

В. И. Тропина,¹ О. В. Кривых,² Н. П. Садчикова,² А. О. Терентьев,³
И. Б. Крылов³

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕМИНАЛЬНЫХ БИСГИДРОПЕРОКСИДОВ

¹ ОАО "Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ", г. Старая Купавна, Московская область, Россия;

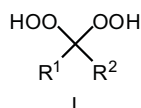
² Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва, Россия;

³ Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

Осуществлен синтез 6 геминальных бисгидропероксидов на основе циклических кетонов. В опытах *in vitro* выявлено, что полученные пероксиды обладают выраженным антимикробным действием, сравнимым в аналогичных экспериментальных условиях с уровнем антимикробного действия ряда антисептиков и в меньшей степени антибиотиков. По спектру ингибирования роста изученных тест-культур, представляющих основные группы микроорганизмов — *B. cereus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *St aureus*, *C. albicans* и *A. niger*, и по уровню минимальной подавляющей концентрации (МПК 0,1, 1,0 и 10 мг/мл) бисгидропероксиды аналогичны пероксиду водорода, что может свидетельствовать о подобном механизме антимикробного действия.

Ключевые слова: пероксиды, геминальные бисгидропероксиды, антимикробная активность.

В последние годы проявляется повышенный интерес к органическим геминальным бисгидропероксидам (I) и получаемым на их основе 1,2,4,5-тетраоксанам в связи с высокой антипаразитарной активностью этих соединений [1–4]. Кроме того, *гем*-бисгидропероксиды находят применение в качестве инициаторов радикальной полимеризации [5] и в синтезе эфиров дикарбоновых кислот [6].



Наличие в пероксидах I двух гидропероксидных групп делает эти соединения родственными по структуре широко используемым антимикробным веществам — пероксиду водорода, перуксусной кислоте и бензоилпероксиду. До недавнего времени бисгидропероксиды I были труднодоступными соединениями и получались в количествах, не превышающих несколько сотен миллиграммов. Нашей группой был предложен метод синтеза, позволяющий получать бисгидро-

пероксиды I в масштабах десятков граммов на основе доступных реагентов — кетонов, пероксида водорода и спиртов [7], что сделало эти пероксиды удобными объектами для исследования и применения.

Доступность и стабильность пероксидов I, высокое содержание активного кислорода и сходное строение с ранее известными биологически активными пероксидами побудило изучить антимикробные свойства ряда пероксидов I. Для исследования были выбраны пероксиды, полученные из технологически доступных для создания производства, недорогих и промышленно производимых циклических кетонов: циклогексанона, 4-метилциклогексанона, 4-*трет*-бутилциклогексанона, 3,3,5-триметилциклогексанона и циклододеканона.

Экспериментальная часть

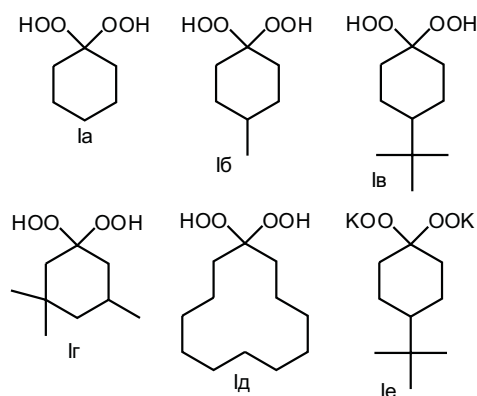
Геминальные бисгидропероксиды 1,1-бисгидропероксициклогексан (Ia), 1,1-бисгидроперокси-4-метилциклогексан (Iб), 1,1-бисгидроперокси-4-*трет*-бутилциклогексан (Iв), 1,1-бисгидроперокси-3,3,5-триме-

Антимикробная активность геминальных бисгидропероксидов Ia – e

Соединение	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>St. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Ia ¹	1	0,1	1	1	1	0,1
Iб ¹	1	0,1	1	1	1	1
Iв ¹	0,1	1	10	1	10	10
Iг ¹	1	1	10	1	10	10
Iд ¹	1	≥ 10	≥ 10	≥ 10	1	≥ 10
Iе ¹	1	1	≥ 10	1	1	1
40% раствор H ₂ O ₂ ²	1	1	1	1	1	10
40% раствор формалина ²	1	1	10	0,1	10	1
20% раствор хлоргексидина ²	0,01	0,1	10	0,01	10	1
Гентамицина сульфат ¹	0,01	0,1	0,1	0,1	> 10	> 10
Ампициллина натриевая соль ¹	0,01	0,01	10	0,0001	> 10	> 10

¹ МПК — мг/мл, ² МПК — мкл/мл.

тибциклогексан (Iг), 1,1-бисгидропероксициклододекан (Iд) получали катализируемой серной кислотой реакцией соответствующих кетонов с пероксидом водорода [7]; синтез дикалиевой соли 1,1-бисгидроперокси-4-*трет*-бутилциклогексана (Iе) осуществляли в этаноле взаимодействием 1,1-бисгидроперокси-4-*трет*-бутилциклогексана (Iв) со стехиометрическим количеством гидроксида калия.



