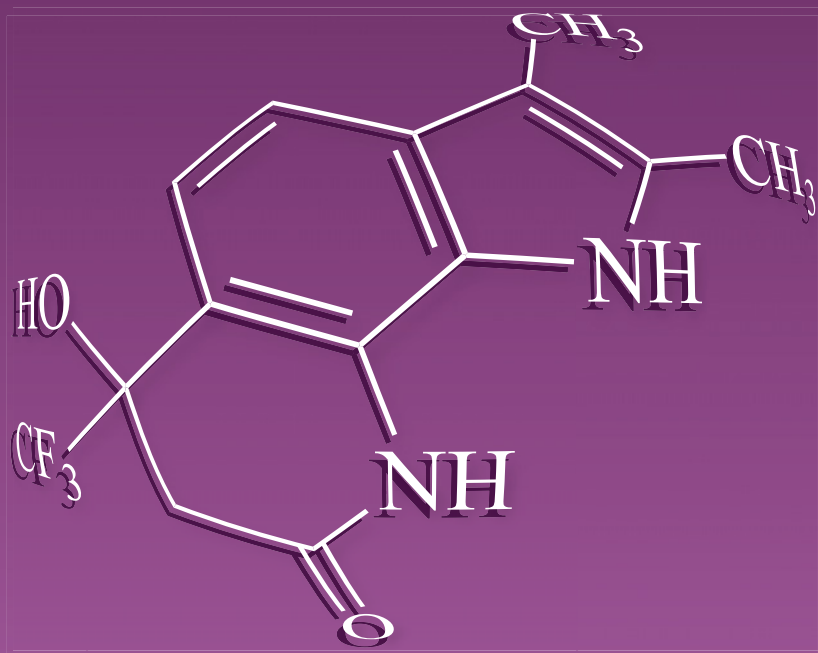


И. С. Степаненко, С. А. Ямашкин

АКТИВНЫЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ МОЛЕКУЛЫ



Лаборатория
ЗНАНИЙ

И. С. Степаненко, С. А. Ямашкин

АКТИВНЫЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ МОЛЕКУЛЫ



Москва
Лаборатория знаний

УДК 615
ББК 52.64
С79

Рецензенты:

С. М. Напалкова, доктор биологических наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Н. В. Пчелинцева, доктор химических наук, профессор кафедры органической и биоорганической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский университет им. Н. Г. Чернышевского»

Н. В. Зык, доктор химических наук, профессор, лаборатория Биологически активных органических соединений (БАОС) химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», заслуженный деятель науки Российской Федерации

Степаненко И. С.

С79 Активные противомикробные молекулы : монография / И. С. Степаненко, С. А. Ямашкин. — М. : Лаборатория знаний, 2023. — 286 с. : ил.

ISBN 978-5-93208-246-1

В монографии представлен обширный материал по химической структуре и микробиологическим свойствам основных противомикробных соединений — дезинфектантов, антисептиков, консервантов. Современные стратегии поиска противомикробных соединений и исследования их активности показаны на примере замещенных 1*H*-индоламинов.

Особое внимание уделено классификации, структуре и антибактериальному действию природных антибиотиков. Детально обсуждена актуальная проблема возникновения резистентности микроорганизмов во взаимосвязи с механизмом действия антибиотиков.

Монография рассчитана на исследователей в области микробиологии и фармакологии, преподавателей медицинских вузов, а также может быть полезна практическим врачам-инфекционистам, аспирантам и студентам, интересующимся противомикробными препаратами.

УДК 615
ББК 52.64

По вопросам приобретения обращаться:
«Лаборатория знаний»
Телефон: (499) 157-5272
e-mail: info@pilotLZ.ru, <http://www.pilotLZ.ru>

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений	3
Предисловие	5
Введение	7

Глава 1

Природные, химически модифицированные, синтетические противомикробные и противогрибковые препараты на основе различных классов соединений	9
--	---

1.1. Фенолы и их производные	11
1.2. Кислоты и их производные	21
1.3. Ароматические диамидины и бигуаниды	27
1.4. Поверхностно-активные вещества	33
1.5. Альдегиды и формальдегид-высвобождающие соединения	39
1.6. Антимикробные красители	46
1.7. Хиноны и их производные	49
1.8. Галогены и галогенсодержащие соединения	49
1.9. Производные хинолина и изохинолина	56
1.10. Спирты и их производные	57
1.11. Окислители и соединения, увеличивающие проницаемость	60
1.12. Аминопроизводные ди-, три-, тетрауксусных кислот	61
1.13. Пермеабилизирующие соединения	64
1.14. Производные тяжелых металлов	65
1.15. Анилиды	70
1.16. Прочие антимикробные и противогрибковые препараты	72

Глава 2

Поиск новых антимикробных соединений и методы оценки их свойств. Некоторые современные исследования	84
--	----

2.1. Новые соединения на основе замещенных 1 <i>H</i> -индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинов и прогнозирование их противомикробной активности	84
2.2. Противомикробное действие <i>N</i> -(индолил)ацетоацетиламидов и пирролохинолинов <i>in vitro</i>	87
2.3. Противомикробное действие <i>N</i> -(индолил)ацетоацетиламидов и пирролохинолинов <i>in vivo</i>	98
2.4. Зависимость биологической активности индолиламидов, енаминокетонов, пирролохинолинов от элементного состава и строения	99

2.5. Биологическая безопасность соединений на основе замещенных 1 <i>H</i> -индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	104
2.6. Определение типа противомикробного действия соединений на основе замещенных 1 <i>H</i> -индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинов	107
2.7. Новый метод определения типа противомикробного действия новых соединений с антимикробной активностью	108
2.8. Влияние на генетический аппарат микробной клетки соединений на основе замещенных 1 <i>H</i> -индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинов	113
 Глава 3	
Природные антибиотики	114
3.1. Классификация антибиотиков	114
3.2. Углеводсодержащие антибиотики	116
Производные моносахаров	117
Аминогликозиды, или аминоциклитолы	118
Прочие N- и C-глюкозиды	122
3.3. Макроциклические лактоны и лактамы	123
Макролидные антибиотики	124
Полиеновые антибиотики	124
Другие макроциклические лактоны	125
Антибиотики-макролактамы	125
3.4. Хиноны и хиноноподобные соединения	125
Линейные конденсированные полициклические соединения	126
Производные нафтохинонов	127
Производные бензохинона	127
3.5. Антибиотики производные аминокислот, пептиды и пептолиды	127
Антибиотики, содержащие аминокислотные и беталактамовые фрагменты	128
Антибиотики-гомопептиды	128
Гетеромерные пептиды	129
Антибиотики-пептолиды	129
Высокомолекулярные антибиотики	129
3.6. Азотсодержащие гетероциклические соединения	130
Моноядерные гетероциклические соединения	130
Конденсированные гетероциклические соединения	130
Антибиотики-алкалоиды	130
3.7. Кислородсодержащие гетероциклические антибиотики	131
Пятичленные кислородсодержащие гетероциклы	131
Шестичленные кислородсодержащие гетероциклы	131
Соединения, состоящие из нескольких O-гетероциклов	131
3.8. Алициклические антибиотики	132
Производные моноциклических соединений	132
Олиготерпены	132
3.9. Ароматические антибиотики	132
Производные бензола	133
Конденсированные ароматические соединения	134
Другие ароматические соединения	134

