

Biološka aktivnost kvaternih amonijevih spojeva

Žilić, Žana

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:485369>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-14**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za Kemiju

BIOLOŠKA AKTIVNOST KVATERNIH AMONIJEVIH SPOJEVA

Završni rad

Žana Žilić

Prijediplomski studij Biologije

Mentor: izv. prof. dr. sc. Matilda Šprung

Split, 2024.

Ovaj rad, izrađen na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Matilde Šprung, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica biologije.

Temeljna dokumentacijska kartica

Završni rad

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za Biologiju
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split

BIOLOŠKA AKTIVNOST KVATERNIH AMONIJEVIH SPOJEVA

Žana Žilić

Kvaterni amonijevi spojevi (engl. *quaternary ammonium compounds*, QACs) jedna su od najučinkovitijih skupina antimikrobnih reagensa korištenih tijekom posljednjeg stoljeća. Njihova visoka učinkovitost temelji se na prisutnosti pozitivno nabijenog dušikovog atoma, koji omogućuje vezanje za negativno nabijene membrane mikroorganizama. Nakon vezanja, dugi ugljikovodični lanci vezani na dušikov atom destabiliziraju membrane što dovodi do njihove destrukcije. Raznolikost ugljikovodičnih lanaca omogućuje veliku strukturnu varijabilnost, dok jednostavnost sinteze osigurava brzu proizvodnju pa tako i primjenu ovih spojeva u svakodnevnom životu i različitim industrijskim sektorima. Najčešće korišteni QACs su benzalkonijev klorid (BAC), cetrimonijev bromid (CTAB), didecildimetilamonijev klorid (DDAC) i miramistin. Zbog svoje stabilnosti i dobre topljivosti u vodi, QACs imaju tendenciju akumulacije u otpadnim i kopnenim vodama, što može imati negativne posljedice za okoliš, ekosustave i ljudsko zdravlje. Ovi spojevi odlikuju se izvanrednom biološkom aktivnošću, uključujući antibakterijska, antivirusna, antifungalna svojstva te se koriste kao herbicidi i pesticidi.

Ključne riječi: kvaterni amonijevi spojevi, biološka aktivnost

Rad sadrži: 25 stranica, 6 slika, 0 grafičkih prikaza, 0 tablica, 20 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Matilda Šprung

Ocjenjivači: izv. prof. dr. sc. Matilda Šprung

izv. prof. dr. sc. Renata Odžak

mag. educ. biol. et chem. Doris Crnčević

Rad prihvaćen: 11. rujna 2024. godine

Basic documentation card

B. Sc. Thesis

University of Split

Faculty of science

Department of Biology

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

BIOLOGICAL ACTIVITY OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS

Žana Žilić

Quaternary ammonium compounds (QACs) are one of the the most effective classes of antimicrobial agents that have been used over the past century. Their high efficiency is based on the presence of a positively charged nitrogen atom, which allows binding to the negatively charged membranes of microorganisms. Upon binding, long hydrocarbon chains attached to the nitrogen atom destabilize the membranes of the microorganisms, leading to their destruction. The hydrocarbon chains enables significant structural diversity within this group od compounds, while the simplicity of their synthesis enables high production and wide application in everyday life and various industrial sectors. The most commonly used QACs are benzalkonium chloride (BAC), cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), didecyldimethylammonium chloride (DDAC), and miramistin. Due to their stability and good solubility in water, QACs tend to accumulate in wastewater and terrestrial waters, which can have negative consequences for the environment, ecosystems, and human health. These compounds are distinguished by their remarkable biological activity, including antibacterial, antiviral, and antifungal properties, and are also used as herbicides and pesticides.

Key words: quaternary ammonium compounds, biological activity

Thesis consists of: 25 pages, 6 pictures, 0 grahps, 0 tables, 20 references. Original language: Croatian

Mentor: Matilda Šprung, Ph.D. *Associate Professor*

Reviewers: Matilda Šprung, Ph.D. *Associate Professor*

Renata Odžak, Ph.D. *Associate Professor*

Doris Crnčević, mag. educ. biol. et. chem *Research Assistant*

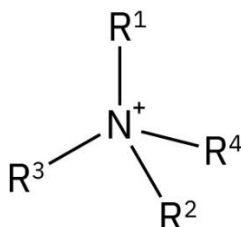
Thesis accepted: September 11th 2024

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Struktura, fizikalna i kemijska svojstva kvaternih amonijevih spojeva (QACs).....	3
2.1. Kvaterni amonijevi spojevi kao surfaktanti	5
2.2. Postojanost kvaternih amonijevih spojeva u okolišu	6
3. Mehanizam djelovanja kvaternih amonijevih spojeva.....	7
3.1. Antibakterijska aktivnost kvaternih amonijevih spojeva	8
3.1.1. Geni <i>Qac</i>	9
3.1.2. Utjecaj kvaternih amonijevih spojeva na eukariotske stanice u usporedbi s bakterijskim stanicama	10
3.2. Antivirusna aktivnost kvaternih amonijevih spojeva	10
3.3. Antifungalna aktivnost	11
3.3.1. Kvaterni amonijev spoj N-(3-tetradecilkarbamoilpropil)-4,5-difenil-1,3-oksazol-3-ijev jodid.....	11
3.3.2. Kvaterni amonijev spoj 1,5-bis(dodecil)-1,1,3,5,5-pentametil-3-aza-1,5-pentandiamonijevditetrafluorborat (PMT12-BF4).....	12
3.3.3. N-alkil hidronopil dietilamonijeve halidne soli.....	13
4. Komercijalna upotreba kvaternih amonijevih spojeva (QACs).....	14
4.1. Kvaterni amonijevi spojevi kao herbicidi i pesticidi.....	15
4.1.1. Parakvat - derivat bupiridina	15
5. Zaključak.....	17
6. Literatura.....	18
POPIS KRATICA.....	20

1. Uvod

Organski amini čine važnu skupinu prirodnih i aktivnih tvari, još od njihove rane pojave na početku života na Zemlji pa do prve upotrebe u organskoj sintezi A. W. Hofmanna 1851. godine. Unutar ove skupine spojeva razlikujemo 4 vrste: primarne (RNH_2), sekundarne (R_2NH) i tercijarne (R_3N) amine te kvaterne amonijeve spojeve (R_4N^+ ili QACs). Dok prve tri skupine dijele slična svojstva, poput Lewisove nukleofilnosti i bazičnosti, QACs su jedinstveni zbog svoje kationske prirode, koja proizlazi iz trajnog pozitivnog naboja na atomu dušika (N^+), na koji su vezana četiri supstituenta (R) (Slika 1.). Ova razlika u elektronskoj distribuciji i trajno pozitivni naboj atoma dušika čine QACs posebnima u skupini aminima (Bureš, 2019.).



