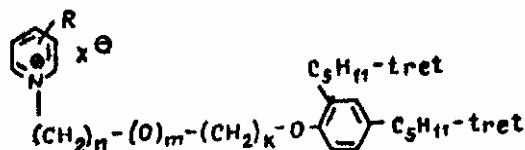


Изобретение относится к области органической химии, к новым химическим соединениям, конкретно к 1-(2',4'-ди-трет-амилфеноксиалкил)пиридинийгалогенидам формулы **1a-c**, проявляющим бактерицидное и бактериостатическое действие.

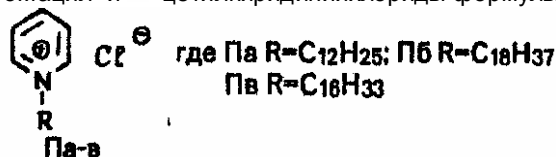


где **1a** R=H, X=Br, n=3, k=m=0; **1b** R=4-, X=Br, n=3, k=m=0; **1c** R=4-, X=Cl, n=3, k=m=0;

1d R=H, X=Br, n=4, k=m=0; **1e** R=3-CH₃, X=Br, n=3, k=m=0; **1f** R=4-CH₃, X=Cl, k=n=2, m=1; **1g** R=H, X=Cl, k=n=2, m=1; **1h** R=H, X=Br, n=4, k=m=0; **1i** R=4-CH₃, X=Br, n=4, k=m=0; **1j** R=2-CH₃, X=Br, n=4, k=m=0; **1k** R=3-CH₃, X=Br, n=4, k=m=0; **1l** R=H, X=Cl, n=4, k=m=0; **1m** R=4-CH₃, X=Cl, n=4, k=m=0; **1n** R=3-CH₃, X=Cl, n=4, k=m=0; **1o** R=4-CH₃, X=Cl, n=3, m=n=0; **1p** R=3-CH₃, X=Cl, n=3, k=m=0; **1q** R=2,3-(CH₃)₂, X=Br, n=4, k=m=0; **1r** R=H, X=Cl, n=3, k=m=0.

Соединения структуры **1a-c** могут найти применение в медицинской и ветеринарной практике для лечения и предупреждения инфекционных заболеваний, для дезинфекции хирургических инструментов, больничного и нательного белья и пр.

Ближайшими структурными аналогами заявляемых соединений можно считать N-лаурил, N-октацил- и N-цетилпиридинийхлориды формулы **Па-в**,



которые проявляют бактерицидное и фунгицидное действие [1].

Однако, N-лаурил- и N-октадецилпиридинийхлориды (**Па, б**) из-за низкой эффективности не нашли практического применения, в то время как N-цетилпиридинийхлорид (ЦПХ, Пв) вошел в состав антисептических препаратов диоцида и церигеля [2].

К недостаткам ЦПХ следует отнести, прежде всего, его ограниченную доступность, так как синтезируют его из дефицитного исходного сырья - цетилового спирта, получаемого в небольших количествах гидрогенизацией жирных кислот коксового и таллового масел, китового жира или гидрированием пальмитиновой кислоты. Использование в синтезе полупродукта - цетилхлорида высокотоксичного и агрессивного хлористого тиснила, вызывающего коррозию технологического оборудования, также препятствует организации производства ЦПХ достаточной мощности.

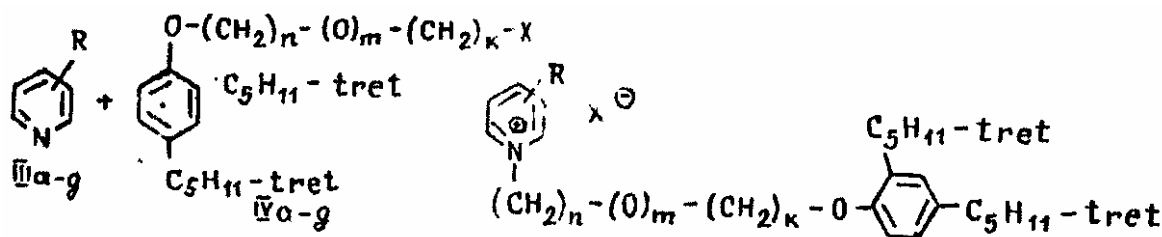
Помимо этого, ЦПХ имеет довольно высокую токсичность ($LD_{50} = 88 \pm 41$) и сравнительно низкий терапевтический индекс, что стимулирует поиски новых нетоксичных соединений, обладающих высокими антимикробными свойствами.