3.10. Алифатические антибиотики	135
Производные алканов	135
Производные алифатических карбоновых кислот	135
Алифатические соединения с гетероатомом	135
3.11. Холестериноподобные антибиотики	136

Глава 4

Механизм действия антимикробных средств и механизмы развития резистентности к ним

137

4.1. Механизмы действия антимикробных средств	137
Подавление синтеза клеточной стенки микроорганизмов	138
Подавление синтеза бактериальных белков	140
Подавление синтеза бактериальных нуклеиновых кислот	141
Нарушение функции цитоплазматической мембраны микроорганизмов	143
4.2. Механизмы развития резистентности к противомикробным препаратам	144
Формирование антибиотикорезистентности за счет модификации мишени действия	145
Формирование антибиотикорезистентности за счет инактивирующих ферментов микробной клетки	147
Формирование антибиотикорезистентности за счет нарушения проницаемости микробной клетки	153

Заключение

155

Приложение 1

Характеристика тест-штаммов исследованных микроорганизмов

159

Приложение 2

Чувствительность исследованных бактериальных штаммов к традиционным антибиотикам

176

Список литературы

243

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЕРА	— Агентство по защите окружающей среды США
IF	— фактор индукции
<i>MRSA</i>	— метициллинрезистентный <i>S. aureus</i>
<i>MRSE</i>	— метициллинрезистентный <i>S. epidermidis</i>
NaДХЦ	— дихлоризоцианурат натрия
<i>VRE</i>	— ванкомицинрезистентный энтерококк
АОАС	— Ассоциация официальных аналитических химиков
АПАВ	— анионные поверхностно-активные вещества
<i>ATCC</i>	— Американская коллекция типовых культур
БИТ	— 1,2-бензизотиазолин-3-он
БХДМГ	— <i>N</i> -бром- <i>N</i> -хлордиметилгидантоин
ВЖК	— высшие жирные кислоты
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВИЧ-1	— вирус иммунодефицита человека первого типа
ГДТК	— <i>N</i> -гидроксиэтилэтилендиамин- <i>N,N',N'</i> -триуксусная кислота
ДАУК	— дегидроацетоуксусная кислота
ДДМ	— диско-диффузионный метод
ДМГ	— диметилгидантоин
ДМСО	— диметилсульфоксид
ДМФА	— <i>N,N</i> -диметилформамид
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДХМК	— дихлор- <i>m</i> -ксилол
ДЦТК	— транс-1,2-диаминоциклогексан- <i>N,N,N',N'</i> -тетрауксусная кислота
ИДК	— иминодиуксусная кислота
ИК	— инфракрасная спектроскопия
ККМ	— критическая концентрация мицеллообразования
КОЕ	— колониеобразующая единица
КПАВ	— катионное поверхностно-активное вещество
ЛПС	— липополисахарид
МИК	— минимальная ингибирующая концентрация
МИТ	— 2-метил-4-изотиазолин-3-он
МПК	— минимальная подавляющая концентрация
МТТ	— 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2 <i>H</i> -тетразолий бромид
МХА	— Мюллер—Хинтон агар
МХБ	— Мюллер—Хинтон бульон

- НПАВ — неионогенное поверхностно-активное вещество
НТК — нитрилотриуксусная кислота
НТСФ — низкотемпературная паровая стерилизация с парами формальдегида
ОБПХФ — *o*-бензил-*n*-хлорфенол
ОФА — *o*-фталевый альдегид
ПАВ — поверхностно-активное вещество
ПГМБ — полигексаметилен бигуанид
ПЛЛ — поли-*L*-лизин
ПМС — промышленные метилированные спирты
ПХМК — *n*-хлор-*m*-ксилол
РНК — рибонуклеиновая кислота
TKID50 — тканевая культура в инфицирующей дозе 50%
УФ — ультрафиолетовая электронная спектроскопия
ФРА — ацетат фенилртути
ФРН — нитрат фенилртути
ФЭК — фотоэлектроколориметр
ХМИТ — хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он
ЧАС — четвертичное аммониевое соединение
ЭГФГ — *N, N'*-этиленбис[2-(2-гидроксифенил)-глицин]
ЭДИК — этилендиоксибис (этилиминоди(уксусная кислота))
ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота
ЯМР — ядерный магнитный резонанс

ПРЕДИСЛОВИЕ

Исследования по целенаправленному поиску новых соединений с эффективным противомикробным действием в настоящее время весьма актуальны. Необходимость поиска новых противомикробных соединений подтверждена в Российской Федерации на государственном уровне по Распоряжению Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «О Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г.».

В предлагаемой читателю монографии «Активные противомикробные молекулы» представлен материал по химической структуре и противомикробным свойствам известных на сегодняшний день природных, химически модифицированных и синтетических противомикробных соединений, многие из которых используются в качестве лекарственных препаратов, дезинфектантов и консервантов. Современные подходы к поиску, синтезу и испытаниям противомикробной активности проиллюстрированы на примере новой группы соединений с противомикробным действием анилидного типа на основе замещенных 1*H*-индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинов. Приведен обширный экспериментальный материал *in vitro* и *in vivo*, показывающий возможность создания новых эффективных антимикробных препаратов на основе этих соединений.

Проведен анализ зависимости биологической активности полученных новых соединений от их химической структуры. Новая группа включает соединения как с широким, так и с узким спектром антимикробного действия, и может занять свое место в резерве противомикробных средств.

Исследование базируется на одном из фундаментальных принципов преодоления резистентности микроорганизмов — поиске новых соединений с антимикробной активностью и, может быть, с иным механизмом действия.

Данная монография представляет интерес не только для исследователей в области медицинской микробиологии, но и для более широкого круга специалистов, имеющих отношение к вопросам химии, биологии, фармакологии. Монография принесет пользу научным сотрудникам, аспирантам и студентам, поскольку содержит много сведений о чувствительности микроорганизмов к традиционно приме-

няемым антимикробным препаратам, а также об этапах исследования противомикробной активности новых соединений.

Нумерация соединений в гл. 1–3 автономная.

Ввиду большого количества исследованных бактериальных штаммов для удобства восприятия в монографии используются их общепринятые сокращенные названия. В приложениях даны полные названия. Латинские названия грибов приведены без сокращений.

