



На правах рукописи

Харламов Александр Викторович

**СИНТЕЗ И БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ
АЦИКЛИЧЕСКИХ ТРЕТИЧНЫХ И ЧЕТВЕРТИЧНЫХ
АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Специальность 02.00.03 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

17 НОЯ 2011

Москва - 2011

Работа выполнена в Отделе прикладных технологий Федерального государственного
унитарного предприятия «Государственный ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт химических реактивов и особо чистых
химических веществ» (ФГУП «ИРЕА»)

Научный руководитель: доктор химических наук
Бондаренко Наталья Александровна

Официальный оппоненты: доктор химических наук, профессор
Коротеев Михаил Петрович

кандидат химических наук,
старший научный сотрудник
Артюшин Олег Иванович

Ведущая организация: Российский химико-технологический
университет им. Д.И. Менделеева

Защита состоится 12 декабря 2011 года в 15 часов 30 минут на заседании
диссертационного совета Д 212.154.25 при Московском педагогическом
государственном университете по адресу: 119021, Москва, Несвижский пер., 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МПГУ по адресу 119991,
Москва, ул. Малая Пироговская, 1.

Автореферат диссертации разослан « » ноября 2011 года

Учёный секретарь диссертационного совета



Пугашова Н.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Обнаружение в начале прошлого века противомикробных свойств у четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), включая бактерицидную, спороцидную и туберкулоцидную активность, привело к их широкому использованию в производстве дезинфицирующих средств, применение которых в медицинских учреждениях способствует снижению числа внутрибольничных инфекций. Вызываемые ими болезни являются четвертой по частоте причиной смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также инсультов. В последнее время ЧАС стали использовать для местного предотвращения инфекционных процессов путем их объединения с различного рода материалами в медицинских устройствах, а также перевязочных и стоматологических средствах, постоянно пребывающих в контакте с организмом человека. Такое интенсивное использование биоцидов привело к повышению требований безопасности, предъявляемых к этим средствам. Между тем, отсутствие систематических исследований взаимосвязи структуры четвертичных аммониевых производных и их биологической активности сдерживает целенаправленный синтез новых высокоэффективных соединений, обладающих как бактерицидными свойствами, так и низкой токсичностью по отношению к теплокровным организмам. Поэтому важной задачей является изучение влияния строения четвертичных аммониевых соединений на их активность для создания путей построения новых молекул и исследование их свойств.

Цель работы. Настоящая работа посвящена синтезу симметричных и несимметричных функциональнозамещённых третичных и четвертичных аммониевых соединений и исследованию влияния их строения на бактерицидную активность.

Научная новизна. Для решения поставленной задачи разработаны удобные межфазные методы синтеза вторичных и третичных аминов в гетерогенной системе органическая фаза – водно-щелочная фаза, позволяющей использовать водные растворы щелочи и аминов, а также в системе органическая фаза – смесь безводных $\text{NaOH-K}_2\text{CO}_3$:

- трёхстадийный метод для синтеза несимметричных вторичных аминов с использованием защитной $\text{Ph}_2\text{P(O)}$ -группы, все стадии которого осуществляются в межфазных условиях в отсутствие катализатора межфазного переноса; изучены границы применимости метода;

- разработан метод межфазного NH-алкилирования вторичных аминов, позволяющий осуществлять синтез симметричных и несимметричных третичных аминов с высоким выходом в укрупнённом масштабе.

Изучены бактерицидные свойства синтезированных функционально-замещенных третичных и четвертичных аммониевых соединений и проведено систематическое исследование влияния их строения на бактерицидную активность по отношению к *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa* (стафилококк золотистый, кишечная и синегнойная палочки).

Практическая значимость работы. Разработаны технологичные методы синтеза трёх четвертичных аммониевых продуктов с бактерицидными и поверхностно-активными свойствами общей формулы $Me_2N^+(Alk)R$ Cl⁻ (где Alk = смесь C₁₂-C₁₄): Аминат БК (R = CH₂Ph), Трацкан АКС (R = CH₂CH₂OH), Трацкан АВС (R = CH₂COO⁻). Эти способы были положены в основу технологии, используемой в настоящее время для их производства.

Выявленные в работе закономерности влияния структуры ЧАС на противомикробное действие представляют интерес для их использования при разработке дизайна новых молекул третичных и четвертичных аммониевых соединений с бактерицидной активностью и целенаправленного их синтеза.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были доложены на XV Международной конференции по химии фосфорорганических соединений (Санкт-Петербург, 2008 г) и Международной научно-практической конференции «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новый Свет, Крым, Украина, 2009 г).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 2 статьи и тезисы 3 докладов на международных научных конференциях.

Объём и структура работы. Диссертационная работа, изложенная на 172 страницах печатного текста и содержащая 30 таблиц и 46 схем, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов исследования, экспериментальной части и списка литературы, включающего 177 ссылок.

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке Федеральной целевой научно-технической программы «Конкурентоспособные малозергоёмкие и экологически безопасные процессы получения новых химических, в том числе особо чистых, веществ и материалов для научных и прикладных целей» (грант № 41.028.1.12432), Федерального агентства по науке и инновациям (субсидия

№ 01.168.24.013), а также Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт № 16.513.11.3100).

Работа выполнена в лаборатории теории действия и применения комплексонов ФГУП «ИРЕА». Автор глубоко признателен заведующему отделом прикладных технологий кандидату химических наук А.Г. Вендילו за предоставленную возможность выполнить настоящее исследование и своему соавтору – старшему научному сотруднику кафедры микробиологии МГУ кандидату биологических наук Т.А. Чердынцевой за исследование бактерицидных свойств синтезированных соединений, а также горячо благодарит сотрудников лаборатории тиофосфорорганических соединений ИНЭОС РАН - докторов химических наук И.Л. Одинец и А.Э. Шипова, кандидатов химических наук О.В. Быховскую, Р.М. Калянову, Е.В. Матвееву и сотрудников ФГУП «ИРЕА» - докторов химических наук Б.М. Болотина и Е.Е. Гринберга, кандидатов химических наук Н.Е. Ковалёву и И.Е. Стрельникову за неоценимую помощь, оказанную на разных этапах этой работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

С целью систематического исследования влияния строения четвертичных аммониевых соединений на их противомикробную активность, а также поиска новых веществ, обладающих бактерицидными свойствами, синтезирован ряд симметричных и несимметричных третичных и четвертичных аммоний хлоридов общей формулы $R^1R^2R^3N^+-A-R^4 Cl^-$, где $R^1, R^2 = Me, Me; Me, Bu; R^3 = H, Dodec^1, PhCH_2, HOCH_2CH_2, OOCCH_2; R^4 = Dodec, PhCH_2; A = (CH_2CH_2O)_{0-2}, CH_2COO$. Исследованные соединения, представленные на схеме 1, являются структурными аналогами трёх широко используемых в практике четвертичных аммониевых соединений: *N*-бензил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорида **1a**, *N*-2-гидроксиэтил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорида **2a** и *N*-додецил-*N,N*-диметиламмониацетата **3a**, молекулы которых были модифицированы путём введения $-CH_2CH_2O-$ и $-CH_2CH_2OCH_2CH_2O-$ и $-CH_2COO-$ фрагментов между атомом азота и додецильным или бензильным заместителями.