Антимикробную активность изучали в опытах *in vitro* методом прямого посева на жидкие питательные среды [8]. Использовали тест-штаммы, представляющие основные группы микроорганизмов — *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ГИСК 453, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р, *Candida albicans* NCTC 885 – 653 и *Aspergillus niger* ATCC 9642. Тест-штаммы хранили в лиофильно-высушенном состоянии, а перед использованием пересевали на соответствующие жидкие питательные среды. Для приготовления инокулятов использовали выросшие в стандартных условиях тест-культуры, которые разводили стерильным изотоническим раствором хлорида натрия 0,9% до концентрации 10^4 КОЕ/мл. Для испытаний пероксидов Ia – е на антимикробную активность использовали их суспензии и растворы с концентрациями от 10 до 1000 мг (в зависимости от растворимости) в 10 мл питательной среды с последующими двукратными или десятикратными разведениями в соответствующих средах. Об антимикробной активности судили по отсутствию роста тест-культур через 5 сут, просматривая посевы ежедневно. На соответствующие агаризованные среды осуществляли дополнительный высеv с жидких питательных сред, в которых визуальный рост бактерий не наблюдался. Антимикробную активность пероксидов Ia – е выражали в значениях минимальной подавляющей концентрации (МПК) в мг/мл.

Препаратами сравнения служили 3 антисептика — 40% растворы пероксида водорода и формалина, 20% раствор хлоргесидин биглюконата, исходные концентрации которых составляли 1 мл / 10 мл соответствующих жидких питательных сред (для растворов МПК выражали в мкл раствора на 1 мл питательной среды), и 2 антибиотика — гентамицина сульфат (исходная концентрация 10 мг/10 мл) и ампициллина натрияевая соль (исходная концентрация 100 мг/10 мл). МПК ан-

тибиотиков — твердых веществ — измеряли аналогично пероксидам в мг/мл.

Результаты и их обсуждение

Изучение антимикробного действия пероксидов Ia – е проводили в 2 этапа. На первом этапе, проведенном с целью оптимизации методики, были использованы пероксиды Iв, г с наиболее характеристичными для этого класса соединений физико-химическими свойствами. Концентрация пероксидов Iв, г в исходных системах составляла 1000 мг/10 мл питательной среды, которая затем путем двукратных разведений в пределах, рекомендованных ГФ XII (в 20, 40, 80, 160, 320 и 640 раз), доведена до концентрации 15 мг/10 мл питательной среды. Даже при этой наименьшей концентрации не удалось достичь МПК ни для одной из 6 тест-культур.

Было высказано предположение, что вследствие ограниченной растворимости пероксидов Iв, г в питательной среде результаты исследования МПК на этой стадии работы могли быть искажены.

Для повышения достоверности исследования антимикробного действия была сделана попытка получения истинных растворов пероксидов Iв, г. С этой целью по 100 мг указанных соединений вносили в 1000 мл дистиллированной воды, в результате для соединения Iг был получен истинный раствор (0,1 мг/мл), а соединение Iв даже при таком разведении полностью не растворилось. Полученные раствор и суспензия были разведены десятикратно, однако и в этих условиях не удалось получить точное значение МПК, поскольку со следующего разведения (0,01 мг/мл) пероксидов Iв, г начинался рост всех 6 тест-культур. Таким образом, на первом этапе был выявлен только диапазон концентраций, в пределах которого (от 0,01 до 10 мг/мл) могла находиться МПК изучаемых соединений. Это достаточно высокий уровень антимикробной активности, сравнимый с активностью антибиотиков и антисептиков.

На втором этапе в оптимизированных условиях изучали антимикробную активность пероксидов Ia – е. Исследования проводили, начиная с концентрации пероксида 10 мг/10 мл соответствующей жидкой питательной среды, с последующими десятикратными разведениями до 10^8 .

Установлено, что все изученные органические пероксиды (особенно Ia, б) характеризуются относительно высоким уровнем антимикробного действия, сопоставимым с таковым антисептиков (таблица). При этом по широте спектра действия пероксиды также ближе к действию антисептиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. H.-S. Kim, Y. Shibata, Y. Wataya, et al., *J. Med. Chem.*, **42**, 2604 – 2609 (1999).
2. J. L. Vennerstrom, H.-N. Fu, W. Y. Ellis, et al., *J. Med. Chem.*, **35**, 3023 – 3027 (1992).
3. C. W. Jefford, *Adv. Drug Res.*, **29**, 271 – 320 (1997).

4. Y. Dong, H. Matile, J. Chollet, et al., *J. Med. Chem.*, **42**, 1477 – 1480 (1999).
5. А. А. Сахарова, Я. С. Выгодский, А. О. Терентьев и др., Патент РФ 2352587 (2009).
6. A. O. Terent'ev, M. M. Platonov, A. V. Kutkin, *Centr. Eur. J. Chem.*, **4**, 207 – 215 (2006).
7. A. O. Terent'ev, M. M. Platonov, Yu. N. Ogibin, G. I. Nikishin, *Synt. Commun.*, **37**, 1281 – 1287 (2007).
8. Государственная фармакопея Российской Федерации, Москва (2007), Ч. 1, с. 163.

Поступила 24.12.09

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GEMINAL BIS-HYDROPEROXIDES

V. I. Tropina,¹ O. V. Krivykh,² N. P. Sadchikova,² A. O. Terent'ev,³ I. B. Krylov³

¹ All-Russia Scientific Center for Safety Testing of Biologically Active Substances, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Staraya Kupavna, Moscow oblast, Russia;

² Sechenov Medical Academy, Moscow, Russia;

³ Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

A series of six new geminal bishydroperoxides were synthesized based on cyclic ketones. Experiments *in vitro* show that the synthesized compounds exhibit pronounced antimicrobial properties, which are comparable with the effect of some antiseptics and, to a lesser extent, antibiotics. Tests on *B. cereus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *St. aureus*, *C. albicans* and *A. niger* showed that bis-hydroperoxides were similar to hydrogen peroxide with respect to both spectrum of action and the MIC level (0.1, 1.0, and 10 mg/ml), which is evidence for similarity in the mechanism of the antimicrobial action.

Key words: Peroxides, geminal bis-hydroperoxides, antimicrobial activity.