C_t)[1 + K_{\text{Nu}}(C_t - \text{CMC})]}, \quad (8)$$

где $k_{2,\text{app}}$ (л·моль $^{-1}$ ·с $^{-1}$) — наблюдаемая константа скорости второго порядка, полученная при делении k_{app} на концентрацию нуклеофил, $k_{2,0}$ и $k_{2,m}$ (л·моль $^{-1}$ ·с $^{-1}$) — константы скорости второго порядка в массе растворителя и мицеллярной псевдофазе соответственно, V (л·моль $^{-1}$) — мольный объем ПАВ, K_{Ph} и K_{Nu} (л·моль $^{-1}$) — константы связывания фосфата и нуклеофил с мицеллами.

Рассчитанные по уравнению (8) параметры катализируемого мицеллами процесса гидролиза фосфата **7** в присутствии ПАВ **3** при 25 °C, $C_{\text{NaOH}} = 10^{-3}$ моль·л $^{-1}$ и $C_7 = 5 \cdot 10^{-5}$ моль·л $^{-1}$ приведены ниже

$k_{2,m}$ /л·моль $^{-1}$ ·с $^{-1}$	K_{Ph} л·моль $^{-1}$	K_{Nu} л·моль $^{-1}$	$(k_{\text{app}} \cdot k_0)^{-1}$ моль $^{-1}$	F_m	F_c
0.0012	3800	70	23	0.125	180

^a k_0 — наблюдаемая константа скорости гидролиза фосфата **7** в отсутствие ПАВ.

Эти данные свидетельствуют о высокой константе связывания фосфата с мицеллами (K_{Ph}) и о том, что скорость гидролиза фосфата **7** в присутствии ПАВ увеличивается до 23 раз. В рамках псевдофазной модели максимальное ускорение процесса описывается уравнением

$$\sim(k_{\text{app}}/k_0)_{\text{max}} = \frac{k_{2,m}}{k_{2,0}} \frac{K_{\text{Ph}}K_{\text{Nu}}}{V(K_{\text{Ph}}^{0.5} + K_{\text{Nu}}^{0.5})^2}, \quad (9)$$

где первый сомножитель в правой части отражает фактор смены микроокружения реагентов при их переходе из растворителя в мицеллярную фазу (F_m), а второй — эффект концентрирования реагентов в мицеллярной фазе (F_c).

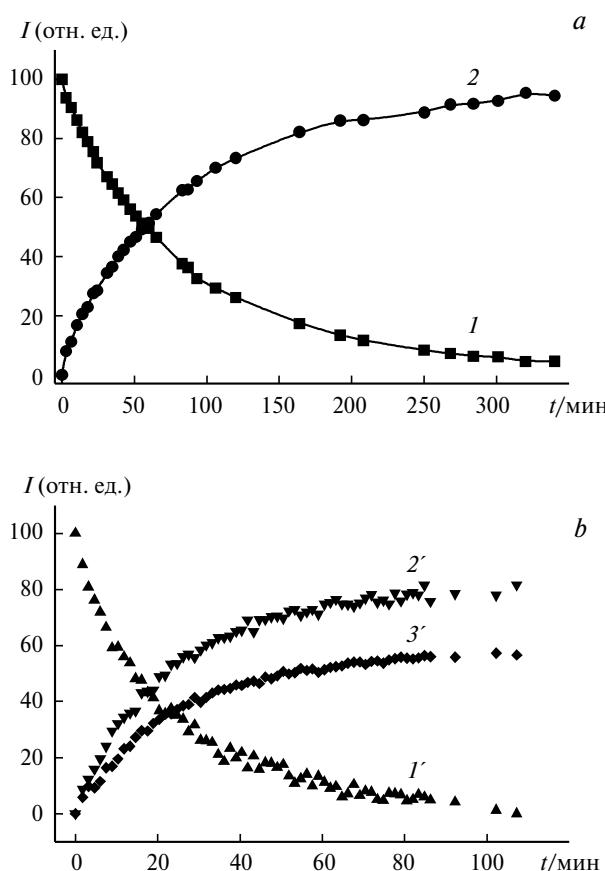


Рис. 4. Изменение интегральной интенсивности сигналов ЯМР ^1H субстрата **7** (1, 1') и продуктов реакции **8** (2, 2'), **9** (3) в ходе гидролиза фосфата **7** в отсутствие (a) и в присутствии КПАВ **3** (b) при 35 °C ($C_7 = 10^{-3}$ моль·л $^{-1}$, $C_3 = 0.02$ моль·л $^{-1}$, $C_{\text{NaOH}} = 0.02$ моль·л $^{-1}$).