*Степаненко И. С.,
Ямашкин С. А.*

ВВЕДЕНИЕ

В 1969 г. У. Стюарт, который был в то время министром здравоохранения США, произнес перед Конгрессом США речь, в которой призвал не снижать темпы борьбы с инфекционными заболеваниями, в то время как в медицинском сообществе существовало мнение, что с открытием ряда антибиотиков «книга инфекционных заболеваний может быть закрыта». Эта фраза также приписывалась У. Стюарту, и он до сих пор подвергается критике за это оптимистичное заявление.

Эйфория 70-х г. XX столетия может быть нам вполне понятна. Были открыты и изучены почти все группы антимикробных средств. Значимо снизились показатели смертности от инфекционных заболеваний, набирала скорость прививочная кампания. Но несоблюдение фундаментальных принципов рациональной антибиотикотерапии и колоссальная адаптационная способность микроорганизмов привели к тому, что «панацея Флеминга» — этиотропная терапия инфекционных заболеваний — теряет свои позиции.

Проблема резистентности к антимикробным препаратам становится все более актуальной и тревожной в XXI в. В большинстве регионов мира, в том числе и в России, получают распространение антибиотикорезистентные штаммы как грамположительных (стафилококки, энтерококки), так и грамотрицательных бактерий (энтеробактерии, псевдомонады и др.). Перспективы разработки и внедрения новых антимикробных препаратов выглядят, прямо сказать, удручающе. В России разработана на государственном уровне «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности на период до 2030 г.» (Распоряжение Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р).

В течение последних десятилетий неизменно актуальными остаются работы в области химии индола и его производных. Это обусловлено тем, что индольная группа входит в структуру многих природных и синтетических физиологически активных веществ. Особое место в химии индола занимают соединения с аминогруппой в молекуле. Так, индольный фрагмент содержится в молекулах незаменимой белковой аминокислоты триптофана, биогенного амина серотонина. Особый интерес представляют аминокислоты с аминогруппой в бензольном кольце. Эти соединения, как любые ароматические амины,

могут давать различного рода производные с участием аминогруппы. Авторами изучено взаимодействие β -диоксосоединений с замещенными аминокислотами с различным положением аминогруппы в бензольном кольце, т. е. с 1*H*-индол-4-, 5-, 6-, 7-иламинами. Полученные амиды и енамины представляют интерес как биологически активные вещества, а также как исходные соединения для получения трициклических гетеросистем — пирролохинолинов. Эти соединения являются структурными фрагментами некоторых алкалоидов (например, алкалоида вомипирина) и коферментов бактериальных и животных дегидрогеназ (например, метоксатина — кофермента PQQ).

Несомненно, большой интерес представляют фторсодержащие производные азотистых гетероциклов. Многие из них обладают широким спектром антибактериального действия. На основе различных по структуре 1*H*-индолиламинов и β -кетоефиров авторами были получены и исследованы фторсодержащие амиды и пирролохинолины.

ПРИРОДНЫЕ, ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ, СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ И ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ СОЕДИНЕНИЙ

Микроорганизмы миллионы лет благополучно сосуществуют с другими живыми организмами и проявляют наибольшую генетическую и метаболическую активность. Микробы разработали различные механизмы, чтобы выживать в неблагоприятных условиях, создаваемых конкурентными экологическими проблемами. Инфекция — это вторжение в организм хозяина вредоносных микроорганизмов, или микробных патогенов, которые затем размножаются в тесной взаимосвязи с тканями хозяина. Инфекции могут различаться по степени тяжести и могут варьироваться от латентных до молниеносных [57, 231, 366, 468, 469, 494].

В течение долгого времени происходило непрерывное сражение человека с множеством микробных патогенов. Противомикробные препараты относятся к числу немногих средств, которые вылечивают путем устранения патогенных микроорганизмов. Разработка противомикробных препаратов для клинического применения была несомненно успешной в медицине [389]. Противомикробные препараты активны в отношении важных компонентов основных областей обмена веществ в микробной клетке, а именно синтеза клеточной стенки, белка, рибонуклеиновой кислоты (РНК), дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и в промежуточном метаболизме [151, 161, 470].

Использование противомикробных средств для ингибирования и ликвидации инфекционных организмов сталкивается с определенными трудностями, поскольку микробные патогены развивают различные формы резистентности к лекарственным средствам. Применение антимикробных препаратов становится все более масштабным, и, соответственно, увеличивается уровень и сложность резистентности. Возникновение у микробных патогенов резистентности к нескольким противомикробным агентам стало ведущей проблемой общественного здравоохранения, поскольку существенно снижается количество доступных и эффективных противомикробных средств для лечения инфекций, вызванных этими патогенами, а иногда их просто нет.

Микробные патогены могут проявлять устойчивость к противомикробным агентам с помощью различных механизмов, таких как возникновение мутаций, селекция или получение резистентных генов от других микробиологических патогенов. Пациенты, инфицированные резистентными патогенами, часто страдают от неэффективного лечения, которое обычно имеет неблагоприятный исход, особенно в случае инфекционных процессов с тяжелым течением [261, 276].

В настоящее время наиболее широко используемые противомикробные агенты подвержены резистентности, и даже некоторые новые агенты сталкиваются с этой же проблемой. Преодоление резистентности обычно достигалось путем обнаружения новых противомикробных агентов или использованием производных, полученных полусинтетическими методами, которые не подвержены существующим механизмам устойчивости. Поэтому поиск новых соединений, понимание механизма действия препаратов и того, как работают механизмы сопротивления микроорганизмов, проблем, с которыми сталкивается химиотерапия инфекционных заболеваний, и способов решения этих проблем не теряют актуальность и в XXI в. [227, 280, 359, 470].

Все противомикробные средства, используемые в настоящее время, можно разделить на две группы: препараты, применяемые для устранения микроорганизмов вне организма человека, в окружающей среде (дезинфектанты и консерванты) и химиотерапевтические препараты, используемые для устранения микроорганизмов на поверхностях и в организме человека (антисептики и антибиотики) [232, 348, 471].

В настоящее время доступно множество различных видов противомикробных препаратов (синтетических, полусинтетических, природных), которые служат различным целям в медицине, ветеринарии, фармации и других областях. Их роль в качестве дезинфицирующих средств, консервантов для широкого спектра продуктов и материалов достаточно велика [395, 396, 410, 424, 434, 436, 466, 499, 508, 509, 511, 512, 515].

Основными типами противомикробных и противогрибковых препаратов, применяемых в качестве дезинфицирующих средств, антисептиков и консервантов, являются следующие органические и неорганические соединения [47, 269, 385, 399, 404]:

- фенолы;
- органические и неорганические кислоты, сложные эфиры и соли;
- ароматические диамидины;
- поверхностно-активные вещества;
- антимикробные красители;
- галогены;
- соединения хлора;
- производные хинолина и изохинолина;
- спирты;
- окислители;
- хелатирующие агенты;

- соединения, увеличивающие проницаемость мембран;
- производные тяжелых металлов;
- производные имидазола;
- изотиазолоны;
- производные уротропина;
- триазины;
- оксазол-оксазолы;
- гидроксиметилглицинат натрия;
- метилен бистиоцианат;
- каптан;
- 1,2-дибром-2,4-дицианобутан;
- эфирные масла;
- газообразные дезинфицирующие средства.