Задача изобретения состоит не только в расширении арсенала антисептических средств, но и создании более эффективных препаратов такого профиля, исходя из доступного многотоннажного промышленного сырья.

Поставленная задача достигается созданием новых химических соединений формулы **1a-c**, проявляющих высокое противомикробное действие.

Исходными веществами для получения заявляемых соединений служат доступные, выпускаемые в больших масштабах реагенты - 2,4-ди-трет-амилфенол, хлорекс, α, ω -дигалогеналканы, пиридин и его замещенные.

Синтез целевых соединений осуществляются по схеме:



где IIIa R=H; IIIб R=2-CH₃; IIIв R=3-CH₃;

IIIг R=4-CH₃; IIIд R=4 N(CH₃)₂; IVa X=Br,

n=3, k=m=0; IVб X=Br, n=4, k=m=0; IVв X=Cl,

n=3, k=m=0; IVг X=Cl, n=4, k=m=0; IVд X=Cl,

k=n=2, m=1.

Пиридины (IIIa-д) нагревают в толуоле или в отсутствии растворителя с 2,4-дигрет-амилфеноксиалкилгалогенидами IVa-д в течение 5 - 7 часов при 140 - 160°C. Галогениды IVa-г получают алкилированием 2,4-ди-трет-амилфенода соответствующими дигалогеналканами.

Получение соединений 1a-с иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. 1-δ-(2', 4')-Ди-трет-амилфеноксибутилпиридинийбромид (1ж). Способа А. Раствор 7,9г (0,1моль) сухого пиридина и 37г (0,1моль) δ-(2', 4')-ди-трет-амилфеноксибутилбромида (IVa) в 50мл толуола кипятят в течение 7 часов. Растворитель отгоняют в вакууме водоструйного насоса и прибавляют к охлажденному остатку ~50 мл н-гексана или петролейного эфира. Рассыпчатый осадок отфильтровывают и промывают на фильтре с 30мл гексана. Получают 33,6 (75% от теор.) продукта с Т.пл. 106 - 107°C (бесцветные пластинки из CCl₄).

Спектр ПМР (в CCl₄, стандарт ГМДС, 60МГц), м.д.; пиридиновое кольцо: 9,40; 7,90; фенольный фрагмент: 7,08 (1H, с); 6,93 (1H, д); J=8 Гц; 6,68 (1H, д) J=8 Гц; трет-амильные группы: 1,64 (4H, кв, 2CH₂); 1,27 (6H, с, 2CH₃); 1,18 (6H, с, 2CH₃); 0,60 (6H, т, 2CH₃); тетраметиленовая цепочка: 3,52 - 2,29 (8H, м, 4CH₂). Спектр УФ (в метаноле) λ_{max}(lg ε 266 (3,91); 272 (3,84).

Способ Б. Смесь 39,5г (0,5моль) пиридина и 181г (0,49моль) бромида IVa нагревают 5 часов при 155 - 160°C. Затем охлаждают, растирают осадок с 200мл диэтилового или петролейного эфира и отфильтровывают белоснежный осадок. Выход 220г (количественный). Продукт достаточно чист и не нуждается в дополнительной очистке, Т.пл. 105 - 106°C.

Пример 2. 1-β[β'-(2', 4')-Ди-трет-амилфеноксиэтоксиэтил]пиридинийхлорид (1е).

Получают аналогично из 79г (1моль) пиридина и 340,5г (1моль) β[β'-(2', 4')-ди-трет-амилфеноксиэтоксиэтил]хлорида (IVд). Выход по способу А составляет 73%, по способу Б - 80%. Т.пл. 56 - 57°C (светло-розовые призмы из CCl₄).

Спектр ПМР (в CCl₄, стандарт ГМДС, 60МГц) м.д.; пиридиновое кольцо: 9,36; 7,87; фенольный фрагмент: 7,05 (1H, с); 6,90 (1H, д, J=8 Гц); 6,60 (1H, д, J=8 Гц); трет-амильные группы: 1,65 (4H, кв, 2CH₂); 1,23 (6H, с, 2CH₃); 1,15 (6H, с, 2CH₃); 0,58 (6H, т, 2CH₃); две этиленовые группы: 4,02 - 3,59 (4H, м, 2CH₂). Спектр УФ (в CH₃OH): λ_{max} (lg ε) : 2,60 (3,78); 2,80 (3,38).

Аналогично, по способам А и Б при тех же соотношениях реагентов могут быть получены пиридиновые соли 1a-д, 3-с. Данные элементного анализа, температуры плавления и выходы этих соединений приведены в табл.1.