¹ Dodec = C₁₂H₂₅

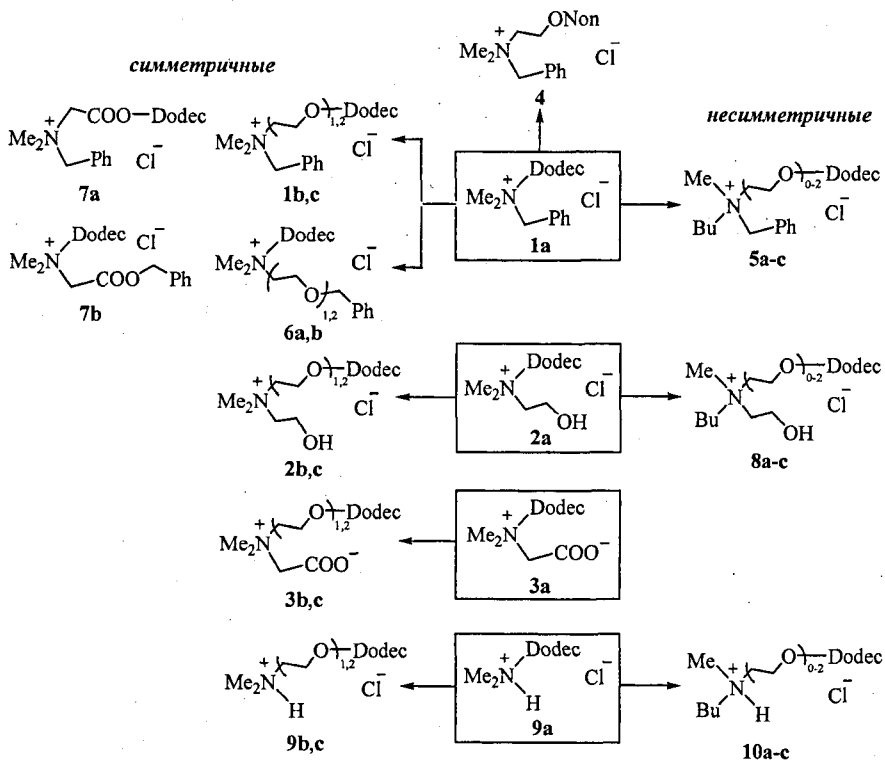


Схема 1

1. Синтез несимметричных вторичных *N*-алкил-*N*-метиламинов.

Среди многочисленных методов получения вторичных аминов основными являются прямое NH-алкилирование и восстановительное алкилирование первичных аминов. Однако эти реакции очень часто (особенно в случае стерически незатрудненных аминов) приводят к смеси вторичных и третичных аминов, а иногда и четвертичных аммониевых солей, разделение которых создает определенные трудности и снижает выход целевого продукта.

Избежать образования третичных аминов в реакции NH-алкилирования позволяет использование защитных групп, в качестве которых были использованы замещенные фосфорильные группы. Этот путь (схема 2) представляет собой последовательное превращение первичных алкиламинов в *N*-алкиламида кислот

пятивалентного фосфора (стадия 1), их последующее NH-алкилирование (стадия 2), а затем расщепление вторичных *N,N*-диалкиламинов в кислой среде с образованием гидрохлоридов и далее несимметричных вторичных аминов (стадия 3).

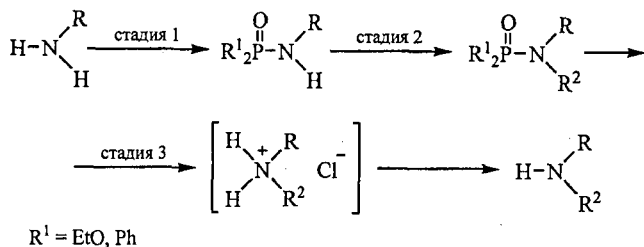


Схема 2

Попытка использовать описанную в таких синтезах диэтоксифосфорильную $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})$ -защитную группу (А. Звезжак, Дж. Брыликовска-Пиотрович, 1977 г) оказалась неудачной. На стадии 2 (схема 3) в ходе реакции NH-алкилирования *N*-метиламида диэтилфосфорной кислоты **11** бутилбромидом в межфазных условиях как в присутствии водной щёлочи, так и смеси безводных NaOH и K_2CO_3 наряду с образованием вторичного амида **12** (выход 16 и 47%, соответственно, δ_r 10.6 м.д.) происходит расщепление Et-O связи исходного амида **11**, приводящее к монанатриевой соли **13** (83%, δ_r 10.9 м.д.). В безводной щелочной системе соль **13** в результате O-алкилирования превращается в *N*-метиламид *O*-бутил-*O*-этилфосфорной кислоты **14** (δ_r 10.4 м.д.) с выходом 48%.

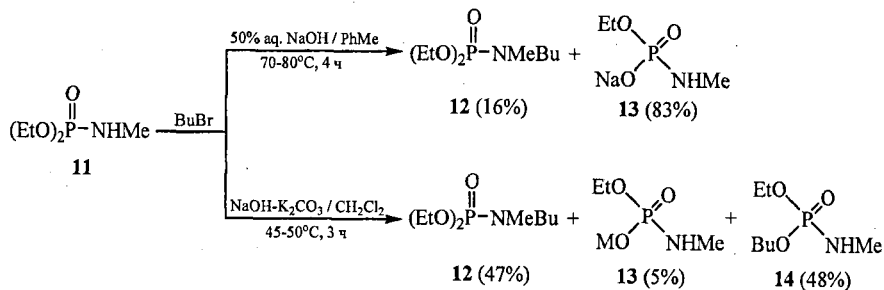
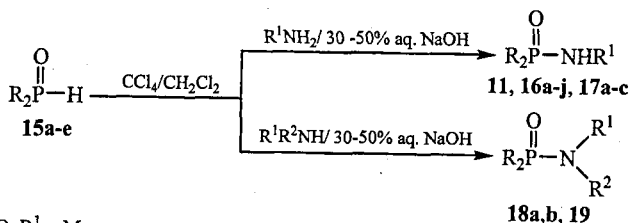


Схема 3

Избежать побочных реакций позволяет использование дифенилфосфорильной группы $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})$ -, которая не имеет лабильных связей. Кроме того, она может быть легко введена в молекулу первичного амина на стадии 1 (схема 2), её высокий акцидифицирующий эффект, превосходящий таковой диэтоксифосфорильной группы,


позволяет легко алкилировать первичные амиды на стадии 2, а высокая лабильность P-N связи амидов кислот пятивалентного фосфора $R_2P(O)NR^1R^2$ ($R = \text{Alk}, \text{Ar}$, R^1 и $R^2 = \text{Alk}, \text{Ar}$) в кислой среде обуславливает количественное расщепление вторичных амидов на стадии 3 с образованием гидрохлоридов и далее несимметричных вторичных аминов.

