

УДК 620.193.8+620.197.3

## ІНГІБУВАННЯ МІКРОБНОЇ КОРОЗІЇ СТАЛІ ЧЕТВЕРТИННИМИ СОЛЯМИ ІМІДАЗОХІНОЛІНІЮ

Н. Р. ДЕМЧЕНКО, С. В. ТКАЧЕНКО, О. С. БОНДАР

Національний університет "Чернігівський колегіум" імені Т. Г. Шевченка

Броміди 2,3-діарил-4,5-дигідроімідазо[1,2-а]хіноліній-3 досліджено як біоциди та інгібітори мікробної корозії низьковуглецевої сталі, індукованої бактеріями штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1. Ефективність захисту металу від біокорозії становить 84,6...92,4%. Визначено, що інгібувальні властивості досліджених речовин обумовлені їх антимікробною дією до сульфатвідновлювальних бактерій (СВБ) *Desulfovibrio* sp. M-4.1: діаметр зони пригнічення росту бактерій 24,7...45,5 мм. За мікробної корозії четвертинні солі повністю пригнічують ріст планктонної форми СВБ та суттєво впливають на формування біоплівки (кількість клітин зменшується на 6–8 порядків порівняно з контрольним зразком). Сульфатвідновна активність бактерій *Desulfovibrio* sp. M-4.1 зменшується на 88,8...91,6%. Ефективність дії досліджених четвертинних солей обговорено з урахуванням результатів розрахунків молекулярних дескрипторів.

**Ключові слова:** *штам сульфатвідновлювальних бактерій Desulfovibrio sp. M-4.1, мікробна корозія сталі, четвертинні солі імідазохінолінію, біоциди, інгібітори, молекулярні дескриптори.*

The 2,3-diaryl-4,5-dihydro-imidazo[1,2-a]quinolinium-3 bromides were tested as biocides and inhibitors of microbial corrosion of low-carbon steel induced by bacteria of strain *Desulfovibrio* sp. M-4.1. The degree of metal protection against corrosion induced by sulfate-reducing *Desulfovibrio* sp. M-4.1 bacteria is 84.6...92.4%. 2-(para-tolyl)-3-(41-methoxyphenyl)-4,5-dihydro-imidazo[1,2-a]quinolinium bromide demonstrated the best protective effect. It was established that sulfate-reducing bacteria of *Desulfovibrio* sp. M-4.1 strain are sensitive to 2,3-diaryl-4,5-dihydro-imidazo[1,2-a]quinolinium-3 bromides. Under the action of imidazoquinolinium quaternary salts, the inhibition zones of bacterial growth have the diameters of 24.7...45.5 mm. Quaternary salts of imidazoquinolinium completely suppress the growth of sulfate-reducing *Desulfovibrio* sp. M-4.1 bacteria in plankton and significantly affect the formation of biofilm (the number of cells decreases by 6–8 orders compared to the control sample) under conditions of microbial corrosion. Suppression of the sulfate-reducing activity of *Desulfovibrio* sp. M-4.1 bacteria by quaternary salts of imidazoquinolinium (by 88.8...91.6%) was proven. The effectiveness of the quaternary salts was discussed with account of the calculation results of molecular descriptors.

**Keywords:** *strains of sulphate-reducing bacteria Desulfovibrio sp. M-4.1, microbial corrosion of steel, quaternary salts of imidazoquinolinium, biocides, inhibitors, molecular descriptors.*

**Вступ.** Більшість корозійних руйнувань металевих конструкцій у багатьох природних і виробничих середовищах – результат мікробної корозії, де особливу роль відіграють сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ). Їх метаболічна активність у складі корозійно-активного угруповання визначає інтенсивність корозії на поверхні металу [1, 2]. Тут як інгібітори перспективні гетероциклічні сполуки, які містять четвертинний атом нітрогену [3–6]. Ефективні біоциди щодо корозійно

небезпечних мікроорганізмів знайдено серед деяких четвертинних солей амонію [1], піридинію [7, 8], імідазопіридинію [9], триазолоазепінію [10, 11], ізохінолінію [12]. Тому доцільно дослідити нові четвертинні солі імідазохінолінію, щоб впровадити нові високоефективні інгібітори біокорозії в практику протикорозійного захисту. Нижче вивчено їх вплив на мікробну корозію маловуглецевої сталі.

