

УДК 579.61:615.28

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-2725>

Надточий Вадим Валерьевич, e-mail: nadtochiy-99@mail.ru.

Антибактериальная и антимикотическая активность производных бензофеназина: исследование *in vitro*

**Надточий В.В.¹, Алтоби А.М.К.¹, Аминева П.Г.^{2,3}, Никонов И.Л.^{1,4,5},
Зырянов Г.В.^{1,5}, Русинов В.Л.^{1,5}**

¹ Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина (УрФУ), 620002, Российская Федерация, Екатеринбург, ул. Мира, 19

² Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (УГМУ Минздрава России), 620028, Российская Федерация, Екатеринбург, ул. Репина, 3

³ Общество с ограниченной ответственностью «Кволити Мед», 620142, Российская Федерация, Екатеринбург, ул. Машинная, 1

⁴ Уральский государственный лесотехнический университет (УГЛТУ), 620100, Российская Федерация, Екатеринбург, Сибирский тракт, 37

⁵ Институт органического синтеза имени И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук (Институт органического синтеза имени И.Я. Постовского УрО РАН), 620990, Российская Федерация, Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22

Аннотация

Введение. На сегодняшний день одной из актуальных проблем здравоохранения

является нарастающая антибиотикорезистентность патогенных микроорганизмов. В связи с этим повышается потребность в изыскании новых противомикробных средств для медицинского применения. Ранее нами предварительно был исследован антибактериальный потенциал данной группы соединений, на основании чего мы можем говорить о производных бензофеназина как о перспективных антимикробных агентах. В данной статье представлено исследование противомикробных свойств новых синтезированных соединений группы бензофеназинов.

Цель исследования: оценить антибактериальный и противогрибковый потенциал производных бензофеназина в экспериментальных условиях *in vitro*.

Материал и методы. Применена методика определения противомикробной активности таких производных бензофеназина, как незамещенный бензофеназин-5-ол (VN-13), *о*-метилированный бензофеназин-5-ол (VN-16-3), 4,5-дифторбензофеназин-5-ол (VN-11), а также *о*-метилированный 4,5-дифторбензофеназин-5-ол (VN-35-3) путем титрования в стерильном 96-луночном планшете с последующим высевом на плотные питательные среды. Противомикробную активность соединений регистрировали в отношении таких возбудителей инфекционных заболеваний, как *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*), CRAB (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*), *Burkholderia cenocepacia*, *Candida albicans*. Антибактериальный и противогрибковый потенциал соединений оценивали по наличию или отсутствию роста колоний микроорганизмов в присутствии различных концентраций исследуемых бензофеназинов (от 2000 мкг/мл до 0,016 мкг/мл).

Результаты. По результатам исследования было показано, что все исследуемые производные бензофеназина продемонстрировали антибактериальную активность в отношении *Streptococcus agalactiae* и *Burkholderia cenocepacia*. В отношении других испытуемых штаммов, включая полирезистентные, проявил активность только незамещенный бензофеназин-5-ол под кодом VN-13. Невосприимчивыми к исследуемым соединениям оказались *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Заключение. Показано, что производные бензофеназина проявляют бактерицидную или бактериостатическую активность в отношении ряда бактерий, в том числе полирезистентных штаммов, а также грибов рода *Candida*. На основании полученных результатов можно предполагать актуальность дальнейших исследований в направлении изучения эффективности и безопасности бензофеназинов как перспективных противомикробных и противогрибковых средств.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность; антибактериальная активность; антимикотическая активность; медицинская химия; доклинические исследования; бензофеназины.

Ресурсное обеспечение: исследование проведено на базе микробиологической лаборатории ООО «Кволити Мед».

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания (гос. рег. тема № 124020200072-0).

Для цитирования: Надточий В.В., Алтоби А.М.К., Аминева П.Г., Никонов И.Л., Зырянов Г.В., Русинов В.Л. Антибактериальная и антимикотическая активность производных бензофеназина: исследование *in vitro*. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*.

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-2725>

Antibacterial and antimycotic activity of benzophenazine derivatives: an *in vitro* study

Nadtochiy V.V.¹, Altobee A.M.K.¹, Amineva P.G.^{2,3}, Nikonov I.I.^{1,4,5},
Zyrianov G.V.^{1,5}, Rusinov V.L.^{1,5}

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin (UrFU),
19, Mira str., Yekaterinburg, 620002, Russian Federation

² Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
(USMU), 3, Repina str., Yekaterinburg, 620028, Russian Federation

³ Quality Med. 1, Mashinnaya st., Yekaterinburg, 620142, Russian Federation

⁴ Ural State Forestry Engineering University (USFEU), 37, Sibirskiy trakt, Yekaterinburg, 620100, Russian Federation

⁵ I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; (I.Ya. Postovsky Research Institute, UBRAS), 22, S. Kovalevskaya str., Yekaterinburg, 620990, Russian Federation

Abstract

Introduction. Today, one of the urgent health problems is the increasing antibiotic resistance of pathogenic microorganisms. In this regard, there is an increasing need to find new antimicrobial agents for medical use. Benzophenazine derivatives may be an example of promising antimicrobial agents. This article presents a study of the antimicrobial properties of newly synthesized compounds of the benzophenazine group.