Фосфорилирование первичных аминов на стадии 1 схемы 2 было осуществлено по методу Годда-Атертона в межфазной системе в присутствии водной щёлочи без использования катализатора межфазного переноса, роль которого успешно выполняют исходные и конечные фосфорилсодержащие соединения благодаря их способности к комплексообразованию с катионами щелочных металлов (схема 4).



11: R = EtO, R¹ = Me;

15: R = EtO (a), Ph (b), *p*-MeC₆H₄ (c), *p*-ClC₆H₄ (d), Bu (e);

16: R = Ph, R¹ = H (a), Me (b), Et (c), Bu (d), Oct (e), Dodec (f),
HOCH₂CH₂ (g), HOCH₂CH₂CH₂ (h), MeOCH₂CH₂ (i),  N(CH₂)₃ (j);

17: R, R¹ = *p*-MeC₆H₄, Me (a); *p*-ClC₆H₄, Me (b); Bu, Me (c);

18: R, R¹, R² = Ph, Me, Me (a); Ph, Me, HOCH₂CH₂ (b);

19: R, R¹, R² = Bu, Me, Me

Схема 4

В качестве фосфорилирующего агента в межфазном варианте реакции Годда-Атертона впервые использованы дифенил², ди(*p*-толил)-, ди(*p*-хлорфенил)- и дибутилфосфинистая кислоты **15a-e** (схема 4), а кроме того, реакция в двухфазной системе впервые была успешно проведена с водными растворами аммиака, MeNH₂ и Me₂NH, наряду с традиционно используемыми первичными аминами в жидком или твердом состоянии и в виде их гидрохлоридов. Кроме первичных амидов **11**, **16a-j**, **17a-c** (табл. 1) в аналогичных условиях синтезированы вторичные амиды дифенил- и дибутилфосфиновой кислот **18a,b** и **19** (табл. 1), использованные в дальнейшем в качестве модельных соединений.

² Дифенилфосфинистая кислота была впервые получена гидролизом коммерчески доступного дифенилхлорфосфина в двухфазной системе бензол – водный поташ с количественным выходом (см. список публикаций, статья 2).

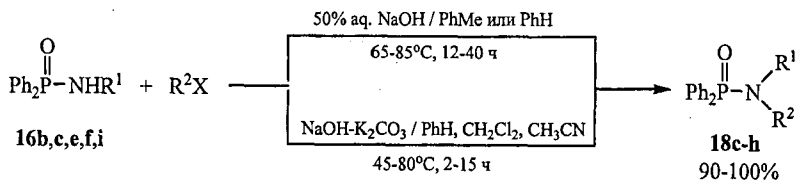
Таблица 1. Выходы и константы моно- и ди-алкиламинов кислот фосфора (V) $R_2P(O)NHR^1$ **11, 16, 17** и $R_2P(O)NR^1R^2$ **18, 19** (схема 4)

Соединение	Выход ^a , %	Т. пл., °С (растворитель)
11	86	137-138(23) ^b
16a	80	164-165 (PhH-МЭК)
16b	88	118-119 (C ₆ H ₁₄ -PhH)
16c	88	110-111.5 (C ₆ H ₁₄ -PhH)
16d	84	89-91 (C ₆ H ₁₄ -PhH)
16e	97	70-71 (EtOAc)
16f	94	83.5-87.5 (EtOAc)
16g	77	96.5-97.5 (EtOAc)
16h	90	124-125 (EtOAc-MeOH)
16i	93	82-83 (EtOAc)
16j	94	101-102 (EtOAc)
17a	95	71-72 (C ₆ H ₁₄ -PhH)
17b	90	130-133 (PhH-MeOH)
17c	80	масло ^c
18a	80	103-105 (C ₆ H ₁₄ -PhH)
18b	44	108.5-109.5 (C ₆ H ₁₄ -EtOAc)
19	60	масло ^c

^a Указан выход аналитически чистых продуктов,

^b Температура кипения, °С (р, Торр). ^c Очищено методом колоночной хроматографии (силикагель, CHCl₃-MeOH)

2-4 ч). Использование бензола и хлористого метилена требует увеличения температуры и длительности перемешивания реакционной смеси, соответственно.



18: R¹, R² = Me, Bu (c); Dodec, Me (d); CH₂CH₂OMe, Me (e); Et, Me (f); Et, Pr (g); Oct, Me (h);

X = Cl, Br, I

Схема 5

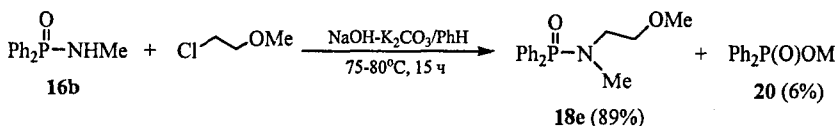
На стадии 2 схемы 2 реакцией NH-алкилирования первичных N-алкиламинов дифенилфосфиновой кислоты **16b, c, e, f, i** в межфазных условиях в присутствии водной щёлочи или смеси сухих NaOH и K₂CO₃ без использования катализатора МФП получены вторичные амиды дифенилфосфиновой кислоты **18c-h** (схема 5, табл. 2). Взаимодействие N-алкиламинов дифенилфосфиновой кислоты **16** с алкилбромидами или йодидами в присутствии смеси порошкообразных NaOH и K₂CO₃ протекает значительно быстрее, чем в системе с 50%-ной водной щелочью. Наилучшим растворителем для проведения реакции в безводной щелочной системе оказался ацетонитрил (40-45°C,

Таблица 2. Выходы и константы *N,N*-диалкилами́дов дифенилфосфиновой кислоты $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ **18c-h** (схема 5)

Соединение	Выход ^a , (%)	Т.пл., °С (растворитель)
18c	94	масло ^b
18d	77	масло ^b
18e	70	72-73 (EtOAc)
18f	57	82-83 (C ₆ H ₁₄ -EtOAc)
18g	88	масло ^b
18h	90	масло ^b

^a Указан выход аналитически чистых продуктов. ^b Очищено методом колоночной хроматографии (силикагель, CHCl_3 -MeOH).