Slika 1. Strukturna kvaternog amonijevog spoja (izvor: <https://edutorij-admin-api.carnet.hr/storage/extracted/fd4e4aca-de35-49a7-9436-638df9b1c154/amini-i-alkaloidi.html>)

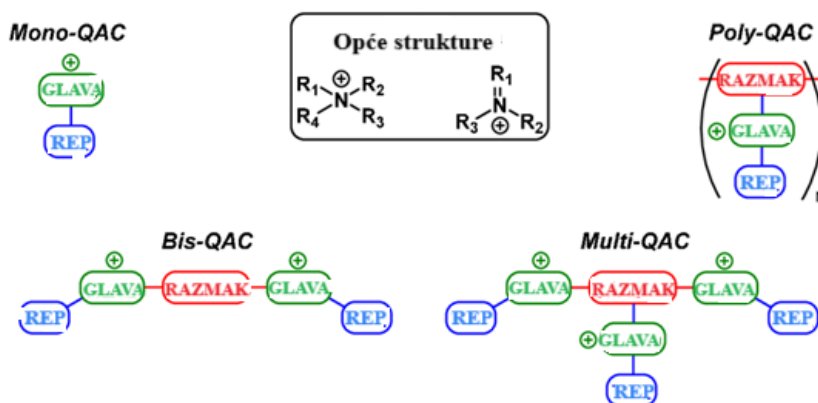
QACs pokazuju širok raspon biološke i antimikrobne aktivnosti, zbog čega se primarno koriste kao bioaktivni reagensi u brojnim proizvodima za ljudsku primjenu. Kao ionski spojevi topljivi su u polarnim otapalima, poput vode i alkohola (Fedorowicz i Saczewski, 2024.). Amfifilna priroda QACs posljedica je polarne N^+ glave i nepolarnih R skupina, koja im osigurava hidrofilna i hidrofobna svojstva, odnosno sposobnost interakcije s drugim polarnim i nepolarnim molekulama. Funkcionalnost, učinak i toksičnost QACs ovise o prirodi vezanih supstituenata i duljini alkilnog lanca. Organske skupine mogu uvelike varirati, u rasponu od alkilnih i aromatskih supstituenata, čime je osigurana široka strukturalna raznolikost unutar ove klase spojeva.

Uz biološku aktivnost, QACs imaju utjecaj i na zdravlje organizma. Kao prirodne i fiziološki aktivne komponente, najčešće djeluju preventivno i terapijski, poboljšavajući opće stanje organizma. Međutim, zbog svoje postojanosti mogu se vrlo lako akumulirati u okolišu, predstavljajući prijetnju vodenim organizmima i ekosustavima (Zhang i sur., 2015.).

Svrha ovog rada je proučiti biološku aktivnost kvaternih amonijevih spojeva uzimajući u obzir njihovu strukturu, fizikalno-kemijska svojstva i mehanizam djelovanja. Također će se sagledati i učinak na zdravlje i okoliš te razvoj rezistencije bakterija prema ovoj skupini spojeva. Razmatrajući njihove kemijske karakteristike, mehanizam djelovanja, primjenu i potencijalne rizike, ovaj rad će doprinijeti boljem razumijevanju QACs i njihovog mjesta u modernoj znanosti i industriji.

2. Struktura, fizikalna i kemijska svojstva kvaternih amonijevih spojeva (QACs)

Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) čine značajnu skupinu kationskih spojeva koji se odlikuju jedinstvenom molekularnom strukturom. Kao što je prethodno spomenuto, QACs su karakterizirani trajno pozitivno nabijenim, središnjim dušikovim atomom (N^+), na koji su vezana četiri supstituenta, najčešće nepolarni, hidrofobni alkilni ili arilni supstituenti (R) (Jennings i sur., 2015.). Dok je amonijak (NH_3) anorganska molekula, organski amini sintetiziraju se postupnom supstitucijom vodikovih atoma s organskim ostacima (R). R predstavlja alkilni lanac, benzil, aril ili heteroaril, koji se dalje može funkcionalizirati. Zamjena vodikovih atoma u molekuli NH_3 ima ogroman utjecaj na svojstva dobivenog amino spoja i QACs. Iako je amonijev ion stabilan, QACs mogu tvoriti i nedisocirane kvaterne amonijeve soli (Arnold i sur., 2023.). QACs mogu sadržavati jedan (mono-QAC), dva (bis-QAC) ili više (multi-QAC) nabijenih dušikovih atoma, uključujući heterocikličke spojeve poput piperidina, piridina i imidazola (Slika 2.) (Vereshchagin i sur., 2021.).



Slika 2. Različite forme kvaternih amonijevih spojeva (Prilagođeno, izvor: https://www.researchgate.net/figure/General-structures-and-types-of-QACs_fig1_352720123)

QACs su krute tvari, iako njihovo agregatno stanje može varirati, ovisno o strukturi supstituenta. U usporedbi s amonijevim kationom (NH_4^+), mnogo su veći. Topljivost u vodi opada s povećanjem duljine ugljikovodičnih lanaca, zbog njihove hidrofobnosti. Prema tome, spojevi s lancima dužim od 14 ugljikovih atoma (C14) netopljivi su u vodi, ali su zato topljivi u nepolarnim otapalima. Prema istraživanju iz 2020. godine, QACs pokazuju relativno dobru topljivost u vodi, nisku hlapljivost i nisku do umjerenu hidrofobnost. Teorijska predviđanja istog istraživanja sugeriraju visoku hidrofobnost za QACs s više arilnih ili alkilnih skupina, s

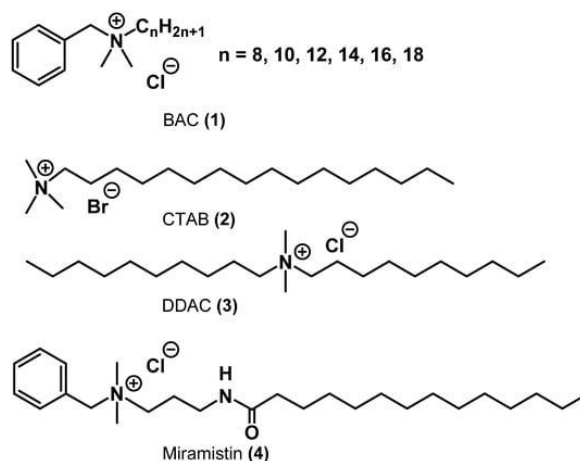
više od 10 ugljikovih atoma (C10), no trenutno nedostaju eksperimentalna mjerenja koja bi potvrdila te vrijednosti (Dingsheng i sur., 2020.). Alkilni ili arilni supstituenti u QACs uzrokuju značajnu disocijaciju R_4N^+ od njegovog protuiona¹, posebno u otopini, što može utjecati na topljivost.