1.1. Фенолы и их производные

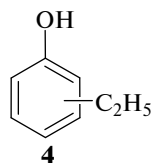
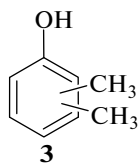
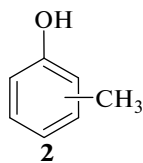
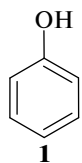
Исторически известно, что фенольные и натуральные дистилляты, содержащие фенолы с хлором и йодом, появились в арсенале антисептиков раньше, чем все другие препараты. И сегодня они широко используются в качестве дезинфицирующих средств и консервантов для различных промышленных продуктов. Основное общее ограничение заключается в том, что, в силу их токсичности, они не должны использоваться там, где могут загрязнять продукты [79, 143, 195]. Изучена взаимосвязь между структурой и активностью ряда фенолов. Основными выводами из этого исследования стало то, что алкильные заместители нормального строения с длиной цепи до шести атомов углерода увеличивают антибактериальную активность фенолов, предпочтительно за счет увеличения поверхностной активности и способности концентрироваться на границе раздела фаз. Наряду с этим активность уменьшается из-за снижения растворимости в воде, также этому способствуют заместители с разветвленной цепью из-за некоторой полярности по сравнению с неполярными алкильными группами нормального строения с таким же числом атомов углерода. Введение галогена в бензольное кольцо повышает антибактериальную активность фенола. Комбинация заместителей — алкила и галогена — придает наибольшую антибактериальную активность в тех случаях, когда они находятся в *орто*- или *пара*-положении к гидроксильной группе. Введение нитрогруппы с одновременным увеличением токсичности фенола по отношению к бактериям также усиливает системную токсичность и определяет специфические биологические свойства молекулы, что позволяет ей предотвращать процесс окислительного фосфорилирования. В настоящее время показано, что это связано с тем, что нитрофенолы действуют как высвобождающие агенты. Исследования показали, что наличие нитрогруппы не является необходимым услови-

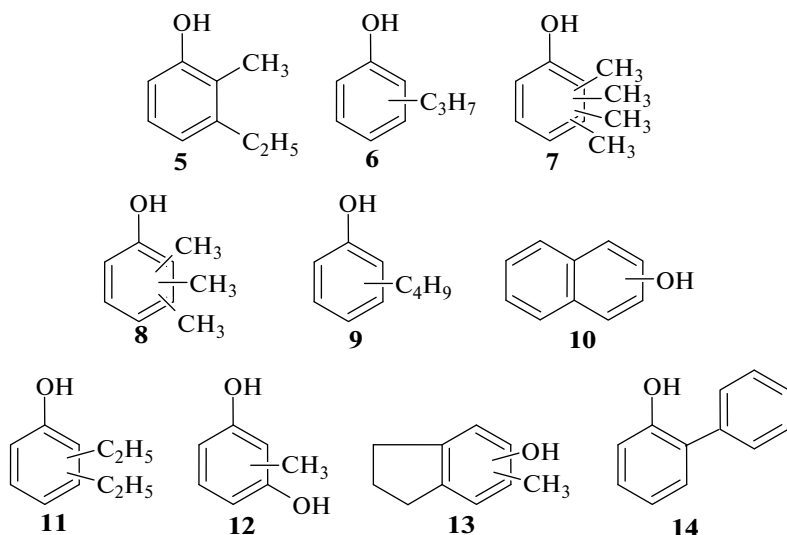
ем расщепления, так как этилфенол является высвобождающим агентом [79, 143, 195].

В последнее время нитрофенолы заменяют другими химическими соединениями. 4-Нитрофенол по-прежнему находит применение как консервант в кожевенной промышленности [399, 461].

В ряду бисфенолов активность зависит от того, каким образом связаны фенильные радикалы. Наибольшую активность проявляют соединения, в молекулах которых ядра связаны непосредственно или разделены мостиками $-\text{CH}_2-$, $-\text{S}-$, $-\text{O}-$. При этом максимальная активность обнаруживается у препаратов с гидроксильными группами в 2,2'-положении бисфенола. Если же фенильные радикалы соединены с $\text{CO}-$, $\text{SO}-$ или $\text{CH}(\text{OH})-$ группами, активность бисфенолов снижается. Введение в ароматические кольца бисфенолов атомов галогенов обеспечивает дополнительную биоцидную активность [399, 461].

Большинство фенолов, которые используются для производства дезинфицирующих средств, добывают из смолы, полученной в качестве побочного продукта при деструктивной (сухой) перегонке угля [32, 399, 461]. Уголь нагревают без доступа воздуха. При этом образуются летучие продукты, один из которых представляет собой густую смолу. Смола фракционируется с получением группы веществ, которые включают фенолы (так называемые смоляные кислоты), органические основания и нейтральные продукты, такие как алкилнафталины, которые известны в промышленности как нейтральные масла. Крезолы состоят из смеси 2-, 3- и 4-крезола. По строению молекул ксиленолы представляют собой шесть изомерных диметилфенола и три этилфенола. Комбинированная фракция, крезолы и ксиленолы также доступны в виде коммерческого продукта, который известен как крезоловая кислота. Высококипящие смоляные кислоты состоят из алкилзамещенных фенолов, таких как диэтилфенолы, тетраметилфенолы, метилэтилфенолы, а также из метилинданолов, нафтолов и метилрезорцинов, причем последние существуют в виде частично гидрированных продуктов. В смоле также возможно присутствие следовых количеств 2-фенилфенола. Структурные формулы некоторых из фенольных компонентов (**1**–**14**) приведены ниже [32, 461]. Это такие противомикробные соединения, как фенол (**1**), крезолы (**2**), ксиленолы (**3**), этилфенолы (**4**), 3-этил-2-метилфенол (**5**), пропилфенолы (**6**), тетраметилфенолы (**7**), триметилфенолы (**8**), бутилфенолы (**9**), нафтолы (**10**), диэтилфенолы (**11**), метилрезорцины (**12**), метилинданолы (**13**), 2-фенилфенол (**14**).