**Методи випроб.** Як біоциди щодо СВБ штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1 та інгібітори біокорозії сталі, ініційованої ним, досліджували броміди 2,3-діарил-4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінію-3 (ЧСІХ) (рис. 1) – нітрогеновмісні гетероциклічні сполуки із конденсованим імідазохінолінієвим циклом та арильними фрагментами за другим та третім положеннями гетероциклічної системи, які містять декілька можливих адсорбційно-реакційних центрів, що важливо для протимікробної і протикорозійної дії.

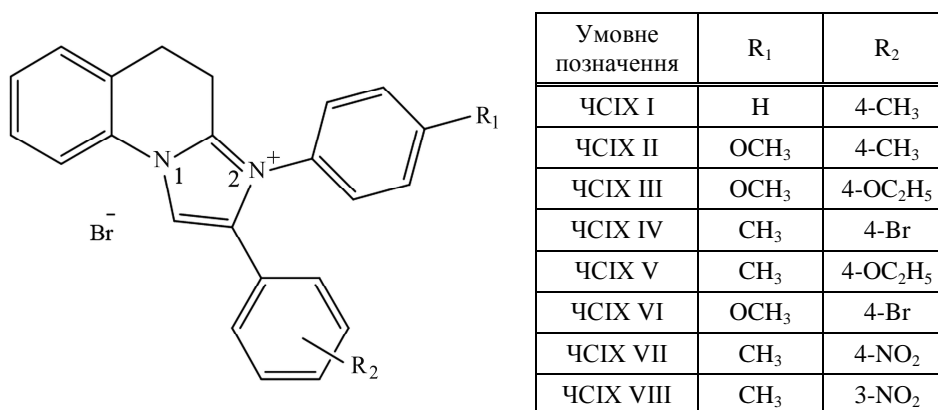


Рис. 1. Загальна формула бромідів 2,3-діарил-4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінію-3.

Fig. 1. General formula of 2,3-diaryl-4,5-dihydro-imidazo[1,2-a]quinolinium-3 bromides.

Гравіметричні корозійні дослідження виконували в герметичних ємностях (100 см<sup>3</sup>) зі зразками сталі СтЗпс розміром 50×18×1 mm, відшліфованими за 4–5 класом чистоти в стерильному поживному середовищі Постгейта “В”, інокульованому СВБ штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1, який виділили із сульфیدогенного природного угруповання феросфери та ідентифікували молекулярно-біологічними методами [2].

Заздалегідь зразки знежирювали ацетоном і активували, занурюючи на 20 s у 6 N розчин H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Після експерименту їх обробляли механічно та хімічно, щоб видалити з поверхні продукти корозії. За втратою маси розраховували швидкість корозії, коефіцієнт її гальмування ( $\gamma_m = K_m / K'_m$ , де  $K_m$  та  $K'_m$  – швидкість корозії зразків без інгібітора та з ним (g/(m<sup>2</sup>·h)) та ефективність інгібування під час захисту ( $IE_m = (1 - 1/\gamma_m) \cdot 100\%$ ). Час експозиції зразків у середовищі 336 h, концентрація речовин 0,5 g/l.

Під час досліджень також оцінювали чисельність СВБ у планктоні (cell/ml) та біоплівці (cell/cm<sup>2</sup>) (метод граничних десятикратних розведень), концентрацію H<sub>2</sub>S (метод йодометричного титрування). Визначаючи концентрацію сірководню, дотримувались способів його зберігання. Відносний ступінь впливу солей на сульфатредукцію бактерій ( $S$ ) розраховували за формулою:  $S = (C - C') / C \cdot 100\%$ , де  $C'$  та  $C$  – середня концентрація сірководню в досліджуваній і контрольній пробах, відповідно, mg/l.