QACs su izvrsni elektroliti, zbog svoje ionske prirode. Zahvaljujući strukturi koja sadrži polarne (N^+) i nepolarne (R) krajeve, ovi spojevi imaju sposobnost adsorpcije na površinu (Bureš, 2019.). Većina kvaternih amonijevih soli sadrži kloridne ili bromidne anione. Jodidne soli imaju smanjenu topljivost (Jennings i sur., 2015.) u odnosu na bromidne. Amfifilna priroda QAC-eva uzrokuje stvaranje micela, koji omogućuju laku adsorpciju na negativno nabijene površine kao što su tlo, sediment i kanalizacijski mulj. Zbog toga se ispituje njihova micelarna kritična koncentracija (CMC)² (Zhang i sur., 2015.; Jennings i sur., 2015.).

Fizikalno-kemijska svojstva QACs igraju ključnu ulogu u određivanju njihovog djelovanja u različitim medijima. Visoka topljivost u vodi i niska hidrofobnost čine neke QACs čestim kontaminantima u kopnenim i otpadnim vodama (Arnold i sur., 2023.). Nedavno je otkriveno da QACs imaju izuzetno visoku sklonost prema ugljikovom dioksidu (CO_2) (Bureš, 2019.). Također, aktivni su sastojci u prirodnim polimerima, kao što su celuloza, kitozan, dekstran, škrob i guma, kao i u sintetičkim polimerima. Najčešće aktivni QACs su benzalkonijev klorid (BAC) s duljinama alkilnog lanca od C8 do C18, cetrimonijev bromid (CTAB) i klorid, didecildimetilamonijev klorid (DDAC) i miramistin (Slika 3.) (Vershchagin i sur., 2023.).

¹ Protuion je hidratizirani ion, čiji je električni naboj suprotan naboju QAC molekule. Zbog električne nabijenosti površine, dolazi do raspodjele otopljenih protuiona između međupovršinskog sloja i ostatka otopine (<http://struna.ihjj.hr/naziv/protuion/39661/>).

² Miceli su mikrostrukture, koje se nalaze najčešće u vodi i nalaze se u strogo definiranoj koncentraciji, koju nazivamo micelarna kritična koncentracija.



Slika 3. Najčešće korišteni alkilni kvaterni amonijevi spojevi (izvor: Vershchagin i sur., 2021.)

2.1. Kvaterni amonijevi spojevi kao surfaktanti

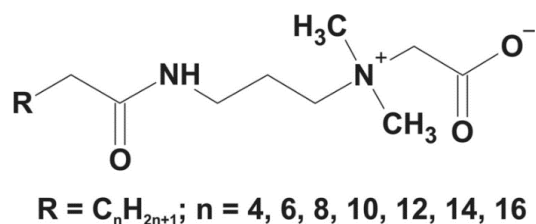
Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) poznati su kao kationski surfaktanti, odnosno površinski aktivne tvari. Surfaktantima ih čini njihova već spomenuta struktura, koja se sastoji od pozitivno nabijene hidrofilne glave (N⁺) i hidrofobnog repa (R). Ova amfifilna priroda QACs omogućava im da pomoću N⁺ privlače vodu, a pomoću R odbijaju, čime smanjuju napetost između dvije faze, tj. zraka i tekućine. Time postižu svoj mehanizam djelovanja kao surfaktanti.

Za razliku od amina, QACs zadržavaju svoj kationski naboj neovisno o pH vrijednosti okoliša, što ih čini trajnim kationskim surfaktantima (Bureš, 2019.). Niska hlapljivost QACs osigurava dugotrajnu prisutnost na unutarnjim površinama nakon njihove primjene, što je posebno značajno u zatvorenim prostorima.

Dva ključna parametra koja se moraju uzeti u obzir pri primjeni surfaktanta su površinska aktivnost i sposobnost organizacije u otopini. Organizacija je proces u kojem komponente, odvojene ili povezane, spontano tvore uređene agregate, poput micela i vezikula (Whitesides i Boncheva, 2002.). Površinska aktivnost QACs proizlazi iz njihove sposobnosti da se rasporede među površinama i smanje površinsku napetost. Njihova sklonost organizaciji omogućuje formiranje različitih supramolekularnih struktura³, kao što su micelle i vezikule, koje su bitne za njihovu funkcionalnost u različitim primjenama. Najpoznatiji kationski surfaktanti su kokamidopropil betain i polikvaterni spojevi (Slika 4.). Kokamidopropil betain sastavni je dio

³ Supramolekularna struktura je struktura modelirana prema već postojećim biološkim sustavima s namjerom da oponaša prirodne biološke funkcije kao što su kataliza, pohrana informacija i organizacija (Lipkowski, 2017.).

šampona, dezodoransa, pasti za zube te deterdženata. Polikvaterni spojevi neizostavni su u sastavu sapuna, losiona za brijanje i proizvoda za njegu kose (Bureš, 2019.).



Slika 4. Kokamidopropil betain (izvor: https://www.researchgate.net/figure/Structural-formula-of-cocamidopropyl-betaine_fig1_376270612)

2.2. Postojanost kvaternih amonijevih spojeva u okolišu

Postojanost kvaternih amonijevih spojeva (QACs) u okolišu i na površinama značajno ovisi o njihovoj kemijskoj strukturi i uvjetima koji prevladavaju u okolišu. Visoka topljivost QACs u vodi i niska do umjerena hidrofobnost doprinose njihovoj prisutnosti u vodenim ekosustavima, uključujući otpadne vode. Postojanost u vodi, zajedno s afinitetom za sorpciju⁴ na čestice i krutine, posebice na minerale fosfosilikatne gline prisutne u tlu i sedimentu, omogućuje im dugotrajnu prisutnost u okolišu, što može imati značajne ekološke posljedice (Arnold i sur., 2023.).

Većina QACs nije prošla temeljitu regulatornu procjenu štetnih učinaka na ljudsko zdravlje i okoliš. Prema istraživanju iz 2023. godine, Arnold i sur. navode da nedostatak podataka, poput kvantitativnih informacija o uporabi, fizikalno-kemijskim svojstvima, izloženosti i toksičnosti, otežava procjenu njihovog utjecaja. Informacije o količini proizvodnje QACs često nisu dostupne, a ispuštanje tih spojeva u okoliš nije obavezno prijaviti niti se rutinski prati (Arnold i sur., 2023.). Zdravstveni rizici povezani s QACs uključuju respiratorne probleme, iritaciju kože i preosjetljivost, iritaciju očiju i alergijske reakcije, što dodatno naglašava potrebu za daljnjim istraživanjem i evaluacijom sigurnosnih aspekata QACs (Arnold i sur., 2023.; Vincent i sur., 2006.).