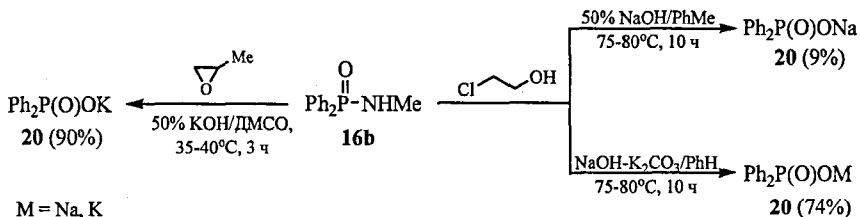
При взаимодействии первичного *N*-метиламида **16b** с менее реакционноспособным 2-метоксиэтилхлоридом в безводной системе (бензол, 75-80°C, 15 ч) наряду с вторичным амидом **18e** (89%) образуется соль дифенилфосфиновой кислоты³ **20** (6%) в результате расщепления P-N связи (схема 6).



M = Na, K

Схема 6

Продукт **20** оказался единственным при попытке получить 2-гидроксильные вторичные амиды дифенилфосфиновой кислоты реакцией *N*-метиламида **16b** с окисью пропилена или этиленхлоргидрином в межфазных условиях в присутствии как 50%-ной щёлочи, так и смеси безводных NaOH-K₂CO₃ (схема 7).

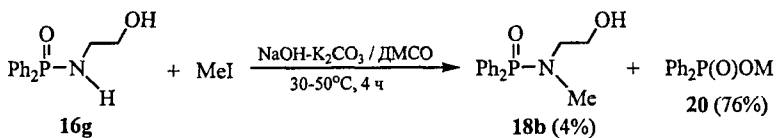


M = Na, K

Схема 7

Расщепление P-N связи наблюдается и в реакции NH-алкилирования *N*-(2-гидроксиэтил)амида **16g** метилйодидом в безводной щелочной системе в ДМСО (схема 8). Реакционная смесь содержит 76% соли дифенилфосфиновой кислоты **20** и

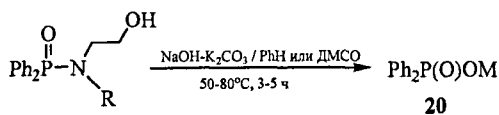
³ После стандартной водной обработки реакционной смеси с последующим подкислением соль **20** превращается в нерастворимую в воде дифенилфосфиновую кислоту $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{OH}$.



M = Na, K

Схема 8

только 4% вторичного амида **18b**. Кроме того, и первичный, и вторичный 2-гидроксиалкильные амиды **16g** и **18b** в отсутствие алкилирующего агента в реакционных условиях количественно расщепляются в безводной системе (в ДМСО или бензоле) с образованием соли **20** (схема 9).

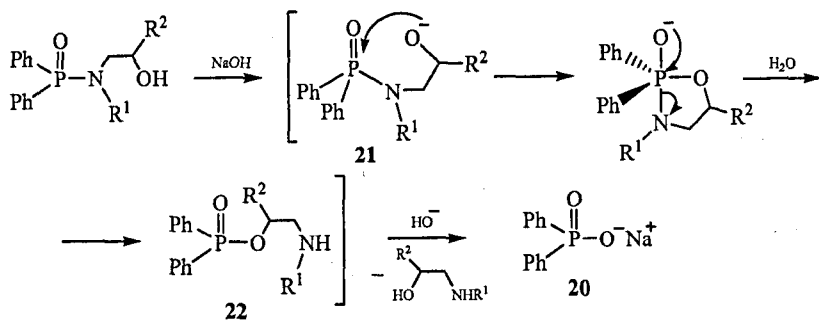


R = H, Me; M = Na, K

Схема 9

Такая высокая лабильность P-N связи в сильноосновной среде характерна только для амидов с 2-гидроксиэтильной группой при атоме азота. По-видимому, образование в щелочных условиях этоксильного аниона **21** (схема 10)

и его последующая внутримолекулярная атака по атому фосфора приводит к разрыву P-N связи и превращению интермедиата **21** в соответствующий дифенилфосфинат **22**, эфирная связь которого легко расщепляется в щелочных условиях. Замена гидроксильной группы метоксильной приводит к увеличению стабильности P-N связи в щелочной среде как первичного, так и вторичного амида: они устойчивы в процессе их синтеза и алкилирования (см. схемы 5 и 6, соответственно).



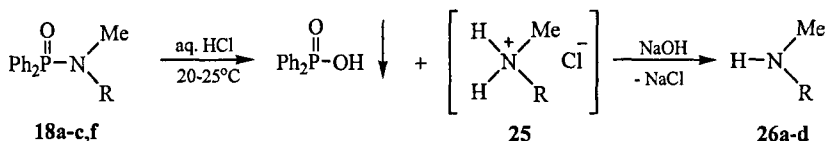
R¹, R² = H, Me

Схема 10

отражается соответствующими константами σ_p , наблюдается повышение устойчивости P-N связи.

Таким образом, электронные факторы, способствующие увеличению NH-кислотности, приводят к снижению устойчивости P-N связи. Если реакция NH-алкилирования протекает быстро, побочное расщепление P-N связи не сказывается на результате процесса. В случае инертных алкилирующих агентов расщепление P-N связи становится преобладающим.

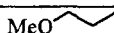
Для удаления защитной дифенилфосфорильной группы (стадия 3 на схеме 2) был разработан удобный метод разложения амидов с использованием соляной кислоты вместо описанного в литературе (А. Звезжак, Дж. Брыликовска-Пиотрович, 1977 г) раствора хлористого водорода в ТГФ (схема 12).



26: R = MeOCH₂CH₂ (a); Bu (b); Oct (c); Dodec (d)

Схема 12

Таблица 4. Выходы и константы несимметричных N-алкил-N-метиламинов Me(R)NH 25a-d (схема 3).

Соединение	R	Выход ^a , %	Т. кип., °C (p, Торр)
26a	MeO 	63	97-98 ^b
26b	Bu	78	91-92 ^b
26c	Oct	75	70-71(13)
26d	Dodec	80	85-87(13)

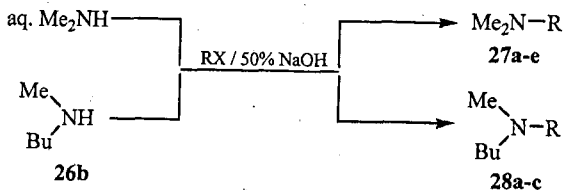
^a Указан выход аналитически чистых продуктов. ^b Атмосферное давление.

Образующаяся в результате гидролиза нерастворимая в воде дифенилфосфиновая кислота легко отделяется от водного раствора гидрохлоридов 25, которые после щелочной обработки превращаются в несимметричные N-алкил-N-метиламины 26a-d с выходом 60-70% в расчете на исходный первичный амин (три стадии на схеме 2, табл. 4).

2. Синтез третичных аминов.

NH-Алкилирование вторичных диметил- и N-бутил-N-метиламина.

Для получения симметричных и несимметричных функциональнозамещенных третичных аминов 27, 28 разработан метод NH-алкилирования вторичных аминов в гетерогенной системе органическая фаза - водная фаза (схема 13, табл. 5).



