



УДК 547.728.23

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ. ЧАСТЬ 1. АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

© 2016 г. О. А. Лузина[#], Н. Ф. СалахутдиновНовосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, 9

Поступила в редакцию 15.04.2015 г. Принята к печати 02.10.2015 г.

Усниновая кислота (УК) – доступный лишайниковый метаболит, биологическая активность которого весьма разнообразна и представляет интерес для фармакопеи. Широкое распространение УК в разных видах лишайников, простота процедуры выделения из растительного сырья, высокая оптическая чистота извлекаемого соединения привлекает к ней внимание исследователей как основе для создания новых фармакологических агентов. К настоящему времени достижения современной науки позволили расширить сферу применения биологических свойств УК и более глубоко и полно раскрыть биологические механизмы ее действия. В обзоре, посвященном биологической активности УК и ее производных, суммированы данные публикаций последнего десятилетия, произведено сравнение их с ранее опубликованными данными, привлечены неохваченные ранее области применения УК. Обсуждаются новые данные о механизмах воздействия УК на живые организмы, показаны возможности изменения ее биологической активности путем модификации структуры молекулы, а также путем изменения ее биодоступности. Особое внимание уделено перспективам использования полусинтетических производных УК в качестве фармакологических агентов, проанализированы данные о влиянии энантиомерной чистоты УК на ее биологическую активность. В первой части обзора представлены данные о биосинтезе УК и о биологической активности УК и ее производных в отношении одноклеточных организмов.

Ключевые слова: усниновая кислота, биологическая активность, биосинтез, производные.

DOI: 10.7868/S0132342316020081

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	Альгицидная активность усниновой кислоты
Биосинтез усниновой кислоты.....	Заключение.....
Абсолютная конфигурация усниновой кислоты...	Список литературы.....
Антивирусное действие усниновой кислоты и ее производных.....	
Антибактериальная активность усниновой кислоты и ее производных.....	
Антимикобактериальная активность усниновой кислоты и ее производных.....	
Фунгицидное действие усниновой кислоты и ее производных.....	

Сокращения: УК – усниновая кислота; МИК₅₀ и МИК₉₀ – минимальная концентрация вещества, угнетающая рост микроорганизмов для 50 и 90% исследованных штаммов соответственно; ИК₅₀ – концентрация вещества, угнетающая рост микроорганизмов для 50% исследованных штаммов; ЭД₇₀ и ЭД₅₀ – доза вещества, которая обеспечивает требуемый результат у 70 и 50% микроорганизмов соответственно; МБК – минимальная бактерицидная концентрация вещества.

[#] Автор для связи (тел.: +7 (383) 330-88-70; эл. почта: luzina@nioch.nsc.ru).

ВВЕДЕНИЕ

Лишайники (лат. *Lichenes*) – группа низших растений, образованных симбиозом гриба (микобионт) и водоросли (фикобионт) или цианобактерии. Симбиотические взаимоотношения между компонентами лишайников сводятся к тому, что фикобионт снабжает гриб созданными им в процессе фотосинтеза органическими веществами, а получает от него воду с растворенными минеральными солями. Лишайники обладают уникальной способностью существовать в крайне неблагоприятных условиях, поскольку их комплексная природа позволяет им получать питание из воздуха, атмосферных осадков, влаги росы и туманов, частиц пыли, оседающей на слоевище, из почвы. Известно, что эти симбиотические организмы являются ценными источниками биологически активных веществ, которые с давних пор используются в меди-

цинских целях, в качестве пищевых добавок, красителей и др. [1].

Для лишайников хорошо известно разнообразие вторичных метаболитов, так называемых лишайниковых веществ, которые производит исключительно микобионт. Пожалуй, наиболее известным вторичным метаболитом лишайников является усниновая кислота (УК), которая продуцируется в *Cladonia* (Cladoniaceae), *Usnea* (Usneaceae), *Lecanora* (Lecanoraceae), *Ramalina* (Ramalinaceae), *Evernia*, *Parmelia* (Parmeliaceae), *Alectoria* (Alectoriaceae) и в других родах лишайников [2]. УК впервые была выделена в 1843 г. из лишайников родов *Ramalina* и *Usnea* [3], годом позже охарактеризована как индивидуальное вещество и получила свое название [4]. Через девять десятилетий было установлено ее химическое строение [5]. В работе [6] впервые было показано, что УК продуцируется микобионтом лишайника, позднее подтверждением этому послужило извлечение УК из изолированных микобионтов лишайников рода *Ramalina* [7].

УК продуцируется в лишайниках в больших количествах, составляя до 8% от сухого веса талломов. Наблюдаются большие сезонные колебания содержания УК в талломах лишайников: пиковый уровень в конце весны и начале лета, и в целом низкий уровень в течение осени и зимы. Содержание УК коррелирует со временем наступления летнего солнцестояния, уровнями солнечной радиации и температурными условиями, зависит от места произрастания лишайника [8, 9].

УК привлекает интерес исследователей, поскольку обладает широким спектром биологической активности. Исследования биологической активности претерпевали всплеск интереса в разные периоды. До открытия пенициллина, УК активно исследовалась как антибиотик широкого спектра действия. С окончания Второй мировой войны до конца 1950-х годов, большинство научных публикаций по УК были связаны с изучением ее антимикробной активности. После 1980-х годов интерес к антибактериальной активности УК вновь повысился из-за выраженной тенденции развития у бактерий резистенции к антибиотикам, вызванной их чрезмерным использованием.

Примерно в одно и то же время (2002 г.) были опубликованы два обзора [2, 10], достаточно широко, но кратко представляющие спектр исследованных биологических возможностей УК. Широкое использование УК в биодобавках привело к ряду случаев интоксикации, после чего исследования сконцентрировались на изучении аспектов ее токсичности и в 2008 г. опубликован обзор Гуо [11], посвященный этой проблеме. Однако, несмотря на ограничения, накладываемые токсичностью УК, в последние годы интерес к изучению ее биологических свойств не упал, а использование современных методов исследований позволило расширить сферы ее применения и более

глубоко и полно раскрыть биологические механизмы ее действия.

Это привело к появлению в 2015 г. еще одного обзора, суммирующего основные биологические свойства этого соединения [12]. Однако в публикации не отражены активно изучаемые за последние десятилетия средства упаковки и доставки УК в биологические ткани. Кроме того, в последнее время интенсивно развивался синтез новых производных УК [13], а изучение их биологической активности также вносит существенный вклад в исследование механизмов биологического действия самой УК и открывает новые перспективы использования этого растительного метаболита в фармакологии.

В настоящей обзорной работе (часть 1 и 2), посвященной разнообразной биологической активности УК и ее производных, рассмотрены публикации последнего десятилетия в сравнении с данными ранее опубликованных обзорных работ [2, 10], привлечены неохваченные ранее исследования. Более кратко, чем в упомянутых обзорах, представлены уже хорошо освещенные в них данные по антибактериальной активности и токсичности УК. Особое внимание уделено возможностям воздействия на биологическую активность УК путем изменения ее биодоступности (использование средств доставки) и химической модификации ее структуры. Также проанализированы данные о зависимости биологической активности УК и ее производных от энантиомерной чистоты. В первой части обзора представлены данные о биосинтезе УК и о биологической активности УК и ее производных в отношении одноклеточных организмов, во второй части описано их влияние на высшие, многоклеточные организмы.

БИОСИНТЕЗ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Исследование биосинтетических путей формирования УК (I) проводилось в 70-е годы XX века группой авторов под руководством Шибата С. [14, 15]. Авторами установлено, что УК относится к биосинтетической группе ацетогенинов, для которой характерно формирование на первой стадии поликетидной цепочки путем конденсации малоновых единиц голова к хвосту; внутримолекулярная циклизация этой цепочки приводит к образованию бензолного кольца.

Последовательность стадий в биосинтезе УК определялась с применением меченых соединений. В экспериментах использовали ацетат натрия, диэтилмалонат, формиат натрия, 3-метил-2,4,6-тригидроксиацетофенон, меченные в соответствующие положения (схема 1). Веществами, содержащими изотопные метки ^{14}C , в виде их водных или спиртовых растворов обрабатывали культивируемые талломы лишайников в течение 3 дней при 25°C и освещении.

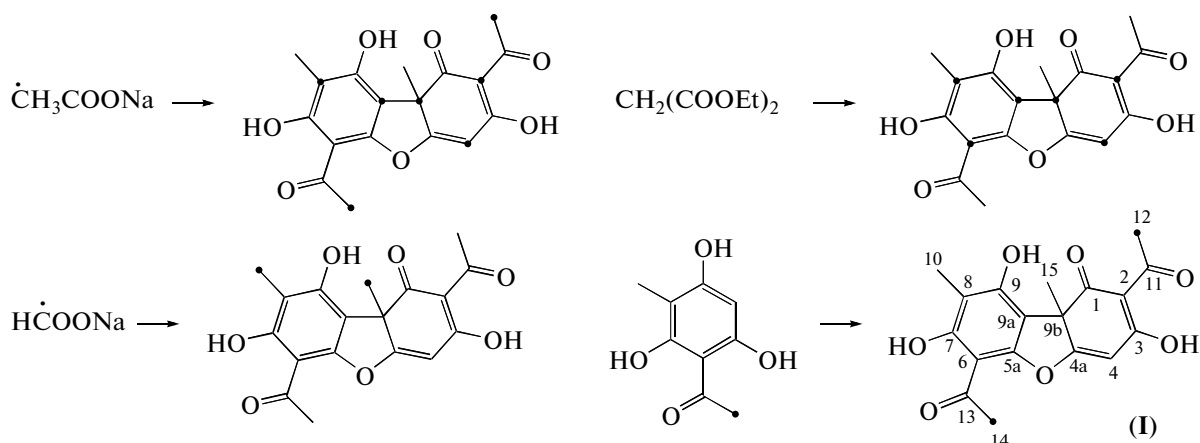


Схема 1. Расположение атомов ^{14}C в молекуле усниновой кислоты при обработке культивируемых талломов лишайников ^{14}C -мечеными ацетатом натрия, диэтилмалонатом, формиатом натрия и 3-метил-2,4,6-тригидроксиацетофеноном.

Обработка [^{14}C]ацетатом натрия талломов привела к образованию УК (I) с метками в положениях C2, C4, C8, C9a, C9b, C14. Метки в положениях C2, C4, C6, C8, C9a, C9b УК были обнаружены после обработки талломов лишайников [^{14}C]диэтилмалонатом, а в положениях C10 и C15 при обработке [^{14}C]формиатом натрия (схема 1). Это позволило авторам работ [14, 15] сделать вывод

о том, что в биосинтезе УК на первоначальном этапе принимает участие поликетидный интермедиат (Ia) (схема 2). На основании результатов экспериментов по обработке талломов меченым формиатом натрия было высказано предположение о том, что метильные группы в положениях C8 и C9b появляются уже на стадии образования поликетидного интермедиата (схема 2).

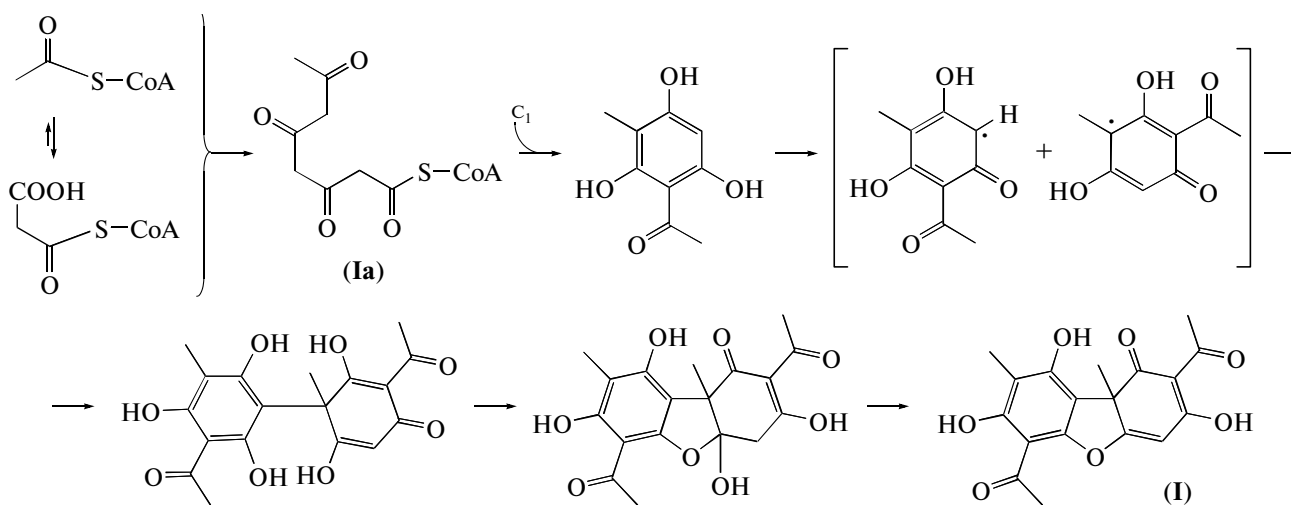


Схема 2. Последовательность стадий в биосинтезе УК.

Данное предположение подтверждено также экспериментами с мечеными 2,4,6-тригидроксиацетофеноном и 3-метил-2,4,6-тригидроксиацетофеноном; при этом обработка талломов лишайников 2,4,6-тригидрокси- ^{14}C ацетофеноном не привела к появлению впоследствии УК с изотопными метками. Напротив, после обработки ^{14}C -меченым 3-метил-2,4,6-тригидроксиацетофеноном была выделена УК с метками в положениях C12 и C14 (схема 1). Та-

ким образом, на основании анализа полученных данных исследователями предложена схема биосинтеза УК [15], представленная на схеме 2.