Razumijevanje postojanosti QACs ključno je za procjenu njihovog utjecaja na okoliš i ljudsko zdravlje. Iako su osjetljivi na određene procese razgradnje, njihova fizikalno-kemijska svojstva

⁴ Sorpcija predstavlja prijanjanje jedne tvari uz drugu, u ovom slučaju prijanjanje QACs na čestice tla, sedimenta...

omogućavaju im dugotrajnu prisutnost u okolišu, što zahtijeva pažljivo razmatranje njihove uporabe i regulacije kako bi se minimizirali potencijalno negativni učinci (Arnold i sur., 2023.). Regulacija uporabe QACs i razvoj alternativnih spojeva s nižim ekološkim otiskom mogu pomoći u smanjenju njihovog štetnog utjecaja na okoliš i ljudsko zdravlje.

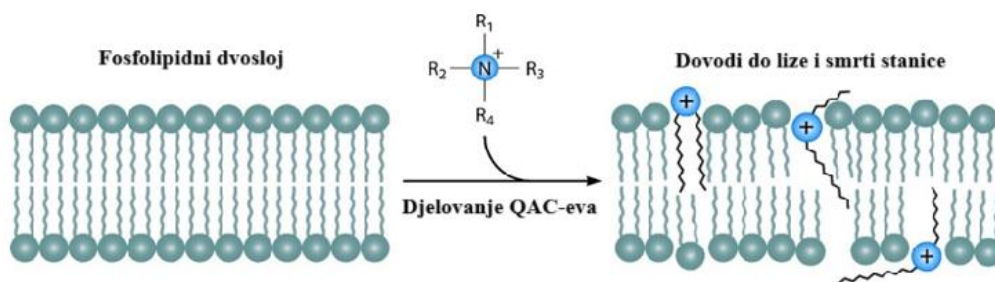
3. Mehanizam djelovanja kvaternih amonijevih spojeva

Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) predstavljaju značajne antiinfektivne agense sa širokim spektrom djelovanja protiv mikroorganizma (bakterija, gljivica i algi) te virusa s lipidnim ovojnica, kao što je SARS-CoV-2 (Fredorowicz i Saczewski, 2024.). Njihovo primarno djelovanje usmjereno je na stanične membrane, uzrokujući lizu stanica i posljedičnu smrt mikroorganizama (Jennings i sur., 2015.). Mehanizmi djelovanja obuhvaćaju otapanje stanične membrane i/ili deaktivaciju citoplazmatskih enzima (Arnold i sur., 2023.). Dodatno, QACs su sposobni prodrijeti u složene polimikrobne strukture biofilma⁵ koje stvaraju mnogi patogeni mikroorganizmi (Jennings i sur., 2015.).

Prihvaćeni model antimikrobnog djelovanja QACs temelji se na nereceptorskim interakcijama koje uključuju elektrostatsko privlačenje između pozitivno nabijenog dušikovog atoma (N^+), polarne glave QACs i negativno nabijenih lipidnih staničnih membrana (Fredorowicz i Saczewski, 2024.; Jennings i sur., 2015.; Mohapatra i sur., 2023.). U inicijalnoj fazi, pozitivno nabijene QACs molekule privučene su negativno nabijenim fosfolipidnim komponentama citoplazmaske membrane, uvodeći pozitivni neto naboj i stvarajući distorzije na membranama depolariziranih mikrobnih stanica (Slika 5.) (Mohapatra i sur., 2023.). Dvovalentni kationi magnezija i kalcija, koji stabiliziraju površinu membrane, zamijenjeni su kationskim QACs molekulama, što smanjuje fluidnost membrane. Ugljikovodični lanci prodiru u unutarnji dio membrane, integrirajući se u njezinu strukturu i stvarajući kanale ili pore. Ovaj proces povećava propusnost membrane, uzrokujući istjecanje molekularnog sadržaja, poput proteina i nukleinskih kiselina iz unutarstaničnog prostora. Posljedično dolazi do poremećaja biokemijskih procesa unutar stanice, a dezintegrirana⁶ membrana gubi svoju funkciju osmoregulacije i fiziološke barijere, što rezultira staničnom smrću putem autolize (Inácio i sur., 2015.).

⁵ Biofilmovi su mikrobne zajednice u kojima dolazi do brzog prijenosa plazmida, s genom koji daje otpornost na QACs i druge lijekove, s rezistentnih na nerezistentne bakterije.

⁶ Raspadnuta, razorena membrana



Slika 5. Umetanje kvaternih amonijevih spojeva u strukturu fosfolipidne stanične membrane (Prilagođeno, izvor: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/membr.00205-22>)

Trajni pozitivni naboj, kationska priroda i amfifilnost QACs omogućuju izvrsno antibakterijsko, antivirusno i antifungalno djelovanje. Uz to, koriste se kao herbicidi i pesticidi.

3.1. Antibakterijska aktivnost kvaternih amonijevih spojeva

Zahvaljujući gore navedenim svojstvima, kvaterni amonijevi spojevi (QACs) se koriste kao biocidi s djelovanjem protiv širokog spektra bakterija, virusa, kvasaca i gljivica. Osobito djeluju protiv nekoliko iznimno patogenih bakterija pod kraticom ESKAPE - *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i vrste roda *Enterobacter* (Jennings i sur., 2015.).

Toksično djelovanje QACs na staničnu stijenkku i membranu bakterija posljedica je već spomenute interakcije između kationskog N^+ s glavnim skupinama kiselih fosfolipida membrane i negativno nabijenih strukturnih bakterijskih proteina. Ionska interakcija između QACs i stanične membrane bakterija dovodi do njene destabilizacije te uzrokuje istjecanje unutarstaničnog materijala niske molekularne težine, poput proteina i nukleinskih kiselina, što rezultira lizom stanice (Mohapatra i sur., 2023.).

Budući da QACs ciljaju membranu bakterijske stanice, smatraju se antibioticima širokog spektra. Učinkovitiji su protiv Gram-pozitivnih (G^+) bakterija, zbog njihove građe koja uključuje jednu fosfolipidnu staničnu membranu s debelom višeslojnom peptidoglikanskom stijenkkom. Nasuprot tome, Gram-negativne (G^-) bakterije imaju dvije membrane, unutarnju i vanjsku, između kojih se nalazi tanki peptidoglikanski sloj. Vanjska membrana, izgrađena od

proteina i lipopolisaharida (LPS), otežava ulazak antibakterijskih tvari u stanicu (Jennings i sur., 2015.). Zbog prisutnosti vanjske membrane G- bakterija, aktivnost QACs smanjena je 8 puta (Jennings i sur., 2015.) u odnosu na aktivnost prema G+ bakterijama. Prema istraživanjima iz 2021. i 2024. godine, QACs su pokazali bolju aktivnost protiv G+ bakterije *Staphylococcus aureus*, nego protiv G- bakterije *Escherichie coli* i gljivice *Candida albicans* (R. Miklaš i sur., 2021.; Fedorowicz J. i Saczewski J., 2024.).