Aim: To evaluate the antibacterial and antifungal potential of benzophenazine derivatives under experimental conditions *in vitro*.

Material and Methods. The antimicrobial activity of a panel of benzophenazine derivatives – unsubstituted benzophenazin-5-ol (VN-13), o-methylated benzophenazin-5-ol (VN-16-3), 4,5-difluorobenzophenazin-5-ol (VN-11), and o-methylated 4,5-difluorobenzophenazin-5-ol (VN-35-3) – was assessed by titration in sterile 96-well plates, followed by plating on solid media. The antimicrobial activity of the compounds was evaluated against pathogens of infectious diseases such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*), CRAB (carbapenem -resistant *Acinetobacter baumannii*), *Burkholderia cenocepacia*, *Candida albicans*. The antibacterial and antifungal potential of the compounds was assessed by the presence or absence of

microbial colony growth at various concentrations of the benzophenazines (from 2000 µg/ml to 0.016 µg/ml).

Results. The study results demonstrated that all tested benzophenazine derivatives exhibited antibacterial activity against *Streptococcus agalactiae* and *Burkholderia cenocepacia*. Against other tested strains, including multidrug-resistant ones, only unsubstituted benzophenazine-5-ol (VN-13) showed activity. *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* ATCC 25922 were resistant to all studied compounds.

Conclusion. Benzophenazine derivatives demonstrate bactericidal or bacteriostatic activity against a number of bacteria, including polyresistant strains, as well as fungi of the genus *Candida*. Based on the results obtained, it is possible to assume the relevance of further research in the direction of studying the efficacy and safety of benzophenazines as promising antimicrobial agents.

Keywords: antibiotic resistance; antibacterial activity; antimycotic activity; medical chemistry; preclinical studies; benzophenazines.

Resource support: the study was conducted on the basis of the microbiological laboratory of Quality Med LLC.

Funding: the work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the state assignment (subject no. state reg. 124020200072-0).

For citation: Nadtochiy V.V., Altobee A.M.K., Amineva P.G., Nikonov I.I., Zyrianov G.V., Rusinov V.L. Antibacterial and antimycotic activity of benzophenazine derivatives: an *in vitro* study. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*.

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-2725>

Введение

Антибиотикорезистентность патогенных микроорганизмов – одна из глобальных проблем современной медицины. Нарастающая устойчивость патогенов к антимикробной терапии повышает количество госпитальных пациентов и летальных исходов среди них, повышая нагрузку на систему здравоохранения в целом. По последним прогнозам, в течение следующих 25

лет более 39 млн человек могут умереть от инфекционных заболеваний, вызываемых антибиотикорезистентными микроорганизмами [1]. Так, Всемирная организация здравоохранения выделяет список приоритетных бактериальных возбудителей для проведения исследований и создания новых антибиотиков. Согласно данному перечню, наиболее приоритетными возбудителями считают *Acinetobacter baumannii*, бактерии порядка *Enterobacterales*, *Mycobacterium tuberculosis*, в отношении которых часто приходится говорить не только о множественной лекарственной устойчивости, но даже и о панрезистентности. Среди прочих мишеней для получения новых антибиотиков также отмечают такие серьезные возбудители инфекционных заболеваний, как *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* и другие [2].

Важно упомянуть о серьезной ситуации с антибиотикорезистентными штаммами не только в мировой практике, но и в российских стационарах, часто об этой проблеме сообщают врачи-клинические фармакологи и врачи отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) многопрофильных больниц. Наиболее угрожающей в российской практике является проблема множественной устойчивости к антибиотикам таких бактериальных штаммов, как *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* [3].

В свете данной проблемы направленное изыскание новых антибактериальных средств является критически значимой задачей, особенно если учесть, что традиционные классы антибиотиков (бета-лактамы, фторхинолоны, гликопептиды) постепенно теряют эффективность из-за распространения бактерий с высокой степенью резистентности (MRSA, VRE, БЛРС-продуцентов). Так, интерес в области медицинской химии и современной фармакологии [4, 5] представляют производные феназина, в том числе бензофеназины, являющиеся соединениями с широким спектром биологической активности. На сегодняшний день в научных публикациях имеется информация об антибактериальных [5–7], противотуберкулезных [8,

9], противогрибковых [10] и противоопухолевых [11] свойствах производных бензофеназина. Немаловажен тот факт, что среди гетероциклических соединений на базе феназинового каркаса уже имеются одобренные и применяемые в клинической практике лекарственные средства. Так, например, препарат клофазимин является значимым средством для терапии туберкулеза с пред-широкой и широкой лекарственной устойчивостью, а также обладает выраженным противолепрозным действием [4]. Ранее нами были рассмотрены современные методологии для синтеза производных бензофеназина, а также представлены сведения о биологической активности данных соединений [12].

Цель исследования: изучить антибактериальные и противогрибковые свойства новых производных бензофеназина в экспериментальных условиях *in vitro*.

