

# 氯己定及其类似物对鲍曼不动杆菌抑制的构效关系研究

雷娥, 冯欣欣

(湖南大学化学生物学与纳米医学研究所, 长沙 410006)

**摘要:** 目的: 研究氯己定以及合成的氯己定类似物对临床分离的鲍曼不动杆菌的活性, 在此基础上进一步探究它们对鲍曼不动杆菌抑制的构效关系。方法: 在参考文献的基础上合成一系列氯己定类似物, 并利用微量液体稀释法在 96 孔板中测试它们对两株临床分离的鲍曼不动杆菌的最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC)。根据所获得的 MIC 值来进一步讨论它们对鲍曼不动杆菌抑制的构效关系。结果: 对氯己定及其类似物而言, 中间链的长度, 端基链的长度以及对称的双胍阳离子基团对其抗菌活性都有很大的影响。

**关键词:** 鲍曼不动杆菌; 氯己定; 最小抑菌浓度 (MIC); 脂质 A; 结构-活性关系

**中图分类号:** [Q939.93]

## Research on the structure-activity relationship of chlorhexidine and its analogs against *A. baumannii* inhibition

LEI E, FENG xinxin

(Institute of Chemical Biology and Nanomedicine, Hunan University, Changsha 410006)

**Abstract:** Objective: To determine the antibacterial activity of chlorhexidine and its analogs against two clinical isolates of *A. baumannii*, and to further explore their structure-activity relationship against *A. baumannii* inhibition. Methods: A series of chlorhexidine analogs were synthesized according to reported references, and their minimal inhibitory concentration (MIC) against two clinical isolates of *A. baumannii* was tested in a 96-well plate using the microscale broth dilution method. Their corresponding structure-activity relationship in *A. baumannii* inhibition was discussed according to the obtained MIC values. Results: For chlorhexidine and its analogs, the length of the linker, the length of the terminal chain and the symmetrical biguanidine cationic group all had a great influence on their antibacterial activity against *A. baumannii*.

**Key words:** *A. baumannii*; Chlorhexidine; Minimum inhibitory concentration (MIC); Lipid A; Structure-activity relationship

## 0 引言

2017 年 2 月, 世界卫生组织发布了急需使用新型抗生素的“优先病原体”清单<sup>[1]</sup>。该清单分为三类: 关键、高级和中等优先级。在“优先病原体”清单中, 碳青霉烯耐药的鲍曼不动杆菌 (carbapenem-resistant *A. baumannii*, CRAB) 是位列第一的关键病原体。鲍曼不动杆菌对各种环境具有非凡的适应能力, 可以在干燥条件下 (包括窗帘, 家具和医院设备上) 长期滞留<sup>[2]</sup>。鲍曼不动杆菌主要会导致呼吸机或导管相关的肺炎、血液感染和尿路感染; 此外其还与火灾及战争造成的伤口或皮肤软组织的感染等密切相关<sup>[3,4]</sup>。最重要的是, 鲍曼不动杆菌