Антибактеріальні властивості бромідів визначали методом дифузії в агар з лунками, в які додавали спиртові розчини випробовуваних солей (0,25; 0,5 і 1%).

Анаеробні умови для росту СВБ створювали, використовуючи метод покривних скляних пластинок (метод Штурм у модифікації Дуди). Щілину між покривною скляною пластинкою та чашкою заповнювали стерильним 2% розчином агар-агару. Контролем був ріст бактерій за дії розчину спирту (96%). За діаметром зони затримання росту СВБ ( $D$ ) визначали їхню чутливість до солей імідазохінолінію.

Розподіл зарядів на атомах, енергію верхньої зайнятої молекулярної орбіталі ( $E_{\text{HOMO}}$ ), енергію нижньої вакантної молекулярної орбіталі ( $E_{\text{LUMO}}$ ), площу топологічної полярної поверхні молекули ( $S$ ), молекулярний об'єм та показник ліпофільності ( $\lg P$ ) розраховували за допомогою пакета програм ChemOffice (PerkinElmerChemoinformaticsInc.), Molinspiration (molinspiration.com) та ACD Log P.

Для кореляційного та регресійного аналізів результатів використовували програму MicrosoftExcel. Їх достовірність оцінювали для рівня значущості 0,05, враховуючи нормальний  $t$ -розподіл. Відносна похибка не перевищувала 10%.

**Результати та їх обговорення.** СВБ виявились (табл. 1) чутливими до дії досліджуваних сполук ряду бромідів 2,3-діарил-4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінію-3. Діаметри зон пригнічення їх росту збільшувались з підвищенням концентрації та становили від 25,7 до 45,5 mm за вмісту 1%. Найбільше ріст СВБ пригнічувався у сполуці ЧСІХ IV (діаметр зони пригнічення за концентрації 1% становив 45,5 mm), яка містить *para*-метилфенільний замісник за третім та *para*-бромфенільний за другим положеннями гетероциклічної системи. Дещо слабша біоцидна дія речовини ЧСІХ III, молекула якої містить *para*-метоксифенільний замісник за третім та *para*-етоксифенільний за другим положеннями гетероциклічної системи (діаметр зони затримання росту бактерій становив 40,5 mm за концентрації 1%).

**Таблиця 1. Біоцидні властивості похідних імідазохінолінію щодо сульфатвідновлювальних бактерій**

Умовне позначення речовин	Діаметри зон пригнічення росту бактерій (mm) за відповідної концентрації речовин, %		
	0,25	0,5	1
ЧСІХ I	24,7 ± 1,7	29,5 ± 1,6	34,5 ± 2,3
ЧСІХ II	27,3 ± 1,2	31,5 ± 1,5	36,7 ± 1,8
ЧСІХ III	25,7 ± 1,7	33,3 ± 1,7	40,5 ± 1,6
ЧСІХ IV	33,3 ± 1,7	38,4 ± 1,6	45,5 ± 3,4
ЧСІХ V	27,2 ± 1,2	32,9 ± 1,7	38,2 ± 1,6
ЧСІХ VI	30,0 ± 1,1	33,7 ± 1,8	38,7 ± 1,8
ЧСІХ VII	29,2 ± 1,1	30,7 ± 1,4	32,0 ± 2,0
ЧСІХVIII	24,3 ± 1,9	24,7 ± 1,8	25,7 ± 1,8

Чутливість СВБ виявилась майже однаковою за досліджених концентрацій четвертинних солей імідазохінолінію ЧСІХ V (*para*-метилфенільний замісник за третім та *para*-етоксифенільний за другим положеннями гетероциклічної системи) та ЧСІХ VI (*para*-етоксифенільний за третім та *para*-бромфенільний за другим положеннями гетероциклічної системи): діаметри зон пригнічення росту 38,2 та 38,7 mm, відповідно.

