

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037888**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.01

(51) Int. Cl. **C07C 211/63** (2006.01)
A61K 31/14 (2006.01)

(21) Номер заявки
201900499

(22) Дата подачи заявки
2018.12.21

(54) **(2-ГИДРОКСИ-3-АЛЛИЛ-5-ИЗОДЕЦИЛБЕНЗИЛ)ДИЭТИЛАММОНИЙ ХЛОРИД В КАЧЕСТВЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО БАКТЕРИЦИДА ПРОТИВ ОПАСНОГО ПАТОГЕНА STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

(43) **2020.06.30**

(96) **2018/042 (AZ) 2018.12.21**

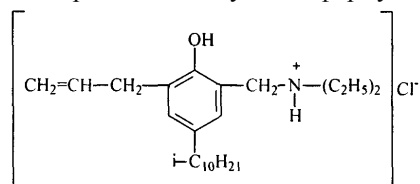
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БАКИНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ (AZ)**

(72) Изобретатель:
**Магеррамов Абель Мамедали оглы,
Байрамов Муса Рза оглы, Ганбаров
Худаверди Ганбар оглы, Мамедов
Ибрагим Гариб оглы, Джавадова
Зульфия Мусеиб кызы, Агаева
Махира Айбала кызы, Джавадов
Мисир Ахмед оглы, Исраилова
Айгюнь Алимардан кызы, Гасанова
Гюльнара Муса кызы (AZ)**

(56) MAGERRAMOV A.M. и др. Study of Aminomethylated Derivatives of Allylphenols as Antimicrobial Additives for TS-1 Jet Fuel, Petroleum Chemistry, 2008, т. 48, № 1, с. 63-66, <doi:10.1134/S096554410801012X>, особенно с. 64, схема, соединение X, с. 65, табл.

MAGERRAMOV A.M. и др. Synthesis of Aminomethylated Derivatives of Allylphenols and Study of Their Antimicrobial Characteristics in Motor Oil, Russian Journal of Applied Chemistry, 2007, т. 80, № 4, с. 665-668, <doi:10.1134/S1070427207040295>, особенно с. 665, соединение X, с. 667, табл. 1 соединение X

(57) В качестве специфического бактерицида против опасного патогена Staphylococcus aureus предложено использовать новое органическое соединение (2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламмоний хлорид следующей формулы:



Использование нового соединения в концентрации 62,5 мкг/мл оказывает специфическое действие на описанные патогенные бактерии Staphylococcus aureus, ингибируя их размножение, не подавляя рост бактерий нормальной биоты кишечника, что может найти применение в медицине.

**037888
B1**

B1

037888

Изобретение относится к специфическому подавлению роста опасного патогена *Staphylococcus aureus* с помощью специального химического вещества. Оно может найти применение в химико-фармацевтической промышленности.

Одной из актуальных проблем современной биологической и медицинской науки является разработка эффективных способов подавления роста и уничтожения многочисленных опасных болезнетворных бактерий, являющихся угрозой человеку и окружающей среде. Среди наиболее часто используемых на практике способов борьбы с ними является применение антибиотиков, в том числе специальных химических веществ из числа различных классов органических соединений, содержащих в своих структурах азот, кислород, хлор и др. элементы [1]. В результате продолжительного использования этих веществ болезнетворные бактерии приобретают устойчивость к ним. Поэтому поиск новых антибактериальных веществ является актуальным и в настоящее время.

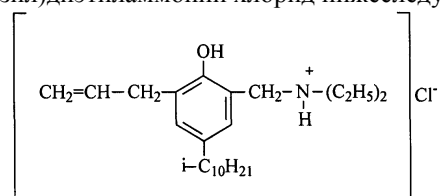
В последние годы в мировой практике особое внимание уделяется использованию в качестве бактерицидов водорастворимых аммониевых солей различной структуры и композиций на их основе [2, 3].

Описан дезинфектант, обладающий одновременно бактерицидными, вирулицидными и фунгицидными свойствами, полученный на основе поли-N,N-диметиламмоний хлорида [4].

Однако следует отметить, что исследования по созданию новых, еще более эффективных бактерицидов непрерывно растут, особенно если учесть возможности их применения в весьма низких концентрациях, при которых наблюдается полное уничтожение опасных патогенных бактерий.

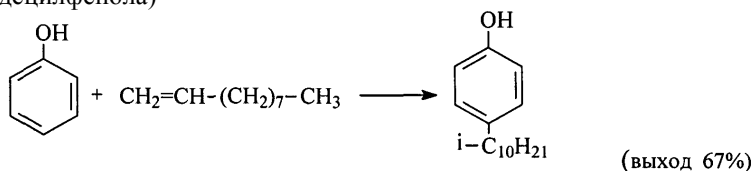
Учитывая вышесказанное, большой интерес представляет разработка бактерицидов на основе замещенных фенолов.