Исследование, посвященное роли ферментов в биосинтезе УК, опубликовано сравнительно недавно, в 2009 г. [16]. В качестве исходного реагента авторы выбрали коммерчески доступный 2,4,6-тригидроксиацетофенон (схема 3).

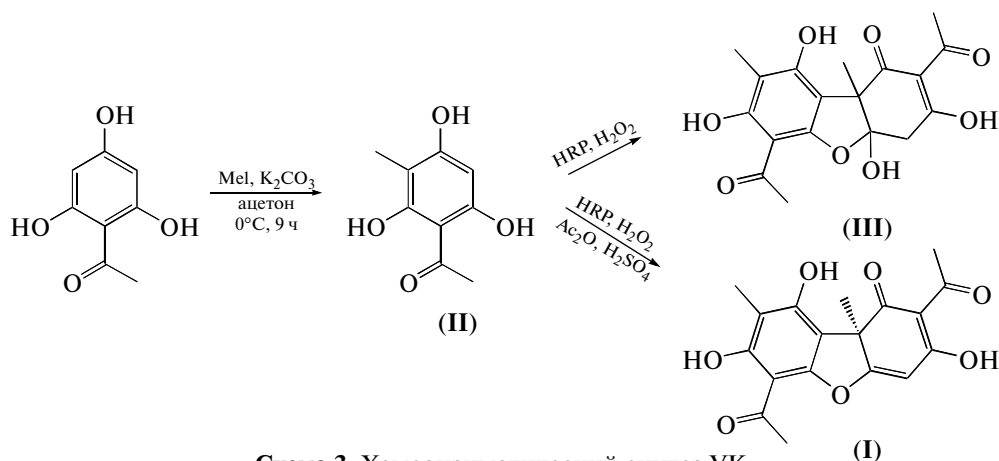


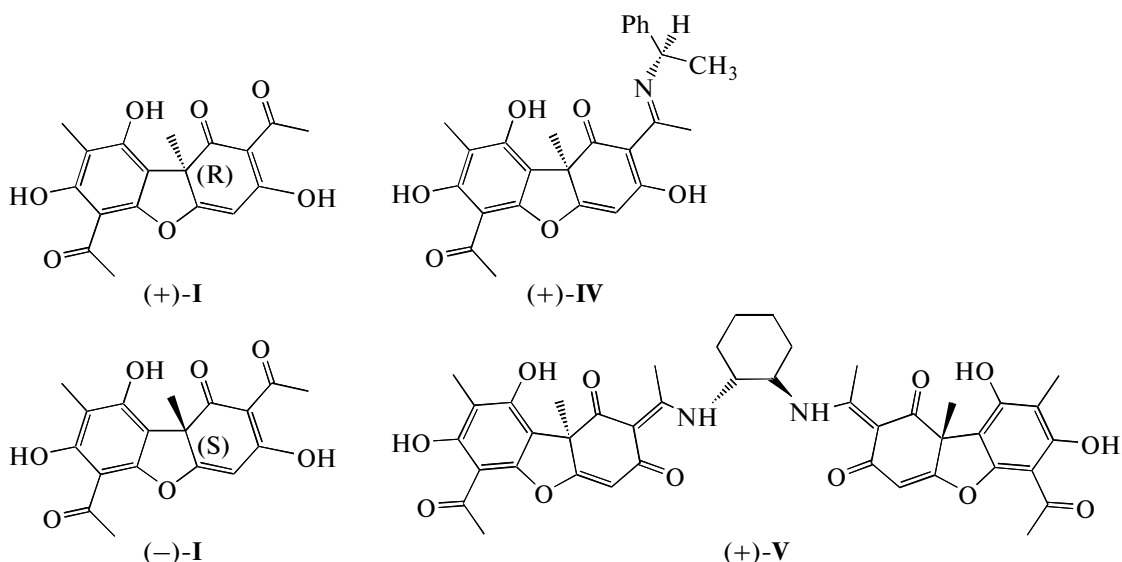
Схема 3. Хемoenзиматический синтез УК.

Метилированием 2,4,6-тригидроксиацетофенона был полученное соединение (II) с выходом 45%, которое в дальнейшем подвергали воздействию пероксидазы хрена (HRP) и H_2O_2 и получали с выходом 37% соединение (III) (схема 3). При включении уксусного ангидрида и серной кислоты на стадии обработки соединения (II) ферментом авторы работы [16] обнаружили в реакционной смеси УК (I). В работе не уточняется, являются ли полученные соединения оптически активными.

АБСОЛЮТНАЯ КОНФИГУРАЦИЯ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Прежде чем обсуждать в сравнении биологическую активность двух энантиомеров УК, необходимо осветить вопрос об определении абсолютной конфигурации асимметрического центра. В мировой литературе существуют разночтения по

этому поводу. Исследователи разных лет приписывали (+)-УК *S*-конфигурацию [17, 18] или же вообще ее не указывали [19]. Авторами работы [20] с целью установления абсолютной конфигурации асимметрического центра УК было осуществлено взаимодействие (+)-УК (+)-(I) с (*S*)-1-фенилэтиламин и на основании результата эксперимента асимметрическому центру в соединении (+)-(IV) приписана *R*-конфигурация. Однако в публикации не были приведены данные рентгеноструктурного анализа (РСА). В работах [21, 22] опубликованы уже подтвержденные методом РСА данные. Авторы изображают (+)-УК с *R*-конфигурацией и публикуют данные РСА соответствующего продукта реакции (+)-УК с оптически активным циклогександиамином (соединение (+)-(V)).



Абсолютная конфигурация УК. Производные УК с оптически активными аминами.

Однако, несмотря на однозначность этих данных, до сих пор многие исследователи изображают (+)-УК и ее производные с *S*-конфигурацией асимметрического центра, по-видимому, опираясь на ошибочное ее представление в каталоге “Sigma-Aldrich”. В данном обзоре по необходимости внесены коррективы в изображения структур, с соотносением структуры (+)-УК с *R*-конфигурацией асимметрического центра.

АНТИВИРУСНОЕ ДЕЙСТВИЕ

Исследования противовирусной активности УК начались относительно недавно. В 1995 г. Ямамото с сотр. [23] тестировали активность (+)-УК в отношении репликации канцерогенного вируса Эпштейна-Барра. Был выявлен ингибирующий эффект (+)-УК на вирус в концентрациях 1.0 мкг/мл, при этом (–)-УК оказалась менее активной, ее эффективная концентрация составила 5.0 мкг/мл.

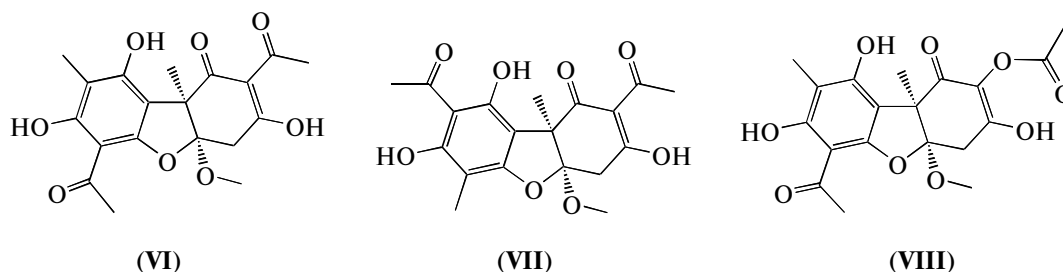
В работе [24] обнаружено, что коммерчески доступная (+)-УК ингибирует цитопатический эффект вирусов герпеса 1-го типа и полиомиелита 1-го типа. Исследования проводились *in vitro* на инфицированных почечных клетках африканских зеленых мартышек. В том же 1999 г. Скриппа с сотр. [25] проводили клинические исследования на 100 пациентках на предмет влияния комплексного препарата сульфат цинка-УК на размножение папилломавируса. Обработка УК-содержащим препаратом значительно ускорила реэпителизацию после радиохирургического вмешательства (65% случаев полной реэпителизации через 1 месяц в сравнении с 28% в контрольной группе), в том числе, предполагают авторы, и за счет ингибирующего действия УК на рост папилломавируса.

В работе [26] показано, что УК является мощным ингибитором пролиферации полиомы мыши. Ряд косвенных данных позволяет предполагать, что механизм активности связан со способностью этого соединения угнетать процесс

вирусной транскрипции. Так, на примере вируса полиомы мышей было показано, что вирусингибирующая активность УК не была связана ни с адсорбцией вирионов на клетке, ни с проникновением их в цитоплазму. При этом количество вирусных транскриптов было существенно снижено по сравнению с контролем. По-видимому, специфической мишенью для УК являются вирусспецифические ферменты, обеспечивающие репликацию вирусных нуклеиновых кислот. Косвенно такой механизм действия подтверждается данными публикации [27], в которой было продемонстрировано супрессивное действие УК на биосинтез РНК.

Авторы работы [28] исследовали противовирусную активность УК в отношении аренавирусов JUNV (Junin, вызывает аргентинскую геморрагическую лихорадку) и TCRV (Tasaripe, непатогенный аренавирус, антигенно близкий JUNV). Пятидесятипроцентное ингибирование роста JUNV наблюдалось при использовании концентрации УК 9.9 мкМ, тогда как МИК₅₀ в отношении непатогенного вируса в два раза выше – 20.6 мкМ. Авторы также определили терапевтические индексы (отношение медианной смертельной дозы к медианной эффективной дозе вещества) УК в отношении патогенного и непатогенного штамма, которые составили 6.8 и 3.2 соответственно.

В работе [29] сообщается, что УК обладает антивирусным действием *in vivo* на культуры зараженных вирусом гриппа (H5N1, H3N2) клеток почечного эпителия MDCK и клеток A549. Действие УК на вирус приближается к действию лекарственного контроля, а именно амантадина. Кроме того, авторы наблюдали тормозящее влияние УК на воспалительные реакции, индуцированные вирусами гриппа. Малоэффективной УК оказалась в отношении респираторно-синцитиального вируса [30], терапевтический индекс УК составил 0.6 (ИК₅₀ 24.7 мкг/мл).

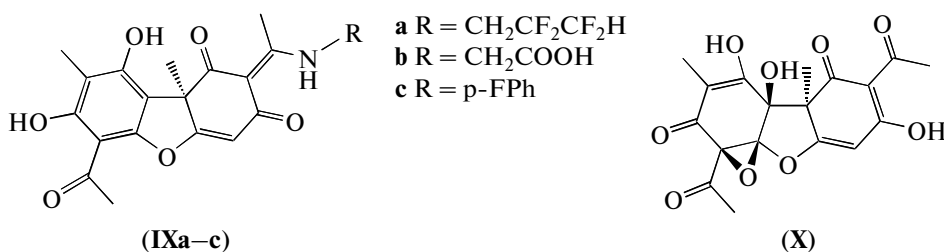


Родственные УК соединения, выделенные из фитопатогенного грибка *Mycosphaerella nawae*.

Родственные УК соединения (VI) и (VII), выделенные из фитопатогенного грибка *Mycosphaerella nawae*, не проявили активность в отношении вируса гриппа В [31]. Зато соединение (VIII) с выведенной из сопряжения экзоциклической кетонной группой в кольце С показало антивирусное действие, ЭД₇₀ составила 30 мкг/мл, цитотоксическая доза в отношении клеток MDCK составила 190 мкг/мл, соответственно терапевтический индекс этого соединения более 6.

Исследование биологической активности обоих энантиомеров УК и производных на их основе в отношении вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)v провели авторы работы [32]. Исследовались в основном енаминовые про-

изводные УК с различными фармакофорными группами в заместителе. Авторы подтвердили высокую эффективность многих производных как ингибиторов репродукции этого вируса, при этом проявляемая активность зависела от абсолютной конфигурации полученных соединений. Если (–)-УК обладает большей противовирусной активностью, чем ее (+)-энантиомер (терапевтические индексы 36 и 9 соответственно), то в парах ее энантиомерных производных существенно большей ингибирующей активностью по отношению к вирусу гриппа (по показателю ЭД₅₀) обладают (+)-энантиомеры.

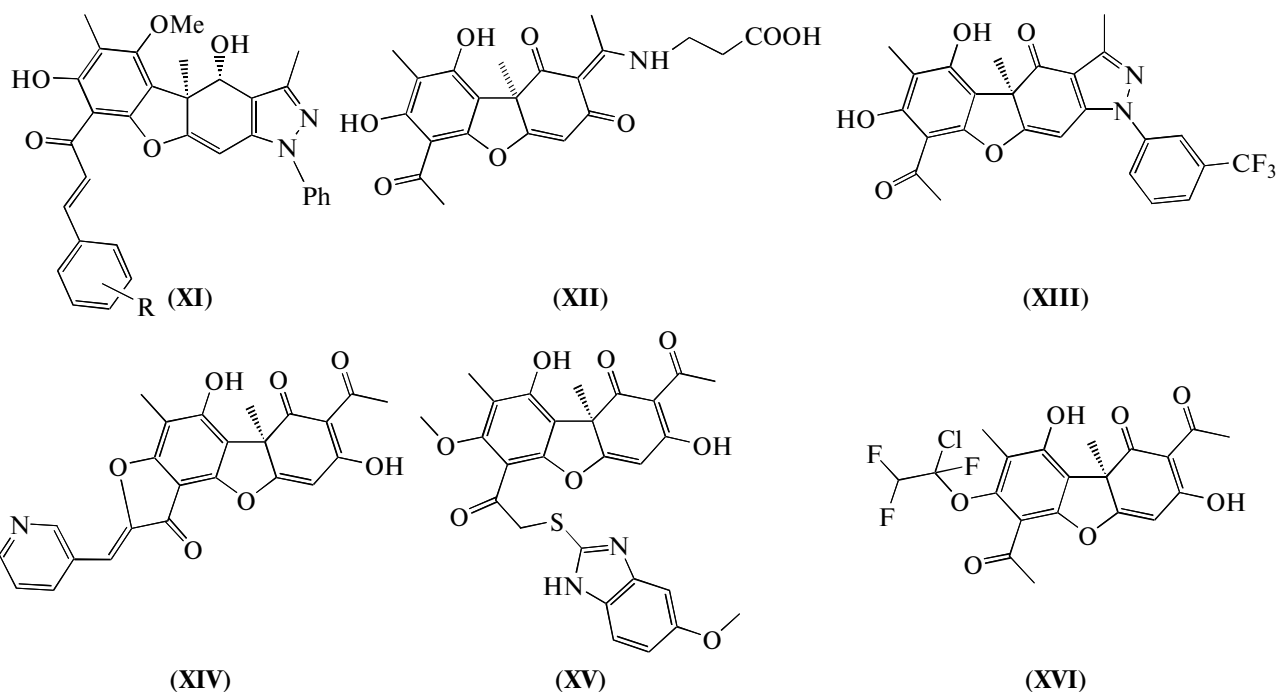


Производные УК, проявившие активность в отношении вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)v.