Neki mikroorganizmi sposobni su stvoriti spore ili akumulirati genetske mutacije koje ih učinkovito štite od djelovanja QACs. Stečena rezistencija na QACs često je rezultat izloženosti subletalnim koncentracijama ovih spojeva, što omogućava bakterijama razvijanje mehanizama za preživljavanje i otpornost (Arnold i sur., 2023.). Dokazano je da antibakterijska aktivnost QACs ovisi o alkilnom ostatku. Duljina lanca (R) i veličina polimera najvažniji su faktori koji značajno utječu na izmjerene minimalne baktericidne koncentracije (MBC)⁷ protiv G+ i G- bakterija (Bureš, 2019.). Utvrđeno je da QACs s alkilnim lancima duljine C12-C16 imaju veću inhibitornu sposobnost od ostalih varijanti spojeva s kraćim alkilnim lancima (Mohapatra i sur., 2022.). Neki dvolančani spojevi bolji su u ubijanju G- bakterija, dok su bis-QACs, koji nose dvostruko pozitivni naboj još učinkovitiji (Jennings i sur., 2015.).

3.1.1. Geni *Qac*

U početku se smatralo da su kvaterni amonijevi spojevi (QACs) otporni na razvoj bakterijske rezistencije. Međutim, danas je poznata velika obitelj bakterijskih gena *qac*. Nazvani su po jednom od svojih glavnih supstrata - QACs, a kodiraju membranske proteine koji osiguravaju otpornost na široki spektar kationskih spojeva, pa tako i QACs (Jaglic i Cervinkova, 2012.). Produkti translacije tih gena su efluks pumpe koje izbacuju različite strukture QACs iz bakterijske stanice, smanjujući time osjetljivost bakterija na ove spojeve. Geni *Qac* se horizontalno prenose putem plazmida na druge bakterije, često zajedno s drugim genima koji kodiraju otpornost na antibiotike. Ovo predstavlja značajnu prijetnju ljudskom zdravlju, jer kombinirana otpornost na QACs i antibiotike može dodatno otežati liječenje bakterijskih infekcija (Jennings i sur. 2015.).

⁷ Minimalna inhibitorna koncentracija (MBC) je najniža koncentracija neke tvari koja inhibira rast mikroorganizama nakon inkubacije

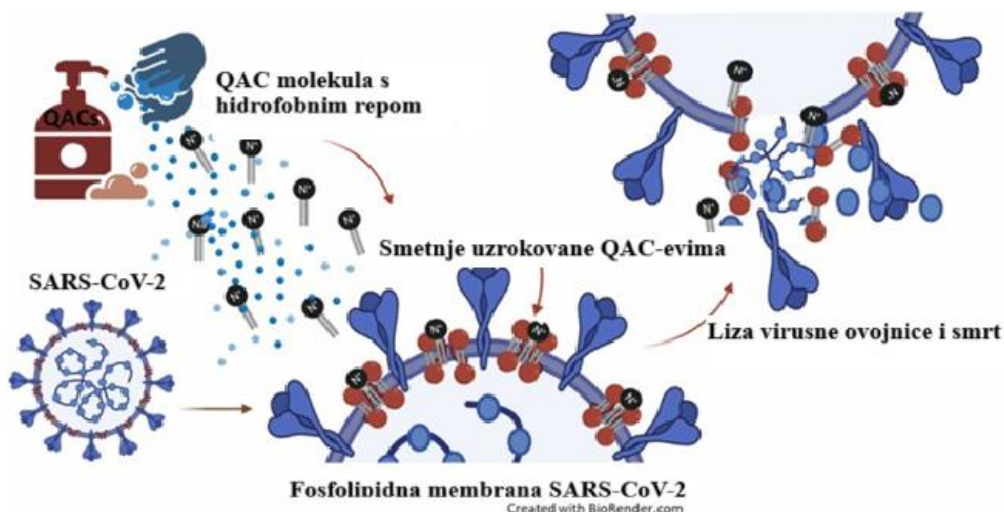
3.1.2. Utjecaj kvaternih amonijevih spojeva na eukariotske stanice u usporedbi s bakterijskim stanicama

Stanice sisavaca manje su osjetljive na toksične učinke QACs u usporedbi s bakterijama, zbog razlika u sastavu lipida. Eukariotske membrane bogate su zwitterionskim lipidima, poput fosfatdilkolina, dok lipidni slojevi bakterijskih stanica sadrže negativno nabijene anionske lipide. U usporedbi s bakterijama, membranski potencijal eukariota je pozitivniji, što rezultira snažnijom adsorpcijom QACs na membrane prokariotskih stanica u odnosu na eukariotske (Jennings i sur. 2015.).

3.2. Antivirusna aktivnost kvaternih amonijevih spojeva

Istraživanjem mehanizma djelovanja na viruse s ovojnicom ustanovljeno je da kationski kvaterni amonijevi spojevi (QACs) izravno stupaju u interakciju s membranom virusa, uzrokujući destabilizaciju zaštitne lipidne ovojnice, curenje molekularnog sadržaja iz stanice i stanične smrti (Mohapatra i sur., 2023.). Dokazano je da QACs pokazuju antivirusnu aktivnost protiv virusa gripe i SARS-a.

Glavno područje djelovanja je unutarstanični genetski materijal virusa, poput jednolančane RNA, u slučaju SARS-CoV-2. Pri normalnim uvjetima, na površini lipidne ovojnice nalaze se dvovalentni kationi, npr. Ca^{2+} koji stabiliziraju ovojnicu. Kationski QACs, kao što je benzalkonijev klorid (BAC), izravno stupaju u interakciju s virusnom ovojnicom te istiskuju dvovalentne katione, uzrokujući destabilizaciju ovojnice. Dolazi do smanjenja fluidnosti ovojnice, raste pH vrijednost endocita i lizosoma, zbog čega dolazi do curenja staničnog sadržaja, lize i stanične smrti (Mohapatra i sur., 2023.).



Slika 6. Mehanizam djelovanja kvaternih amonijevih spojeva na lipidnu ovojnicu virusa SARS-CoV-2 (Preuzeto i prilagođeno iz: Mohapatra i sur., 2023.)