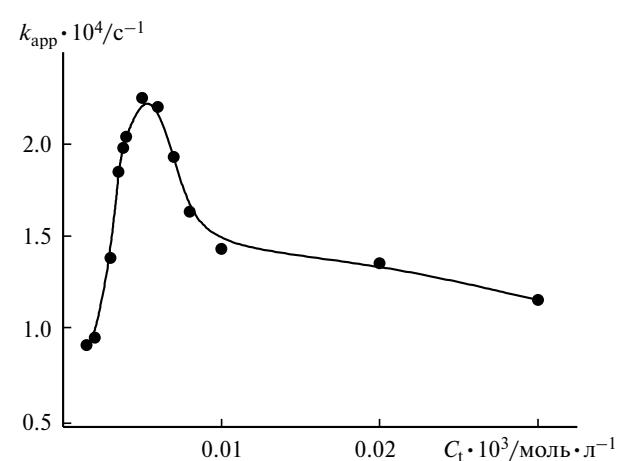


Рис. 5. Зависимость наблюдаемой константы скорости гидролиза фосфата **7** от концентрации КПАВ **3** при 25 °C, $C_{\text{NaOH}} = 10^{-3}$ моль·л $^{-1}$.

Из приведенных данных видно, что главной причиной ускорения реакции является фактор концентрирования, превышающий два порядка. Фактор микрокружения в данном случае меньше 1, т.е. оказывает негативное воздействие на скорость реакции. Некоторое расхождение в количественных параметрах, полученных методами спектроскопии ЯМР и спектрофотометрии, вполне объяснимо. Специфика каждого метода требует особого алгоритма и индивидуальных условий эксперимента, в том числе концентраций реагентов и продолжительности реакции. Несколько более высокие константы скорости, определенные методом ЯМР, обусловлены более высоким значением pH раствора. Высокая константа связывания фосфата, рассчитанная по данным спектрофотометрии (см. выше), в отличие от данных спектроскопии ЯМР, может быть обусловлена присутствием щелочи, индуцирующим эффект высыпивания органического субстрата из водной фазы в мицеллярную. Вместе с тем установленные тенденции хорошо согласуются и дополняют друг друга. Например, рассчитанные высокие значения констант связывания и распределения фосфата позволяют наглядно объяснить механизм каталитического действия мицелл как следствие концентрирования реагентов, а снижение константы скорости реакции с ростом концентрации ПАВ (см. рис. 5) — как следствие разбавления реагентов в мицеллярной фазе (см. табл. 1, снижение количества молекул фосфата, приходящихся на одну мицеллу). Таким образом, мицеллообразование моно-катионного производного 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана существенным образом влияет на наблюдаемые константы скорости щелочного гидролиза солюбилизированного мицеллами фосфата.

Одним из направлений наших исследований является создание полифункциональных наносистем²¹, обладающих комплексом практически полезных характеристик, включая солюбилизационную, катализическую или ингибирующую активность, антикоррозионные и антимикробные свойства. Такие системы могут быть востребованы, например, в условиях эксплуатации нефтепромыслового оборудования²². В этом случае критерием оценки является не достижение высоких показателей по отдельным парамет-

рам, а создание систем с набором свойств, сопоставимых с таковыми для известных аналогов. В рамках рассмотренного подхода нами изучена биологическая активность алкилированных производных DABCO и проведен количественный анализ соотношения антимикробных свойств и агрегационных характеристик.