Наибольшую активность показали енаминовые производные с фторсодержащим (IXa) и глициновым (IXb) заместителями, а также окисленное производное (+)-УК (X), полученное воздействием на УК органических надкислот (терапевтические индексы 15, 32 и 38 соответственно). Среди соединений, полученных реакцией УК с замещенными анилинами, наибольшую активность проявляет также фторзамещенное производное (IXc) (ТИ = 16).

Штро с соавт. [33] подтвердили выраженную общую тенденцию о превалировании ингибирующей активности (+)-энантиомеров. Кроме того, авторы отметили, что, как правило, изменение структуры, приводящее к увеличению ингибирующей активности, влекло за собой и увеличение токсичности. Большинство из 56 протестированных в работе [33] производных УК оказались не активны в отношении вируса гриппа (ТИ < 10). Наибольшей активностью против ви-

руса гриппа обладали халконы (XI), достаточно далекие структурно от исходной УК. В ряду халконов удалось выявить зависимость активности от расположения метоксигрупп в ароматическом кольце халконового фрагмента; предпочтительнее в отношении вируса гриппа H1N1 действуют соединения с метоксильным заместителем в *орто*-положении ароматического кольца (ТИ = 14–20). Также активными оказались единичные представители других структурных групп: соединение (XII) – производное (+)-УК с аминокислотой β-аланином (ТИ = 20), соединение (XIII) – пиразольное производное (+)-УК с трифторметильным заместителем (ТИ = 16), соединение (XIV) – с 3-пиридилильным фрагментом (SI = 22.5), соединение (XV) – с 5-метоксибензимидазольным фрагментом, связанным с кольцом А УК (ТИ = 23) и фторсодержащий эфир УК по фенольному гидроксилу (XVI).



Производные УК, проявившие активность в отношении вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)v.

Суммируя литературные данные, можно сказать, что, как правило, УК проявляет умеренную ингибирующую активность в отношении некоторых вирусов, при этом активность энантиомеров УК различается в зависимости от типа вируса. Предполагается, что механизм антивирусной активности этого соединения связан с его способностью угнетать процесс вирусной транскрипции. Данные по противовирусной активности производных свидетельствуют о перспективности химической модификации УК для получения противовирусных агентов, выражена общая тенденция о превалировании ингибирующей активности (+)-энантиомеров. Стоит отметить, что структурные модификации, сопровождаемые разрушением трикетонной системы кольца C, нарушением сопряжения в кольце A, введением фторсодержащих заместителей приводят к существенному повышению противовирусной активности соединений.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

Оба энантиомера УК проявляют в разной, но сравнимой степени активность в отношении многих бактерий. Большинство исследователей считают, что УК заметно более активна в отношении грамположительных микроорганизмов.

Известна серия работ по изучению антибактериальной активности УК в середине XX века, на-

пример [34–38]. Тестирование проводили методом бумажных дисков, соответственно антибактериальная активность УК (как правило, тестировали неизвестный энантиомер) подтверждена скорее на качественном уровне. Данные этих исследований суммированы в обзорах [2, 10]. Исследованные бактерии – *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, ингибирующая активность отмечена только в отношении первых двух видов грамположительных микроорганизмов.

Следующую волну интереса к антибактериальной активности открыли публикации [39–41]. В этих работах определяли количественно минимальную ингибирующую концентрацию (МИК УК); авторы работ [39] и [41] изучали активность обоих энантиомеров. Кроме того, в последней работе исследовано действие (+)- и (–)-УК в отношении штаммов *St. aureus*, резистентных к метициллину и мупироцину, и подтверждена их чувствительность к действию УК. Последовавшие за этим публикации посвящены антибактериальной активности только одного, наиболее доступного и зачастую более активного, энантиомера (+)-УК [42–54]. Целью этих работ было расширение спектра исследованных микроорганизмов и изучение действия (+)-УК в отношении антибиотикоустойчивых штаммов. МИК в отношении большинства бактерий варьировалась от 2 до 16 мкг/мл. Практически все антибиотикоустойчивые штаммы *Staphylococcus* и *Streptococcus* оказались чувстви-

ны к действию (+)-УК. Однако в работе [55] впервые выявлена устойчивость к действию (+)-УК метициллинрезистентного штамма стафилококка. Среди чувствительных к действию УК грамположительных микроорганизмов бактерии рода *Staphylococcus*: *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. lugdunensis*, *St. pseudintermedius*, рода *Streptococcus*: *Str. faecalis*, *Str. pyogenes*, *Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. macedonicus*, рода *Enterococcus*: *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. galenarum*, рода *Bacillus*: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, рода *Corynebacterium*: *C. amycolatum*, *C. pseudodiphthericum*, фитопатогенная *C. michiganense* [56], а также *Propionibacterium acnes*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Peptococcus magnus*, *Clostridium perfringens*. МИК (+)-УК для этих микроорганизмов от 1 до 16 мкг/мл.

В ряду грамотрицательных микроорганизмов чаще не наблюдается чувствительности к действию УК. Это в первую очередь условно патогенная *Escherichia coli*, а также ряд других микроорганизмов: синегнойная палочка *Pseudomonas aeruginosa*, фитопатогенная *P. syringae* [49], *P. maltophilia*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteridis*, *Veillonella parvula*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Vibrio Harveyi*, *Klebsiella pneumonia*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Aeromonas hydrophila*, *Eubacterium rangiferina* [57]. Однако, обнаружены грамотрицательные бактерии, чувствительные к бактерицидному действию УК, среди них микроорганизмы рода *Bacteroides* (*B. thetaiotaomicron*, *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. ruminicola*, *B. loeschii*) (МИК 1–8 мкг/мл), *Proteus vulgaris* (МИК 36 мкМ), *Yersinia enterocolitica* (МИК 18 мкМ), палочка Плаута *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* (МИК (+)-УК для последних трех 1–2 мкг/мл [42]). Очень любопытно также, что УК оказывает значительное дозозависимое ингибирующее действие на грамотрицательную бактерию *Helicobacter pylori* (МИК₅₀ 0.064, МИК₉₀ 4 мкг/мл) [58, 59].

Значительный ингибирующий эффект УК наблюдался в отношении термо- и кислотоустойчивых микроорганизмов рода *Sulfolobus* – *S. acidocaldanius* и *S. solfataricus* [60]. Эти организмы относятся к домену Археи, строение их клеточной стенки сильно отличается от стенок прокариот и эукариот наличием глицерин-эфирных липидов, с устойчивой к действию кислот и температуры эфирной связью. И (+)- и (–)-УК ингибируют рост этих археобактерий в концентрации 0.7 мкг/мл, что на порядок ниже ингибирующей концентрации, типичной для прокариот.

Работы по антибактериальной активности (–)-УК немногочисленны, что связано, по-видимому, с ее меньшей природной распространенностью и, соответственно, меньшей коммерческой доступно-

стью. Наиболее представительной является работа [41], где впервые проведено сравнение действия обоих энантиомеров УК в отношении широкого спектра анаэробных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Активность обоих энантиомеров была либо равной, либо незначительно активнее была (+)-УК. Грассо и сотр. [40] испытывали на добровольцах зубную пасту, содержащую отдельно каждый из энантиомеров УК. Исследования показали, что (+)-УК эффективнее, чем левовращающий энантиомер, в отношении *Str. mutans*. Работы [61–63] также выявили неплохую ингибирующую активность (–)-УК в отношении и грамположительных, и грамотрицательных микроорганизмов. Особняком стоит работа [61], в которой определены очень низкие минимальные ингибирующие концентрации (–)-УК в отношении *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, и даже грамотрицательных *Proteus vulgaris* и *Aeromonas hydrophila*, но в публикации отсутствуют данные об активности правовращающего энантиомера.

Качественно новым этапом исследований стало изучение практического применения УК как антибиотика – воздействие на образование биопленок микроорганизмов *St. aureus* [64], *Cobetia marina* и *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* [65]. Исследования показали, что УК в концентрациях 30–40 мкг/мл препятствует формированию биопленок *St. aureus* и *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, но не оказывает влияния на *Cobetia marina*. Тестировалась антибактериальная активность УК в отношении биопленок ряда бактерий на медицинском полиуретане [66], биопленок метициллинустойчивого золотистого стафилококка на костном цементе [67], на титановых имплантатах [68], на полимерных имплантатах для барабанных перепонок [69]. Во всех вышеупомянутых публикациях сообщено, что (+)-УК практически полностью подавляет рост биопленок *St. aureus*, однако, не препятствует росту грамотрицательных *P. aeruginosa* [66].

Ряд публикаций посвящен изучению совместного с антибиотиками действия УК. Показано, что УК значительно снижает устойчивость микроорганизмов *St. aureus* и *P. aeruginosa* к антибиотикам [70]. И синергетическое, и антагонистическое действие УК наблюдается *in vitro* для антимикробной активности против метициллинустойчивого клинического изолята золотистого стафилококка при использовании комбинации УК с пятью терапевтически доступными антибиотиками [48]. В работе [69] успешно использовали комбинацию ципрофлоксацина и (+)-УК для предотвращения роста биопленок на ушных имплантатах. Синергизм между УК и кларитромицином против штаммов грамотрицательного микроорганизма *Helicobacter pylori* наблюдали в работе [59]. Отмечается отсут-

ствии синергетического эффекта при действии (+)-УК в комбинации с пенициллином и тетрациклином на *St. aureus*, *St. epidermidis* и *Enterococcus faecalis* [71], при этом в отношении *St. haemolyticus* наблюдалось антагонистическое действие (+)-УК и пенициллина.

Попытки улучшить антибактериальную активность УК предпринимались путем использования средств доставки агента. В качестве средств доставки в работе [72] использовали наноструктуры на основе магнетита (Fe_3O_4) и УК. Исследования, проводимые в отношении роста ряда бактериальных культур и развития биопленок *St. aureus*, *Ent. faecalis*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, показали, что исследуемые наноконструкции обладают более высокой в сравнении с УК антимикробной активностью в отношении *Ent. faecalis* и *E. coli*. Наноструктуры также проявляют значительное ингибирующее действие на биопленки, образованные *St. aureus* и *Ent. faecalis*, в широком диапазоне концентраций, тогда как в отношении грамотрицательных микробных штаммов действуют только при высоких концентрациях, либо вообще не проявляют ингибирующее действие (для биопленки синегнойной палочки *P. aeruginosa*).

Комплексы включения УК в β -циклодекстрин [73], хотя повысили водорастворимость (авторы подразумевали и биодоступность), не показали увеличения антибактериальной активности в отношении золотистого стафилококка *St. aureus*. В то же время инкапсуляция этих комплексов в липосомы дает эффект пролонгации антибактериального действия. Подтвердили отсутствие повышения антибактериальной активности при комплексообразовании с циклодекстринами в работе [74]. Растворимость в воде действительно улучшилась, однако, МИК по отношению к *St. aureus*, *St. epidermidis*, *Micrococcus luteus* и *Ent. faecalis* вырос в 2–4 раза, по отношению к *B. subtilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *P. aeruginosa* (последние три не чувствительны к действию УК) – величина МИК не изменилась. Коллоидные частицы на основе поливинилбензилхлорида, связанного с (+)-УК, тестировали в отношении микроорганизмов *Listeria monocytogenes*, *St. aureus*, *Ent. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* и *K. pneumoniae* [75]. Выявлена высокая антибактериальная активность, МИК достигает 0.12 мг коллоида/мл. Полимерные частицы активны даже в отношении *P. aeruginosa* и *E. coli*, нечувствительных к действию самой (+)-УК, минимальная бактерицидная концентрация (МБК) агента составила 0.94 и 3.75 мг коллоида/мл соответственно. Авторы предполагают, что коллоидная структура улучшает проницаемость бактериальной стенки микроорганизмов.