Нами разработан эффективный бактерицид фенольной структуры, представляющий собой (2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламмоний хлорид следующей структуры:



Предлагаемое в качестве бактерицида химическое соединение не описано в научно-технической литературе и синтезировано нами впервые. Синтез его проводится следующим образом.

1. Алкилирование фенола деценом-1 в присутствии сульфокатионитного катализатора (КУ-23; КУ-2) (получение 4-изодецилфенола)



Условия алкилирования:

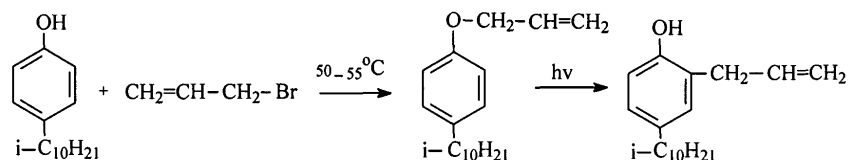
температура 80°C;

соотношение фенол:деценом-1 2:1 моль;

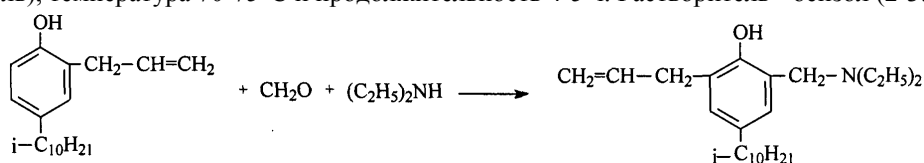
количество катализатора 10% (на фенол);

продолжительность реакции 4 ч.

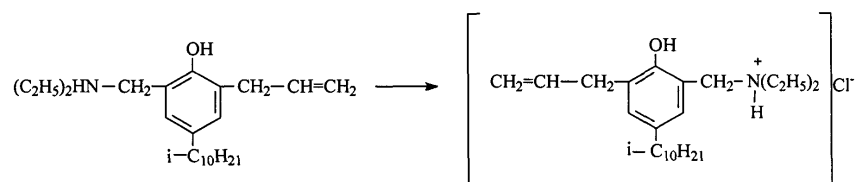
2. Конденсация 4-изооктилфенола с аллилбромидом (в присутствии поташа) при температуре 50-55°C и последующая Кляйзеневская перегруппировка полученного эфира под микроволновым облучением



3. Конденсация 2-аллил-4-изодецилфенола с формальдегидом и диэтиламином (при их соотношении 1:1:1 моль), температура 70-75°C и продолжительность 4-5 ч. Растворитель - бензол (2-3:1 по массе).



4. Обработка 2-аллил-4-изодецил-6-диэтиламинометилфенола хлороводородом (при комнатной температуре в течение 4-5-ч).



Структура предложенного соединения доказана данными ЯМР-спектроскопии:

^1H -спектр (м.д): 0.98 т (3H, CH₃); 1.2 т (3H, CH₃); 1.3 д (3H, CH₃); 1.4 м (8H, 4CH₂); 1.6 м (2H, CH₂); 3.1 м (1H, CH); 3.2 м (2H, CH₂Ar); 4.2 с (2H, CH₂Ar); 4.9 д-д (2H, =CH₂); 5.9 м (1H, =CH); 6.8 м (1H, Ar); 7.2 м (1H, Ar); 10.1 с (1H, OH).

^{13}C -спектр: 9.7 (CH₃); 14.7 (CH₃); 19.2 (CH₃); 21.3 (CH₂); 24.7 (CH₂); 26.2 (CH₂); 27.3 (CH₂); 31.4 (CH₂); 37.4 (CH); 47.3 (CH₂); 73.4 (CH₂); 117.4 (=CH₂); 121.3 (CH); 122.4 (C); 129.7 (CH); 130.4 (=CH); 137.4 (C); 139.2 (C); 158.4 (C).

Для выявления бактерицидных свойств нового соединения были проведены всесторонние лабораторные исследования с использованием следующих болезнетворных бактерий: *Acinetobacter baumannii* (BDU 32), *Escherichia coli* (BDU 12), *Klebsiella pneumoniae* (BDU 44), *Pseudomonas aeruginosa* (BDU 49) и грамотрицательные *Staphylococcus aureus* (BDU 23).

Эксперименты по выявлению антибактериальных свойств предлагаемого соединения проводились методом серийных разведений и определяли минимальную ингибирующую концентрацию [5].