27: R = Dodec (a), Ph-CH₂-CH₂- (b), NonO-CH₂-CH₂- (c), DodecO-CH₂-CH₂- (d), Dodec-(O-CH₂-CH₂)₂ (e);
 28: R = Dodec (a), DodecO-CH₂-CH₂- (b), Dodec-(O-CH₂-CH₂)₂ (c)

Схема 13

Межфазное NH-алкилирование диметиламина было проведено в присутствии 50%-ной водной щёлочи вместо обычно используемого избытка исходного амина, что позволило значительно увеличить выход третичных аминов. В этой системе осуществлено алкилирование диметиламина додецилбромидом в бензоле (20-25°C, 20 ч), а бензилхлоридом (20-25°C, 5 ч) и ω-алкоксиэтилхлоридами (110-115°C, 15 ч,

Таблица 5. Выходы и константы третичных аминов Me(R)NR¹ 27, 28 (схема 11).

Соединение	R	R ¹ X	Выход ^a , %	Т. кип., °C (p, Торр)
27a	Me	DodecBr	84	129-130 (6)
27b		Ph-CH ₂ -Cl	88	90-91 (15)
27c		NonO-CH ₂ -Cl	81	125-126 (6)
27d		DodecO-CH ₂ -Cl	87	158-160 (10)
27e		Dodec-(O-CH ₂ -CH ₂) ₂ -Cl	87	203-205 (10) ^a
28a	Bu	DodecBr	80	170-171 (10)
28b		DodecO-CH ₂ -Cl	70	195-196 (8) ^a
28c		Dodec-(O-CH ₂ -CH ₂) ₂ -Cl	65	225-226 (9) ^a

^a Указан выход аналитически чистых продуктов.

^b Соединение охарактеризовано в виде гидрохлорида.

(90-95°C, 30-45 ч) синтезированы несимметричные третичные амины 28a-c (табл.7). Соединения 28b,c получены в присутствии 10% мол. йодида калия.

запаянная ампула) в отсутствии растворителя.

Содержание третичных аминов в реакционной смеси составляет по данным спектров ЯМР ¹H 93 - 100%.

В аналогичных условиях реакцией NH-алкилирования несимметричного вторичного N-бутил-N-метиламина додецилбромидом (90-95°C, 10 ч) и ω-алкоксиэтилхлоридами

3. Синтез третичных и четвертичных аммониевых соединений.

Синтез четвертичных аммониевых производных 1-8 был осуществлён реакцией алкилирования третичных аминов алкилхлоридами (схема 14, расшифровку R и R¹ см. в табл. 6).

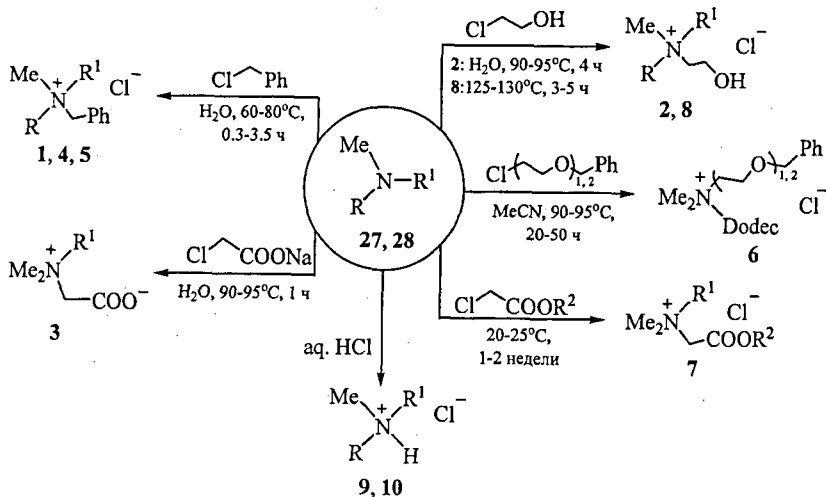


Схема 14

Аммониевые соединения 1-5 получены взаимодействием симметричных и несимметричных третичных аминов 27а,с-е и 28а-с (см. схему 13) с бензилхлоридом, этиленхлоргидрином и монохлорацетатом натрия в двухфазной системе с использованием воды в качестве растворителя (схема 14, табл. 6), что позволило значительно сократить время реакции.

Симметричные бензилоксиалкильные производные 6а,б синтезированы взаимодействием третичного амина 27а с 2-бензилокси- и 2-(2-бензилоксиэтокси)этилхлоридами в абсолютном ацетонитриле, а несимметричные 2-гидроксиэтильные аммоний хлориды 8а-с путём нагревания третичных аминов 28а-с в избытке этиленхлоргидрина (табл. 6).

Додeciлокси- и бензилоксикарбонилметильные производные четвертичных аммониевых соединений 7а,б получены выдерживанием смеси исходных реагентов при комнатной температуре в течение 1-2 недель (табл. 6).

Третичные аммониевые соединения симметричного и несимметричного строения 9а-с и 10а-с получены взаимодействием *N*-алкил-*N,N*-диметил- и *N*-алкил-*N*-бутил-*N*-метиламинов 27а,д,е и 28а-с с концентрированной соляной кислотой в этаноле (табл. 6).

4. Методы синтеза некоторых практически важных четвертичных аммониевых соединений.

Разработанные методы NH-алкилирования вторичных аминов, а также N-алкилирования третичных аминов послужили основой для создания технологичных способов получения трёх практически важных четвертичных аммониевых продуктов 30-32 (схема 15), широко используемых в настоящее время в качестве компонентов препаратов с бактерицидными и поверхностно-активными свойствами. Этот метод представляет собой последовательное алкилирование сначала диметиламина смесью алкилхлоридов ($\text{Alk} = \text{C}_{12}-\text{C}_{14}$), а затем образующихся третичных N-алкил-N,N-диметиламинов 29 соответственно бензилхлоридом, этиленхлоргидрином и монохлорацетатом натрия (схема 15). Количественный выход на каждой стадии и высокая чистота образующихся продуктов позволяет проводить процесс без их выделения. Синтез как промежуточного, так и конечных продуктов осуществляется в гетерогенной системе органическая фаза – водная фаза без использования органических растворителей, что удовлетворяет принципам так называемой «зелёной химии» («green chemistry» или «environmentally friendly chemistry»).