Безусловно, многие авторы проводили эксперименты по выяснению механизма антибактериальной активности УК. Еще в 1950 г. в экспериментах на клетках млекопитающих авторы работы [76] установили, что УК действует аналогично другим разобщителям окислительного фосфорилирования, таким как динитрофенол и грамицидин, вызывая значительный ингибирующий эффект в концентрации 8×10^{-6} М. В то же время, в статье отмечается значительная разница в проницаемости для УК бактериальных клеток и клеток млекопитающих, что предполагает определенный терапевтический потенциал агента. В работе [77] сообщалось, что УК ингибирует синтез М-протеина грамположительных бактерий *Streptococcus* в той же концентрации (10 мкг/мл), в которой ингибирует их рост. М-протеин, вырабатываемый бактерией, является основным фактором ее вирулентности и помогает микроорганизму проникать в клетку хозяина. Результаты исследований, скорее всего, свидетельствуют о том, что ингибирование синтеза этого белка вносит существенный вклад в бактериостатическое действие УК. Наблюдается определенное влияние УК на содержание нуклеиновых кислот в бактериях. Сообщается также о накоплении РНК в бактериальных клетках *Str. pyogenes* (наблюдается бактериостатическое действие УК) и *E. coli* (нет эффекта) [78]. В работе [54] показано, что УК быстро и эффективно ингибирует синтез РНК и ДНК в грамположительных микроорганизмах *B. subtilis* и *St. aureus*, слабо ингибирует этот процесс, либо же не оказывает на него влияния в грамотрицательных *Vibrio harveyi* и *E. coli* соответственно. Гупта и сотр. [63] сообщают о разрушающем действии УК на бактериальную мембрану *St. aureus*.

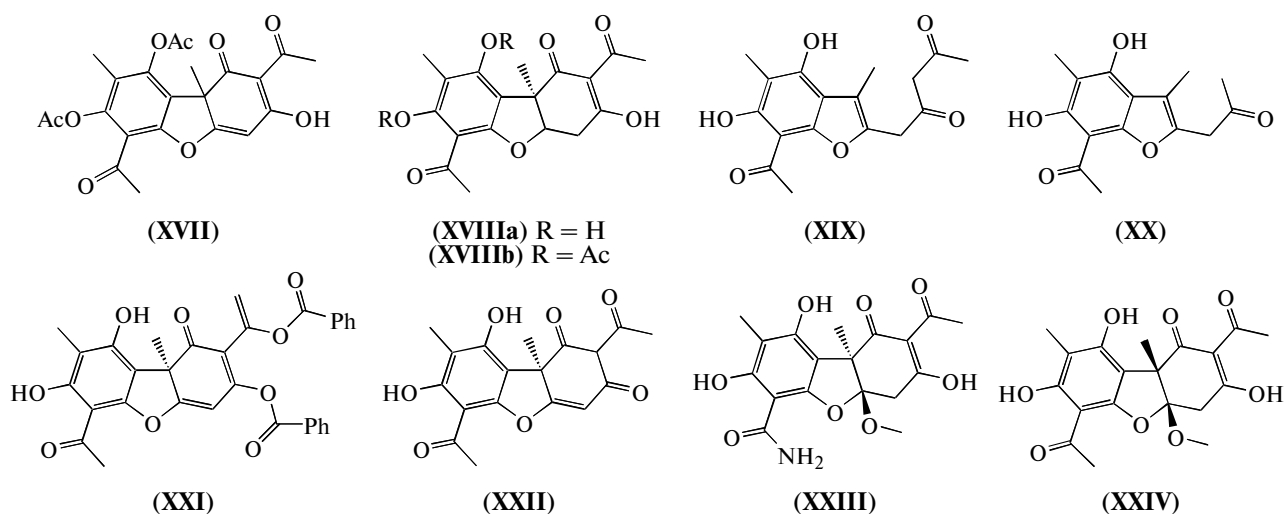
В последнее десятилетие были опубликованы исследования, сообщающие о еще одном аспекте антибактериального действия УК. Авторы работ [66, 70] предполагают, что причиной бактерицидного действия УК наряду с повреждением клеточных стенок, является нарушение чувства кворума микроорганизмов. УК в работе [79] использовали в качестве компонента ранозаживляющей повязки, предполагая именно такой (ингибитор чувства кворума) эффект ее действия.

Суммируя опубликованные результаты, следует заметить, что наиболее выражена антибактериальная активность УК в отношении грамположительных микроорганизмов. Меньшая активность по отношению к грамотрицательным бактериям связана, видимо, с меньшей проницаемостью их мембран с гидрофильными каналами для липофильной УК. Действие обоих энантиомеров отличается незначительно, отмечена несколько большая активность (+)-УК. Основным механизмом бакте-

рицидного действия УК исследователи, как правило, называют ингибирование окислительного фосфорилирования, среди факультативных способов влияния – повреждение клеточных стенок и нарушение чувства кворума микроорганизмов.

Поиск производных УК, обладающих улучшенной активностью в сравнении с самой УК, начался одновременно с изучением ее активности в 50-х годах прошлого века. Изучение антибактериального действия таких соединений, в том числе, помогает понять механизмы биологической активности самой УК.

В работе [34] изучалась активность в отношении *St. aureus* наряду с обоими энантиомерами УК ряда их производных: натриевых солей, ди-ацетил- (XVII), дигидро- (XVIIIa) и диацетилдигидроусниновых кислот (XVIIIb), а также некоторых соединений, полученных деструкцией УК (XIX и XX). Активность, сравнимую с активностью УК, показали только соответствующие натриевые соли, все другие соединения оказались значительно менее эффективны, их бактерицидное действие уменьшается на порядок, и даже на два, для соединений с деструктурированным кольцом C (XIX и XX).



Производные УК, тестированные на антибактериальную активность.

Авторы работы [80] методом бумажных дисков подтвердили, что и дигидроусниновая кислота (XVIIIa), и ее диацетат (XVIIIb) значительно менее активны в отношении *St. aureus*. Также менее активен, чем УК, ее дибензоат (XXI) [81]. Другой структурный вариант с нарушением сопряжения в трикетонной системе кольца C, природное близкородственное УК соединение уснон А (XXII) [82], показало значительное ингибирующее действие в отношении *Salmonella typhi* (в отношении которой УК не активна) и *P. aeruginosa*.

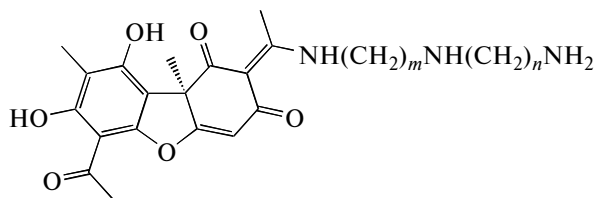
Сасса и сотр. [31] выделили родственные УК соединения из фитопатогенного гриба *Mucosphaerella nawae*. Антибактериальная активность соединений (VI) и (VII) в отношении грамположительных бактерий *St. aureus*, *B. subtilis* одинакова (МИК 6.2 мкг/мл) и сравнима с активностью УК. Как и УК, они неактивны в отношении *E. coli*. Соединение (VIII), сопряжение трикетонной системы в котором разрушено, оказалось неактивным в отношении всех исследованных бактериальных культур. Дибензофурановые соединения (XXIII) и фо-

модион (XXIV) [83] также не отличаются по значению МИК от УК в отношении *E. coli* (>500 мкг) и *St. aureus* (1.6–2.0 мкг/мл).

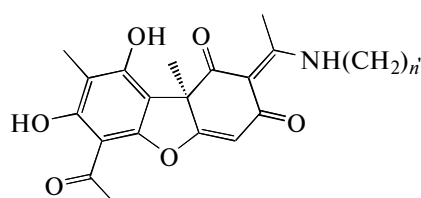
В серии статей 1954–1956 гг. Виртанен и сотр. [84, 85] пытались подтвердить идею о том, что комбинация в одной молекуле двух антибактериальных фрагментов существенно увеличит целевую активность. Авторами синтезирован ряд производных по экзоциклической карбонильной группе в кольце C УК с аминогруппой соединений, обладающих известной антибактериальной активностью. И действительно, в отношении *St. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* в ряде случаев полученные соединения дали снижение действующей антибактериальной концентрации в несколько раз, по сравнению с самой УК. Однако, следует отметить, что авторы не приводят данных по установлению структуры и чистоте новых соединений и потому невозможно определить, что является действующим началом – композиция ли веществ либо же действительно полусинтетические производные.

Работа [86] касается синтеза конъюгатов (+)-УК с полиаминами, также проходящего с модификацией кольца С. Многие из полученных соединений (XXV, XXVI) оказались заметно активнее (+)-УК в отношении *St. aureus* и *Listeria monocytogenes*. Кроме того, авторами выявлена корреляция антибактериальной активности с удлинением цепи заместителя —

наиболее активны енамины с коротким линкером. Соединение (XXVII), один из атомов азота в диаминном заместителе которого кватернизован, также проявляет антибактериальную активность, сравнимую с активностью самой УК, в отношении грамположительных микроорганизмов *St. aureus*, *St. epidermidis*, *Str. pneumoniae*, *Ent. faecalis* [87, 88].

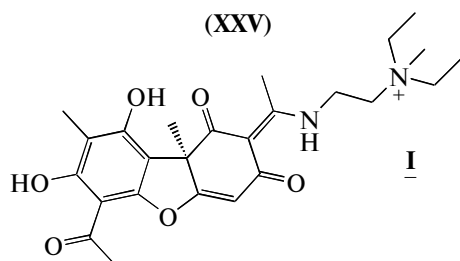


(XXV)

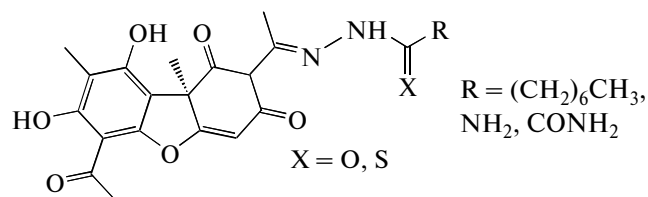


(XXVI)

$n = 3-5$
 $m = 3-6$
 $n' = 3-8$



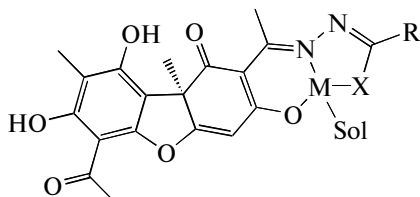
(XXVII)



(XXVIII)

$R = (CH_2)_6CH_3,$
 $NH_2, CONH_2$

$X = O, S$

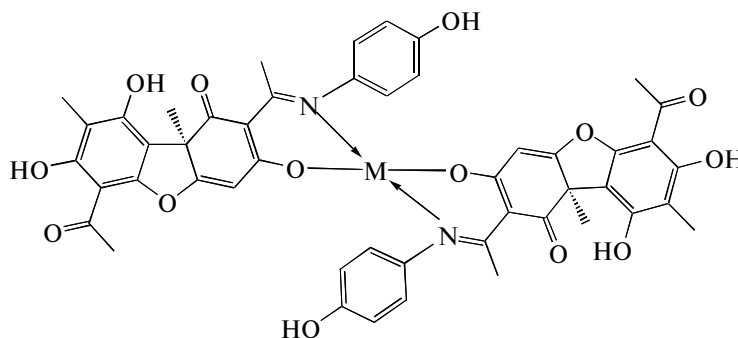


XXIXa, M = Cu

XXIXb, M = Pd

$R = (CH_2)_6CH_3, NH_2, CONH_2$

Sol = EtOH, THF, MeCOEt



(XXX)

M = Cu, Co, Ni, Mn

Енаминопроизводные УК и металлокомплексные производные, проявившие антибактериальную активность.

С другой стороны, енаминопроизводные УК с гидразидами (XXVIII) оказались в несколько раз менее активны, чем УК [89]. Однако авторы работы [90] установили, что антибактериальную активность этих соединений можно увеличить комплексообразованием с ионами металлов. Все производные УК с гидразидами могут служить тридентатными лигандами. Комплексы гидразидов (+)-УК с медью (XXIXa) показали активность в отношении *St. aureus* (МИК 6.5–7.3 мкМ/мл), существенно более высокую, чем свободные гидразиды XXVIII,

и оказались в 2 раза активнее, чем сама (+)-УК (I). Ингибирующая активность в отношении грамотрицательной *E. coli* также увеличивается, но незначительно. Авторы предполагают, что увеличению активности способствует наличие у металла в структуре комплекса вакантной орбитали, способствующей связыванию с внутриклеточным лигандом, например, ДНК или белком.

Подобные же мономерные комплексы, в которых ионом металла наряду с медью выступал Pd(II) (XXIXb), были синтезированы и протестиро-

ваны *in vitro* на ингибирующую рост микроорганизмов активность на культурах *E. coli*, *P. aeruginosa* и *B. subtilis*, в отношении которых УК неактивна [91]. Авторы установили, что все синтезированные комплексы обладают значительной антибактериальной активностью, но комплексы с палладием более активны, чем с медью.

Еще один пример повышения антибактериальной активности производных путем образования металлокомплексных соединений приведен в работе [92]. Авторами были синтезированы гидроксифенилиминопроизводные УК (*ortho*-, *meta*- и *para*-) и получены их комплексы с Cu, Co, Ni и Mn. При исследовании антибактериального действия соединений диско-диффузионным методом в отношении 8 патогенов (*Ent. aerogenes*, *B. brevis*, *M. luteus*, *St. aureus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *Ent. cloacae*, *E. coli*) наибольшую активность проявили комплексы пара-гидроксифенилиминопроизводного УК с Cu и Mn XXX. Повышение антибактериальной активности наблюдается также при переходе от свободного лиганда к комплексам в ряду *ortho*- и *meta*-замещенных гидроксифенилиминопроизводных УК.

Таким образом, исследования антибактериальной активности родственных УК соединений свидетельствуют о важной роли трикетонной системы в механизме антибактериального действия УК; ее полное разрушение однозначно приводит к падению активности. С другой стороны, модификация этого фрагмента в дикетоненаминовый в ряде случаев позволяет синтезировать соединения с более высокой антибактериальной активностью, особенно при использовании комплексов этих производных с ионами переходных металлов.

АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

Первые данные, подтверждающие качественную активность УК в отношении *M. tuberculosis*, были приведены более 60 лет назад [34, 93–99]. Авторы работы [93] сообщили об ингибирующем действии (–)-УК против штаммов туберкулезных бацилл и определили ее действующую концентрацию; ингибирующее действие проявлялось в разведении 1 : 60000, что соответствует концентрации 16.6 мкг/мл. В отношении *M. tuberculosis* активны оба энантиомера УК, причем в большем разведении – 1/160000 (6.25 мкг/мл), также действуют и их натриевые соли [34]. Штоль и сотр. [94] расширили спектр видов исследованных микобактерий (*M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. smegmatis*, *M. spec.*, *M. phlei*) и показали, что и (+)-, и (–)-УК активны в отношении всех микобактерий в еще большем разведении 1 : 400000–1 : 200000 (2.5–5 мкг/мл). Причем для разных штаммов микобактерий действующие концентрации (+)- и (–)-УК незначительно различаются. Авторы работы [97] в

экспериментах *in vivo* на морских свинках показали, что при совместном применении УК (в дозе УК 20 мг на животное) и стрептомицина (1–3 мг) наблюдается синергетический антимикобактериальный эффект, и высказали предположение об ингибирующем действии УК на ДНКазу микобактерий.

Пересмотр этих данных с использованием более современных методов исследования провели в 1998 г. [100]. Было установлено, что (+)-УК проявляет активность в отношении *M. aurum*, непатогенного микроорганизма со сходным *M. tuberculosis* профилем чувствительности, при этом значение МИК составило 32 мкг/мл, что не согласуется с исследованиями середины 20 века (2.5–5 мкг/мл) и говорит о ее весьма посредственной антимикобактериальной активности. Позднее были получены более оптимистичные данные, измеренная МИК (+)-УК в отношении *M. tuberculosis* H37Rv – 16 [101], 12.5 [102] и 5.2 мкг/мл [103]. Невысокое значение МИК УК в отношении *M. tuberculosis* H37Rv (62.5 мкг/мл) в сравнении с предыдущими исследованиями наблюдали Хонда и сотр. [104]. А в отношении *M. smegmatis*, непатогенного родственника *M. tuberculosis*, УК вообще неактивна [52]. Большинство авторов объясняют наблюдаемые различия в измерениях использованием разных методов тестирования.

В связи с повсеместным распространением штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых к широкому спектру известных противотуберкулезных препаратов, в последние годы особое внимание привлекают публикации о соединениях, активных в отношении таких штаммов. Антимикробную активность УК тестировали в отношении клинических изолятов *M. tuberculosis*, устойчивых к известным противотуберкулезным препаратам, – изониазиду (INH), стрептомицину (SMR) и рифампицину (RMP) [105]. МИК₅₀ УК в отношении этих штаммов составил H37Rv 12.25, INHr 1.56, SMRr 6.25 и RMPr 12.5 мкг/мл соответственно (v – вирулентный, r – резистентный штаммы *M. tuberculosis*). Особенно следует отметить высокую активность УК, почти на порядок превышающую активность к традиционному штамму, проявляемую по отношению к INH-устойчивой *M. tuberculosis*. Кроме того, авторы провели исследования на четырех других микобактериальных штаммах, которые приобрели широкую известность как инфекционные агенты в последние несколько лет. Среди них медленно растущие виды *M. avium* и *M. kansasii*, которые чаще всего связаны с распространением легочной инфекции среди иммуноослабленных и пожилых пациентов, и быстрорастущие *M. fortuitum* и *M. chelonae* (связаны с инфекцией мягких тканей и скелета). МИК₅₀ УК составил от 12.5 до 100 мкг/мл, что хоть и выше противотуберкулезной действующей концентрации, но также имеет ценность, поскольку в традиционной медицине отсутствуют эффективные и хорошо переносимые антибиотики для лечения этих инфекций. В попытках определить механизм антимикобакте-

риального действия УК авторы установили только факт, что УК не выводится из клеток эффлюкс-системами. Высокую антимикобактериальную активность (+)-УК в отношении ряда микобактерий также подтвердили авторы работы [106]. МИК₅₀ (+)-УК против *M. tuberculosis* и *M. kansasii* составили 8 мкг/мл, в отношении *M. avium* — 16 мкг/мл.

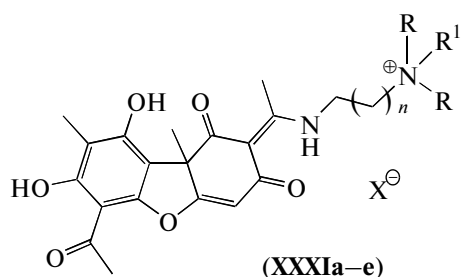
Попытка улучшить антимикобактериальную активность УК была предпринята с использованием липосом в качестве средств доставки [73]. Наблюдаемый эффект был незначительным, МИК₅₀ в отношении *M. tuberculosis* H37Rv УК и УК-LIPO (УК, инкапсулированная в липосомы) составили 6.5 и 5.8 мкг/мл соответственно. Однако авторам удалось снизить МБК в два раза с 32 до 16 мкг/мл.

Первоначальные попытки по тестированию антимикобактериальных свойств производных УК не увенчались успехом. Шибата и сотр. [34] установили, что диацетил- (XVI), дигидро-(XVIIIa) и диацетилдигидро- производные УК (XVIIIb) теряют активность по отношению к *M. avium* в 2–16 раз в сравнении с УК.

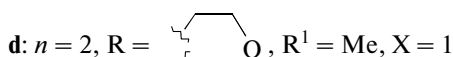
Производные обоих энантиомеров УК, содержащие разнообразные заместители с кватернизованным атомом азота (XXXIa–e), были протестированы в качестве потенциальных противотуберкулезных агентов в тест-системе *Mycobacterium smegmatis* [87, 88]. *M. smegmatis* является быстрорастущей непатогенной бактерией и используется в качестве модельного организма по отношению к микобактериям туберкулеза и для первичного скрининга противотуберкулезных препаратов. Авторы проводили количественную оценку зоны подавления роста микобактерий вокруг бумажных дисков,

пропитанных тестируемыми соединениями. Все кватернизованные соединения проявляют более высокую, чем УК, активность (действующая концентрация которой 75 нМ на диск). Наиболее перспективными антимикобактериальными агентами являются соединения (XXXIa) и (XXXIb), ингибирующие рост *M. smegmatis* в концентрации 10 нМ. Представленные авторами результаты позволяют проследить определенную зависимость активности соединения от структуры заместителя с кватернизованным атомом азота. Увеличение длины линкера между атомами азота снижает активность соединения. Исследование механизма антимикобактериального действия соединений XXXIa–e в системе *Str. lividans* APHVIII+ показало, что их действие не связано с ингибированием серин-треониновых протеинкиназ.

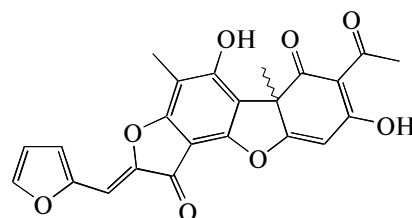
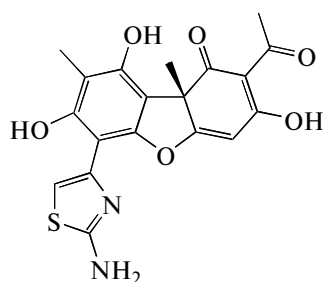
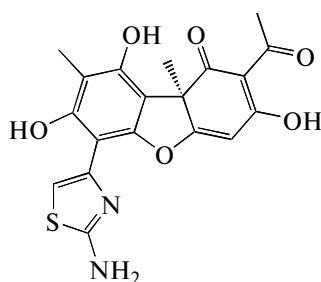
Более высокую активность в тест-системе *M. smegmatis* проявили производные УК, содержащие аминотиазольный заместитель в кольце А УК [107]. Действующая концентрация соединений (XXXII) составила 7.5 нМ на диск для (+)-энантиомера (XXXII) и 10 нМ на диск для соответствующего производного на основе (–)-УК ((–)-XXXII). Минимальная концентрация соединения (+)-(XXXII), ингибирующая рост *M. tuberculosis* на протяжении всего эксперимента (42 дня), составила менее 25 мкг/мл. Следует отметить, что минимальная бактерицидная концентрация (МБК), определенная методом подсчета микроколоний, также менее 25 мкг/мл, что характеризует вещество (+)-(XXXII), как обладающее ярковыраженным бактерицидным действием.



- a: $n = 1$, R = Me, R¹ = Me, X = 1
- b: $n = 1$, R = Et, R¹ = Me, X = 1
- c: $n = 2$, R = Et, R¹ = Me, X = 1



- e: $n = 1$, R = Me, R¹ = Et, X = Br



Производные УК с выявленной антимикобактериальной активностью.

Еще один тип производных (соединение XXXIII) с аннелированным к кольцу А УК фуриленфураноновым фрагментом проявляет противотуберкулезную активность *in vitro* в концентрации 5 мкг/мл (МБК), минимальная ингибирующая рост *M. tuberculosis* на 90% концентрация составила 2.5 мкг/мл [108]. Авторами была также определена МБК этого соединения в отношении как чувствительного лабораторного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, так и клинического штамма с множественной лекарственной устойчивостью MS-115 (МБК 25 мкг/мл). Оба энантиомера соединения (XXXIII) в исследуемых концентрациях оказывают умеренное токсичное действие на интактные макрофаги мыши.

Суммируя данные публикаций, УК действительно проявляет значительную антимикобактериальную активность, существенных различий в действии ее энантиомеров не отмечено. Химические модификации УК нередко приводят к более перспективным в качестве противотуберкулезных агентов соединениям. Высокая активность УК в отношении микобактерий может быть связана с ее липофильностью, что косвенно подтверждается данными об антимикобактериальном действии производных УК.

ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

Поскольку известно, что УК продуцируется микобионтом водорослей [6], то неудивительно, что фунгицидная активность УК невелика. Однако некоторые из работ отмечают заметную биологическую активность УК в отношении дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Одна из первых работ 1967 г. сообщает [109], что УК в дозах 60–200 мкг/мл подавляет рост грибов *Absidia blakesleeana*, *Basidiobolus ranarum*, *Ascoidea rubescens*, *Chaetomium globosum*, *Sordaria fimicola*, *Aspergillus terreus*, *A. clavatus*, *Botrytis cinerea* и не оказывает влияния на *Actinomyces repens*, *Circinella muscae*, *Conidiobolus villosus*, *Cunninghamella echinulata*, *Geopyxis cupularis*, *Morchella angusticeps*, *Taleromyces verniculatis*, *Corticium fuciforme* и *Lentinus lepideus*. Из анализа литературных данных очевидно, что результаты разных работ по активности в отношении, например, грибка, вызывающего молочницу — *Candida albicans*, существенно разнятся. Работы [42, 61] выявили хорошую фунгицидную активность (+)- и (–)-УК в отношении *C. albicans* и *C. glabrata*. Векессер и сотр. [49], наоборот, не обнаружили действия УК на грибы рода *Candida*, отметил лишь ингибирующее влияние (+)-УК на другой дрожжеподобный грибок *Malassezia furfur*. В работе [44] также выявлена незначительная активность в отношении как дрожжеподобных грибов *Candida*, так и целого ряда плесневых *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Mucor*, *Paeci-*

lomyces, *Penicillium*, *Trichoderma*. Отмечается умеренное фунгицидное действие в отношении плесневого гриба *Fusarium* [110] (100 мкг/мл УК — 51% ингибирования), в этой же работе никакого токсического эффекта на пекарские дрожжи *Sacch. cerevisiae* в концентрациях до 300 мкг/мл не отмечалось. Авторы работы [55] определили, что МИК УК в отношении *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Sacch. cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*, *Asp. niger*, *Microsporum gypseum* превышает 250 мкг/мл. И лишь в отношении *Trichophyton rubrum* и *T. mentagrophytes* минимальная ингибирующая концентрация ниже и составляет 100 и 200 мкг/мл соответственно.

УК из *Lecanora muralis* [101] проявляет умеренное ингибирующее действие в дозе 50 мкг на чашку Петри на рост грибов *Ustilago violacea* (головневые грибы), *Mycotypha microspora*, *Eurotium repens*, но не оказывает влияния на *Fusarium oxysporum*. УК также не влияет на рост фитопатогенных грибов *Ophiostoma novo-ulmi* ssp. *americana* и *Sclerotinia sclerotiorum* [111]. Сообщается [112], что УК ингибирует рост дереворазрушающих грибов *Fomes pinicola*, но в отношении другого вида *Allescheria terrestris*, наоборот, стимулирует деструктивное действие грибов в испытанных концентрациях. Одна из последних работ [113] приводит минимальные фунгицидные концентрации (+)-УК в отношении недавно открытых грибов рода *Candida* — *C. orthopsilosis* и *C. parapsilosis* — 125 и 250 мкг/мл соответственно. Следует отметить, что ингибирующие концентрации УК значительно ниже, МИК₅₀ составила 2 мкг/мл для обоих названных видов грибов *Candida*. Интересный эффект наблюдали авторы работы [114]. (+)-УК в концентрациях 10–50 мг/л ингибирует рост *Pisolithus tinctorius*, однако в более высокой концентрации 100 мг/л уже не оказывает влияния на рост этого гриба.