ЧСІХ I та ЧСІХ II містять *para*-метилфенільний замісник за другим положенням гетероциклічної системи та *para*-метоксифенільний і незаміщений фенільний за третім, відповідно. Діаметри зон пригнічення росту СВБ (концентрація 1%) становили 36,7 та 34,5 nm. З введенням у молекулу метилфенільного замісника за третім положенням гетероциклічної системи, *para*-нітрофенільного (ЧСІХ VII), а також *meta*-нітрофенільного (ЧСІХ VIII) токсичний вплив речовини на клітини СВБ послабився. Про це свідчить зменшення діаметра зони пригнічення росту бактерій до 32 та 25,7 nm, відповідно.

Отже, антибактеріальні властивості досліджених бромідів можна пояснити високою біологічною активністю молекул, зумовленою 4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінієвим циклом з двома арильними фрагментами в другому та третьому положеннях, а особливості – впливом замісників у цих фрагментах на протимікробну дію, яка залежить від конформації та об'єму молекул, зарядів на їх адсорбційно-реакційних центрах, енергетичних параметрів тощо. Одним із її критеріїв є значення показника ліпофільності ( $\lg P$ ), який характеризує спорідненість молекули до ліпідної фази порівняно з водною. Для катіонної форми досліджених речовин він знаходиться в межах 2,42...3,29 (табл. 2), що вказує ( $\lg P < 5$ ) на можливість їх проникнення крізь бактеріальні мембрани, а для молекулярної, в яку вони частково переходять через гідроліз, його значення більше п'яти. Через це складно досягти місця дії – біологічної мішені в клітині. Площа топологічної полярної поверхні молекули (табл. 2) не перевищує  $90 \text{ \AA}^2$ , тому речовини здатні подолати фізіологічні бар'єри.

**Таблиця 2. Молекулярні дескриптори бромідів імідазохінолінію**

Умовне позначення речовини	$\lg P$		$S, \text{ \AA}^2$	Молекулярний об'єм, $\text{ \AA}^3$	$E_{\text{НОМО}}$	$E_{\text{ЛУМО}}$	Заряд на атомах нітрогену	
	катіонна форма	молекулярна					eV	
ЧСІХ I	2,48	$6,02 \pm 0,75$	8,82	322,04	-10,628	-0,988	0,5884	0,5575
ЧСІХ II	2,54	$5,12 \pm 0,72$	18,05	347,50	-10,369	-0,918	0,5901	0,5534
ЧСІХ III	2,52	$5,13 \pm 0,76$	27,29	373,37	-10,071	-0,637	0,5891	0,5497
ЧСІХ IV	3,29	$6,92 \pm 0,78$	8,82	339,92	-9,913	-0,753	0,5891	0,5528
ЧСІХ V	2,92	$6,50 \pm 0,75$	18,05	363,38	-10,138	-0,738	0,5895	0,5510
ЧСІХ VI	2,90	$5,55 \pm 0,79$	18,05	348,90	-9,881	-0,658	0,5884	0,5513
ЧСІХ VII	2,44	$5,80 \pm 0,76$	54,64	345,37	-11,042	-5,070	0,6001	0,5666
ЧСІХVIII	2,42	$6,38 \pm 0,81$	54,64	345,37	-10,825	-5,332	0,5879	0,5617

Встановили, що діаметр пригнічення росту СВБ дещо корелює з площею  $S$ , зокрема для концентрації 1% маємо  $D = -0,2378 \cdot S + 42,727$  ( $R^2 = 0,56$ ). Водночас кореляції з об'ємом молекули не виявили. Отже, зі зменшенням площі топологічної полярної поверхні молекули поліпшуються протимікробні властивості, що узгоджується зі загальними уявленнями про особливості будови молекул з біоцидною дією ( $S < 140 \text{ \AA}^2$ ).