Материал и методы

Объектами для оценки антибактериальной и противогрибковой активности стали незамещенный бензофеназин-5-ол (VN-13) и его фторзамещенное производное (VN-11), ранее синтезированные путем конденсации 1,4-нафтохинона и соответствующего диамина в условиях механохимического истирания, а также их алкилированные производные (VN-16-3 и VN-35-3), полученные *o*-метилированием бензофеназинов (рис. 1). Структуры соединений подтверждены методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрического и элементного анализа. Для проведения исследования 5 мг каждого соединения растворяли в пробирках с 1 мл диметилсульфоксида.

Все объемы жидкостей в работе отбирали при помощи автоматических дозаторов переменного объема Sartorius mLine pipette 100–1000 мкл, 1–10 мл (Sartorius, Германия).

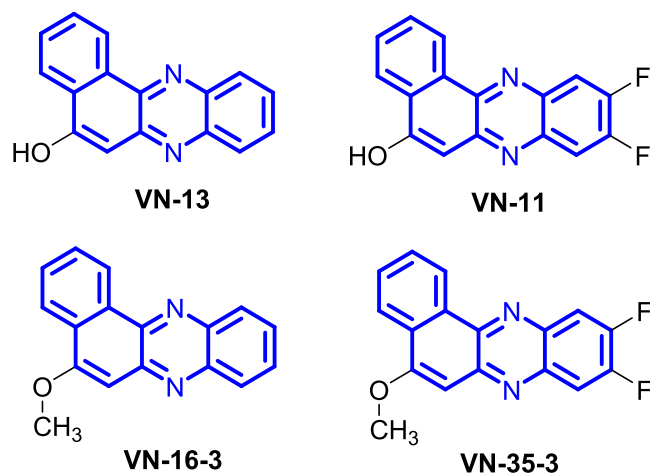


Рис. 1. Структуры и коды синтезированных соединений

Fig. 1. Structures and codes of synthesized compounds

В данной работе использовали методику градиента концентраций, зачастую применяемую для исследования биологической активности перспективных соединений [13-15].

Для проведения исследования были отобраны музейные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 из коллекции микробиологической лаборатории ООО «Кволити Мед», а также выделенные в микробиологической лаборатории ООО «Кволити Мед» из биоматериалов пациентов клинические штаммы *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, клинические полирезистентные штаммы MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*), CRAB (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) и клинический штамм грибов вида *Candida albicans*. Клинические изоляты были идентифицированы методом времяпролетной масс-спектрометрии MALDI-TOF MS на масс-спектрометре VITEK MS (BioMerieux, Франция), после чего были использованы для *in vitro* исследования антибактериальной и противогрибковой активности производных бензофеназина. Выбор бактериальных штаммов для работы обусловлен удобством музейных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* в целях изучения возможной селективности бензофеназинов (грамотрицательные и грамположительные бактерии) как потенциальных

противомикробных агентов. Кроме того, в исследование были активно включены клинические штаммы, в частности полирезистентные возбудители нозокомиальных инфекций, так как нас интересует действие соединений на данные мишени с точки зрения альтернативного пути противомикробного эффекта в присутствии нескольких механизмов резистентности к антибиотикам.

Наличие генов устойчивости к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у резистентных штаммов определяли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с помощью набора «Бакрезиста GLA» и амплификатора «ДТпрайм» (ДНК-Технология, Россия).

Бактериальный / грибковый инокулюм готовили перед исследованием следующим образом: в пробирку со стерильным раствором 4,5 мл натрия хлорида бактериологической петлей вносили культуру микроорганизма под контролем мутности по МакФарланду (0,5) при помощи денситометра DensiCHEK (BioMerieux, Франция), после чего 60 мкл полученной суспензии переносили в пробирки с 13 мл бульона Мюллера - Хинтона (Laboratorios Conda, S.A., Испания) (для бактериальных культур) или бульона Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) (для грибковых культур).

Методика определения чувствительности микроорганизмов к исследуемым соединениям основана на стандарте, утвержденном ГОСТ Р ИСО 20776-2022. Во все лунки стерильного 96-луночного планшета вносили 50 мкл стерильной питательной среды – бульона Мюллера - Хинтона (для оценки роста бактериальных культур в присутствии соединений) или бульона Сабуро (для оценки роста грибковых культур). Затем в первую лунку вносили 100 мкл раствора исследуемого соединения с последующим разведением его по 12,5 мкл от первой до последней лунки стрипа в планшете, после чего в каждую лунку добавляли по 100 мкл бактериального / грибкового инокулюма, по такой же схеме был исследован растворитель – диметилсульфоксид (ЭКОС-1, Россия), чтобы оценить и отделить его возможный противомикробный

эффект от биологической активности исследуемых соединений. В отдельные лунки планшета вносили 100 мкл инокулюма без вещества (положительный контроль) и 100 мкл чистого бульона Мюллера - Хинтона (отрицательный контроль). После внесения всех компонентов в лунки планшет инкубировали в термошейкере (Randox Inc., Великобритания) в течение 10 мин при комнатной температуре, а затем 24 ч инкубировали в микробиологическом термостат-инкубаторе Heratherm IMH60 (ThermoScientific, США) при температуре $35 \pm 0,5$ °C. После инкубирования в термостате был произведен высеv по 10 мкл содержимого лунок на плотные питательные среды (для бактериальных культур был использован мясо-пептонный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), для грибковой культуры – агар Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия)), инкубировали 24 ч в термостате при температуре $35 \pm 0,5$ °C. После инкубирования учитывали результаты исследования.