Известно, что поверхностно-активные четвертичные аммониевые соли проявляют антимикробную активность, которая обусловлена наличием положительно заряженного центра и алкильного радикала, обеспечивающих вклад электростатических и гидрофобных взаимодействий с клеточными мембранами²³. Длина алкильного радикала оказывает существенное влияние на антимикробные свойства ПАВ, и в гомологических рядах наблюдается усиление активности с увеличением числа углеродных атомов (*n*) до 12—16.²⁴ Однако до настоящего времени вопрос о взаимосвязи антимикробных свойств и агрегационной способности остается дискуссионным. В данной работе проведена оценка бактериостатической, фунгистатической, бактерицидной и фунгицидной активности кватернизованных производных DABCO с использованием коллекции индикаторных тест-штаммов микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*-209 Р (*St. aureus*), *Escherichia coli* F50 (*E. coli*), *Bacillus cereus* 8035 (*B. cereus*), *Pseudomonas aeruginosa* 9027 (*Ps. aeruginosa*), *Trichophyton gipseum* (*Tr. gipseum*), *Aspergillus niger* (*Asp. niger*), *Candida albicans* (*C. alb.*)), а также изучена корреляция антимикробных и мицеллообразующих свойств для указанного гомологического ряда. Эталоном сравнения служили препараты антибактериального (ципрофлоксацин (10)) и антигрибкового (амфотерицин В (11)) действия, а также близкое по структуре к исследуемому ряду соединений КПАВ гексадецилтриметиламмонийбромид (12). Полученные результаты представлены в таблицах 3 и 4.

Установлено, что острая токсичность (LD_{50}) соединений 1, 2 и 3 при внутрибрюшинном способе введения лабораторным мышам составляет 61.1, 50.9 и 61.1 $\text{мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ соответственно. С учетом классификации токсичности²⁵ изученные вещества могут быть отнесены к умеренно токсичным (III класс токсич-

Таблица 3. Бактериостатическая и фунгистатическая активность моно- и дикарионных производных 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана

ПАВ	Бактериостатическая и фунгистатическая активность/ $\text{мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$						
	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Tr. gipseum</i>	<i>Asp. niger</i>	<i>C. alb.</i>
1	12.5	250	31.3	>500	>500	>500	125
2	3.1	62.5	7.8	>500	500	>500	62.5
3	0.3	6.3	1.9	500	62.5	500	3.1
4	0.3	6.3	1.9	500	15.6	125	0.78
5	0.5	7.8	1.9	500	250	>500	31.3
6	0.5	6.3	1.9	500	62.5	500	3.1
10	0.25	0.5	0.25	0.5	—	—	—
11	—	—	—	—	—	20	—
12	0.5	6.3	3.1	250	31.3	62.5	3.1

Таблица 4. Бактерицидная и фунгицидная активность моно- и дикатионных производных 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана

ПАВ	Бактерицидная и фунгицидная активность/мкг·мл ⁻¹						
	St. aureus	E. coli	B. cereus	Ps. aeruginosa	Tr. gipseum	Asp. niger	C. alb.
1	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
2	500	>500	>500	>500	>500	>500	500
3	5	>500	500	>500	500	>500	50
4	5	>500	500	>500	31.3	500	5
5	50	>500	500	>500	>500	>500	125
6	50	>500	500	>500	500	>500	50
10	0.25	0.5	0.25	0.5	—	—	—
11	—	—	—	—	31.3	20	0.39
12	50	>500	500	>500	500	>500	50

ности); они в ~2.5 раза менее токсичны, чем ПАВ **12** ($\text{LD}_{50} = 24.0$).