Испытания антимикробной активности новых химических соединений 1a-с проводились на кафедре микробиологии Донецкого медицинского института на 5 штаммах бактерий (см. табл.2). Антимикробное действие веществ изучалось методом серийных разведений.

Навеска каждого препарата (10мг) предварительно выдерживалась в течение 1 - 1,5 часов в 0,2мл 70% этанола для стерилизации. Дальнейшие двукратные серийные разведения веществ производились в бульоне Хиттингера. К разведенным в 1мл бульона испытуемым соединениям (от 1000мкг/мл до 0,5мкг/мл) прибавляли равный объем суточной бульонной культуры тест-микроба. После этого посеы помещали в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Учет бактериостатической концентрации вещества (наименьшей действующей концентрации)

производился по минимальной его концентрации, задерживающей рост и размножение бактериальной культуры по сравнению с контрольными пробирками, не содержащими вещества. Бактерицидную концентрацию веществ определяли по полному отсутствию роста бактериальных культур после их посева на чашки с мясопептонным агаром из каждого разведения вещества стандартной бактериологической петлей и последующего культивирования при 37°C в течение 24 - 48 часов.

Для сопоставления антимикробной активности исследуемых веществ **1a-c** с аналогичным действием известных препаратов был использован **N**-цетилпиридинийхлорид (**IIa**). Результаты испытаний представлены в табл.2. Анализ полученных данных показывает, что соли пиридиния **1a-c** обладают выраженной бактериостатической активностью по отношению ко всем использованным в эксперименте бактериальным культурам и по степени своей активности значительно превосходят ЦПХ. Заявляемые соединения имеют выраженное бактерицидное действие по отношению к золотистому стафилококку, в 2 - 16 раз превосходящее таковое **N**-цетилпиридинийхлорида (**IIa**).

Достоинством солей пиридиния **1a-c** является также их низкая токсичность и высокий терапевтический индекс по сравнению с **N**-цетилпиридинийхлоридом. Острая токсичность некоторых из них и ЦПХ определялась на 6 группах мышей по 6 животных в каждой весом 18 - 20г путем внутрижелудочного введения раствора. Интервал между дозами составил от 62 до 250мг/кг массы. Максимально переносимая доза (МПД) составила 32мг/кг, а доза, вызывающая гибель всех животных - 1250мг/кг. Расчет **ЛД₅₀** производился по методу Кербера с построением характеристической кривой для ориентировочной оценки величины стандартной ошибки для **ЛД₅₀**. Исходя из минимальной эффективности дозы и **ЛД₅₀**, был рассчитан терапевтический индекс вещества для разных бактериальных культур.

Для иллюстрации приводим значения **ЛД₅₀ ± СЛД₅₀** и терапевтических индексов для некоторых солей пиридиния (**1a-з, p, IIa**).

Таким образом, высокая степень противомикробной активности (1-(2',4'-ди-трет-амилфеноксипропил)пиридинийгалогенидов **1a-c**, их низкая токсичность, высокий терапевтический индекс и доступность по сравнению с аналогом **N**-цетилпиридинийхлоридом свидетельствуют о перспективности применения этих соединений в качестве антисептических средств.

Таблица 1

Характеристики пиридиновых солей а-с

Соединения	Т. пл., °C	Растворитель для кристаллизации	Найдено, %			
			C	H	Br	Cl
а	80-81	CCl ₄	66,1	8,5	18,2	—
б	145-147	бензол	69,2	8,4	14,1	—
в	131-133	бензол	69,7	8,5	13,9	—
г	144-146	этилацетат	69,8	8,7	17,5	—
д	167-169	ацетон	71,6	9,4	—	8,0
е	55-57	CCl ₄	71,3	9,2	—	8,2
ж	106-107	CCl ₄	69,8	8,6	17,6	—
з	108-110	бензол	67,3	8,9	17,1	—
и	103-105	бензол	67,4	8,8	17,3	—
к	126-127	этилацетат	67,2	8,9	17,2	—
л	111-112	ацетон	74,2	9,3	—	8,6
м	119-120	ацетон	74,5	9,7	—	8,3
н	96-97	ацетон	74,4	9,7	—	8,4
о	173-174	ацетон	74,2	9,8	—	8,5
п	69-70	CCl ₄	74,1	9,7	—	8,6
р	145-146	ацетон	67,9	9,1	16,6	—
с	82-83	ацетон	73,6	9,5	—	8,9