Нами исследованы 4 соединения (VN-13, VN-16-3, VN-11, VN-35-3). Для каждого соединения проведено 9 измерений, каждое значение которого соответствует минимальной подавляющей концентрации (МПК) (в мкг/мл) для одного из 9 исследованных микроорганизмов. В целом, проанализированы 36 измерений (4 соединения $\times$ 9 микроорганизмов).

Результаты

Ниже представлены результаты исследования антибактериальной и противогрибковой активности синтезированных производных бензофеназина (в виде минимальной подавляющей концентрации, выраженной в мкг/мл) (табл. 1).

Таблица 1. Антибактериальная и противогрибковая активность исследованных соединений

Table 1. Antibacterial and antifungal activity of the studied compounds

Культура микроорганизмов	Коды соединений и минимальные подавляющие концентрации (мкг/мл)			
	VN-13	VN-16-3	VN-11	VN-35-3
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Не активен	Не активен	Не активен	Не активен
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10,3	256,4	51,3	256,4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	51,3	Не активен	Не активен	Не активен
<i>Candida albicans</i>	256,4	Не активен	Не активен	Не активен
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Не активен	Не активен	Не активен	Не активен
MRSA	51,3	Не активен	Не активен	Не активен
VRE	51,3	Не активен	Не активен	Не активен
CRAB	256,4	Не активен	Не активен	Не активен
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	256,4	256,4	256,4	256,4

Примечание: MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRE – vancomycin-resistant *Enterococcus*, CRAB - carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*.

Исследование клинических и музейных штаммов на наличие генов резистентности методом ПЦР-РВ было проведено для оценки антибактериальной активности и способности молекул бензофеназина обходить конкретные механизмы антибиотикорезистентности устойчивых штаммов бактерий. В геноме MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) обнаружен ген *mecA*, в геноме VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*) – ген *vanA*, в геноме CRAB (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) – гены *bla(OXA-40)* и *bla(OXA-51)*. В данном случае ген *mecA* кодирует белок транспептидазу, который позволяет синтезировать пептидогликан для формирования клеточной стенки бактерии в присутствии бета-лактамовых антибиотиков, ген *vanA* позволяет синтезировать субстрат для образования пептидогликана в присутствии гликопептидов, в свою очередь, гены *bla(OXA-40)* и *bla(OXA-51)* кодируют бета-лактамазы – ферменты, способствующие разрушению молекул бета-лактамов.

Учет результатов теста противомикробной активности проводился по

критериям отсутствия роста колоний микроорганизмов (бактерицидное / фунгицидное действие) или ингибирования их роста (бактериостатическое / фунгистатическое действие) в сравнении с растворителем – диметилсульфоксидом (рис. 2).

Так, в отношении музейного штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 соединение VN-13 (незамещенный бензофеназин-5-ол) проявляет бактерицидное действие с МПК = 51,3 мкг/мл, в то время как прочие исследованные соединения не проявили никакой активности. В отношении бактериальных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* активность всех соединений не была выявлена, отмечался рост колоний во всех концентрациях. В отношении клинического штамма *Streptococcus agalactiae* выявили активность всех исследованных производных бензофеназина, в случае VN-13 обнаружили полное отсутствие роста колоний с МПК = 10,3 мкг/мл. В свою очередь МПК соединений VN-16-3, VN-11, VN-35-3 составила 256,4, 51,3 и 256,4 мкг/мл соответственно. Подобная картина наблюдалась по результатам исследования антибактериальной активности бензофеназинов в отношении *Burkholderia cepacia complex*, а именно *Burkholderia cenocepacia*, где соединения VN-13 и VN-16-3, незамещенные фтором в положениях 4 и 5 феназинового гетероцикла, проявляли бактерицидный эффект с МПК = 256,4 мкг/мл в обоих случаях, в то время как 4,5-дифторзамещенные производные VN-11 и VN-35-3 отмечены бактериостатическим эффектом, однако МПК также составила 256,4 мкг/мл. В отношении клинических полирезистентных штаммов MRSA и VRE выявили бактериостатический эффект соединения VN-13 с МПК = 51,3 мкг/мл в обоих случаях, прочие испытываемые молекулы бензофеназина при этом не проявляли активность. В отношении штамма CRAB зарегистрировали бактериостатическую активность только в случае соединения VN-13 с МПК = 256,4 мкг/мл.

Помимо антибактериальной активности производных бензофеназина в нашей работе мы исследовали их противогрибковый потенциал. Так, на

примере *Candida albicans* отмечали фунгистатический эффект VN-13 с МПК = 256,4 мкг/мл, прочие исследованные соединения не проявили активность.

В свою очередь диметилсульфоксид (ДМСО), в котором растворяли соединения для исследования, не показал антибактериальной или противогрибковой активности более первого разведения (в случае штамма *Streptococcus agalactiae* не более второго разведения) (см. рис. 2).