Для роста бактерий использовали питательную среду "Мюллера Хинтона" следующего состава (г/л): крахмал - 1,5; гидролизат козеина - 17,5; мясной экстракт - 2,0 и агар - 17,0; pH 7,3.

Для приготовления образцов с различной концентрацией вещества вначале готовили исходный раствор 1000 мкг/мл (или 1 мг/мл). Путем серийного разведения получали образцы со следующими концентрациями: 500 мкг/мл; 250 мкг/мл; 125 мкг/мл; 62,5 мкг/мл и 31,25 мкг/мл. Среда, содержащие вышеуказанные концентрации испытуемого вещества, инокулировали 100 мкл бактериальной суспензии (содержащей 10⁴ КОЕ/мл клеток) и инкубировали при температуре 37°C в течение 48 ч.

Результаты испытаний по выявлению минимальной ингибирующей концентрации соединения по отношению к различным бактериям приводятся в таблице.

Минимальная ингибирующая концентрация (2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламмоний хлорида по отношению к различным бактериям

№	Бактерии			Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл
	виды	Штаммы	болезнетворность	
1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	BDU 32	Патоген	500
2	<i>Escherichia coli</i>	BDU 12	Условно патоген	1000
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BDU 44	Условно патоген	2000
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	BDU 49	Условно патоген	2000
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	BDU 32	Патоген	62,5

Как видно из данных таблицы, бактерии *Staphylococcus aureus* обладают высокой чувствительностью к использованному соединению. Минимальная концентрация ингибирующей активности исследуемого вещества по отношению к этой бактерии составляет всего 62,5 мкг/мл. Для подавления роста других видов использованных тест-бактерий необходимо использование вещества в 8-32 раза повышенных концентрациях.

Методом диффузии в агар [5] определяли зону лизиса *Staphylococcus aureus* BDU32 под действием испытуемого вещества. Для роста бактерий использовали питательную среду вышеуказанного состава с добавлением агара (17,0 г/л). Питательную среду разливали в чашки Петри по 20 мл и после застывания производили посев бактерии по всей поверхности среды. Затем сделали лунки диаметром 6 мм, куда вводили раствор испытуемого соединения. Все опыты в 5 повторности инкубировали при 37°C в течение 24 ч. Зону лизиса вокруг лунки измеряли линейкой, что составляло 17×19 мм (рисунок). В качестве контроля использовали дистиллированную воду.

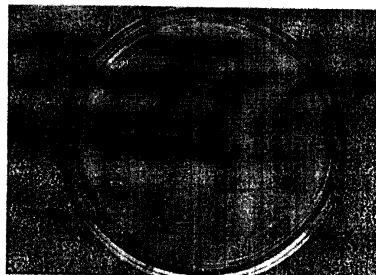


Рисунок. Зона лизиса бактерий *Staphylococcus aureus*, созданная 2-аллил-4-изодецил-6-диэтиламинометилфенолом

Известно, что бактерии *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* нормальной микрофлоры кишечника человека. Многие антибактериальные вещества наряду с вредными бактериями подавляют рост и бактерий нормальной биоты кишечника, что часто приводит к дисбактериозу [6].

Результаты проведенных экспериментов показывают, что предлагаемое в качестве бактерицида соединение в концентрации 62,5 мкг/мл оказывает специфическое действие на опасную патогенную бактерию *Staphylococcus aureus*, ингибируя ее размножение.

Следовательно, (2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламоний хлорид как антибактериальное вещество имеет следующие преимущества:

высокий эффект антибактериального действия достигается очень низкой концентрацией вещества (62,5 мкг/мл);

низкая концентрация вещества оказывает специфическое антимикробное действие на патоген *Staphylococcus aureus*, не подавляя рост бактерий нормальной биоты кишечника;

высокое бактерицидное действие минимальной концентрации предлагаемого вещества можно объяснить наличием в его структуре наряду с фенольным гидроксилом и аллильной группой также и четвертичной аммонийной группы и Cl^- аниона.

Рассмотрим на конкретных примерах как способ осуществления синтеза предлагаемого соединения, так и его антимикробные свойства по отношению к различным видам бактерий (в одинаковых условиях испытаний).

Пример 1.

а) Алкилирование фенола *n*-деценом-1.

В реакционную трехгорлую колбу, снабженную термометром, мешалкой и обратным холодильником, загружаются фенол 18,8 г (0,2 моль), катализатор КУ-23 1,88 г (10% в расчете на фенол). Масса нагревается до расплавления фенола ($T_{\text{пл.}} = 43^\circ\text{C}$), после чего из капельной воронки при перемешивании в колбу подается 14,0 г (0,1 моль) *n*-децена-1. Далее реакционная масса перемешивается в течение 4 ч. По завершении процесса алкилат отделяется от катализатора и подвергается разгонке в роторном испарителе (с целью отделения не вступившей в реакцию части *n*-децена-1. Выход 4-изодецилфенола 14,6 г (62% от теор.).