作者简介: 雷娥 (1994-), 女

通信联系人: 冯欣欣 (1987-), 女, 副教授、博导, 主要研究方向: 抗生素的开发. E-mail: xinxin\_feng@hnu.edu.cn

40 感染导致的死亡率高达 70%<sup>[5]</sup>。

然而鲍曼不动杆菌感染后的治疗却非常有限，最有代表性的治疗方案是应用  $\beta$ -内酰胺类抗生素。然而，随着 CRAB 的增加<sup>[6,7]</sup>，鲍曼不动杆菌感染的治疗受到越来越多的限制。基于此，虽然多粘菌素被报导具有很高的肾毒性<sup>[8]</sup>，但是其用于多重耐药的鲍曼不动杆菌的治疗仍然在不断兴起<sup>[9]</sup>。不幸的是，多粘菌素耐药的鲍曼不动杆菌最终还是出现了，且其耐药基因可以通过可移动基因元件（mobile genetic element, MGE）广泛传播<sup>[10]</sup>。鲍曼不动杆菌属于革兰氏阴性菌，其治疗选择的局限性可一定程度上追溯至它的外膜结构。与革兰氏阳性菌不同，鲍曼不动杆菌具有内外两层细胞膜。鲍曼不动杆菌外膜的外叶部分为脂多糖（lipopolysaccharide, LPS），其是紧密堆积的高负电荷层结构。脂质 A（Lipid A）是 LPS 的主要成分（结构如图 1），其由磷酸化的双糖和多条疏水烷基链构成。该疏水且携带高负电荷的细菌外膜使许多小分子的被动扩散都变得极具挑战性<sup>[11-12]</sup>。也因此，LPS 是革兰氏阴性菌抗生素开发中极具吸引力的靶点。

具有对称双胍结构的氯己定对大多数革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有杀菌作用。它是生活中常用的外用抗菌剂，可用于手术前的皮肤消毒和手术器械消毒以及作为漱口水用于治疗口腔感染，防止牙菌斑。Jerala R<sup>[13]</sup>等人已通过量热滴定等实验验证了氯己定及阿来西定（Alexidine，一种氯己定类似物）可以与 LPS 以及 Lipid A 特异性结合。受氯己定可与 LPS 结合的启发，本实验首先在参考文献的基础上合成了氯己定类似物，并根据其对鲍曼不动杆菌的抗菌活性进一步探究其构效关系。