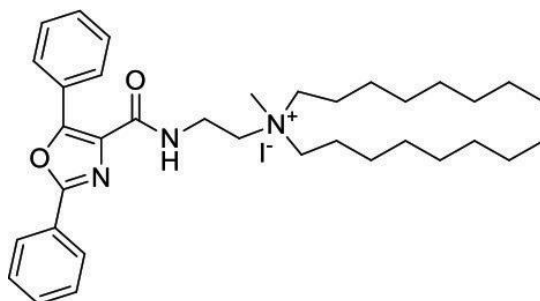
3.3. Antifungalna aktivnost

Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) privlače sve veću pozornost zbog svojih protugljivičnih svojstava. Mehanizmi djelovanja temelje se na destabilizaciji i deformaciji membrane, poremećaja u rastu stanica, inhibiciji nastanka biofilma i formiranja hifa te lizi stanica. Glavna interakcija nije liza stanice, već promjena naboja stanične površine iz negativnog u pozitivan (Vieira i Carmona-Ribeiro, 2006.). U nastavku su prikazani rezultati više istraživanja koja su se bavila sintezom novih QACs i njihovom antifungalnom aktivnošću. Ovi rezultati pružaju uvid u uspješnost tri novo sintetizirana QACs u inhibiciji rasta gljivičnih patogena.

3.3.1. Kvaterni amonijev spoj N-(3-tetradecilkarbamoilpropil)-4,5-difenil-1,3-oksazol-3-ijev jodid

Prema istraživanju iz 2017. godine, kvaterni amonijev spoj N-(3-tetradecilkarbamoilpropil)-4,5-difenil-1,3-oksazol-3-ijev jodid, od ukupno 16 sintetiziranih spojeva pokazao je najveću učinkovitost u inhibiciji rasta vrsta roda *Candida*. Spomenuti QAC inhibirao je adheziju stanica na površine i ograničio stvaranje biofilma za 80% u koncentraciji od 12,5 µg/ml te inducirao distorziju stanične membrane gljivice roda *Candida* prema provedenim SEM analizama. Fungicidno djelovanje temeljilo se na destabilizaciji membrane, što je dovelo do morfoloških deformacija, smanjenja volumena stanica i potpune lize pri koncentraciji od 0,8 µg/ml. Prema

ovim rezultatima, aktivni derivat N-(3-tetradecilkarbamoilpropil)-4,5-difenil-1,3-oksazol-3-ijev jodid pokazao je snažnu učinkovitost pri niskim koncentracijama protiv osjetljivih i rezistentnih kliničkih izolata *C. albicans* i ostalih vrsta istog roda, uključujući one otporne na lijek flukonazol⁸ (Jain i sur., 2017.).

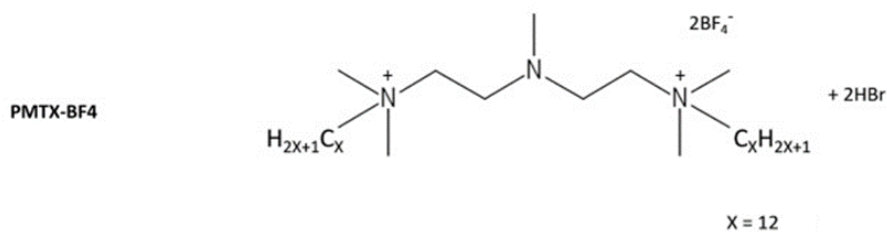


Slika 7. Struktura derivata N-(3-tetradecilkarbamoilpropil)-4,5-difenil-1,3-oksazol-3-ijev jodid (Preuzeto iz: Jain i sur., 2017.)

3.3.2. Kvaterni amonijev spoj 1,5-bis(dodecil)-1,1,3,5,5-pentametil-3-aza-1,5-pentandiamonijevditetrafluorborat (PMT12-BF4)

Kvaterni amonijev spoj 1,5-bis(dodecil)-1,1,3,5,5-pentametil-3-aza-1,5-pentandiamonijevditetrafluorborat (PMT12-BF4) pokazao je iznimnu učinkovitost protiv *C. albicans*, koja je poznata po visoko osjetljivosti i otpornosti na lijekove, kao i protiv drugih ljudskih i biljnih patogena. Prema istraživanju iz 2020. godine, izmjerene su minimalne inhibitorne i fungicidne koncentracije od 1 ili 2 µg/ml. Stvaranje biofilma smanjeno je za 50% nakon tretmana s 4 µg/ml, a sposobnost prijelaza kvasca u hifu također je bila poremećena. SEM slike pokazale su morfološke promjene, poput naborane površine stanica pa čak i lizu stanica pri koncentraciji od 2 µg/ml. Zaključno, PMT12-BF4 ima široki spektar djelovanja protiv patogenih kvasaca i filamentoznih gljivica, s potencijalom poremećaja rasta, formiranja hifa i razvoja biofilma te ometanja transmembranskog transporta (Hsu i sur., 2020.).

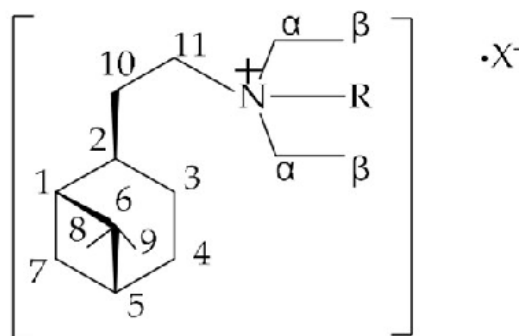
⁸ Flukonazol – lijek koji se koristi za liječenje gljivičnih infekcija



Slika 8. Struktura spoja 1,5-bis(dodecil)-1,1,3,5,5-pentametil-3-aza-1,5-pentandiamonijevditetrafluorborat (PMT12-BF₄) (Preuzeto i prilagođeno iz: Hsu i sur., 2020.)

3.3.3. N-alkil hidronopil dietilamonijeve halidne soli

Feng i sur. sintetizirali su osam N-alkil dietilamonijeve halidne soli iz β -pinena i testirali njihova antifungalna svojstva na 11 fitopatogenih gljivica. Spojevi su pokazali srednju do visoku učinkovitost protiv testiranih biljnih patogena u koncentraciji od 500 $\mu\text{g/ml}$, s aktivnošću širokog spektra i stopama inhibicije većim od referentne tvari, fungicida klortalonila. S obzirom na to da ovi QACs potječu iz eteričnih ulja, pretpostavlja se da će biti biokompatibilniji, ekološki prihvatljiviji i manje toksični od čistih sintetičkih pesticida. Novosintetizirane soli iz β -pinena, testirani su i protiv bakterija te staničnih linija raka. Najuspješniji derivati pokazali su izvanredno antifungalno i antibakterijsko djelovanje (Feng i sur., 2020.; Fedorowicz J. i Saczewski J., 2024.).