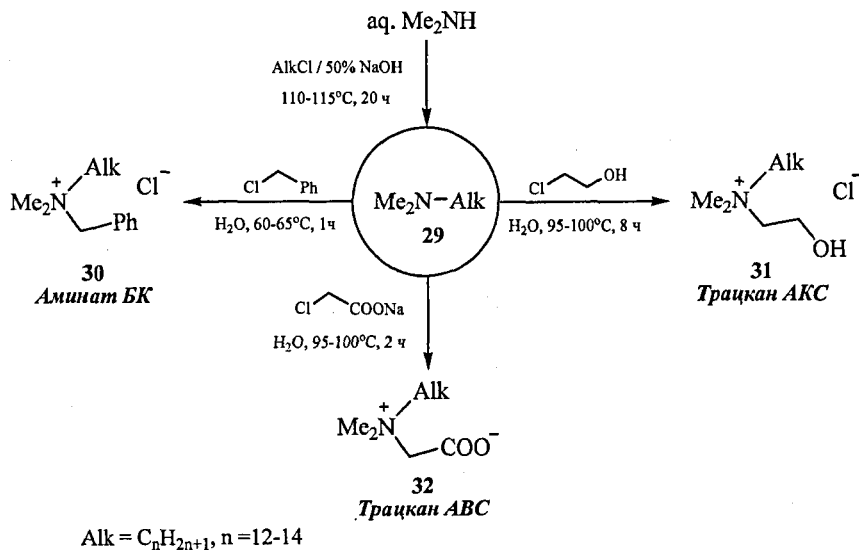


Схема 15

Разработанный способ синтеза соединений 30-32 был положен в основу технологии получения этих продуктов, которая в настоящее время используется для их производства на промышленной площадке ЗАО «ЭКОС-1» в Кузавне.

5. Бактерицидная активность третичных и четвертичных аммониевых соединений.

Противомикробная активность полученных соединений по отношению к наиболее устойчивым к действию дезинфицирующих средств грамположительным и грамотрицательным бактериям: *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa* была исследована⁴ по общепринятому методу обеззараживания батистовых тест-объектов. В таблицах 7 - 9 приведены значения концентрации водных растворов протестированных третичных и четвертичных аммониевых производных, а также время их контакта с исследованными культурами бактерий, при которых появляется противомикробный эффект.

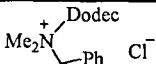
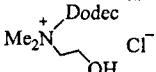
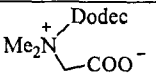
Известно, что уровень активности соединений определяется видовой чувствительностью микроорганизмов (П.А. Ламберт, 2002 г; П. Гилберт, Л.Е. Мур, 2005 г). В условиях использованного метода тестирования бактерицидный эффект синтезированных аммониевых соединений по отношению к *E. coli* и *P. aeruginosa* проявляется при концентрациях минимум в два и пять раз больших, чем по отношению *S. aureus*, соответственно.

Для сравнительной оценки противомикробных свойств синтезированных третичных и четвертичных аммоний хлоридов в качестве эталона был использован *N*-бензил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорид **1a** (бензалконий хлорид) – наиболее эффективный по отношению к выбранному ряду микроорганизмов компонент известного дезинфицирующего средства Катамин АБ.

Прежде всего была определена бактерицидная активность трёх широко используемых в практике четвертичных аммониевых соединений: *N*-бензил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорида **1a**, *N*-2-гидроксиэтил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорида **2a** и *N*-додецил-*N,N*-диметиламмониацетата **3a** (схема 1, табл. 7), бактерицидное действие которых не удалось сравнить между собой по литературным данным из-за различных условий его определения. Наибольшую активность по отношению к *S. aureus* проявляет *N*-бензильный аммоний хлорид **1a**. Его бактерицидный эффект проявляется при концентрации в 10 раз меньшей, чем у *N*-2-гидроксиэтильного аммоний хлорида **2a** и бетаина **3a**. По отношению к *E. coli* соединения **1a** и **2a** обладают одинаковой активностью, тогда как по отношению к *P. aeruginosa* бактерицидный эффект соединения **2a** достигается в 3 раза быстрее

⁴ Исследование бактерицидных свойств синтезированных соединений проведено кандидатом биологических наук Т.А. Чердынцевой в МГУ им. М.В. Ломоносова в совместной с нами работе.

Таблица 7. Бактерицидная активность четвертичных аммониевых соединений **1a**, **2a**, **3a**

Соединение	Формула	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		Концентрация, %	Время контакта, мин	Концентрация, %	Время контакта, мин	Концентрация, %	Время контакта, мин
1a		0.025	5	0.050	10	0.125	15
2a		0.250	5	0.050	10	0.125	5
3a		0.250	15	0.050	30	0.250	>30

такового эталона **1a**. Соединение бетайновой структуры **3a** обладает значительно более слабой активностью по сравнению с аналогами **1a** и **2a**.

В табл. 8 приведены результаты исследования бактерицидной активности синтезированных четвертичных аммоний хлоридов - структурных аналогов соединений **1a**, **2a** и **3a**, молекулы которых были модифицированы путём введения функциональнозамещённых фрагментов между атомом азота и додецильным или бензильным заместителями (схема 1).

Структурный ряд N-бензил-N-додецил-N,N-диметиламмоний хлорида 1a (соединения **1a-c**, **4** и **5a-c**, табл. 8). Введение этиленгликолевого фрагмента $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ между атомом азота и алкильным заместителем в молекуле эталона **1a** приводит к увеличению активности (соединения **1b**), а в случае использования $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{CH}_2\text{COO}-$ фрагментов, наоборот, к её ослаблению (соединения **1c** и **7a**). Аммоний хлорид **1b**, содержащий этиленгликолевый фрагмент между атомом азота и додецильным заместителем, по отношению к *S. aureus* и *P. aeruginosa* проявляет бактерицидный эффект на уровне эталона **1a** и превосходит его в случае *E. coli*. Активность соединения **1c** с диэтиленгликолевым фрагментом соответствует уровню таковой его аналога **1b** и эталона **1a** только по отношению к *S. aureus*, тогда как в тестах с *E. coli* и *P. aeruginosa* она оказалась самой низкой в этом ряду соединений, также как и у аммоний хлорида **7a** с додецилоксикарбонилметильным заместителем при атоме азота.

При переходе от соединений симметричной структуры к несимметричным **1a,b** → **5a,b** уровень активности последних по отношению к *S. aureus* и *P. aeruginosa*, не меняется, соединения **5a,b** проявляют одинаковый с эталоном **1a** противомикробный

Таблица 8. Бактерицидная активность четвертичных аммониевых соединений 1-8

Соединение	Формула	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		Концентратия, %	Время контакта, мин	Концентратия, %	Время контакта, мин	Концентратия, %	Время контакта, мин
1a	R = Me n = 0	0.025	5	0.050	10	0.125	15
1b	R = Me n = 1	0.025	5	0.025	10	0.125	15
1c	R = Me n = 2	0.025	5	0.050	15	0.250	5
5a	R = Bu n = 0	0.025	5	0.050	5	0.125	15
5b	R = Bu n = 1	0.025	5	0.050	15	0.125	15
5c	R = Bu n = 2	0.025	5	0.050	15	0.125	15
7a		0.025	15	0.050	10	0.250	5
4		0.025	10	0.025	5	0.125	5
6a	n = 1	0.025	5	0.025	5	0.125	5
6b	n = 2	0.025	5	0.025	30	0.125	10
7b		0.025	5	0.025	5	0.125	30
2a	R = Me n = 0	0.250	5	0.050	10	0.125	5
2b	R = Me n = 1	0.025	5	0.050	15	0.125	15
2c	R = Me n = 2	0.025	5	0.050	15	0.250	5
8a	R = Bu n = 0	0.025	5	0.050	15	0.125	15
8b	R = Bu n = 1	0.025	5	0.050	30	0.125	5
8c	R = Bu n = 2	0.025	5	0.050	30	0.125	10
3a	n = 0	0.250	15	0.050	30	0.250	>30
3b	n = 1	0.250	10	0.050	15	0.250	>30
3c	n = 2	0.250	>30	0.100	30	0.250	>30