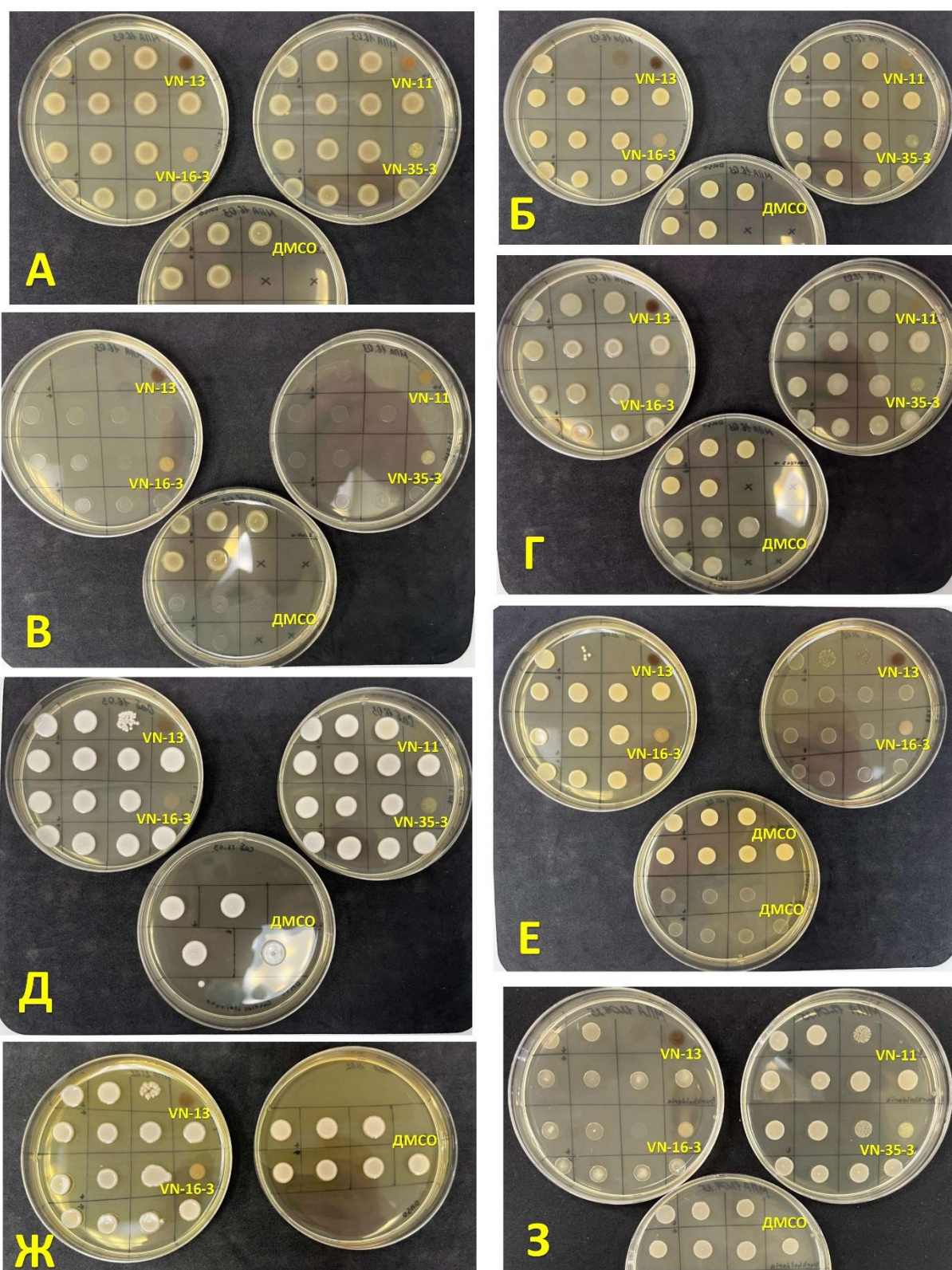


Рис. 2. Результаты исследования противомикробной активности производных бензофеназинов методом градиента концентраций после посева на плотные питательные среды в отношении: А) *Escherichia coli* ATCC 25922, Б) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, В) *Streptococcus agalactiae*, Г) *Pseudomonas aeruginosa*, Д) *Candida albicans*, Е) MRSA (слева), VRE

(справа), Ж) CRAB, 3) *Burkholderia cenocepacia*

Fig. 3. Results demonstrating the antimicrobial activity of benzophenazine derivatives by the concentration gradient method after sowing on solid nutrient medium. A) *Escherichia coli* ATCC 25922, Б) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, В) *Streptococcus agalactiae*, Г) *Pseudomonas aeruginosa*, Д) *Candida albicans*, Е) MRSA (left), VRE (right), Ж) CRAB, 3) *Burkholderia cenocepacia*

В результате все исследованные соединения продемонстрировали антибактериальную активность в отношении клинических штаммов *Streptococcus agalactiae* и *Burkholderia cenocepacia*. В отношении других испытуемых штаммов, включая резистентные, только соединение VN-13 (незамещенный бензофеназин-5-ол) проявило активность, исключение впрочем составили *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* ATCC 25922. Прочие тестируемые соединения не показали антибактериальной или антимикотической активности в отношении исследованных штаммов.