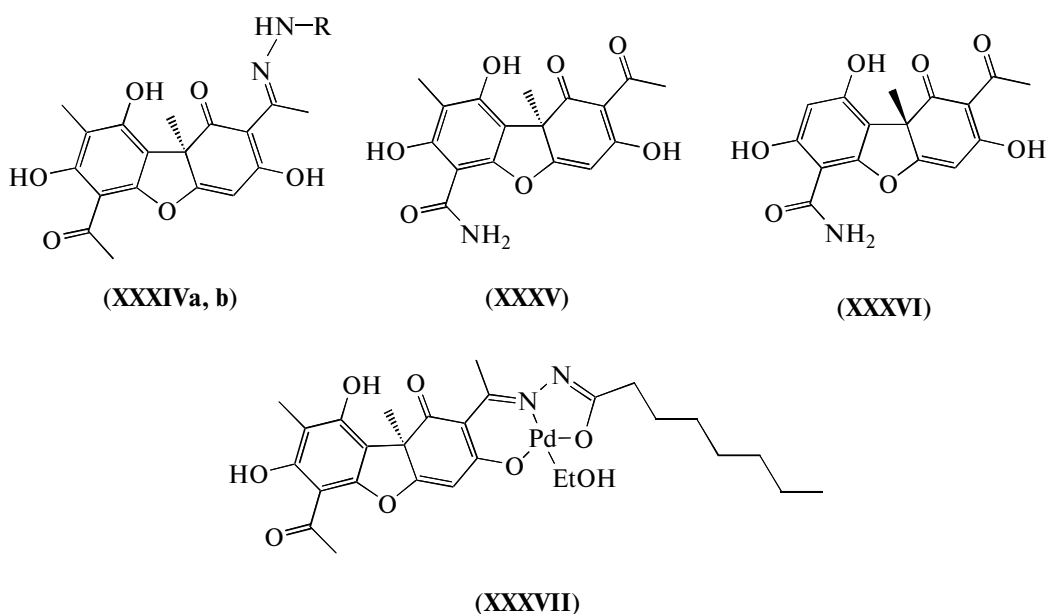
Фунгицидная активность УК может оказаться полезной и для клинического использования [115]. В исследовании пациентов с грибковым поражением *Tinea pedis*, 65 человек отметили значительный терапевтический эффект при обработке пораженных поверхностей УК-содержащим препаратом.

Недавние исследования показали, что использование общепринятых методов доставки не увеличивает ингибирующую активность УК в отношении грибов *Candida*. При использовании комплекса УК с циклодекстрином для обработки двух штаммов гриба *C. albicans* наблюдаемая активность снизилась, МИК комплексов выросла в 2–4 раза [74]. Незначительное увеличение ингибирующей активности наблюдали авторы работы [75] при использовании в отношении грибов *C. albicans* и *C. glabrata* коллоидной системы на основе поливинилбензилхлорида с содержанием 10% (+)-УК.

МИК (+)-УК при обработке обоих видов грибов составил 0.8 мг/л. Коллоид с содержанием (+)-УК 25% показывает более высокую ингибирующую активность со значениями МИК 0.12 и 0.47 мг/л соответственно.

Некоторые авторы отмечают, что из двух энантиомеров УК более активна (–)-УК. Так, в работе [116] отмечено, что (+)-УК неактивна в отношении *Penicillium frequentans* и *Verticillium albo-atrum*, а (–)-УК – ингибирует их рост, хотя и в высокой концентрации – 100 мкг/диск. Ту же тенденцию наблюдали авторы работы [117]. Оба энантиомера УК (используемая концентрация 0.5×10^{-5} М) тестировали в отношении фитопатогенных грибов *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans* и *Ustilago maydis*. (–)-УК ингибирует рост *Ph. infestans* и *U. maydis*, (+)-УК не оказывает такого эффекта. В отношении *P. ultimum* неактивны оба энантиомера.

Многие авторы отмечают, что химические модификации УК могут заметно усилить противогрибковое действие. Так, Прокса и соавт. [116] заметили, что дигидроусниновая кислота (XVIIIa) (диастереомерная смесь) показывает широкий спектр активности в отношении *Penicillium cyclopium*, *P. frequentans*, *Talaromyces flavus* и *Trichosporon cutaneum*, тогда как в отношении большинства из этих грибов оба энантиомера УК индифферентны. Соединения (VI) и (VII), также с гидрированной двойной связью в кольце C, выделенные из гриба *Mycosphaerella nawae* [31], проявляют ингибирующее действие на *Trichophyton asteroides* и *T. rubrus* (МИК 25 мкг/мл). А вот родственное соединение (VIII) с нарушенным трикетонным фрагментом уже абсолютно не активно в отношении *Trichophyton* spp. Также не обладают фунгицидной активностью (*Penicillium cyclopium*, *P. frequentans*, *Talaromyces flavus* и *Trichosporon cutaneum*) 1-фенил и 1-изоникотиноил гидразоны УК (XXXIVa, b) [116].



Производные УК, обладающие фунгицидной активностью.

Более активно, чем оба энантиомера УК, в отношении ряда грибов соединение (XXXV) [118]. Авторы проводили поиск агентов для защиты листьев растений от фитопатогенных грибов. (+)- и (–)-УК в концентрациях 0.05% (водная суспензия) в отношении *Botrytis cinerea* (серая плесень) и *Pyrenophora teres* действуют одинаково, наблюдаемые поражения листьев составили по 40 и 20% соответственно. Соединение (XXXV) представляющее собой амид (+)-УК, проявляет более высокую ингибирующую активность, повреждение листьев грибами происходило лишь на 3 и 10% соответственно. Авторами показано, что эфиры

этого амида по фенольным гидроксильным группам также обладают фунгицидной активностью.

Родственное УК соединение церкоспорамид (XXXVI) проявляет хорошую фунгицидную активность [119]. Это соединение заметно активнее и (+)-УК, и (–)-УК в отношении широкого спектра грибов рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*), *Asp. spp.* и *Sacch. cerevisiae* – МИК от 16 до 128 мкг/мл. Кроме того, церкоспорамид проявляет очень высокую активность по отношению к грибам *Trichophyton* (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*) с МИК от 1 до 6 мкг/мл. Амид УК (XXXV), выде-

ленный из *Cercosporidium henningsii* авторами работы [119], активен только в отношении к грибам *Trichophyton* с МИК от 1 до 4 мкг/мл. Эффективная концентрация амида в отношении остальных исследованных грибов даже выше (больше 512 мкг/мл), чем для обоих энантиомеров УК (более 128 мкг/мл). Церкоспорамид (XXXVI) оказывает ингибирующее влияние также на рост грибов *Pythium ultimum*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Rhizoctonium solani* [84]. Кроме того, авторы выделили дибензофурановое соединение фомодион (XXIV) с выраженным фунгицидным действием. МИК соединений (XXXVI) и (XXIV) в отношении исследованных грибов совпадает и составляет 3, 8 и 8 мкг/мл соответственно.

Некоторое повышение противогрибковой активности наблюдалось для комплексных производных УК с металлами. Так, среди ряда комплексов гидразидных производных УК с металлами, активным в отношении грибка *Aspergillus niger* оказалось лишь комплексное соединение (XXXVII) [91]. Комплексы (XXX) с Cu, Co, Ni и Mn *napa*-гидроксифенилиминопроизводного (+)-УК [92] проявили фунгицидную активность в отношении *C. albicans* и *Sacch. cerevisiae*, если же в качестве лиганда использовать производные УК с иным расположением гидроксильной группы (*ortho*- и *meta*-), наблюдалась лишь незначительная активность.

Таким образом, многочисленные исследования показали, что активность УК в отношении грибов в целом невысокая (МИК, как правило, больше 250 мкг/мл), в тех случаях, когда ингибирующая концентрация достаточно низкая, фунгицидная все равно очень высокая. В ряде публикаций отмечена более высокая активность (–)-УК. Химические модификации различных фрагментов УК, как правило, позволяют существенно повысить фунгицидную активность соединений.

АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ПРОСТЕЙШИХ

Очень ценным качеством УК, обнаруженным относительно недавно, является наличие антипротозойной активности, поскольку медикаментозный рынок таких препаратов очень ограничен, а разрешенные в медицине средства высокотоксичны.

В работе [120] описан сильный дозозависимый эффект (–)-УК *in vitro* на смертность *Trichomonas vaginalis*. Минимальная эффективная концентрация УК составила 0.4 мг/мл, что меньше соответствующей дозы противопротозойного препарата метронидазола (0.6 мг/мл). Исследуя антипротозойную активность (+)-УК *in vivo* на мышах, инфицированных тремя штаммами *Leishmania* spp., авторы обнаружили, что действие УК наблюдается только при введении дозы 25 мг/кг непосредственно в очаг поражения, пероральное и подкожное

введение тех же доз не дает какого-либо эффекта [121]. Позднее авторы работы [55] обнаружили, что 100%-й лизис промастиготной формы *Leishmania amazonensis*, *L. brasiliensis* и *L. infantum* достигается при действии УК в концентрации 100 мкг/мл.

Влияние (+)-УК в различных дозах на рост трипаносом, паразитов, ответственных за возникновение сонной болезни и болезни Шагаса, изучали в работе [122]. Действие (+)-УК на *Trypanosoma cruzi* в эпимастиготной форме проявляется с дозы 5–30 мкг/мл. При этом наблюдается повреждение митохондрий с заметным увеличением объема кинетопластов и вакуолизация митохондрий. Обработка инфицированных макрофагов более концентрированным раствором (+)-УК (40 или 80 мкг/мл) индуцировала разрушение кинетопластов и митохондрий паразита, но без существенных повреждений клеток хозяина. Также восприимчива к лечению УК оказалась трипомастиготная форма паразита, для воздействия на амастиготную форму потребовались несколько более высокие дозы.

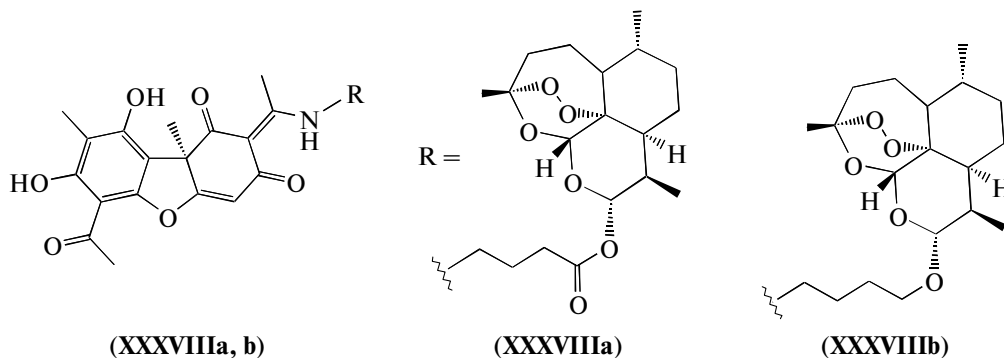
Особое внимание в литературе уделено действию УК на возбудителя малярии *Plasmodium falciparum*. В 1999 г. авторы работы [101] сообщили об отсутствии антималярийной активности УК. Однако позднее в работе [123] установили концентрацию (+)-УК, ингибирующую рост плазмодия на 50%, она оказалась достаточно высокой и составила 26.1 мкг/мл, что соответствует 75 мкМ. Исследования обоих энантиомеров УК [124] выявили их заметную антималярийную активность и определили МИК (+)-УК и (–)-УК в отношении *P. falciparum*, которые составили (ИК₅₀) 15 и 16 мкМ соответственно. Суссманн и соавт. [125] также определили ИК₅₀ (+)-УК в отношении *P. falciparum* – 24 мкМ. Кроме того, авторами высказано предположение о механизме противопаразитарного действия. На основании того, что ингибирование роста *Plasmodium*, вызванное УК, может быть частично восстановлено добавлением α -токоферола, авторы предполагают, что при обработке паразитов УК ингибирует гидроксифенилпируват диоксигеназу (HPPD), что индуцирует перекисное окисление липидов. А витамин Е (α -токоферол) выступает в качестве антиоксиданта, прерывая процесс окисления.

На основании предположения о роли окислительных свойств УК в механизме ее противопаразитарной активности, авторами работ [126, 127] были синтезированы производные УК с измененным трикетонным фрагментом (участвует в механизме цитотоксичности) и сохраненной фенольной частью, ответственной за окислительно-восстановительные свойства.

Среди синтезированных соединений – конъюгаты (+)-УК с аминосоединениями, в том числе содержащими структурные фрагменты с антималярийным действием: енамины с бензильным, пиридинным, индольным и аминоксильными

остатками, с хинолиновым и акридиновым фрагментами, гидразоны с ароматическими фрагментами. Кроме того, авторами синтезированы конъюгаты с дигидроартемизинином, присоединенным либо через остаток γ -аминомасляной кислоты (GABA) (XXXVIIIa), либо через аминобутанольный мостик (XXXVIIIb). МИК (+)-УК, определенная в этой работе, 15 мкМ. Все синтезированные конъюгаты оказались активнее УК, ИК₅₀ соединений составил от 0.05 до 12 мкМ. Но наиболее высокую антималярийную активность проявили производные с дигидроартемизининовыми фрагментами (XXXVIIIa) и (XXXVIIIb), ИК₅₀ 0.001 и 0.01 мкМ со-

ответственно. Дигидроартемизинин в первом соединении связан с УК сложноэфирным мостиком, во втором — простой эфирной связью. Авторы предполагают, что активность (XXXVIIIa) выше за счет возможности гидролиза и освобождения активного начала — дигидроартемизинина. Эту гипотезу проверили также на мышах, инфицированных *P. berdhei*. В дозах 3 мг/кг при введении перорально первое соединение ингибирует рост паразитов на 82%, тогда как второе абсолютно не проявляет ингибирующей активности, при введении внутривенно — разницы в действии соединений (XXXVIIIa) и (XXXVIIIb) нет.