Сам фенол (**1**), C₆H₅OH, представляет собой белое кристаллическое вещество с T_{пл} = 39–40 °С, которое за счет окисления становится розовым, а затем черным [20]. Он растворим в воде в соотношении 1 : 13 и является слабой кислотой; ранее было распространено его тривиальное название «карболовая кислота». Однако биологически активной является недиссоциированная форма молекулы. Фенол эффективен против грамположительных и грамотрицательных вегетативных бактерий, но медленно действует на бактериальные споры и кислотоустойчивые бактерии. Он находит в настоящее время ограниченное применение в медицине, но используется в качестве консерванта в таких продуктах, как животные клеи. Хотя фенол впервые был выделен из каменноугольной смолы, в настоящее время в значительной степени производится гидролизом хлорбензола, а также сплавлением бензолсульфокислоты и гидроксида натрия [452, 504].

Фенол получают с чистотой 99% [394]. Крезол (2-, 3- и 4-крезол) (**2**) должен содержать менее 2% фенола. Коммерческая смешанная ксиленоловая фракция не содержит фенолов или крезолов, но может содержать 22 высококипящих производных фенола. Высококипящие смоляные кислоты могут содержать некоторые высококипящие ксилолы, например 3,4-ксиленол (T_{кип} = 227 °С). Соед. **3** представляет собой общую формулу для изомерных ксиленолов. Нейтральная масляная фракция имеет адьювантное действие в некоторых из готовых дезинфицирующих средств [32, 269, 461]. Она лишена биоцидной активности и состоит в основном из углеводородов, таких как метил- и диметилнафталины, додекан, нафталин, тетраметилбензол, диметилинды и тетрагидронафталин. Некоторые дистилляты смолы содержат нейтральное масло (диапазон кипения 205–296 °С), смешанное с фенола-

Таблица 1.1. Физические свойства и показатели коэффициента фенола каменноугольных продуктов в отношении *S. typhi* и *S. aureus*

Продукт и температура кипения (°С)	Коэффициент фенола		Растворимость в воде (г/100 мл)
	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	
Фенол (182)	1	1	6,6
Крезол (190–203)	2,5	2,0	2,0
4-этилфенол (4) (195)	6	6	Плохо растворим
Ксиленол (210–230)	5	4,5	Плохо растворим
Высококипящие смоляные кислоты (230–270)	40	25	Нерастворимы
Высококипящие смоляные кислоты (250–275)	60	40	Нерастворимы

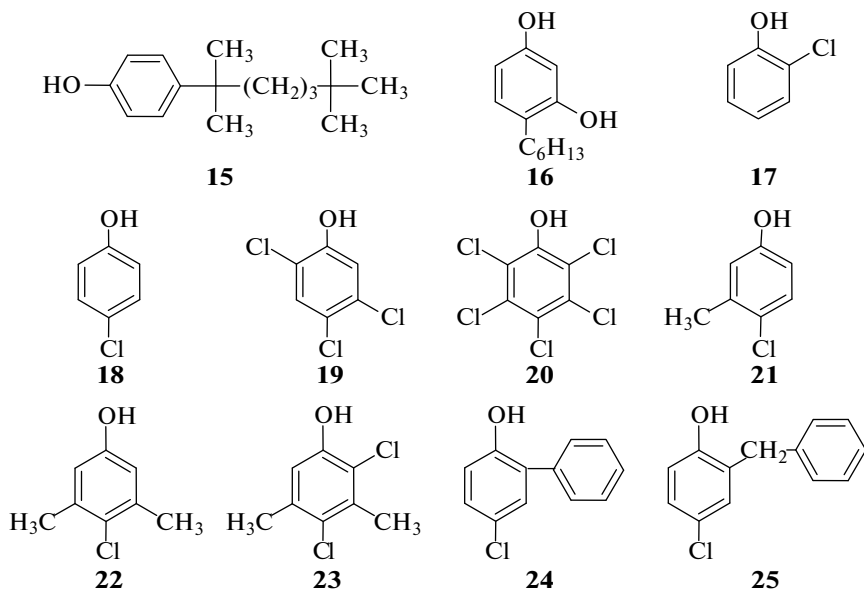
ми, предназначенными для производства дезинфицирующих средств [32, 269, 399, 461].

Переход от фенола ($T_{\text{кип}} = 182^\circ\text{C}$) к высококипящим производным фенола ($T_{\text{кип}} \leq 310^\circ\text{C}$) сопровождается изменением свойств: снижается растворимость в воде, уменьшается повреждение тканей, увеличивается бактерицидная активность, инактивация органическим веществом усиливается. Однако соотношение активности относительно грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов остается постоянным, хотя в случае с псевдомонадами активность снижается с уменьшением водорастворимости. Из приведенных в табл. 1.1 данных видно, что постепенное возрастание биологических свойств фенолов каменноугольной смолы с увеличением температуры кипения сопровождается уменьшением растворимости в воде. Это представляет проблему для производства, и часть современных продуктов по сей день находится на стадии рецептурных разработок [414].

Современный ассортимент солюбилизированных и эмульгированных фенольных дезинфицирующих средств довольно широк. Например, так называемые «черные жидкости» являются важными фракциями каменноугольной смолы, солюбилизированными мылом; «белые жидкости» получают путем эмульгирования фракций смолы. Их состав по содержанию фенола приведен в табл. 1.1. Термин «прозрачная растворимая жидкость» также используется для описания солюбилизированных продуктов, таких как лизол [14, 77, 295].

Лизол состоит из крезола (смесь 2-, 3- и 4-крезолов), солюбилизированного мылом, полученным из льняного масла. Он представляет собой дезинфицирующее средство широкого спектра, демонстрирующее активность против вегетативных бактерий, микобактерий, грибов и вирусов. Большинство вегетативных патогенов, включая микобактерии, погибают через 15 мин при разведении лизола до концентраций 0,3–0,6%. Бактериальные споры гораздо более устойчивы, и есть

данные, что споры *B. subtilis* выживают в 2%-м лизоле в течение почти трех дней. Еще большая устойчивость наблюдается для спор клостридий. Лизол обладает коррозионной способностью, связанной с фенольным гидроксилем, и его следует использовать с осторожностью. Обнаружено, что как способ производства, так и химический состав применяемого мыла влияют на биоцидные свойства продукта [269, 399, 461].



Каменноугольная и, в меньшей степени, нефтехимическая промышленность дает большое количество фенольных продуктов. Однако сам фенол в больших количествах производится синтетическим способом, как и некоторые его производные. Три таких фенола, которые широко используются, представляют собой 2-фенилфенол (**14**), 4-*mpem*-октилфенол (**15**) и 4-гексилрезорцин (**16**) [458].