Заряди на атомах нітрогену, які є вірогідними адсорбційно-реакційними центрами під час взаємодії з негативно зарядженою поверхнею бактеріальної клітини (згідно з працею [13] їх поверхня має заряд від  $-8$  до  $-36 \text{ mV}$ ), для всіх

сполук мають достатньо високі позитивні значення (табл. 2). Діаметр пригнічення росту СВБ корелює з зарядом на атомі  ${}^2\text{N}$  (рис. 1):  $D = -746,05 q(\text{N}_2) + 450,89$  ( $R^2 = 0,57$ ). Отже, ймовірно, цей атом у складі молекули бромідів імідазохінолінію є центром їх взаємодії з поверхнею бактеріальної клітини.

За біоцидними властивостями можна передбачити ефективність бромідів імідазохінолінію як інгібіторів мікробної корозії, ініційованої СВБ штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1. Встановили, що за присутності у корозивному середовищі інгібіторів ЧСІХ I та ЧСІХ V швидкість корозії сталі зменшилась у 6,5 разів, для ЧСІХ VI та ЧСІХ IV – у 8,1 та 8,7 разів, відповідно. Ефективнішою виявилася сполука ЧСІХ II. За умов мікробної корозії, індукованої бактеріями цього штаму, швидкість корозії зменшилась у 13,1 рази, що забезпечує ефективність інгібування 92,4% (табл. 3).

Виявили, що четвертинні солі імідазохінолінію впливають на розвиток СВБ штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1 під час мікробної корозії сталі СтЗпс. Зокрема, під дією бромідів 2,3-діарил-4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінію-3 (ЧСІХ I, ЧСІХ II, ЧСІХ IV–ЧСІХ VI) повністю пригнічується їх розвиток. У контролі кількість життєздатних клітин СВБ планктонної форми за період дослідження досягає титру  $10^8$  cell/ml.

Оскільки біокорозія відбувається головню у біоплівці на поверхні металу, вивчали її формування за присутності досліджуваних солей. Встановили, що бактерії штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1 формують біоплівку з меншою чисельністю клітин порівняно з контролем: кількість клітин менша на 6–8 порядків проти контролю (табл. 3).

**Таблиця 3. Протикорозійні властивості похідних імідазохінолінію за умов мікробної корозії сталі СтЗпс, індукованої бактеріями штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1**

Умове позначення речовини	$K_m \times 10^{-3}$ , g/(m <sup>2</sup> ·h)	Коефіцієнт гальмування $\gamma_m$	Ефективність інгібування $IE_m$ , %	Вміст H <sub>2</sub> S, mg/l	Титр бактерій у біоплівці, cell/cm <sup>2</sup>
Без ЧСІХ (контроль)	1,30 ± 0,2	–	–	282,2 ± 11,7	10 <sup>10</sup>
ЧСІХ I	0,20 ± 0,02	6,5	84,6	31,5 ± 2,6	10 <sup>2</sup>
ЧСІХ II	0,10 ± 0,01	13,0	92,4	39,2 ± 2,9	10 <sup>3</sup>
ЧСІХ IV	0,15 ± 0,01	8,7	88,5	23,5 ± 1,8	10 <sup>2</sup>
ЧСІХ V	0,20 ± 0,02	6,5	84,6	28,4 ± 2,3	10 <sup>4</sup>
ЧСІХ VI	0,16 ± 0,01	8,1	87,7	29,6 ± 2,5	10 <sup>4</sup>

**Примітка:** “–” – показник не розраховували.

У результаті метаболічної діяльності бактерій штаму вміст сірководню за дії інгібіторів ЧСІХ I, ЧСІХ II, ЧСІХ IV, ЧСІХ V та ЧСІХ VI зменшився порівняно з контролем у 8,9; 7,2; 12; 9,9 та 9,5 разів, відповідно. Відносний ступінь їх впливу на сульфатредукцію бактерій становив від 88,8 до 91,6% (табл. 3).