Slika 9. Struktura N-alkil hidronopil dietilamonijevih halidnih soli (Preuzeto i prilagođeno iz: Feng i sur., 2020.)

4. Komercijalna upotreba kvaternih amonijevih spojeva (QACs)

Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) se primarno koriste kao antimikrobna sredstva, konzervansi, antistatici, površinski aktivne tvari i omekšivači, te su značajno prisutni u proizvodima za čišćenje i dezinfekciju, osobnu njegu, vlažnim maramicama i pesticidima. Koriste se u raznim okruženjima, poput stambenih, poslovnih, zdravstvenih, industrijskih i poljoprivrednih okruženja. Tijekom pandemije COVID-19, potreba za antimikrobnim reagensima se značajno povećala, te su QACs činili čak 50% proizvoda na popisu dezinficijensa učinkovitih protiv SARS-CoV-2 koji je izdala Agencija za zaštitu okoliša (EPA) (Arnold i sur., 2023.). Njihova sposobnost vezanja za površine čini ih pogodnima za upotrebu na tekstilu, biomedicinskim instrumentima te javnim površinama, poput rukohvata i kvaka. Zbog toga se QACs smatraju prikladnim sredstvima prve linije obrane protiv nozokomijalnih infekcija⁹.

Baktericidna aktivnost¹⁰ QACs proizlazi iz kvaterne amonijeve prirode, dok kvaterne amonijeve soli (QASs) s dugim bočnim lancima imaju jače izraženu germicidnu aktivnost¹¹, posebice alkildimetilbenzilamonijev klorid (ADBAC). Ova tvar, poznata kao Zephirol, bila je prva kvaterna amonijeva sol odobrena od strane Američke agencije za zaštitu okoliša 1947. godine i još je uvijek ključan sastojak mnogih antiseptika. Antiseptici su zapravo različiti QACs u kombinaciji s drugim sastojcima, npr. etanolom. BAC je danas najčešće korišteni monokationski QAC, uz dvolančane QAC-eve dimetildodecilamonijev klorid i bromid (DDAC i DDAB) (Bureš, 2019.; Jennings i sur., 2015.).

QACs koji se koriste u sredstvima za čišćenje i dezinfekciju obično sadrže kraće alkilne lance (C8-C16) u usporedbi s onima u proizvodima za osobnu njegu, čiji alkilni lanci mogu dosezati do C22 (Arnold i sur., 2023.). Važno je napomenuti da je dugotrajna izloženost QACs povezana s raznim zdravstvenim i ekološkim rizicima. Uz to, QACs pokazuju visoku učinkovitost u eliminaciji mikroorganizama u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, ali je njihova sposobnost smanjenja prijenosa zaraznih bolesti u stvarnom okruženju ograničena. Globalna upotreba QACs široko je rasprostranjena prvenstveno zbog njihove učinkovitosti, relativno niske toksičnosti te jednostavne i lake pripreme.

⁹ Nakon što je osoba primljena u bolnicu, postoji mogućnost da dobije infekciju u bolnici. Takva infekcija naziva se nozokomijalna ili bolnička infekcija.

¹⁰ Baktericidna aktivnost – svojstvo spojeva da ubijaju bakterije

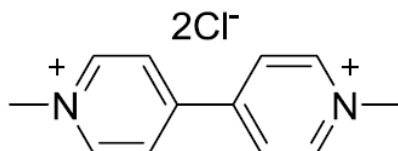
¹¹ Germicidna aktivnost – svojstvo spojeva da uništavaju zarazne viruse

4.1. Kvaterni amonijevi spojevi kao herbicidi i pesticidi

U prošlom stoljeću, kvaterni amonijevi spojevi (QACs) postaju široko korištena skupina herbicida¹² i pesticida¹³, zahvaljujući svojoj sposobnosti ometanja ključnih biokemijskih procesa u ciljnim organizmima. Kvaterni amonijevi herbicidi (QUATs) djeluju kao neselektivni, kontaktni otrovi, uzrokujući oksidativni stres u biljnim stanicama i oštećujući njihove membrane (Pateiro-Moure i sur., 2013.). To rezultira brzim sušenjem i odumiranjem tretiranih biljaka. Slični mehanizmi djelovanja primjenjuju se kod njihove uporabe kao pesticida, gdje QACs destabiliziraju stanične membrane i ometaju osnovne metaboličke procese u organizmu štetnika (Bureš, 2019.).

4.1.1. Parakvat - derivat bipiridina

Parakvat, derivat bipiridina, prvi put je pripremljen 1882. godine. Njegova herbicidna svojstva otkrivena su 1957. godine i od tada je postao treći najčešće korišteni pesticid u cijelome svijetu. Mehanizam djelovanja temelji se na brzim redoks reakcijama i stvaranju reaktivnih radikala. Njegova primjena zabranjena je 2007. godine u Europskoj uniji, Sjedinjenim Američkim Državama i mnogim drugim zemljama, zbog visoke toksičnosti i niske stope biorazgradivosti (Bureš, 2019.).



Slika 10. Struktura parakvata (Preuzeto i prilagođeno iz: Bureš, 2019.)

Osim bipiridina, postoje i drugi QACs koji se koriste kao pesticidi. Primjeri uključuju spojeve sa specifičnim kationskim glavama i različitim duljinama alkilnih lanaca, koji su formulirani kako bi povećali učinkovitost protiv ciljanih štetnika dok minimiziraju utjecaj na okoliš i druge, neštetne organizme koji žive na biljkama. Međutim, upotreba QACs kao pesticida i herbicida nije jednostavna. Visoka postojanost ovih spojeva u okolišu i potencijalna toksičnost na druge organizme, uključujući ljude, predstavljaju značajnu prepreku. Povećana svijest o

¹² Herbicidi su tvari koje uzrokuju uništavanje nepoželjnih biljaka

¹³ Pesticidi su tvari koje odbijaju nepoželjne kukce, ptice i sisavce

ekotoksikološkim učincima i potreba za održivom poljoprivredom potaknula je istraživanja usmjerena na razvoj manje toksičnih i biorazgradivih QACs. Nadalje, zbog svojstva bioakumulacije, QACs mogu predstavljati dugoročnu prijetnju ekosustavima i tlu, što zahtjeva stroga regulacijska ograničenja i razvoj alternativnih spojeva s nižim ekološkim utjecajem. Zbog toga su noviji istraživački radovi usmjereni na sintetske modifikacije QACs kako bi se smanjila njihova toksičnost i povećala biorazgradivost, zadržavajući njihovu učinkovitost kao pesticidi i herbicidi (Bureš, 2019.).