2-Фенилфенол (**14**) представляет собой белый кристаллический порошок с $T_{пл} = 57^\circ\text{C}$. Соед. **14** гораздо лучше растворимо, чем октилфенол (растворяется в воде в соотношении 1 : 1000), а его натриевая соль очень легко растворяется в воде. Соед. **14** обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами и используется в качестве консерванта, особенно против грибов, в самых разных областях применения. Типичные минимальные ингибирующие концентрации (МИК) для натриевой соли 2-фенилфенола следующие: *E. coli* — 32 мкг/мл, *S. aureus* — 32 мкг/мл, *B. subtilis* — 16 мкг/мл, *P. fluorescens* — 16 мкг/мл, *Aspergillus niger* — 4 мкг/мл, *Epidermophyton spp.* — 4 мкг/мл, *Myrothecium verrucaria* — 2 мкг/мл, *Trichophyton interdigitale* — 8 мкг/мл. Многие штаммы *P. aeruginosa* более устойчивы, и для их ингибирования требуются более высокие концентрации. Основное применение это производное фенола нашло в качестве ин-

гредиента в дезинфицирующих средствах на основе соснового масла, консерванта масел для резки металлов и общего сельскохозяйственного дезинфицирующего средства. Оно особенно полезно в качестве биоцида и фунгицида в бумажной, картонной промышленности, а также в качестве добавки к парафиновому воску при изготовлении вошеной бумаги, вкладышей для бутылок и колпачков [79, 143, 423].

4-*трет*-Октилфенол (**15**) — это гомолог фенола, часто называемый октилфенолом, представляет собой белое кристаллическое вещество с $T_{пл} = 83^\circ\text{C}$. Основным недостатком, при рассмотрении возможности его применения в качестве консерванта, является плохая растворимость в воде — $1 : 6 \cdot 10^5$ или $1,6 \cdot 10^{-3}\%$. Растворимость в воде октилфенолятов натрия и калия заметно выше. Эксперименты с кормлением животных показали, что они менее токсичны, чем фенол или крезол. Спиртовые растворы фенола в 400–500 раз эффективнее самого фенола в отношении грамположительных организмов, но в отношении грамотрицательных бактерий фактор составляет лишь 1 : 50. Октилфенол также является фунгистатическим средством и использовался в качестве консерванта для белковых продуктов, таких как клеи и непищевые желатины. Его активность снижается в присутствии некоторых эмульгаторов, что может сделать его непригодным для сохранения мыла и масел [79, 143, 423].

4-Гексилрезорцин (**16**) представляет собой белые игольчатые кристаллы ($T_{пл} = 67^\circ\text{C}$), растворимые в воде в количестве 0,5%, а также хорошо растворимые в органических растворителях, глицерине и глицеридах. Соед. **16** имеет низкую токсичность для слизистых, поэтому применяется в медицине. Препарат **16** используется в виде 0,1%-го раствора в 30%-м водном глицерине как дезинфицирующее средство для кожи, а также в таблетках и рассасываемых пластинах для лечения инфекций горла [269, 329, 461].

Галогенирование фенолов усиливает антимикробную активность, причем *пара*-замещение (соед. **18**) является более эффективным, чем *орто*-замещение (соед. **17**), но снижает растворимость в воде. Существует также тенденция к инаktivации галогенпроизводных при введении органического радикала. Исследования замещенных фенолов датируются началом XX в., впервые они были исследованы П. Эрлихом и широко изучены М. Кларманом и сотр. Хлорирование увеличивает биоцидную активность фенолов. Хлорфенолы синтезируют взаимодействием фенола с хлором или сульфурилхлоридом [79, 143].

2,4,5-Трихлорфенол (**19**) — это белый или сероватый порошок, который плавится при $69,5^\circ\text{C}$ и кипит при 246°C . Соед. **19** является более сильной кислотой, чем фенол; оно почти нерастворимо в воде, но растворяется в щелочах и органических растворителях. Это хлорзамещенное производное фенола используется в качестве бактерицидного, фунгицидного и инсектицидного агента. Соед. **19** находит применение в консервации текстильной и древесной продукции, а также как ингредиент в некоторых антисептических составах [475].

Пентахлорфенол (**20**) представляет собой порошок от белого до кремового цвета с $T_{пл} = 174\text{ }^{\circ}\text{C}$, который может кристаллизоваться с долей воды, но почти нерастворим в воде, а растворим в органических растворителях. Пентахлорфенол или его натриевое производное используют в качестве консерванта для адгезивов, текстиля, дерева, кожи, бумаги и картона, а также для консервации красок. Пентахлорфенол разрешен только для обработки древесины с дополнительными ограничениями и/или нормативными требованиями в Канаде, Мексике и США. Также имеется информация о зарегистрированных вариантах применения для изготовления клеящих составов, в кожевенной промышленности, производстве бумаги и текстильных изделий. В настоящее время препараты на основе соед. **20** производятся в Мексике и США [375, 506].

4-Хлор-3-метилфенол (**21**) (*n*-хлор-*m*-крезол) представляет собой бесцветное кристаллическое соединение, которое плавится при $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ и перегоняется с водяным паром. Он растворим в воде (3,8 г/л) и легко растворим в этаноле, эфире, терпенах, а также в щелочных растворах. Хлоркрезол используется в качестве консерванта в фармацевтических продуктах и добавок в фармакопейном процессе стерилизации, называемом «нагрев с бактерицидом», в котором сочетание нагревания и химического биоцида позволяет осуществлять процесс стерилизации при более низкой температуре (98–100 $^{\circ}\text{C}$), чем обычно применяемая для стерилизации — 121 $^{\circ}\text{C}$. Соед. **21** используется в качестве консерванта для промышленных продуктов, таких как клеи, краски, масла для резки и в буровых растворах [79, 143]. 4-Хлор-3-метилфенол лучше растворяется в воде, чем другие фенолы. Это обуславливает достаточно широкий спектр антимикробной активности в широком диапазоне рН. Соед. **21** пригоден в качестве промышленного консерванта для таких продуктов, как загустители, клеи и пигменты [79, 269].

3,5-Диметил-4-хлорфенол (**22**) (ПХМК) представляет собой белое кристаллическое вещество, плавящееся при $155\text{ }^{\circ}\text{C}$, неплохо растворимое в воде (0,33 г/л при 20 $^{\circ}\text{C}$) и хорошо растворимое в щелочных растворах и органических растворителях. Он используется главным образом в качестве местного антисептика и дезинфицирующего средства. Для улучшения растворимости ПХМК часто солюбилизирован в подходящем мыльном растворе в сочетании с терпинеолом или сосновым маслом. Имеется модельная антисептическая композиция, содержащая ПХМК, мыло, терпинеол и этанол. Соед. **22** не является споридицидным, не обладает активностью против туберкулезной палочки и инактивируется в присутствии органических веществ [32, 79, 112].

2,4-Дихлор-3,5-диметилфенол (**23**) (ДХМК) — это белый порошок, плавящийся при $94\text{ }^{\circ}\text{C}$. Он перегоняется с водяным паром и ограниченно растворяется в воде (0,2 г/л при 20 $^{\circ}\text{C}$). Хотя соед. **23** менее растворимо, чем ПХМК, оно обладает схожим антимикробным спектром и используется в качестве ингредиента в дезинфицирующих средствах на основе соснового масла, лечебных мылах и скрабах для рук [32, 79, 112].