Отже, броміди 2,3-діарил-4,5-дигідро-імідазо[1,2-а]хінолінію-3 суттєво пригнічують сульфатвідновлювальну активність бактерій штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1 під час мікробної корозії сталі. Водночас кореляції між коефіцієнтом гальмування та відносним ступенем впливу на їх сульфатредукцію не виявили. Це свідчить, що механізм інгібування біокорозії ЧСІХ полягає не лише в дії на мікробіологічний чинник, а й пов'язаний з утворенням захисного шару на поверхні сталі. Цьо-

му сприяє висока реакційна здатність, на що вказують достатньо велика енергетична щільність ( $E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}}$ ) та електрофільність (негативне значення  $E_{\text{LUMO}}$ ). Коефіцієнт гальмування для бромідів імідазохінолінію зі заміщеними арильними радикалами корелює з енергією нижньої вакантної молекулярної орбіталі. Рівняння регресії має вигляд:  $\gamma_m = -0,0336 E_{\text{LUMO}} - 0,4614$  ( $R^2 = 0,73$ ). Також коефіцієнт гальмування мікробної корозії корелює з зарядом на атомі нітрогену в другому положенні гетероциклічної системи:  $\gamma_m = 0,0004 q(\text{N}_2) + 0,5489$  ( $R^2 = 0,76$ ), що також підтверджує значну роль четвертинного атома нітрогену в механізмі утворення захисної плівки на поверхні під час адсорбції речовини.

Одним з чинників, що пояснює більшу ефективність сполуки ЧСІХ ІІ, може бути конформація молекули (рис. 2). Через розташування атомів практично в одній площині збільшується площа екранування поверхні під час адсорбції на металі.

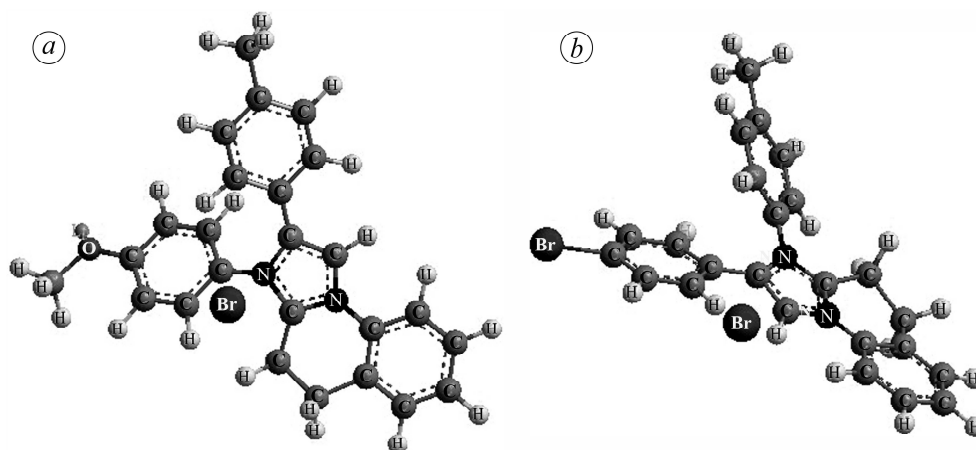


Рис. 2. Конформація бромідів імідазохінолінію: *a* – ЧСІХ ІІ; *b* – ЧСІХ ІV.

Fig. 2. Conformation of imidazoquinolinium bromides: *a* – ЧСІХ ІІ; *b* – ЧСІХ ІV.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, четвертинні солі імідазохінолінію виявляють властивості інгібіторів мікробної корозії, індукованої СВБ штаму *Desulfovibrio* sp. М-4.1 (швидкість корозії гальмується в 6,5–13,1 разів), тому перспективні для подальших досліджень.