Согласно полученным данным исследованные ПАВ проявляют антимикробную активность, причем часто сопоставимый с эталонными препаратами уровень свойств достигается одновременно для штаммов бактерий и грибов. В тех случаях, когда в исследованном гомологическом ряду наблюдается дифференцированный эффект, антимикробные свойства существенно зависят от длины углеводородного радикала, достигая максимальных показателей при $n = 18$. Эта закономерность характерна практически для всей серии исследуемых штаммов и особенно ярко проявляется в случае показателей статической активности. Иногда соединения исследованной серии демонстрируют более высокую антимикробную активность, чем соединение **12**. Влияние природы головной группы наглядно прослеживается на штамме *St. aureus*: замена структуры головной группы в молекуле **12** на бициклическую (КПАВ **3**) обеспечивает повышение бактерицидного эффекта на порядок (см. табл. 4). Можно также отметить существенно более высокую антигрибковую активность соединения **4** по сравнению с **12** и **3** в отношении *Tr. gipseum* и *C. alb.* Фунгицидная активность октадецильного гомолога в отношении этих штаммов выше соответственно в 2–4 и 4 раза (см. табл. 3), а фунгицидная активность — в 16 и 10 раз (см. табл. 4).

Введение второго заряженного центра оказывает негативное влияние на антигрибковую активность: переход от соединения **3** к **4** в 4 раза снижает антигрибковую активность в отношении *Tr. gipseum* и в 10 раз — в отношении *C. alb.* При этом антимикробная активность в отношении *B. cereus*, *E. coli* и *St. aureus* практически не изменяется.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что введение в структуру КПАВ бициклического фрагмента представляет интерес с точки зрения создания малотоксичных для млекопитающих антимикробных (особенно антигрибковых) средств и наилучший эффект может быть получен при увеличении длины алкильной цепи этого типа ПАВ и достижении оптимального соотношения липофильно-гидрофильных свойств.

Возможны различные механизмы подавления синтетическими ПАВ активности бактерий и грибов, они включают вклад нескольких составляющих. Очевидно, что наличие положительного заряда головных групп обеспечивает на первом этапе электростатическое взаимодействие как с клеточными мембранами, так и с пептидогликановым слоем, заряженным отрицательно за счет свободных карбоксильных групп. Стенка клетки грамположительных бактерий содержит почти на порядок больше (90%) пептидогликановой составляющей по сравнению с грамотрицательными бактериями (~10%), что может обуславливать разный уровень активности КПАВ в отношении бактерий этого типа (см. табл. 3). Влияние ПАВ на целостность мембранный структуры любой клетки зависит от его способности встраиваться в липидные бислои, поэтому определяется липофильной природой соединений. Не исключено, что специфику антимикробного действия данной гомологической серии в значительной степени определяет бициклический фрагмент. При встраивании ПАВ в липидные мембранны жесткость структуры бицикла может приводить к необратимым изменениям в упаковке биоамфилинов. Кроме того, вследствие структурных особенностей плотность заряда головных групп бициклического ПАВ может существенно отличаться от типичных для КПАВ, что также будет влиять на его активность.

Тот факт, что антимикробные свойства КПАВ проявляются при концентрациях, значительно меньших ККМ, указывает на участие индивидуальных молекул ПАВ. Однако величина ККМ значительно понижается в присутствии органических субстратов и при повышении ионной силы раствора²⁶. Поэтому нельзя исключить вероятность вклада агрегированных молекул ПАВ в антимикробные эффекты. Кроме того, процесс взаимодействия ПАВ с биоамфилиами в любом случае предполагает формирование локальных смешанных структур и должен коррелировать с агрегационной активностью индивидуальных компонентов. В рамках данной работы изучена корреляция антимикробных свойств и мицеллообразующей способности в гомологической серии и выведены количественные зависимости для ее описания. С этой целью проведен регрессионный анализ полу-

ченных данных. Ранее¹² тензиометрическим методом нами было показано, что в воде величины ККМ ПАВ **1**, **2**, **3** и **4** при 25 °C равны 0.011, 0.004, 0.001 и 0.00012 моль·л⁻¹ соответственно. Установлено, что для соединений **1—4** зависимость бактериостатической активности ($C_{\text{bac}}/\text{моль}\cdot\text{l}^{-1}$) от величины lgCMC описывается параболической моделью:

$$\text{St. aureus: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = \\ = -2.88 + 5.10(-\lg\text{CMC}) - 0.711(-\lg\text{CMC})^2 \quad (R = 0.989),$$

$$\text{E. coli: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = \\ = -4.07 + 5.02(-\lg\text{CMC}) - 0.700(-\lg\text{CMC})^2 \quad (R = 0.989),$$

$$\text{B. cereus: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = \\ = -1.81 + 4.14(-\lg\text{CMC}) - 0.589(-\lg\text{CMC})^2 \quad (R = 0.999),$$

где R — коэффициент корреляции.