б) Получение 2-аллил-4-изодецилфенола.

В трехгорлую колбу загружается 23,4 г (0,1 моль) 4-изодецилфенола, 13,8 г (0,1 моль) поташа, 12,1 г (0,1 моль) аллилбромид, 30 мл ацетона и проводится реакция эфиробразования при температуре 50-55°C в течение 6 ч. Образовавшийся аллиловый эфир 4-изодецилфенола извлекается из реакционной массы вакуумной перегонкой и подвергается Кляйзеновской перегруппировке под воздействием микроволнового облучения в течение 7-10 мин. Выход 2-аллил-4-изодецилфенола 20,7 г (90% от теор.). Он извлекается из реакционной массы вакуумной перегонкой, представляет собой вязкое вещество светло-желтого цвета, хорошо растворимое в спиртах, ацетоне, ароматических углеводородах.

в) Синтез 2-аллил-4-изодецил-6-диэтиламинометилфенола.

В трехгорлую реакционную колбу загружается 27,4 г (0,1 моль) 2-аллил-4-изодецилфенола, 8,1 мл 37%-го водного раствора формальдегида (0,1 моль) и 7,2 г (0,1 моль) диэтиламина и растворителя, 50-55 мл бензола и проводится реакция конденсации в течение 4-5 ч при температуре 70-75°C. По завершении реакции 2-аллил-4-изодецил-6-диэтиламинометилфенол отделяется от растворителя (с помощью роторного испарителя) и не вступивших в реакцию реагентов в глубоком вакууме (ост. давл. 3 мм рт.ст.). Выход его составляет 25,0 г (70% от теор.).

г) Получение целевого соединения (2-гидрокси-3-аллил-6-изодецилбензил)аммоний хлорида обработкой 2-аллил-4-изодецил-6-диэтиламинометилфенола хлороводородом при комнатной температуре в течение 4-5 ч. Выход целевого соединения 28,5 г (92%). Оно хорошо растворяется в воде, обладает поверхностно-активными и бактерицидными свойствами, о чем свидетельствуют проведенные всесторонние исследования.

Наличие в его структуре 4-аллилзамещенного фрагмента (образующего объемный катион), а также Cl^- аниона придает ему не только антимикробные, но и защитные ингибирующие свойства в системах, состоящих из водных растворов солей, углеводов и др. соединений.

Выявлены высокие противокоррозионные свойства в насыщенных сероводородом системах, состоящих из 2-3% растворов NaCl и углеводородов (нефтяных фракций). Степень защиты от коррозии стали Ст. 3 составляет 90-92%, конц. соединения 50-100 мг/л.

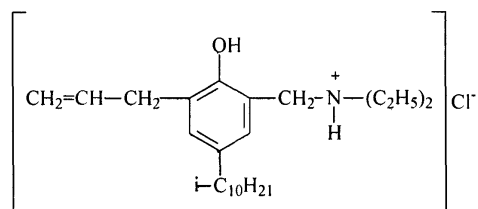
Таким образом, проведенные исследования показывают, что 2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламмоний хлорид может найти полезное применение в медицине в качестве бактерицида по отношению к *Staphylococcus aureus*, не подавляя развития нормальной биоты кишечника человека, не ухудшая при этом противокоррозионные свойства используемого конструкционного материала.

Литература.

1. Гутенев В.В., Денисов И.А., Чумакова В.Н. Изучение бактерицидной активности и выбор ионных дезинфектантов//Экол. системы и приборы, 2005, № 6, с. 27-29.
2. Пат. 2277906 Россия, МПК⁷ А61К 31/13, А61К 31/185, 2006.
3. Пат. 2583140 Россия. Дезинфицирующее средство, МПК А61L 2/16, 2016.
4. Мисин В.М., Федорова Л.С., Стоянов О.В. Новый дезинфектант на основе четвертичных аммониевых солей//Вестник Казан. технол. ун-та, 2016, 19, № 3, с. 28-31.
5. Дудка И.А., Вассер С.П., Эллонская И.Ф. и др. Методы экспериментальной микологии, Москва, Наука, 1982, 274 стр.
6. Albert Balows (Editor in chief) Manual of Chemical microbiology (fifth edition), American society for microbiology, Washington D.C., 1991, 1364 p.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Применение (2-гидрокси-3-аллил-5-изодецилбензил)диэтиламмоний хлорида нижеследующей формулы:



в медицине в качестве специфического бактерицида против опасного патогена *Staphylococcus aureus*.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2