Обсуждение

По результатам проведенных исследований значимые результаты показал незамещенный бензофеназин-5-ол в отношении ряда культур микроорганизмов. Активность других соединений была отмечена только в отношении видов *Streptococcus agalactiae*, который является серьезным патогеном новорожденных детей и *Burkholderia cenocepacia* – возбудителя тяжелых инфекций у пациентов с муковисцидозом, а также иммунокомпрометированных пациентов. В случае прочих соединений отсутствие активности или ее узкий спектр против других испытуемых штаммов может свидетельствовать о важности для этой активности гидроксильной группы как фармакофорного участка, в молекуле феназинового гетероцикла – в молекуле незамещенного бензофеназин-5-ола гидроксил присутствует (см. рис. 1). Представляет особый интерес действие незамещенного бензофеназин-5-ола в отношении клинических

полирезистентных штаммов MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*) и CRAB (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) с имеющимися у них генами резистентности к антибиотикам, а также *Burkholderia cenocepacia*. В случае CRAB и *Burkholderia cenocepacia* отмечается достаточно высокая подавляющая концентрация. Необходимо учитывать, что данные микроорганизмы не являются музейными, выделены у пациентов ОРИТ стационаров и обладают крайне высокой степенью антибиотикорезистентности, поэтому полученные результаты можно считать перспективными. Эффективность незамещенного бензофеназин-5-ола в отношении устойчивых штаммов бактерий может быть связана с тем, что его структура полностью отличается от структуры бета-лактамовых и гликопептидных антибиотиков. Это вещество имеет другие фармакофорные участки, которые не препятствуют конформационному связыванию незамещенного бензофеназин-5-ола с сайтами на поверхности бактериальной клетки, не способствуют формированию альтернативного субстрата для синтеза пептидогликана (в случае VRE и MRSA), а также не инактивируют молекулу бензофеназин-5-ола. Эти суждения необходимо подтверждать дополнительными экспериментальными исследованиями.

Таким образом, незамещенный бензофеназин-5-ол представляет интерес как потенциальный кандидат в антибактериальные и антимикотические средства. В дальнейшем планируется проверка его противомикробного потенциала широким набором бактериальных и грибковых культур и исследованием его дозозависимого эффекта. Прочие производные бензофеназина, попавшие в данное исследование, проявили антибактериальный эффект только в отношении *S. agalactiae* и *B. cenocepacia*, однако их активность следует оценить в отношении и других биологических мишеней, не попавших в данную работу. Примечательно, что добавление фтора в бензофеназиновый каркас не привело к ожидаемому нами потенцированию антибактериального или противогрибкового эффектов, а в большинстве случаев даже снижало их.

По результатам исследования было отмечено отсутствие подавления роста штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* у всех испытуемых соединений, что потенциально может быть связано с особенностями строения наружной мембраны грамотрицательных бактерий, включающей липополисахаридный слой, который может быть барьером для гидрофобных молекул производных бензофеназина. То же можно сказать и об относительно низкой эффективности соединений в отношении *Burkholderia cepacia* и CRAB – представителей грамотрицательных бактерий. Вместе с тем это может указывать на специфическую мишень, отсутствующую или менее уязвимую у данных бактерий.

На основании полученных результатов понятно, что наибольшую активность изученные соединения проявляют в отношении грамположительных возбудителей. Возможным механизмом противомикробного действия производных бензофеназина может быть продукция активных форм кислорода (АФК), интеркалирование в ДНК, ингибирование дыхательной цепи [16]. Грамположительные микроорганизмы за счет строения своей клеточной стенки, благодаря присутствию пептидогликана, наиболее проницаемы для молекул бензофеназинов и наиболее подвержены действию АФК, так как обладают менее развитой системой антиоксидантной защиты, в отличие от некоторых грамотрицательных бактерий. Эта гипотеза требует проверки в дальнейших исследованиях на расширенных выборках микроорганизмов.

Крайне интересным вопросом для рассмотрения является возможность комбинированной схемы для дальнейших доклинических испытаний, а именно изучение возможного синергизма в противомикробном действии при добавлении к раствору бензофеназинов других перспективных соединений. Кроме того, существует необходимость поиска конкретных точек связывания лиганда (молекулы производного бензофеназина) с мишенью, например, методами докинга *in silico*, спектроскопии ядерного магнитного резонанса или микрокалориметрии.

Результаты исследования имеют особое значение в связи с нарастающей устойчивостью бактерий к антимикробной терапии и укрепляют точку зрения на производные бензофеназина как потенциальные противомикробные агенты. Отметим, что при некоторой химической модификации возможно повышение фармакологической активности данных соединений, что является приоритетом для наших дальнейших исследований. Помимо модификации молекул также важно провести оценку острой токсичности соединений, которую можно прогнозировать при помощи методов молекулярного моделирования, а затем подтвердить *in vivo*. Дальнейшие исследования в экспериментальных условиях *in vivo* могут дать расширенную картину фармакодинамических и фармакокинетических параметров интересующих нас производных бензофеназина.