Для линейной модели значения R оказались более низкими: 0.900 (St. aureus), 0.900 (E. coli), 0.888 (B. cereus).

При описании зависимости фунгистатической активности ($C_{\text{fun}}/\text{моль}\cdot\text{l}^{-1}$) от величины lgCMC параболической и линейной моделями были получены практически равные коэффициенты корреляции:

$$\text{C. alb.: } \lg(C_{\text{fun}}^{-1}) = \\ = -1.44 + 3.02(-\lg\text{CMC}) - 0.300(-\lg\text{CMC})^2 \quad (R = 0.980),$$

$$\lg(C_{\text{fun}}^{-1}) = 1.03 + 1.24(-\lg\text{CMC}) \quad (R = 0.971).$$

Зависимость бактериостатической и фунгистатической активности от числа атомов углерода в радикале ПАВ лучше всего описывается параболической моделью:

$$\text{St. aureus: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = -7.57 + 1.45n - 0.0382n^2 \quad (R = 0.976),$$

$$\text{E. coli: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = -8.67 + 1.43n - 0.0375n^2 \quad (R = 0.976),$$

$$\text{B. cereus: } \lg(C_{\text{bac}}^{-1}) = -6.92 + 1.37n - 0.038n^2 \quad (R = 0.992),$$

$$\text{C. alb.: } \lg(C_{\text{fun}}^{-1}) = 2.40 - 0.139n - 0.0183n^2 \quad (R = 0.979).$$

Таким образом, алкилированные производные 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, являющиеся КПАВ с головной группой бициклического строения, способны образовывать в воде мицеллярные агрегаты с высокой солюбилизирующей способностью по отношению к аналогу фосфорорганических экотоксикантов — 4-нитрофениловому эфиру диэтилфосфорной кислоты, оказывают значительное катализическое воздействие на реакцию щелочного гидролиза последнего и превосходят по ряду показателей antimикробной активности аналоги с ациклической головной группой. Установлены корреляционные соотношения между агрегационными и antimикроб-

ными свойствами. Полученные результаты позволяют рассматривать алкилированные производные 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана как соединения, обладающие одновременно рядом полезных свойств, что открывает новые возможности при создании наноструктурированных систем комплексного действия.