эффект. И только в тестах с *P. aeruginosa* в паре соединений с диэтиленгликолевым фрагментом **1с** и **5с** несимметричный аммоний хлорид **5с** более активен. По отношению к *E. coli* наиболее активный в этом ряду несимметричный аммоний хлорид **5а** более эффективен, чем его симметричный аналог **1а**, а в паре соединений **1б** и **5б**, содержащих этиленгликолевый фрагмент, переход к несимметричной структуре сопровождается ослаблением бактерицидного эффекта.

Сопоставление пар изомерных *N*-бензил- и *N*-додецилзамещённых аммоний хлоридов **1б** и **6а**, **1с** и **6б**, **7а** и **7б** показало, что *N*-додецильные изомеры более активны, чем *N*-бензилные и эталон **1а**. Среди них особо следует отметить аммоний хлорид **6а**, который проявляет бактерицидный эффект по отношению к *E. coli* и *P. aeruginosa* в 2 раза быстрее эталона **1а** и при более низкой концентрации, а в случае *S. aureus* не уступает эталону.

Нонилоксиэтильное производное **4**, полученное путём замены третьего метиленового звена в додецильном заместителе молекулы эталона атомом кислорода, в случае бактерий *E. coli* и *P. aeruginosa* по уровню активности превосходит не только эталон **1а**, но и все соединения этого ряда. И лишь по отношению к бактериям *S. aureus* оно проявляет более слабый бактерицидный эффект, чем эталон **1а** и его аналоги **1б,с** одним и двумя этиленгликолевыми звеньями, обладающие одинаковой активностью. Соединение **4**, как и аммоний хлорид **1а**, является самым активным среди всех исследованных соединений.

Структурный ряд *N*-(2-гидроксиэтил)-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлорида **2а** (соединения **2а-с** и **8а-с**, табл. 8). В ряду структурных аналогов 2-гидроксиэтильного аммоний хлорида **2а** симметричного строения введение фрагментов этилен- или диэтиленгликоля между атомом азота и додецильным заместителем **2а** → **2б,с** приводит к резкому увеличению активности соединений по отношению к *S. aureus*: бактерицидная концентрация аммоний хлоридов **2б,с** на порядок меньше, чем хлорида **2а**. При этом аммоний хлориды **2б,с** проявляют одинаковую активность с эталоном **1а**. По отношению к бактериям *E. coli* и *P. aeruginosa* удаление додецильной группы от атома азота сопровождается снижением уровня активности.

Замена одного *N*-метиленового радикала бутильным в молекуле симметричного 2-гидроксиэтильного аммоний хлорида **2а** также сопровождается десятикратным увеличением уровня активности несимметричного соединения **8а** по отношению к бактериям *S. aureus*.

Активность аналогичных по строению симметричных **2b,c** и несимметричных **8b,c** аммоний хлоридов, содержащих этилен- и диэтиленгликолевый фрагмент, по отношению к бактериям *S. aureus* одинакова и находится на уровне таковой эталона **1a**. По отношению к *E. coli* несимметричные соединения **8b,c** уступают симметричным аналогам по времени контакта, тогда как в тестах с бактериями *P. aeruginosa* аммоний хлориды **8b,c** по активности превосходят симметричные аналоги.

Необходимо отметить, что и в этой группе аммоний хлоридов наиболее активными являются соединения, содержащие этиленгликолевый фрагмент между атомом азота и додецильным заместителем.

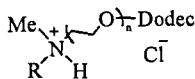
Существенное усиление бактерицидной активности наблюдается при замене НО-группы в 2-гидроксиэтильном заместителе при атоме азота соединения **2a** бензилоксигруппой (соединение **6a**). Такой переход **2a** → **6a** сопровождается снижением бактерицидной концентрации в 10 раз по отношению к бактериям *S. aureus*, активность соединения достигает уровня эталонной, а в тестах с бактериями *E. coli* наблюдается двукратное снижение концентрации и времени контакта. Как уже было отмечено, бензилоксиэтильное производное **6a** оказалось наиболее эффективным по отношению к бактериям *E. coli* и *P. aeruginosa* среди изученных соединений.

Структурный ряд N-додецил-N,N-диметиламмониацетата 3a (соединения **3a-c**, табл. 8). Бетаины **3a-c** являются наименее активными среди изученных соединений: они проявляют слабый бактерицидный эффект по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, и не активны по отношению к *P. aeruginosa*. Однако и в этом ряду ЧАС введение этиленгликолевого фрагмента между атомом азота и алкильным заместителем в молекуле бетаина **3a** сопровождается увеличением активности (соединение **3b**).

Третичные аммониевые соединения (гидрохлориды третичных аминов) (табл. 9). Симметричные третичные аммоний хлориды **9b,c** с этилен- и диэтиленгликолевым фрагментом между атомом азота и додецильным радикалом по отношению к *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa* активнее, чем их N-додецильный аналог **9a**. При переходе к несимметричным соединениям **10a-c** наблюдается сохранение или небольшое усиление бактерицидного эффекта. Лишь в тестах с *E. coli* несимметричные гидрохлориды **10b,c** уступают симметричным аналогам **9b,c**.

Сравнение 24 пар аналогичных по структуре симметричных и несимметричных гидрохлоридов **9a-c**, **10a-c** (табл. 9) и четвертичных аммониевых соединений, содержащих вместо атома водорода бензильный **1a-c**, **5a-c** и гидроксиэтильный **2a-c**, **8a-c**

Таблица 9. Бактерицидная активность гидрохлоридов третичных аминов 9, 10



Соединение	R	n	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
			Концентрация, %	Время контакта, мин	Концентрация, %	Время контакта, мин	Концентрация, %	Время контакта, мин
9a	Me	0	0.100	30	0.050	30	0.250	>30
9b	Me	1	0.100	5	0.050	5	0.125	15
9c	Me	2	0.100	5	0.050	10	0.125	15
10a	Bu	0	0.100	30	0.050	5	0.125	10
10b	Bu	1	0.250	>30	0.100	15	0.125	10
10c	Bu	2	0.100	5	0.100	30	0.125	15

радикалы (табл. 8), показало, что по отношению к *E. coli* в трети случаев активность гидрохлоридов соответствует или превышает таковую четвертичных аммониевых соединений. А по

отношению к наиболее устойчивым бактериям *P. aeruginosa* - в более половины случаев.