Монохлор-2-фенилфенол получается хлорированием 2-фенилфенола. Коммерческий продукт содержит 80% 4-хлор-2-фенилфенола (**24**) и 20% 6-хлор-2-фенилфенола. Смесь представляет собой желтоватую жидкость, которая кипит в диапазоне 250–300 °С. Он почти нерастворим в воде, но может быть использован в составе дезинфицирующих средств на основе соснового масла; солюбилизация осуществляется с помощью подходящего мыла [79].

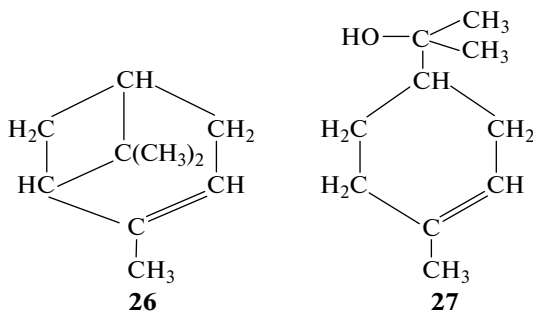
2-Бензил-4-хлорфенол (**25**) (ОБПХФ) представляет собой порошок от белого до розового цвета с $T_{пл} = 49$ °С. Он обладает небольшим фенольным запахом и почти нерастворим в воде ($7 \cdot 10^{-3}$ г/л при 20 °С), но, как и ПХМК, лучше растворим в щелочном растворе и органических растворителях. Солюбилизированное растительными маслами или анионными моющими средствами соед. **25** имеет широкий биоцидный спектр, оно активно против грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов, простейших и грибов. Однако ОБПХФ чаще используется в дезинфицирующих препаратах в сочетании с другими фенолами [79].

Смешанные хлорированные производные фенола, такие как хлорированный ксиленол, могут быть получены для производства бытовых дезинфицирующих средств путем хлорирования ксилоленовой фракции каменноугольной смолы.

Были получены и исследованы бромированные и фторированные фенолы, но они не нашли широкого применения.

Нитрофенолы в целом более токсичны, чем галоген-замещенные фенолы. 3,5-Динитро-*o*-крезол использовался в качестве овицида в садоводстве, но наиболее широко распространенный сегодня 4-нитрофенол входит в группу консервантов, используемых в кожевенной промышленности при концентрациях 0,1–0,5% [269, 287, 495].

Еще в 1876 г. К. Кингсет запатентовал в Германии дезинфицирующий дезодорант, сделанный из масла скипидара и камфары. Это средство распространялось под торговым названием Sanitas. Позже была описана дезинфицирующая жидкость, полученная из соснового масла, солюбилизированного мыльным раствором. Главной составляющей скипидара является циклический углеводород пинен (**26**), который практически не имеет биоцидной активности [429, 453, 503].



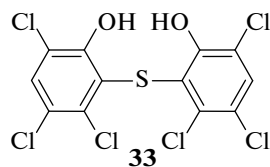
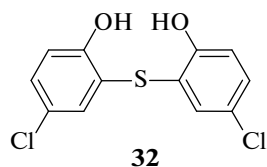
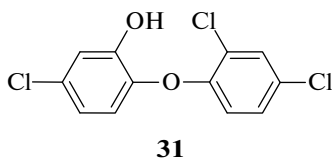
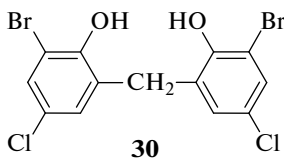
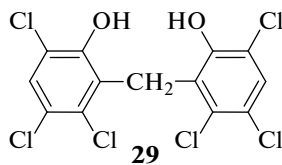
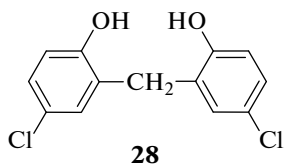
Терпинеол (**27**), который может быть синтезирован из пинена или скипидара через терпингидрат, а также может быть выделен (с чистотой 80%) из паров дистиллятов сосновых древесных фрагментов, является еще одним ингредиентом дезинфицирующих средств из сосны и уже используется в качестве действующего компонента в композиции с хлорсиленолом. В отличие от пинена химический модификат проявляет собственную антимикробную активность, обладая, как и пинен, свойством модифицировать действие фенолов в солюбилизированных дезинфицирующих препаратах, хотя и не одинаково для различных микроорганизмов. Терпинеол является бесцветным маслом, которое имеет тенденцию к потемнению при хранении. Он обладает приятным запахом гиацинта и используется в парфюмерии, особенно для получения мыл, а также в производстве дезинфицирующих средств. Был выпущен ряд солюбилизированных составов с активными ингредиентами, начиная от соснового масла, пинена и до смеси соснового масла и/или терпинеола и подходящего фенола или его хлорпроизводного. Это привело к появлению ряда препаратов, включающих как дезодорирующие, так и эффективные дезинфицирующие компоненты [429, 450, 453, 459, 503].

Дихлорофен (**28**) (5,5'-дихлор-2,2'-дигидроксидифенилметан, производимый в Великобритании под торговыми марками Panacide и Rotafix), активен в той или иной степени против бактерий, грибов и водорослей. Он растворяется в воде при концентрации 30 мкг/мл, но лучше растворим в органических растворителях (45–80 г/100 мл) и обычно используется в качестве альгицида, фунгицида, а при разведении 1 : 20 — в качестве поверхностного биоцида. Дихлорофен нашел применение в качестве консерванта для туалетных принадлежностей, текстиля, предотвращения роста бактерий в системах водяного охлаждения и увлажнения растений. Препарат **28** используется в качестве биоцида в бумажном производстве (добавляется к бумагам и другим упаковочным материалам для предотвращения роста микроорганизмов), для предотвращения роста водорослей в теплицах [14, 269, 399, 461].

Гексахлорофан (**29**) (2,2'-дигидрокси-3,5,6,3',5',6'-гексахлордифенилметан) почти нерастворим в воде, но растворим в этаноле, эфире, ацетоне и щелочных растворах. Соед. **29** используется главным образом благодаря выраженной антибактериальной активности, но оно гораздо активнее против грамположительных, чем грамотрицательных организмов. Типичные МПК (бактериостатические) для *S. aureus* составляют 0,9 мкг/мл, *B. subtilis* — 0,2 мкг/мл, *P. vulgaris* — 4 мкг/мл, *E. coli* — 28 мкг/мл, *P. aeruginosa* — 25 мкг/мл. Гексахлорофан нашел основное применение в качестве активного ингредиента в хирургических скрабах и лечебных мылах, а также использовался в ограниченной степени в качестве консерванта для косметики. Использование соед. **29** ограничено его нерастворимостью в воде. В 1973 г. были установлены его максимально допустимые концентрации в препаратах — 0,1% в лекарствах для человека и 0,75% в ветеринарных средствах. Токсичность не позволяет вводить его в состав многих косметических

средств, а максимальная концентрация составляет 0,1%, при условии, что эти продукты не предназначены для детей или личной гигиены [68, 269].