5. Zaključak

Kvaterni amonijevi spojevi (QACs) su kationske tvari. Predstavljaju ključnu klasu kemijskih tvari sa širokim područjem biološke aktivnosti i važnim antimikrobnim svojstvima, koja se primjenjuju u raznim industrijama. Struktura ovih spojeva, karakterizirana trajno pozitivnim nabojem na dušikovom atomu na koji su vezani različiti organski supstituenti, omogućuje im veliku raznolikost i jedinstvena fizikalno-kemijska svojstva, koja su temelj njihove funkcionalnosti. Zbog njihovog antimikrobnog djelovanja bili su od prestižne važnosti tijekom pandemije COVID-19. Postojanost ovih spojeva ovisi o njihovoj strukturi i uvjetima okoline, što uključuje interakcije s različitim površinama i tvarima u okolišu. Ova svojstva ne samo da određuju njihovu biološku aktivnost, već i njihovu distribuciju i sudbinu u okolišu.

Poznavanje mehanizama djelovanja i otpornosti na QACs ključno je za učinkovitu upotrebu ovih spojeva u borbi protiv bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija te za minimiziranje rizika povezanih s razvojem rezistentnih bakterijskih sojeva. Međutim, unatoč njihovim korisnim svojstvima, upotreba QACs nosi sa sobom značajne ekološke i zdravstvene rizike. Razumijevanje građe, mehanizama djelovanja, fizikalno-kemijskih svojstava i biološke aktivnosti QACs ključno je za optimizaciju njihove upotrebe i minimiziranje negativnih utjecaja na zdravlje i okoliš. Njihova postojanost u okolišu, mogućnost bioakumulacije i dokazana toksičnost za vodene organizme ukazuju na potrebu za pažljivim razmatranjem i regulacijom njihove primjene. Razvoj ekološki prihvatljivih alternativa i stroža regulacija njihovog odlaganja u okolišu mogu pomoći u smanjenju štetnih posljedica.

6. Literatura

Arnold W. A., Blum A., Branyan J., Burton T. A., Carignan C. C., Cortopassi G., Datta S., DeWitt J., Doherty A.-C., Halden R. U., Harari H., Hartmann E. M., Hrubec T. C., Iyer S., Kwiatkowski C. F., LaPier J., Dingsheng L., Li L., Ortiz J. G. M., Salamova A., Schettler T., Seguin R. P., Soehl A., Sutton R., Xu L., Zheng G. (2023.) Quaternary Ammonium Compounds: A Chemical Class of Emerging Concern

Bureš F. (2019.), Quaternary Ammonium Compounds: Simple in Structure, Complex in Application

Dingsheng L., Sangion A., Li L. (2020.) Evaluating Consumer Exposure to Disinfecting Chemicals against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Associated Health Risks

Fedorowicz J., Saczewski J. (2024.) Advances in the Synthesis of Biologically Active Quaternary Ammonium Compounds

Feng X. Z., Xiao Z., Wang Z. (2020.) Antifungal Activity of β -Pinene-based Hydronopyl Quaternary Ammonium Salts Against Phytopathogenic Fungi

Fu X., Zhang Y., Jia X., Wang Y., Chen T. (2022.) Research Progress on Typical Quaternary Ammonium Salt Polymers

Hsu L.-H., Kwaśniewska D., Wang S.-C., Shen T.-L., Wiczorek D., Chen Y.-L. (2020.) Gemini Quaternary Ammonium Compound PMT12-BF₄ Inhibits *Candida Albicans* via Regulating Iron Homeostasis

Inácio Â.S., Domingues N. S., Nunes A., Martins P. T., Moreno M. J., Estronca L. M., Fernandes R., Moreno A. J. M., Borrego M. J., Gomes J. P., Vaz W. L. C., Vieira O. V. (2015.) Quaternary Ammonium Surfactant Structure Determines Selective Toxicity towards Bacteria: Mechanisms of Action and Clinical Implications in Antibacterial Prophylaxis

Jaglic Z., Cervinkova D. (2012.) Genetic basis of resistance to quaternary ammonium compounds – the *qac* genes and their role: a review

Jain T., Muktapuram P. R., Pochampalli S., Sharma K., Pant G., Mitra K., Bathula S. R., Banerjee D. (2017.) Chain-Length-Specific Anti-*Candida* Activity of Cationic Lipo-Oxazoles: A New Class of Quaternary Ammonium Compounds

Jennings M. C., Minbiole K. P. C., Wuest W. M. (2015.), Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance

Lipkowski J. (2017.) Supramolecular Engineering: Designing the Solid State

Mikláš R., Miklášová N., Bukovský M. (2021.) Synthesis and Correlation of Aggregation and Antimicrobial Properties of Homochiral Quaternary Ammonium Bromides Derived from

Mohapatra S., Yutao L., Goh S. G., Ng C., Luhua Y., Tran N. H., Gin K. Y.-H. (2023.) Quaternary Ammonium Compounds of Emerging Concern: Classification, Occurrence, Fate, Toxicity and Antimicrobial Resistance

Pateiro-Moure M., Arias-Estévez M., Simal-Gándara J. (2013.) Critical review on the environmental fate of quaternary ammonium herbicides in soils devoted to vineyards

Struna, Protuion, Hrvatsko strukovno nazivlje <http://struna.ihjj.hr/naziv/protuion/39661/> (pristupljeno: 15.07.2024.)

Vereshchagin A. N., Frolov N. A., Egorova K. S., Seitkalieva M. M., Ananikov V. P. (2021.) Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials

Vieira, D. B., Carmona-Ribeiro, A. M. (2006.) Cationic Lipids and Surfactants as Antifungal Agents: Mode of Action

Vincent G., Kopferschmitt-Kubler M., Mirabel P., Pauli G., Millet M. (2006.) Sampling and analysis of quaternary ammonium compounds (QACs) traces in indoor atmosphere

Whitesides G. M., Boncheva M. (2002.) Beyond molecules: Self-assembly of mesoscopic and macroscopic components

Zhang C., Cui F., Zeng G., Jiang M., Yang Z., Yu Z., Shen L. Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment

POPIS KRATICA

ADBAC - alkildimetilbenzilamonijev klorid

BAC – benzalkonijev klorid

CMC – kritična koncentracija micela

CTAB - cetrimonijev bromid

DDAB - dimetildodecilamonijev bromid

DDAC - didecildimetilamonijev klorid

EDA – Agencija za zaštitu okoliša

ESKAPE - *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*,
Acinetobacter baumannii, *Pseudomonas aeruginosa* i vrste roda *Enterobacter*

FDA – Američki odjel za hranu i uprava za lijekove

G+ - Gram-pozitivne bakterije

G- - Gram-negativne bakterije

LPS – lipopolisaharid

MBC – minimalne baktericidne koncentracije

NH₃ – amonijak

Npr. – na primjer

QACs – kvaterni amonijevi spojevi

QUATs – kvaterni amonijevi herbicidi