Выводы

1. С целью исследования влияния строения ациклических четвертичных аммониевых соединений на их противомикробную активность, а также поиска новых веществ, обладающих бактерицидными свойствами, синтезирован ряд третичных и четвертичных аммоний хлоридов симметричного и несимметричного строения общей формулы $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}^+\text{-A-R}^4 \text{Cl}^-$, где $\text{R}^1, \text{R}^2 = \text{Me, Me; Me, Bu; R}^3 = \text{H, Dodec, PhCH}_2, \text{HOCH}_2\text{CH}_2, \text{OOCCH}_2$; $\text{R}^4 = \text{Dodec, PhCH}_2$; $\text{A} = (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{0-2}, \text{CH}_2\text{COO}$.

2. Разработаны удобные межфазные методы синтеза несимметричных вторичных аминов, а также симметричных и несимметричных третичных аминов в гетерогенной системе органическая фаза - водно-щелочная фаза, позволяющей использовать водные растворы щелочи и аминов, а также в системе органическая фаза - твёрдая фаза (смесь безводных $\text{NaOH-K}_2\text{CO}_3$):

- трёхстадийный метод получения несимметричных вторичных аминов с использованием защитной $\text{Ph}_2\text{P(O)}$ -группы, все стадии которого осуществляются в межфазных условиях в отсутствие катализатора межфазного переноса без выделения промежуточных продуктов; определены границы применимости этого способа на основе результатов изучения устойчивости первичных и вторичных амидов фосфиновых кислот в щелочных условиях реакции в зависимости от характера заместителей при атомах азота и фосфора; впервые показана высокая лабильность

P-N связи первичных и вторичных амидов дифенилфосфиновой кислоты с 2-гидроксиэтильной группой при атоме азота в щелочных условиях;

- метод межфазного NH-алкилирования вторичных аминов, позволяющий осуществлять синтез симметричных и несимметричных третичных аминов с высоким выходом в укрупнённом масштабе.

3. Исследование бактерицидных свойств синтезированных функционально-замещённых третичных и четвертичных аммониевых соединений по отношению к *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa* показало, что:

- по уровню активности они не уступают *N*-бензил-*N*-додецил-*N,N*-диметиламмоний хлориду (бензалконий хлориду) – наиболее эффективному компоненту известного дезинфицирующего средства Катамина АБ, а в некоторых случаях и превосходят его;

- соединения, содержащие при атоме азота заместитель $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{R}$ в большинстве случаев, являются наиболее активными по отношению ко всем изученным бактериям; самые эффективные аммоний хлориды $\text{Me}_2\text{N}^+(\text{Dodec})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph Cl}^-$ и $\text{Me}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{Ph})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{ONon Cl}^-$ по отношению к *E. coli* и *P. aeruginosa* по активности превосходят эталонный бензалконий хлорид;

- среди изомерных *N*-бензил- и *N*-додецильных аммоний хлоридов $\text{Me}_2(\text{R}^1)\text{N}^+-\text{A}-\text{R}^2 \text{ Cl}^-$, где $\text{R}^1, \text{R}^2 = \text{CH}_2\text{Ph}$, Dodec и Dodec, CH_2Ph ; $\text{A} = (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{1,2}$, CH_2COO , наибольшую активность проявляют *N*-додецильные изомеры, содержащие бензильный заместитель в функциональнозамещённой группе;

- третичные аммониевые соединения по уровню активности по отношению к *E. coli* и *P. aeruginosa* во многих случаях не только не уступают четвертичным аммоний хлоридам и эталонному бензалконий хлориду, но и превосходят их;

- третичные и четвертичные аммониевые соединения несимметричной структуры являются более активными по отношению к наиболее устойчивым бактериям *P. aeruginosa*, чем их симметричные аналоги.

4. Разработаны технологичные методы синтеза трёх четвертичных аммониевых продуктов с бактерицидными и поверхностно-активными свойствами общей формулы $\text{Me}_2\text{N}^+(\text{Alk})\text{R Cl}^-$ (где Alk = смесь C₁₂-C₁₄), которые были положены в основу технологии их производства:

Аминат БК (R = CH₂Ph) - дезинфицирующий компонент препаратов, предотвращающих биозагрязнение оборудования пищевых производств, а также систем открытого и закрытого водоснабжения химических предприятий;

Трацкан АКС ($R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) - эффективный антистатический агент в пухоперовом производстве, а также в технологии полиамидных и полиэфирных волокон и тканей;

Трацкан АВС ($R = \text{CH}_2\text{COO}^-$) - компонент моющих средств на предприятиях текстильной промышленности, прачечных и химчистках.

Разработанные технологии используются для производства указанных продуктов на промышленной площадке ЗАО «ЭКОС-1» в Купавне.

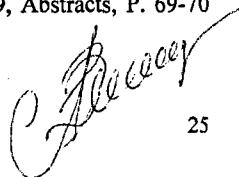
Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи:

1. А.В. Харламов, А.Г. Вендило, Н.А. Бондаренко. Расщепление связи Р-Н при межфазном алкилировании *N*-алкиламидами дифенилфосфиновой кислоты. *Известия РАН. Серия химическая*, 2006, С. 2210-2211 (0.12 п.л., авторский вклад 45%).
2. Н.А. Бондаренко, А.В. Харламов, А.Г. Вендило. Синтез несимметричных диалкиламинов на основе амидов дифенилфосфиновой кислоты. *Известия РАН. Серия химическая*, 2009, С. 1814-1832 (0.81 п.л., авторский вклад 45%).

Тезисы докладов:

1. A.V. Kharlamov, A.G. Vendilo, N.A. Bondarenko. Alkaline P-N bond phase transfer cleavage of some *N*-alkyl- and *N*-phenyldiphosphinic amides. XV International Conference on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICPCP-XV). Saint-Petersburg, Russia, 2008, Book of abstracts, P. 122 (0.06 п.л., авторский вклад не распределён).
2. A.V. Kharlamov, A.G. Vendilo, N.A. Bondarenko. Phase transfer alkylation of *N*-alkyldiethoxyphosphoric- and -diphenylphosphinic amides. XV International Conference on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICPCP-XV). Saint-Petersburg, Russia, 2008, Book of abstracts, P. 153 (0.06 п.л., авторский вклад не распределён).
3. A.V. Kharlamov, T.A. Cherdintseva, A.G. Vendilo, N.A. Bondarenko. Synthesis and bactericidal activity of some tertiary amines hydrochlorides and quaternary ammonium salts. Biologically Active Substances: fundamental and applied problems. Scientific Conference. Novy Svet, AR Crimea, Ukraine, 2009, Abstracts, P. 69-70 (0.06 п.л., авторский вклад не распределён).



Подп. к печ. 03.11.2011 Объем 1,5 п.л. Зак. № 127 Тир. 100 экз.
Типография МПГУ