Выводы

1. Незамещенный бензофеназин-5-ол продемонстрировал наиболее выраженную активность среди всех исследованных производных бензофеназина, в том числе:

- высокую антибактериальную активность против *Streptococcus agalactiae* (МПК = 10,3 мкг/мл);
- умеренную антибактериальную активность против *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MRSA и VRE (МПК в пределах 51,3 мкг/мл);
- слабую антибактериальную / антимикотическую активность против *Burkholderia cenocepacia*, CRAB и *Candida albicans* (МПК = 256,4 мкг/мл).

2. *Streptococcus agalactiae* и *Burkholderia cenocepacia* оказались единственными штаммами, показавшими разную степень чувствительности ко всем исследованным производным бензофеназина.

3. *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* ATCC 25922 были устойчивы ко всем испытанным соединениям.

4. Незамещенный бензофеназин-5-ол можно рассматривать в качестве

перспективной молекулы-кандидата в антимикробные средства.

5. Направленная химическая модификация структуры незамещенного бензофеназин-5-ола рекомендована для повышения его антимикробной активности.

Литература / References

1. Naghavi M., Vollset S.E., Ikuta K.S., Swetschinski L.R., Gray A.P., Wool E.E. et al. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404(10459):1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)

2. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/978924009346> (04.02.2025).

3. Зарипова Г.Р., Бакиров Б.А., Кудлай Д.А., Закирова Г.Н., Терегулова Г.Р. Нозокомиальные возбудители у пациентов ОРИТ в многопрофильном стационаре: профиль и резистентность патогенов. *Клин. фармакол. и терапия*. 2025;1:33–39. <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2025-1-33-39>

Zaripova G.R., Bakirov B.A., Kudlay D.A., Zakirova G.N., Teregulova G.R. Nosocomial pathogens in ICU patients in a multidisciplinary hospital: profile and resistance of pathogens. *Clin. pharmacol. and therapy*. 2025;1:33–39. <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2025-1-33-39>

4. Xu J., Koval A., Katanaev V. L. Clofazimine: A journey of a drug. *Biomed. Pharmacother*. 2023;167:115539. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115539>

5. Thalhammer K.O., Newman D.K. A phenazine-inspired framework for identifying biological functions of microbial redox-active metabolites. *Curr. Opin. Chem. Biol*. 2023;75:102320. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.102320>

6. Olyaei A., Ghaleghovandi N., Moghadami F., Sadeghpour M., Abediha S. Design, synthesis, antimicrobial, antibiofilm evaluation and Z/E-isomerization of

novel 6-((arylamino)methylene)benzo[*a*] phenazin-5(6H)-ones induced by organic solvent. *RSC Adv.* 2023;13(42):29393–29400. <https://doi.org/10.1039/d3ra05788g>

7. Krishnaiah M., Almeida N., Udumula V., Song Z., Chhonker Y.S., Abdelmoaty M.M. et al. Synthesis, biological evaluation, and metabolic stability of phenazine derivatives as antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2018;143:936–947. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.026>

8. Garrison A.T., Abouelhassan Y., Norwood V.M., Kallifidas D., Bai F., Nguyen M.T. et al. Structure-activity relationships of a diverse class of halogenated phenazines that targets persistent, antibiotic-tolerant bacterial biofilms and *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Med. Chem.* 2016;59:3808–3825. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b02004>

9. Garrison A.T., Abouelhassan Y., Kallifidas D., Bai F., Ukhanova M., Mai V. et al. Halogenated phenazines that potently eradicate biofilms, MRSA persister cells in non-biofilm cultures, and *Mycobacterium tuberculosis*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2015;54(49):14819–14823. <https://doi.org/10.1002/anie.201508155>

10. Qin C., Yu D., Zhou X., Zhang M., Wu Q., Li J. et al. Synthesis and antifungal evaluation of PCA amide analogues. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2019;21(6):587–596. <https://doi.org/10.1080/10286020.2018.1461843>

11. Le-Nhat-Thuy G., Thi T.A.D., Thi Q.G.N., Thi P.H., Nguyen T.A., Nguyen H.T. et al. Synthesis and biological evaluation of novel benzo[*a*]pyridazino[3,4-*c*]phenazine derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2021;43:128054. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128054>

12. Nadtochiy V.V., Nikonov I.L., Zyryanov G.V. Modern approaches to the synthesis of phenazine derivatives (microreview). *Chem. Heterocycl. Comp.* 2024;60:233–235. <https://doi.org/10.1007/s10593-024-03325-z>

13. Shi Z., Zhang J., Wang Y., Hao S., Tian L., Ke C. et al. Antibacterial effect and mechanisms of action of forsythoside B, alone and in combination with antibiotics, against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Phytomedicine*. 2024;135:156038. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.156038>

14. Yadav J., Kaushik C.P. Sulfonamide tethered 1,4-disubstituted 1,2,3-

triazoles: Synthesis and antibacterial evaluation. *Synthetic Communications*. 2024;54,7:536–552. <https://doi.org/10.1080/00397911.2024.2320842>