1. *Мікробна корозія підземних споруд* / К. І. Андреюк, І. П. Козлова, Ж. П. Коптева, А. І. Піляшенко-Новохатний, В. В. Заніна, Л. М. Пуриш. – К.: Наук. думка, 2005. – 260 с.
2. Демченко Н. Р., Курмакова І. М., Третяк О. П. Особливості корозійно активного мікробного угруповання феросфери газопроводу, прокладеного у піщаному ґрунті // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2013. – № 4. – С. 90–98.
3. *Inhibitive properties of 2,5-bis(n-methylphenyl)-1,3,4-oxadiazole and biocide on corrosion, biocorrosion and scaling controls of brass in simulated cooling water* / A. Rochdi, O. Kassou, N. Dkhireche, R. Touir, M. El Bakri, Merzougui Touhami, M. Sfaira, B. Memari, and Belkheir Hammouti // *Corr. Sci.* – 2014. – **80**. – P. 442–452.
4. *Biocorrosion inhibition effect of 2-aminopyrimidine derivatives on SRB* / T. A. Onat, D. Yiğit, H. Nazır, M. Güllü, and G. Dönmez // *Int. J. Corros. Scale Inhib.* – 2016. – **5**, № 3. – P. 273–281.

5. Mahat N. A., Othman N. K., and Sahrani F. K. Efficiency of inhibitor for biocorrosion influenced by consortium sulfate reducing bacteria on carbon steel // The 2015 UKM FST Postgraduate Colloquium AIP Conf. Proc. 1678, 2015. – P. 040007–1–040007-5.
6. Sheng X., Pehkonen S. O., and Ting Y.-P. Biocorrosion of stainless steel 316 in seawater: inhibition using anazole type derivative // *Corr. Eng., Sci. and Techn.* – 2012. – **47**, № 5. – P. 388–393.
7. Особливості впливу деяких солей піридинію на мікробну корозію низьковуглецевої сталі / С. Полевиченко, Н. Демченко, О. Бондар, І. Курмакова, В. Воробйова, О. Чигиринець, М. Скиба // *Фіз.-хім. механіка матеріалів.* – 2018. – Спец. вип. № 12. – С. 194–198.
8. Demchenko N., Tkachenko S., and Demchenko S. Synthesis, antibacterial and anti-corrosive activity of 2,3-dihydroimidazo[1,2-a]pyridinium bromides // *Chemistry and Chem. Technol.* – 2020. – **14**, № 3. – P. 327–333.
9. Броміди [1,2,4]триазоло[4,3-а]азепінію – інгібітори мікробної корозії сталі / Н. Демченко, І. Курмакова, О. Гуменюк, О. Третяк // *Фіз.-хім. механіка матеріалів.* – 2008. – Спец. вип. № 7. – С. 538–542.
10. Peculiarities of triazoloazepinium bromides effect on steel microbial corrosion / I. M. Kurmakova, O. S. Bondar, V. I. Vorobyova, M. I. Skida, E. E. Chygyrynets, and N. R. Demchenko // *French-Ukrainian J. of Chemistry.* – 2018. – **6**, № 2. – P. 59–72.
11. The effect of triazoloazepine bromide with biocidal activity on microbial copper corrosion / I. M. Kurmakova, O. S. Bondar, N. R. Demchenko, V. I. Vorobyova, and O. Y. Kupchuk // *Int. J. Corros. Scale Inhib.* – 2018. – **7**, № 3. – P. 308–317.
12. Коррозионное поведение меди и хромированной стали в среде с бактериальной сульфатредукцией / Е. С. Бондарь, С. В. Ткаченко, А. М. Демченко, О. И. Сизая // *Вісник ЧДТУ.* – 2011. – № 3 (51). – С. 117–121.
13. Курдиш И. К. Закономерности взаимодействия микроорганизмов с твердыми материалами // *Мікробіол. журн.* – 2001. – **63**, № 6. – С. 71–88.

Одержано 22.12.2022