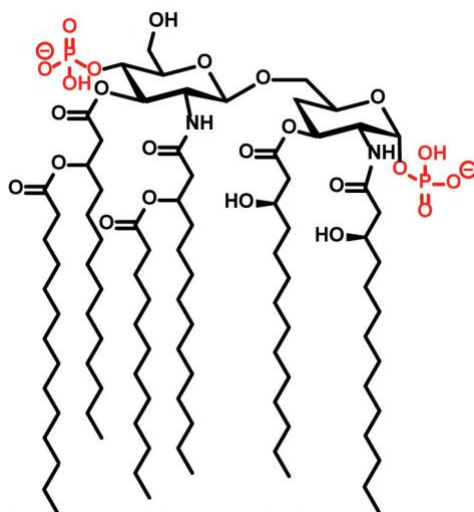


图 1 脂质 A 的结构

Fig. 1 The structure of Lipid A

60

# 1 材料设备与实验方法

## 1.1 材料设备

### 1.1.1 实验所用试剂

表 1 实验中所用试剂

65

Tab. 1 Reagents used in the experiment

化学名称	分子式/英文缩写	厂家/来源
苯胺	Benzylamine	上海麦克林生化科技有限公司
N,N-二异丙基乙胺	DIPEA	上海麦克林生化科技有限公司
2,2,2-三氟乙胺盐酸盐	2,2,2-Trifluoroethylamine hydrochloride	上海麦克林生化科技有限公司
4-氯苯胺盐酸盐	4-Chloroaniline hydrochloride	上海麦克林生化科技有限公司
对溴苯胺	p-Bromoaniline	上海麦克林生化科技有限公司
1,4-苯二甲胺	p-Xylylenediamine	上海麦克林生化科技有限公司
1,4-丁二胺双盐酸盐	1,4-Diaminobutane dihydrochloride	上海麦克林生化科技有限公司
1,6-己二胺双盐酸盐	1,6-Diaminohexane dihydrochloride	上海麦克林生化科技有限公司
1,8-辛二胺	1,8-Diaminooctane	上海麦克林生化科技有限公司
正丁醇	n-Butanol	上海麦克林生化科技有限公司
乙二醇醚	2-Ethoxyethanol	上海麦克林生化科技有限公司
洗必泰双盐酸盐	Chlorhexidine dihydrochloride	上海麦克林生化科技有限公司
阿来西定双盐酸盐	Alexidine dihydrochloride	西格玛奥德里奇贸易有限公司
氯胍	Proguanil	美国国家癌症研究所
万古霉素	Vancomycin	上海麦克林生化科技有限公司
阳离子调节 Mueller Hinton 肉汤	CAMHB	青岛海博生物技术有限公司
美罗培南	Meropenem	上海麦克林生化科技有限公司
青霉素 G	Penicillin G	北京百灵威科技有限公司
庆大霉素	Gentamycin	合肥博美生物科技有限责任公司
大观霉素	Spectinomycin	合肥博美生物科技有限责任公司
红霉素	Erythromycin	合肥博美生物科技有限责任公司
克林霉素	Clindamycin	上海韶韵试剂有限公司
环丙沙星	Ciprofloxacin	上海麦克林生化科技有限公司
新生霉素	Novobiocin	上海麦克林生化科技有限公司
万古霉素	Vancomycin	上海麦克林生化科技有限公司
多粘菌素	Colistin	北京百灵威科技有限公司
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	北京百灵威科技有限公司
甲氧苄啶	Trimethoprim	北京百灵威科技有限公司
利福平	Rifampicin	北京百灵威科技有限公司
异烟肼	Isoniazide	上海麦克林生化科技有限公司
无水乙醇	EtOH	国药集团化学试剂有限公司
蒸馏水	H <sub>2</sub> O	自行制备

## 1.1.2 实验所用仪器

表 2 实验所用仪器  
Tab. 2 Instruments used in the experiment

仪器	型号	厂家
核磁共振波谱仪	Bruker 400 MHz	德国 Bruker 公司
电离质谱仪	LCQ-Advantage	美国菲尼根公司
恒温摇床	ZQLY-180S	上海知楚仪器有限公司
酶标仪	Multiskan FC	赛默飞世尔上海仪器有限公司
超净台	SW-CJ-2D	力辰科技有限公司
立式压力蒸汽灭菌锅	MJ-78A	施都凯仪器设备(上海)有限公司
千分之一电子天平	Exploer EX125DZH	美国奥豪斯电子天平
8 道手动移液器	Finnpipette F3 MCPB	赛默飞世尔上海仪器有限公司
单道手动移液器	Finnpipette F3 MCPB	赛默飞世尔上海仪器有限公司
超纯水仪	PC1LSCXM1	默克密理博集团

## 70 1.1.3 实验所用菌株

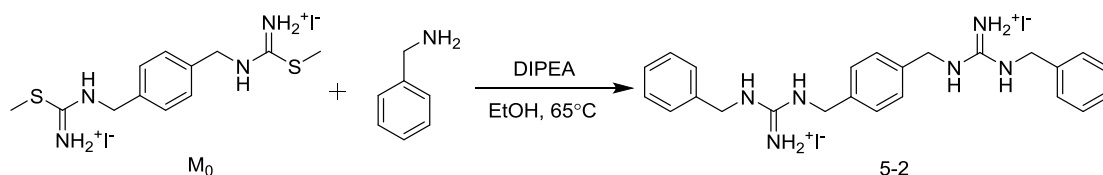
两株临床分离的鲍曼不动杆菌：*A.b-1* 与 *A.b-2*（来自深圳市人民医院）。