Бромхлорофан (**30**) (3,3'-дибром-5,5'-дихлор-2,2'-дигидроксидифенилметан) растворяется в воде в количестве 100 мкг/мл и заметно более активен против грамположительных организмов. Штаммы *S. aureus* ингибируются при концентрациях 8–11 мкг/мл, в то время как для *E. coli* и *P. aeruginosa* необходимы концентрации на два порядка выше. Соед. **30** используется в качестве активного ингредиента в препаратах для дезодорантов и зубных пастах [269, 461].



Триклозан (**31**) (2,4,4'-трихлор-2'-гидроксидифенилэфир, препарат Иргазан, зарегистрированный в Ciba Speciality Chemicals, Швейцария), только умеренно растворим в воде (10 мг/л), но растворим в разбавленных щелочах и органических растворителях. Его активность не снижается в присутствии мыл, большинства ПАВ, органических растворителей, кислот и щелочей, но этоксилированные ПАВ, такие как Полисорбат 80 (Твин 80), способны инактивировать триклозан. Препарат **31** обычно оказывает бактериостатическое действие против широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также демонстрирует некоторую фунгистатическую активность. Он ингибирует рост стафилококков в концентрациях 0,1–0,3 мкг/мл. Парадоксально, но ряд штаммов *E. coli* подавляется в аналогичном диапазоне концентраций, в то время как большинство штаммов *P. aeruginosa* требуют концентрации 100–1000 мкг/мл для ингибирования. Триклозан ингибирует рост нескольких видов плесени в концентрациях 1–30 мкг/мл. Соед. **31** также встречается в широком спектре продуктов личной гигиены, таких как зубная паста, порошки для ручной стирки, дезодоранты. Он идеально подходит для этого, поскольку

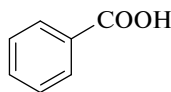
обладает низкой токсичностью и не раздражает кожу. Совсем недавно триклозан начали добавлять в пластмассы и ткани для обеспечения антимикробной активности. Однако этот факт и связь между устойчивыми к триклозану бактериями и резистентностью к антибиотикам привели к опасениям относительно его использования. При правильном применении этого противомикробного препарата нет прямых доказательств того, что может возникать пролиферация бактерий, устойчивых к антибиотикам [42, 205, 396].

Фентиклор (**32**) (2,2'-дигидрокси-5,5'-дихлордифенилсульфид) представляет собой белый порошок, растворимый в воде в количестве 30 мкг/мл, но хорошо растворимый в органических растворителях и маслах. Он обладает высокой активностью против грамположительных организмов и *P. aeruginosa*. Типичные его ингибирующие концентрации для бактерий: *S. aureus* — 2 мкг/мл, *E. coli* — 100 мкг/мл, *P. Aeruginosa* — 1000 мкг/мл; для некоторых грибов: *Candida spp.* — 12 мкг/мл, *Epidermophyton interdigitale* — 0,4 мкг/мл, *Trichophyton granulosu* — 0,4 мкг/мл. Фентиклор нашел основное применение для лечения дерматофитных состояний. Однако он может вызвать фотосенсибилизацию, и поэтому его использование в качестве консерванта ограничено. Низкая водорастворимость и узкий спектр действия препарата **32** являются дополнительными недостатками, но он обладает неплохим потенциалом в качестве фунгицида. Хлорированный аналог фентиклора 2,2'-дигидрокси-3,4,6,3'4',6'-гексахлордифенилсульфид (**33**) почти нерастворим в воде. В полевых испытаниях он оказался эффективным ингибитором роста микробов в эмульсиях. Доказана противогрибковая активность гидроксидифенилсульфидов [79].

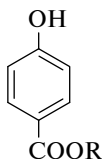
Таким образом, в медицине фенолы и их производные широко используют в качестве антимикробных средств.

1.2. Кислоты и их производные

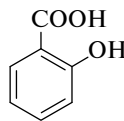
Большое количество органических кислот, как ароматических, так и алифатических (**34—42**), и две неорганические кислоты нашли применение в качестве консервантов, особенно в пищевой промышленности.



37



38



39

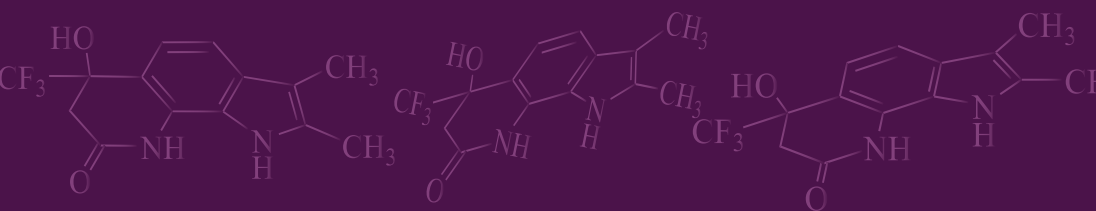
[. . .]

Ирина Семеновна Степаненко

Заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии с курсом клинической микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет», доктор медицинских наук, доцент, врач-бактериолог высшей категории

Семен Александрович Ямашкин

Профессор кафедры химии, технологии и методик обучения естественно-технологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Мордовский государственный педагогический институт им. М. Е. Евсевьева», доктор химических наук, профессор



Монография И. С. Степаненко и С. А. Ямашкина «Активные противомикробные молекулы» уникальна тем, что в ней собран обширный материал по противомикробным соединениям и антибиотикам, ранее недоступный на русском языке. Кроме того, этот материал освещён с позиций как специалиста в медицине и микробиологии, так и химика, занимающегося синтезом и анализом органических соединений. На примере собственных исследований авторов, описанных в главе 2, показано взаимодействие химиков-синтетиков, микробиологов и программистов в стремлении получить новый противомикробный препарат.

В данной монографии содержится не только классификация природных антибиотиков, связанная со структурно-химическими особенностями, но и механизмы, при помощи которых микроорганизмы развивают резистентность к тем или иным антибиотикам. Понимание взаимосвязи структуры антибиотика и резистентности бактерий является ключевым фактором при выборе терапии заболевания, а также стратегий, препятствующих формированию резистентности. Читателю монографии откроется весь спектр использованных издавна и современных средств для обеззараживания различных сред и поверхностей, а также лечения заболеваний, ассоциированных с бактериями и грибами. Для исследователей, занимающихся этим вопросом, особый интерес представит глава 2, где авторы описывают получение и испытание противомикробных свойств производных индола, а также анализируют взаимосвязь структура-свойства для соединений этого ряда.

ISBN 978-5-93208-246-1



9 785932 082461