Производные УК, обладающие антималярийным действием.

Таким образом, УК обладает заметной антипротозойной активностью, связанной, по всей видимости, с ее свойствами индуктора перекисного окисления липидов. Не наблюдается разницы в действии энантиомеров УК, при этом химические модификации, основанные на введении фармакофорных фрагментов в кольцо С УК привели к очень перспективным антипротозойным агентам.

АЛЬГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Биологическая активность лишайниковых веществ проявляется в ингибирующем действии на рост водорослей, многие из которых являются фикобионтом, симбиотическим компонентом лишайника, тогда как УК синтезируется вторым компонентом — микобионтом.

Токсичность УК по отношению к несимбиотическим водорослям изучали в работе [128]. Обнаружено, что в концентрации 10 мкг/мл УК подавляет рост одноклеточных зеленых водорослей *Chlamydomonas reinhardtii* на 10–20%. Обработка УК в концентрации 20 мкг/мл приводит к более полному ингибированию роста или даже летальности. Наблюдалось значительное снижение в скорости прорастания зигот (до 11–44%) при ис-

пользовании низких доз УК. Авторы, однако, отмечают, что обработка УК не влияет на процесс гаметогенеза. Сообщается, что УК в концентрации 50 мкг/мл не ингибирует рост другой зеленой водоросли — *Chlorella fusca* [109]. Фитотоксический эффект УК наблюдался в отношении культуры свободноживущей водоросли *Scenedesmus quadricauda* класса зеленых водорослей [129]. Ростингибирующее действие сопровождается увеличением размеров клеток, изменением пигментного состава, сильной деградацией хлорофилла А и увеличением активных форм кислорода в клетках. Фитотоксичность УК на культурах водоросли-фикобионта *Trebouxia erici* была значительно ниже, чем для *Scenedesmus quadricauda*.

Авторы высказывают предположение, что УК в лишайниках может действовать как аллелохемик, который контролирует деление клеток фикобионта, тем самым регулируя баланс между фикобионтом и микобионтом, образующими слоевища. Отсутствие влияния УК на рост симбиотического фикобионта *Trebouxia jamesii* также показали Хагер и соавт. [130]. Однако, в работе [131] установлено, что УК фитотоксична в отношении водорослей *Trebouxia erici*, ингибирует рост, снижает жизнеспособность и флуоресценцию хлорофилла А этого фикобионта. Кроме того, авторы исследовали одновре-

менное действие УК и меди на *T. erici*, и показали, что оба вещества фитотоксичны, и при совместном действии не наблюдается ни синергетического, ни защитного (хелатирующего) эффекта УК. Таким образом, не подтверждается предположение о том, что хелатирующее действие УК по отношению к металлам является способом детоксикации лишайников от тяжелых металлов. Установлено, что натриевая соль УК влияет на проницаемость клеточных стенок в культуре клеток изолированного фикобионта *T. ruum* [132]. Изменение проницаемости мембран водорослей *T. erici* для других органических соединений под действием свободной УК также наблюдали авторы работы [133].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, многочисленные исследования свидетельствуют, что наиболее выражены антибактериальные свойства УК, при этом степень выраженности эффекта связана, видимо, с проницаемостью мембран микроорганизмов для липофильной УК. По этой причине в меньшей степени проявляются антибактериальные свойства УК по отношению к грамотрицательным бактериям, обладающим гидрофильными каналами, а в наибольшей – в отношении микобактерий с гидрофобной клеточной стенкой. Использование липофильных средств доставки позволяет снизить действующую концентрацию УК. Исследования антибактериальной активности родственных УК соединений свидетельствуют о важной роли трикетонной системы в механизме антибактериального действия УК, полное разрушение которой однозначно приводит к падению активности. Активность УК в отношении грибов и водорослей в целом невысокая и, среди последних, наименее выражена по отношению к симбиотическим водорослям.

Умеренная ингибирующая активность в отношении некоторых вирусов связана, по-видимому, со способностью УК угнетать процесс вирусной транскрипции, а антипротозойная активность УК – с ее свойствами индуктора перекисного окисления липидов. Отмечается, что химическая модификация УК перспективна для получения как противовирусных, так и антипротозойных агентов.

Существенных различий в действии энантиомеров УК по отношению к бактериям не отмечено, тогда как противовирусная активность энантиомеров УК различается в зависимости от типа вируса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shukla V., Joshi G.P., Rawat M.S.M. // *Phytochem. Rev.* 2010. V. 9. P. 303–314.
2. Ingoldsdottir K. // *Phytochemistry.* 2002. V. 61. P. 729–736.
3. Rochleder F., Heldt W. // *Liebigs Ann. Chem.* 1843. V. 48. P. 1–18.
4. Knop W. // *Liebigs Ann. Chem.* 1844. V. 49. P. 103–124.
5. Curd F.N., Robertson A. // *J. Chem. Soc.* 1937. P. 894–901.
6. Castle H., Kubsch F. // *Archives of Biochemistry.* 1949. V. 23. P. 158–160.
7. Komiya T., Shibata S. // *Chem. Pharm. Bull.* 1969. V. 17. P. 1305–1306.
8. Bjerke J.W., Elvebakk A., Domirnguez E., Dahlback A. // *Phytochemistry* 2005. V. 66. P. 337–344.
9. Taguchi H., Sankawa U., Shibata S. // *Chem. Pharm. Bull.* 1969. V. 17. № 10. P. 2061–2064.
10. Cocchietto M., Skert N., Nimis P.L., Sava G. // *Naturwissenschaften.* 2002. V. 89. P. 137–146.
11. Guo L., Shi Q., Fang J.L., Mei N., Ali A.A., Lewis S.M., Leakey J.E., Frankos V.H. // *J. Environ. Sci. Health. Part C.* 2008. V. 26. P. 317–338.
12. Araujo A.A.S., de Melo M.G.D., Rabelo T.K., Nunes P.S., Santos S.L., Quintans-Junior L.J., Gelain D.P. // *Nat. Prod. Res.* 2015. DOI: 10.1080/14786419.2015.1007455
13. Соколов Д.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. // *Успехи химии.* 2012. № 8. С. 747–768.
14. Taguchi H., Sankawa U., Shibata S. // *Tetrahedron Lett.* 1966. V. 7. P. 5211–5214.
15. Taguchi H., Sankawa U., Shibata S. // *Chem. Pharm. Bull.* 1969. V. 17. № 10. P. 2054–2060.
16. Hawranik D.J., Anderson K.S., Simmonds R., Sorensen J.L. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009. V. 19. P. 2383–2385.
17. Kutney J.P., Sanchez I.H. // *Can. J. Chem.* 1976. V. 54. P. 2795–2803.
18. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/>
19. Takahashi K., Akai A., Oshima K., Ueda Y., Miyashita S. // *Chem. Pharm. Bull.* 1962. V. 10. P. 607–611.
20. Huneck S., Akinniyi J.A., Cameron A.F., Connolly J.D., Mulholland A.G. // *Tetrahedron Lett.* 1981. V. 22. P. 351–352.
21. Bazin M.-A., Le Lamer A.-C., Delcros J.-G., Rouaud I., Uriac P., Boustie J., Corbel J.-C., Tomasi S. // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. V. 16. P. 6860–6866.
22. Legouin B., Uriac P., Tomasi S., Toupet L., Bondon A., van de Weghe P. // *Org. Lett.* 2009. V. 11. P. 745–748.
23. Yamamoto Y., Miura Y., Kimoshita Y., Higuchi M., Yamada Y., Murakami A., Ohigashi H., Koshimizu K. // *Chem. Pharm. Bull.* 1995. V. 43. P. 1388–1390.
24. Perry N.B., Benn M.H., Brennan N.J., Burgess E.J., Ellis G., Galloway D.J., Lorimer S.D., Tangney R.S. // *Lichenologist.* 1999. V. 31. P. 627–636.
25. Scirpa P., Scambia G., Masciullo V., Battaglia F., Foti E., Lopez R., Villa P., Malecore M., Mancuso S. // *Minerva Ginecologica.* 1999. V. 51. P. 255–260.
26. Campanella L., Delfini M., Ercole P., Iacoangeli A., Risuleo G. // *Biochimie.* 2002. V. 84. P. 329–334.
27. Al-Bekairi A.M., Qureshi S., Chaudhry M.A., Krishna D.R., Shah A.H. // *J. Ethnopharmacol.* 1991. V. 33. P. 217–220.
28. Fazio A.T., Adler M.T., Bertoni M.D., Sepulveda C.S., Damonte E.B., Maier M.S. // *Z. Naturforsch.* 2007. V. 62c. P. 543–549.

29. Wu J., Tao J., Zhu Y., Li C., Huang Z., Yuan T. Application of Usnic Acid in Anti-Influenza Virus Medicaments // Patent CN 101693027. 2010.
30. Lai D., Odimegwu D.C., Esimone C., Grunwald T., Proksch P. // *Planta Med.* 2013. V. 79. P. 1440–1446.
31. Sassa T., Igarashi M. // *Agric. Biol. Chem.* 1990. V. 54. P. 2231–2237.
32. Sokolov D.N., Zarubaev V.V., Shtro A.A., Polovinka M.P., Luzina O.A., Komarova N.I., Salakhutdinov N.F., Kiselev O.I. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. V. 22. P. 7060–7064.
33. Shtro A.A., Zarubaev V.V., Luzina O.A., Sokolov D.N., Kiselev O.I., Salakhutdinov N.F. // *Bioorg. Med. Chem.* 2014. V. 22. P. 6826–6836.
34. Shibata S., Ukita T., Tamura T., Miura Y. // *Jap. Med. J.* 1948. V. 1. P. 152–155.
35. Marshak A., Schaefer W.B., Rajagopalan S. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1949. V. 70. P. 565–568.
36. Möse J.R. // *Arz-neim.-Forsch.* 1955. V. 5. P. 510–513.
37. Klosa J. // *Med. Monatsschr.* 1950. V. 11. P. 816–820.
38. Klosa J. // *Z. Physiol. Chem.* 1951. V. 287. P. 195–204.
39. Ghione M., Parrello D., Grasso L. // *Chemioterapia.* 1988. V. 7. P. 302–305.
40. Grasso L., Ghirardi P.E., Ghione M. // *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 1989. V. 45. P. 1067–1070.
41. Lauterwein M., Oethinger M., Belsner K., Peters T., Marre R. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. P. 2541–2543.
42. Tay T., Türk A.Ö., Yılmaz M., Türk H., Kıvanç M. // *Z. Naturforsch.* 2004. V. 59c. P. 384–388.
43. Yuan C., Zhang X.J., Du Y.D., Guo Y.H., Sun L.Y., Ren Q., Zhao Z.T. // *J. Arch. Chem. Soc. Pak.* 2010. V. 32. P. 189–193.
44. Ranković B., Mišić M., Sukdolac S. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2008. V. 24. P.1239–1242.
45. Paudel B., Bhattarai H.D., Lee H.K., Oh H., Shin H.W., Yim J.H. // *Z. Naturforsch. C.* 2010. V. 65. P. 34–38.
46. Manojlovic N., Gritsanapan W., Milosev M., Manojlovic I. // *Planta Med.* 2007. V. 73. KL_004.
47. Kokubun T., Shiu W.K.P., Gibbons S. // *Planta Med.* 2007. V. 73. P. 176–179.
48. Segatore B., Bellio P., Setacci D., Brisdelli F., Piovano M., Garbarino J.A., Nicoletti M., Amicosante G., Perilli M., Celenza G. // *Phytomedicine.* 2012. V. 19. P. 341–347.
49. Weckesser S., Engel K., Simon-Haarhaus B., Wittmer A., Pelz K., Schempp C.M. // *Phytomedicine.* 2007. V. 14. P. 508–516.
50. Elo H., Matikainen J., Peltari E. // *Naturwissenschaften.* 2007. V. 94. P. 465–468.
51. Zizovic I., Ivanovic J., Misic D., Stamenic M., Djordjevic S., Kukic-Markovic J., Petrovic S.D. // *J. Super-crit. Fluids.* 2012. V. 72. P. 7–14.
52. Ivanova V., Bačkor M., Dahse H.-M., Graefe U. // *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2010. V. 40. P. 377–388.
53. Sultana N., Afolayan A.J. // *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2011. V. 13. P. 1158–1164.
54. Maciąg-Dorszyńska M., Węgrzyn G., Guzow-Krzemińska B. // *FEMS Microbiol. Lett.* 2014. V. 353. P. 57–62.
55. Schmeda-Hirschmann G., Tapia A., Lima B.,ertino M., Sortino M., Zacchino S., de Arias A.R., Feresin G.E. // *Phytother. Res.* 2008. V. 22. P. 349–355.
56. Ark P.A., Bottini A.T., Thompson J.P. // *Plant Dis. Rep.* 1980. V. 44. P. 200–203.
57. Sundset M.A., Kohn A., Mathiesen S.D., Præsteng K.E. // *Naturwissenschaften.* 2008. V. 95. P. 741–749.
58. Luo H., Yamamoto Y., Jeon H.-S., Liu Y.P., Jung J.S., Koh Y.J., Hur J.-S. // *J. Microbiology.* 2011. V. 49. P. 66–70.
59. Safak B., Ciftci I.H., Ozdemir M., Kiyildi N., Cetinkaya Z., Aktepe O.C., Altindis M., Asik G. // *Phytother. Res.* 2009. V. 23. P. 955–957.
60. Grogan D.W. // *J. Bacteriol.* 1989. V. 171, № 12. P. 6710–6719.
61. Yılmaz M., Türk A.Ö., Tay T., Kıvanç M. // *Z. Naturforsch.* 2004. V. 59c. P. 249–254.
62. Ivanova V., Graefe U., Schlege B., Kolarova M., Aleksieva K., Najdenski H., Tzvetkova I., Chipeva V. // *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2004. V. 18. № 1. P. 66–71.
63. Gupta V.K., Verma S., Gupta S., Singh A., Pal A., Srivastava S.K., Srivastava P.K., Singh S.C., Darokar M.P. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2012. V. 31. P. 3375–3383.
64. Pompilio A., Pomponio S., Di Vincenzo V., Crocetta V., Nicoletti M., Piovano M., Garbarino J.A., Di Bonaventura G. // *Future Microbiology.* 2013. V. 8. P. 281–292.
65. Salta M., Wharton J.A., Dennington S.P., Stoodley P., Stokes K.R. // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. P. 21757–21780.
66. Francolini I., Norris P., Piozzi A., Donelli G., Stoodley P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. P. 4360–4365.
67. Kim S., Greenleaf R., Miller M.C., Satish L., Kathju S., Ehrlich G., Post J.C., Sotereanos N.G., Stoodley P. // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2011. V. 22. P. 2773–2780.
68. Grumezescu V., Socol G., Grumezescu A.M., Holban A.M., Ficai A., Trus R., Bleotu C., Balaure P.C., Cristescu R., Chifiriuc M.C. // *Appl. Surf. Sci.* 2013. V. 302. P. 262–267.
69. Labib M.E., Brumlik C.J., Stoodley P., Dukhin S.S., Davidson T., Tabani Y. // *Colloids Surf., A.* 2010. V. 354. № 1–3. P. 331–337.
70. Lazar V., Chifiriuc M.C. // *Romanian Archives of Microbiology and Immunology.* 2010. V. 69. P. 125–138.
71. Gomide Tozatti M., da Silva Ferreira D., Morette Mazza G., da Silva Moraes T., Gomes Martins C.H., Andrade Silva M.L., Januário A.H., Pauletti P.M., Cunha W.R. // *Planta Med.* 2014. V. 80. P2058.
72. Grumezescu A.M., Cotar A.I., Andronescu E., Ficai A., Ghitulica C.D., Grumezescu V., Vasile B.S., Chifiriuc M.C. // *J. Nanopart. Res.* 2013. V. 15. P. 1–10.
73. Lira M.C.B., Ferraz M.S., da Silva D.G., Cortes M.E., Teixeira K.I., Caetano N.P., Sinisterra R.D., Ponchel G., Santos-Magalhães N.S. // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2009. V. 64. P. 215–224.
74. Nikolić V., Stanković M., Nikolić L., Nikolić G., Ilić-Stojanović S., Popsavin M., Zlatković S., Kundaković T. // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2013. V. 76. P. 173–182.
75. Karabacak R.B., Tay T., Kıvanç M. // *React. Funct. Polym.* 2014. V. 83. P. 7–13.