## 1.2 实验方法

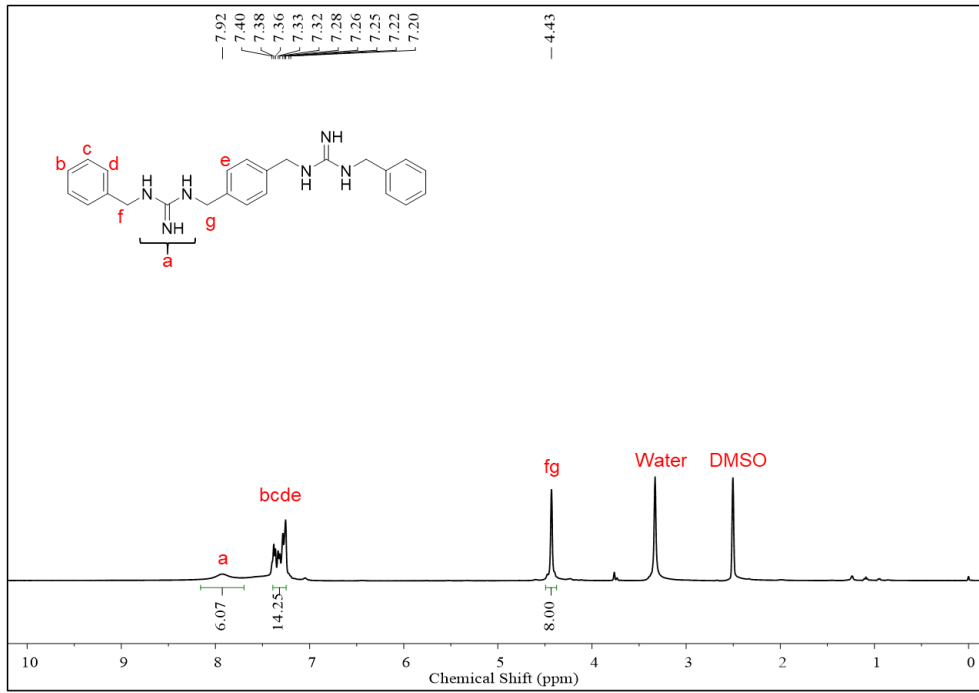
## 1.2.1 合成

75 说明：该实验中的氯己定（Chlorhexidine）、氯胍（Proguanil）和阿来西定（Alexidine）为 3 个购买的化合物。同时该实验中涉及的产物或反应物 4-1, 8-1, 6-2, M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, 1-1 均已被报道过的结构，其合成方法和表征均与文献一致<sup>[14,15]</sup>。

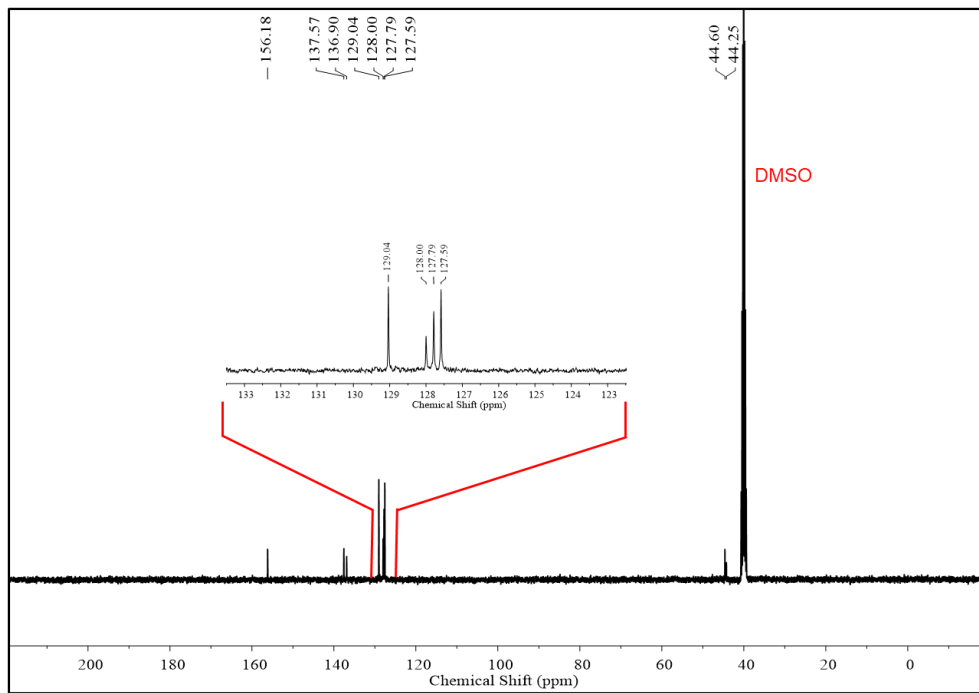
在参考文献<sup>[14]</sup>的基础上，合成具有对称单胍结构的化合物 5-2：