Список литературы

1. B. Nikoobakht, M. A. El-Sayed, *Chem. Mater.*, 2003, **15**, 1957.
2. А. В. Швец, Н. В. Касьян, Е. М. Безуглая, Г. М. Тельбиз, В. Г. Ильин, *Теорет. эксперим. химия*, 2001, **37**, 372 [*Theor. Exp. Chem. (Engl. Transl.)*, 2001, **37**].
3. Э. Г. Раков, *Успехи химии*, 2001, **70**, 934 [*Russ. Chem. Rev. (Engl. Transl.)*, 2001, **70**, 827].
4. С. Р. Деркач, Г. И. Берестова, Т. А. Мотылева, *Вестн. МГТУ*, 2010, **13**, 784.
5. Р. С. Искандеров, С. Н. Аминов, Х. Т. Авезов, *Химия природ. соединений*, 1998, 648 [*Chem. Nat. Compd. (Engl. Transl.)*, 1998].
6. Л. Я. Захарова, А. Б. Миргородская, Е. П. Жильцова, Л. А. Кудрявцева, А. И. Коновалов, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2004, 1331 [*Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, 2004, **53**, 1385].
7. H. J. Cristau, J. F. Ginieys, E. Torreilles, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1991, 712.
8. A. F. Popov, *Pure Appl. Chem.*, 2008, **80**, 1381.
9. А. В. Захаров, М. А. Воронин, Ф. Г. Валеева, Э. Ф. Губанов, в сб. *Структура и динамика молекулярных систем*, 2003, **10**, Ч. 2, с. 89.
10. C. A. Bunton, A. A. Kamego, M. J. Minch, J. L. Wright, *J. Org. Chem.*, 1975, **40**, 1321.
11. F. M. Menger, R. A. Persichetti, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 3451.
12. Т. Н. Паширова, Е. П. Жильцова, Р. Р. Кашапов, С. С. Лукашенко, А. И. Литвинов, М. К. Кадиров, Л. Я. Захарова, А. И. Коновалов, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2010, 1699 [*Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, 2010, **59**, 1745].
13. M. Jansson, P. Stilbs, *J. Phys. Chem.*, 1985, **89**, 4868.
14. L. Ya. Zakharova, Yu. R. Kudryashova, N. M. Selivanova, M. A. Voronin, A. I. Ibragimova, S. E. Solovieva, A. T. Gubaidullin, A. I. Litvinov, I. R. Nizameev, M. K. Kadirov, Yu. G. Galyametdinov, I. S. Antipin, A. I. Konovalov, *J. Membrane Sci.*, 2010, **364**, 90.
15. Н. К. Гайсин, О. И. Гнездилов, Т. Н. Паширова, Е. П. Жильцова, С. С. Лукашенко, Л. Я. Захарова, В. В. Осипова, В. И. Джабаров, Ю. Г. Галиметдинов, *Колloid. журн.*, 2010, **72**, 755 [*Colloid. J. (Engl. Transl.)*, 2010, **72**].
16. M. Jansson, P. Stilbs, *J. Phys. Chem.*, 1987, **91**, 113.
17. А. И. Русанов, *Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ*, Химия, Санкт-Петербург, 1992, 280 с.
18. И. В. Березин, К. Мартинек, А. К. Яцимирский, *Успехи химии*, 1973, **42**, 1729 [*Russ. Chem. Rev. (Engl. Transl.)*, 1973, **42**, 787].
19. C. Chachaty, T. Ahlnas, B. Lindstrom, H. Nery, A. M. Tistchenko, *J. Colloid Interface Sci.*, 1988, **122**, 406.
20. *Справочник химика*, Госхимиздат, Ленинград—Москва, 1963, **1**, с. 987.
21. L. Zakharova, A. Mirgorodskaya, E. Zhiltsova, L. Kudryavtseva, A. Konovalov, in *Molecular Encapsulation: Organic Reactions in Constrained Systems*, Eds U. H. Brinker, J. L. Mieusset, John Wiley and Sons, Chichester, 2010, p. 397.

22. Д. Б. Кудрявцев, А. Р. Пантелеева, А. В. Юрина, С. С. Лукашенко, Ю. П. Ходырев, Р. М. Галиакберов, Д. Н. Хазиахметов, Л. А. Кудрявцева, *Нефтехимия*, 2009, **49**, 211 [*Petrol. Chem. (Engl. Transl.)*, 2009, **49**, 193].
23. В. М. Бахир, Б. И. Леонов, С. А. Паничева, В. И. Прилукский, Н. Ю. Шомовская, И. И. Стрельников, Ю. Г. Сучков, *Дезинфекционное дело*, 2004, 44.
24. Е. П. Тишкова, С. Б. Федоров, Л. А. Кудрявцева, Ж. В. Молодых, Н. Л. Кучерова, Ш. М. Якубов, С. М. Горбунов, А. М. Зотова, Л. В. Теплякова, А. А. Абрамзон, *Хим. фарм. журн.*, 1989, 592 [*Pharm. Chem. J. (Engl. Transl.)*, 1989, 418].
25. Н. Ф. Измеров, И. В. Саноцкий, К. К. Сидоров, *Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном введении: справочник*, Медицина, Москва, 1977, с. 197.
26. К. Холмберг, Б. Йенссон, Б. Кронберг, Б. Линдман, *Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах*, Бином, Москва, 2007, 528 с. [K. Holmberg, B. Jonsson, B. Kronberg, B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, J. Wiley and Sons, Ltd, Chichester, 2002, 562 pp.].

Поступила в редакцию 18 января 2011;
после доработки — 11 августа 2011