Продолжение табл. 1

Соединения	Брутто-формула	Вычислено, %				Выход, %	
		C	H	Br	Cl	Способ А	Способ Б
а	C ₂₄ H ₃₆ BrNO	66,3	8,4	18,4	—	72,5	86
б	C ₃₂ H ₄₅ BrN ₂ O	69,4	8,2	14,4	—	64	73
в	C ₃₃ H ₄₇ BrN ₂ O	69,8	8,3	14,1	—	65	75,2
г	C ₂₅ H ₃₈ BrNO	70,0	8,5	17,8	—	75	84
д	C ₂₆ H ₄₀ ClNO ₂	71,9	9,3	—	8,2	78	93
е	C ₂₅ H ₃₈ ClNO ₂	71,5	9,1	—	8,4	73	80
ж	C ₂₅ H ₃₈ BrNO	70,0	8,5	17,8	—	75	99,9
з	C ₂₆ H ₄₀ BrNO	67,5	8,7	17,3	—	75	87
и	C ₂₆ H ₄₀ BrNO	67,5	8,7	17,3	—	74,5	90
к	C ₂₆ H ₄₀ BrNO	67,5	8,7	17,3	—	78	88
л	C ₂₅ H ₃₈ ClNO	74,3	9,5	—	8,8	69	75
м	C ₂₆ H ₄₀ ClNO	74,7	9,6	—	8,5	72,5	80
н	C ₂₆ H ₄₀ ClNO	74,7	9,6	—	8,5	68,5	79,5
о	C ₂₅ H ₃₈ ClNO	74,3	9,5	—	8,8	74	85
п	C ₂₅ H ₃₈ ClNO	74,3	9,5	—	8,8	85	96
р	C ₂₇ H ₄₂ BrNO	68,1	8,9	16,8	—	79	90
с	C ₂₄ H ₃₆ ClNO	73,9	9,3	—	9,1	64,5	80

Таблица 2

Антимикробная активность испытуемых веществ 1а-с

Соединение	Наименьшая действующая концентрация веществ для бактериальных культур мкг/мл					
	St aureus 209		E. coli M 17		B. anthracoides	
	б/ст	б/ц	б/ст	б/ц	б/ст	б/ц
1а	0	18	8	500	8	250
1б	0,3	20	18	500	0,5	500
1в	0,25	16	16	Р	0,25	Р
1г	1	8	120	Р	0,25	500
1д	4	4	60	500	1	500
1е	2	4	32	Р	16	Р
1ж	8	16	8	500	8	250
1з	2	2	64	Р	1	500
1и	2	8	500	Р	0,25	Р
1к	1	4	128	Р	0,25	500
1л	8	16	8	500	8	250
1м	2	2	64	Р	1	500
1н	1	6	128	Р	0,3	500
1о	1	6	128	Р	0,25	500
1п	1	4	128	Р	0,3	500
1р	1	8	16	Р	4	500
1с	1	8	16	Р	4	Р
Пв	4	32	16	500	8	Р
(стандарт)						

Продолжение табл. 2

Соединение	Наименьшая действующая концентрация веществ для бактериальных культур мкг/мл			
	S. typhimurium 353		PS. aeruginosa	
	б/ст	б/ц	б/ст	б/ц
1а	12	500	60	500
1б	32	Р	32	500
1в	32	Р	32	500
1г	30	Р	30	500
1д	16	500	12	500
1е	128	Р	32	500
1ж	8	500	64	500
1з	32	Р	16	Р
1и	500	Р	500	500
1к	32	Р	32	Р
1л	8	500	60	500
1м	32	500	18	Р
1н	32	Р	32	500
1о	30	Р	30	500
1п	32	Р	32	Р
1р	32	Р	16	500
1с	32	Р	16	500
Пв	256	500	500	Р
(стандарт)				

б/ст – бактериостатическое действие; б/ц – бактерицидное действие;
 Р – рост бактерий при концентрации вещества более 500 мкг/мл.

Таблица 3

Для иллюстрации приводим значения $LD_{50} \pm SLD_{50}$ и терапевтических индексов для некоторых солей пиридиния (1е-з, р, Пв)

Соединение	$LD_{50} \pm SLD_{50}$
1е	627,8±60,0
1ж	229±52,2
1з	625±92
1р	219±43
Пв (стандарт)	88±41

Таблица 4

Соединение	Терапевтический индекс LD_{50}/ED_{50}				
	St aureus 209	E. coli M 17	B. antracoides	S. typhimurium 353	PS. aeruginosa
1е	168,0	21,0	84,0	42,0	21,0
1ж	28,6	28,6	28,6	28,6	3,6
1з	312,5	9,8	625	19,6	39,8
1р	219	13,8	55,0	6,8	13,8
Пв (стандарт)	22,0	5,5	11	0,34	0,17