80 将 M<sub>0</sub> (0.21 g, 0.39 mmol, 1 eq)、苄胺 (0.17 g, 1.56 mmol, 4 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA, 0.16 g, 1.56 mmol) 加入 3 mL 无水乙醇中，并在 65 °C 下搅拌 48 h。将混合物用乙醚沉淀并洗涤三次。将得到的固体干燥后得到白色固体粉末 (0.06 g, 23%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.92 (*br*, 6H), 7.40 – 7.23 (*m*, 14H), 4.43 (*s*, 8H)。<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 156.18, 137.57, 136.90, 129.04, 128.00, 127.79, 127.59, 44.60, 44.25。High-resolution ESI-MS: calculated for C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>): 401.2448, found 401.2455 ([M+H]<sup>+</sup>)。化合物的核磁  
85 氢谱和碳谱如下所示：



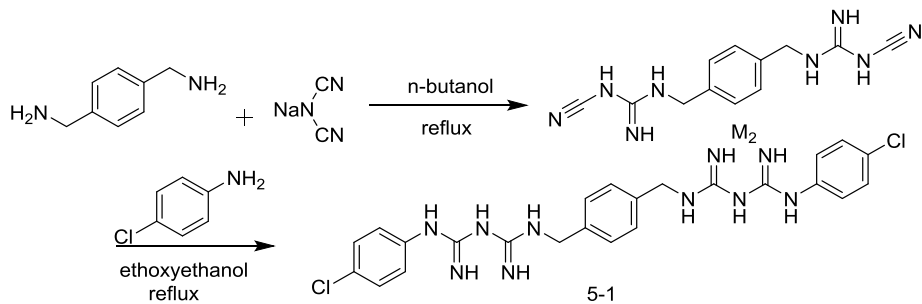