15. Esposito A., D'Alonzo D., Stabile M., Firpo V., Migliaccio A., Artiano R. et al. Synthesis of a di-*O*-acylated deoxynojirimycin (DNJ) derivative and evaluation of its antibacterial and antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Carbohydr. Res.* 2025;550:109379. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2025.109379>

16. Yan J., Liu W., Cai J., Wang Y., Li D., Hua H. et al. Advances in phenazines over the past decade: review of their pharmacological activities, mechanisms of action, biosynthetic pathways and synthetic strategies. *Mar. Drugs*. 2021;19(11):610. <https://doi.org/10.3390/md19110610>

Информация о вкладе авторов

Надточий В.В. – разработка дизайна исследования, проведение исследования, подготовка рукописи; Алтоби А.М.К. – подготовка соединений для исследования, подготовка рукописи; Аминева П.Г. – разработка дизайна исследования, консультирование по вопросам медицинской микробиологии; Никонов И.Л. – консультирование по вопросам органического синтеза; Зырянов Г.В. – консультирование по вопросам органического синтеза, проверка интеллектуального содержания исходного варианта статьи и ее корректировка; Русинов В.Л. – общее руководство, разработка концепции исследования, подготовка рукописи.

Information on author contributions

Nadtochiy V.V. – study design, research, preparation of the manuscript; Altobee A.M.K. – preparation of compounds for research, preparation of the manuscript; Amineva P.G. – study design, advising on medical microbiology; Nikonov I.L. – advising on organic synthesis; Zyrianov G.V. – advising on organic synthesis issues, checking the intellectual content of the original version of the article and correcting it; Rusinov V.L. – general management, study concept, preparation of

the manuscript.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Conflict of interest: the authors do not declare a conflict of interest.

Сведения об авторах

Надточий Вадим Валерьевич, аспирант, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия, e-mail: nadtochiy-99@mail.ru; <http://orcid.org/0009-0001-4760-7315>.

Алтоби Акил Махди Кетаб, аспирант, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия, e-mail: aqeel.mahdi96@mail.ru; <http://orcid.org/0009-0008-0040-495X>.

Аминева Полина Геннадьевна, заведующий лабораторией, врач-медицинский микробиолог, Кволити Мед; ассистент, кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики, аспирант, УГМУ МЗ РФ, Екатеринбург, Россия, e-mail: pga@qualitymed.ru; <http://orcid.org/0000-0001-9752-5054>.

Никонов Игорь Леонидович, канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина; научный сотрудник, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия; доцент, УГЛТУ, Екатеринбург, Россия, e-mail: igor.nikonov.ekb@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-2493-0056>.

Зырянов Григорий Васильевич, д-р хим. наук, профессор, кафедра органической и биомолекулярной химии, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина; главный научный сотрудник, ИОС

им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия, e-mail: g.v.zyrianov@urfu.ru; <http://orcid.org/0000-0002-9692-2346>.

Русинов Владимир Леонидович, д-р хим. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий кафедрой органической и биомолекулярной химии, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина; ведущий научный сотрудник, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия, e-mail: v.l.rusinov@urfu.ru; <http://orcid.org/0000-0002-1705-4078>.

Information about the authors

Vadim V. Nadtochiy, Graduate Student, UrFU, Yekaterinburg, Russia, e-mail: nadtochiy-99@mail.ru; <http://orcid.org/0009-0001-4760-7315>.

Aqeel M.K. Altobee, Graduate Student, UrFU, Yekaterinburg, Russia, e-mail: aqeel.mahdi96@mail.ru; <http://orcid.org/0009-0008-0040-495X>.

Polina G. Amineva, Head of the Laboratory - Medical Microbiologist, Quality Med; Assistant, Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, USMU; postgraduate student, USMU, Yekaterinburg, Russia, e-mail: pga@qualitymed.ru; <http://orcid.org/0000-0001-9752-5054>.

Igor L. Nikonov, Cand. Sci. (Chem.), Leading Research Scientist, UrFU; Researcher, I.Ya. Postovsky Research Institute, UBRAS; Associate Professor, USFEU, Yekaterinburg, Russia, e-mail: igor.nikonov.ekb@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-2493-0056>.

Grigory V. Zyrianov, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Department of Organic and Biomolecular Chemistry, UrFU; Chief Researcher, I.Ya. Postovsky Research

Institute, UBRAS, Yekaterinburg, Russia, e-mail: g.v.zyrianov@urfu.ru;
<http://orcid.org/0000-0002-9692-2346>.

Vladimir L. Rusinov, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department, Department of Organic and Biomolecular Chemistry, UrFU; Leading Research Scientist, I.Y. Postovsky Research Institute, UBRAS, Yekaterinburg, Russia, e-mail: v.l.rusinov@urfu.ru; <http://orcid.org/0000-0002-1705-4078>.

Поступила 08.07.2025;
рецензия получена 29.07.2025;
принята к публикации 27.08.2025.

Received 08.07.2025;
review received 29.07.2025;
accepted for publication 27.08.2025.