76. Johnson R.B., Feldott G., Lardy H.A. // Arch. Biochem. Biophys. 1950. V. 28. P. 317–323.
77. Brock T.D. // J. Bacteriol. 1963. V. 85. № 3. P. 527–531.
78. Miura Y., Nakamura Y., Matsudaira H. // Bull. Soc. Chim. Biol. 1951. V. 33. № 10. P. 1577–1583.
79. Grumezescu A.M., Andronesco E., Albu M.G., Ficai A., Bleotu C., Dragu D., Lazar V. // Curr. Org. Chem. 2013. V. 17. P. 125–131.
80. Correche E.R., Carrasco M., Escudero M.E., Velazquez L., De Guzman A.M.S. // Fitoterapia. 1998. V. 64. P. 493–501.
81. Melgarejo M., Sterner O., Castro J.V., Mollinedo P. // Revista Boliviana De Química. 2008. V. 25. P. 24–29.
82. Shaheen F., Ahmad M., Khan S.N., Hussain S.S., Anjum S., Tashkhodjaev B., Turgunov K., Sultankhodzhaev M.N., Choudhary M.I., Ata-ur-Rahman // Eur. J. Org. Chem. 2006. P. 2371–2377.
83. Hoffman A.M., Mayer S.G., Strobel G.A., Hess W.M., Sovocool G.W., Grange A.H., Harper J.K., Arif A.M., Grant D.M., Kelley-Swift E.G. // Phytochemistry. 2008. V. 69. P. 1049–1056.
84. Virtanen O.E. // Suomen Kemistilehti. 1954. V. 27B. P. 67–70.
85. Kortekangas A.E., Virtanen O.E. // Suomen Kemistilehti. 1956. V. 29B. P. 2–4.
86. Tomasi S., Picard S., Laine C., Babonneau V., Goujeon A., Boustie J., Uriac P. // J. Comb. Chem. 2006. V. 8. P. 11–14.
87. Салахутдинов Н.Ф., Лузина О.А., Беккер О.Б., Даниленко В.Н. Получение квартернизованных производных усниновой кислоты и их биологические свойства: Патент на изобретение № 2477127 // Б.И. 2013. № 7.
88. Luzina O.A., Sokolov D.N., Pokrovskii M.A., Pokrovskii A.G., Bekker O.B., Danilenko V.N., Salakhutdinov N.F. Synthesis and Biological Activity of Usnic Acid Enamine Derivatives // Chem. Nat. Compd. 2015. V. 51. P. 646–651.
89. Sladic D., Beljanski V., Prelesnik B., Bogdanovic G., Ivanovic I., Andjelkovic K. // J. Serb. Chem. Soc. 1998. V. 63. P. 171–182.
90. Beljanski V., Andelkovic K., Poleti D., Zivoslav T., Brčeski I., Sladic D. // Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem. 1998. V. 28. P. 1607–1617.
91. Natič M., Tešič Z., Anđelković K., Brčeski I., Radulović S., Manić S., Sladič D. // Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem. 2004. V. 34. P. 101–113.
92. Koçer S., Uruş S., Cakır A., Güllüce M., Dığrak M., Alan Y., Aslan A., Tümer M., Karadayı M., Kazaz C., Dal H. // Dalton Transactions. 2014. V. 43. P. 6148–6164.
93. Vartia K.O. // Ann. Med. Exp. et Biol. Fenniae. 1949. V. 27. P. 46.
94. Marshak A. // U.S. Public Health Reports. 1947. V. 62. P. 3–19.
95. Marshak A., Barry G.T., Craig L.C. // Science. 1947. V. 106. P. 394–395.
96. Stoll A., Brack A., Renz J. // Schweizerische Zeitschrift für Pathologie und Bakteriologie. 1950. V. 13. P. 729–751.
97. Marshak A., Kuschner M. // Public Health Reports. 1950. V. 65. P. 131–162.
98. Stoll A., Renz J., Brack A. // Experientia. 1947. V. 111. P. 115–117.
99. Klosa J. // Pharmazie. 1953. V. 8. P. 435–442.
100. Ingólfssdóttir K., Chung G.A.C., Skúlason V.G., Gissurarson S.R., Vilhelmsdóttir M. // Eur. J. Pharm. Sci. 1998. V. 6. P. 141–144.
101. König G.M., Wright A.D. // Phytochem. Anal. 1999. V. 10. P. 279–284.
102. Tosun F., Akyüz Kizilay Ç., Sener B., Vural M. // Pharm. Biol. 2005. V. 43. № 1. P. 58–63.
103. Tasdemir D., Franzblau S.G. // Planta Med. 2007. V. 73. № 9. P. 174.
104. Honda N.K., Pavan F.R., Coelho R.G., de Andrade Leite S.R., Micheletti A.C., Lopes T.I.B. // Phytomedicine. 2010. V. 17. P. 328–332.
105. Ramos D.F., da Silva P.E.A. // Pharmaceutical Biology. 2010. V. 48. № 3. P. 260–263.
106. Lucarini R., Tozatti M.G., de Oliveira Salloum A.I., Crotti A.E.M., Silva M.L.A., Gimenez V.M.M., Groppo M., Januário A.H., Martins C.H.G., Cunha W.R. // African J. Biotechnol. 2012. V. 11. P. 4636–4639.
107. Соколов Д.Н., Лузина О.А., Н.Ф. Салахутдинов О.Б. Беккер, Даниленко В.Н. Аминотиазольные производные усниновой кислоты как новые противотуберкулезные агенты: Патент на изобретение № 2483722 // Б.И. 2013. № 16.
108. Беккер О.Б., Даниленко В.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф., Соколов Д.Н. Фурилиденфурановые производные усниновой кислоты как новые противотуберкулезные агенты: Патент на изобретение № 2533707 // Б.И. 2014. № 32.
109. Bandoni R.J., Towers G.H.N. // Can. J. Biochem. 1967. V. 45. P. 1197–1201.
110. Cardarelli M., Serino G., Campanella L., Ercole P., De Cicco Nardone F., Alesiani O., Rossiello F. // Cell. Mol. Life Sci. 1997. V. 53. P. 667–672.
111. Kowalski M., Hausner G., Piercey-Normore M.D. // Mycoscience. 2011. V. 52. P. 413–418.
112. Henningson B., Lundstrom H. // Mater. Org. (Berl.). 1970. V. 5. P. 19–31.
113. Pires R.H., Lucarini R., Mendes-Giannini M.J.S. // Antimicrob. Agents Chemother. 2012. V. 56. P. 595–597.
114. Goldner W.R., Hoffman F.M., Medve R.J. // Can. J. Bot. 1986. V. 64. P. 1586–1590.
115. De Battisti F., Codolo R., Nicolato A. // Chron. Derm. 1991. P. 375–380.
116. Proksa B., Sturdikova M., Pronayova N., Liptaj T. // Pharmazie. 1996. V. 51. P. 195–196.
117. Halama P., Van Haluwijn C. // BioControl. 2004. V. 49. P. 95–107.
118. Speakmen J.B., Karl R., Lorenz G., Ammerman E., Wuerzer B., Meyer N., Ditrich K. Dihydrodibenzofuran derivatives and fungicides containing these compounds // US Patent № 4983587. 1991.
119. Conover M.A., Mierzwa R., King A., Loebenberg D., Bishop W.R., Puar M., Patel M., Coval S., Hershenthorn J., Strobel G.A. // Phytochemistry. 1991. V. 31. P. 2999–3001.
120. Wu J., Zhang M., Ding D., Tan T., Yan B. // Chinese J. Preventative Med. 1995. V. 13. P. 126–129.

121. Fournet A., Ferreira M.E., Rojas D.A., Torres D.O., Inchausti A., Yaluff G., Quilhot W., Fernandez E., Hidalgo M.E. // *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 1997. V. 116. P. 51–54.
122. De Carvalho E.A.B., Andrade P.P., Silva N.H., Pereira E.C., Figueiredo R.C.B.Q. // *Micron.* 2005. V. 36. P. 155–161.
123. Seaman T., Campbell W., Lategan C., Smith P. // *Planta Med.* 2007. V. 73. P. 137.
124. Verotta L., Appendino G., Bombardelli E., Brun R. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007. V. 17. P. 1544–1548.
125. Sussmann R.A.C., Angeli C.B., Peres V.J., Kimura E.A., Katzin A.M. // *FEBS Letters.* 2011. V. 585. P. 3985–3991.
126. Bruno M., Trucchi B., Monti D., Romeo S., Kaiser M., Verotta L. // *ChemMedChem.* 2013. V. 8. P. 221–225.
127. Verotta L., Monti D. Compounds with antimalarial activity // Patent WO 034512 A1. 2010.
128. Schimmer O., Lehner H. // *Arch. Mikrobiol.* 1973. V. 93. P. 145–154.
129. Bačkor M., Klemová K., Bačkorová M., Ivanova V. // *J. Chem. Ecol.* 2010. V. 36. P. 405–411.
130. Hager A., Brunauer G., Türk R., Stocker-Wörgötter E. // *J. Chem. Ecol.* 2008. V. 34. P. 113–120.
131. Bud'ová J., Bačkor M., Bačkorová M., Židzik J. // *Symbiosis.* 2006. V. 42. P. 169–174.
132. Kinraidew T.B., Ahmadjian V. // *Lichenologist.* 1970. V. 4. P. 234–247.
133. Vainshtein F.A. // *Fiziol. Rast. (Moscow).* 1985. V. 32. P. 1153–1157.

Biological Activity of Usnic Acid and Its Derivatives

Part 1: Activity Against Unicellular Organisms

O. A. Luzina[#], N. F. Salakhutdinov

[#]Phone: +7(383)330-88-70; e-mail: luzina@nioch.nsc.ru

Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
ul. Lavrentjeva 9, Novosibirsk, 630090 Russia

Usnic acid (UA) – available lichen metabolite, its biological activity is varied and of interest for the pharmacopoeia. Simple isolation procedure and high optical purity of the extracted compounds attracted the attention of researchers to the UA as the basis for new pharmacological agents. To date, the achievements of modern science made it possible to expand the scope of the UA biological properties and more deeply and fully reveal the biological mechanisms of its action. Review of the biological activity of the UA and its derivatives summarizes publications of the last decade. New data on the mechanisms of the UA action on living organisms are discussed, the possibility of changing its biological activity by modifying the chemical structure are showed, as well as by changing its bioavailability. Particular attention is paid to perspective of using UA semisynthetic derivatives as pharmacological agents. Data on the influence of the UA enantiomeric purity on its biological activity analyzed. The first part of review presents the UA biosynthesis and biological activity of the UA and its derivatives against unicellular organisms.

Keywords: usnic acid, biological activity, derivatives of usnic acid biosynthesis