化合物 5-2 的核磁氢谱图



化合物 5-2 的核磁碳谱图

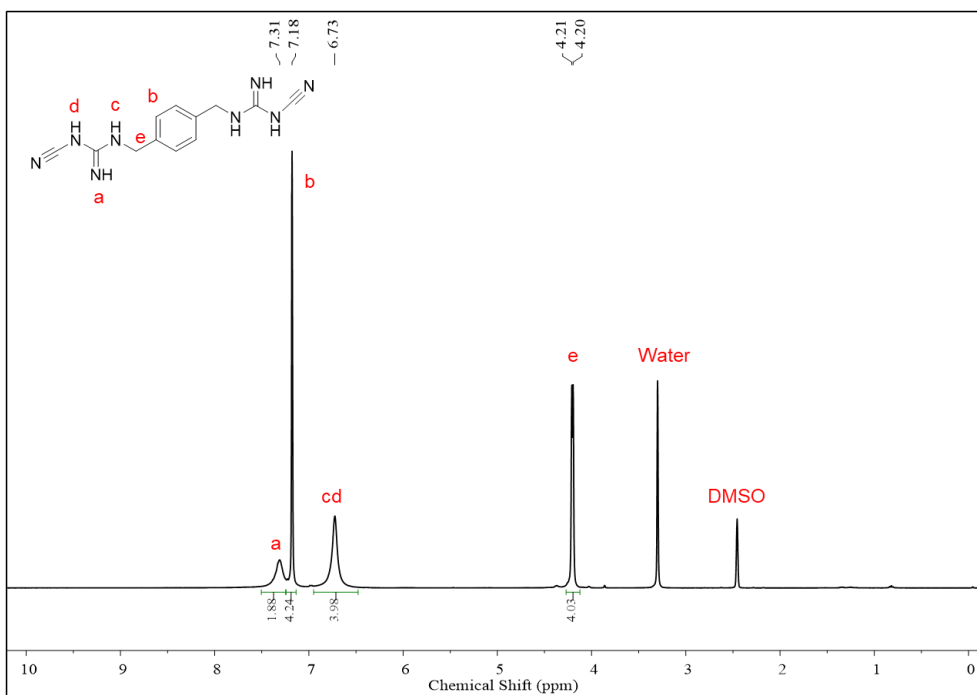
90

在参考文献<sup>[15]</sup>的基础上, 合成具有对称双胍结构的化合物 5-1:

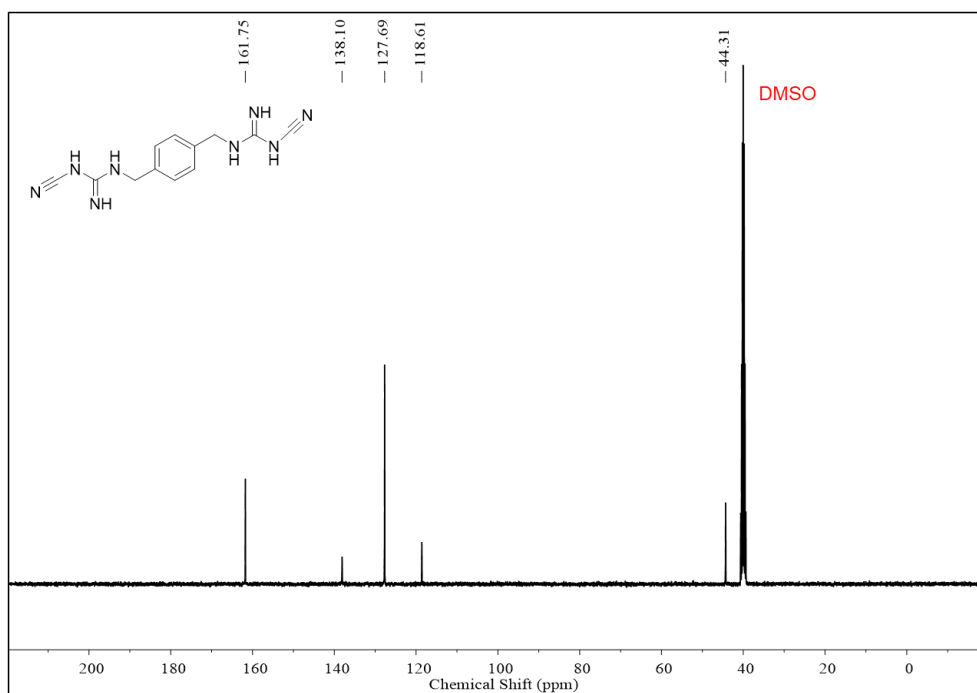


95

合成中间体 M<sub>2</sub>: 称取 1,4-苯二甲胺（双盐酸盐形式，4 g，19.12 mmol，1 eq）和二氰胺钠（3.57 g，40 mmol，2.1 eq），然后加入溶剂正丁醇，120 °C 回流 12 h。将反应所得混合物用布氏漏斗过滤，再分别用正丁醇和冰水洗涤沉淀三次。将得到的固体真空干燥，最终得到白色固体粉末(5.23 g，80%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.31 (*br*, 2H), 7.18 (*s*, 4H), 6.73 (*br*, 4H), 4.20 (*d*, *J* = 5.8 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.75, 138.10, 127.69, 118.61, 44.31. 化合物的核磁氢谱和碳谱如图所示。



中间体 M<sub>2</sub> 的核磁氢谱图



中间体 M<sub>2</sub> 的核磁碳谱图

100

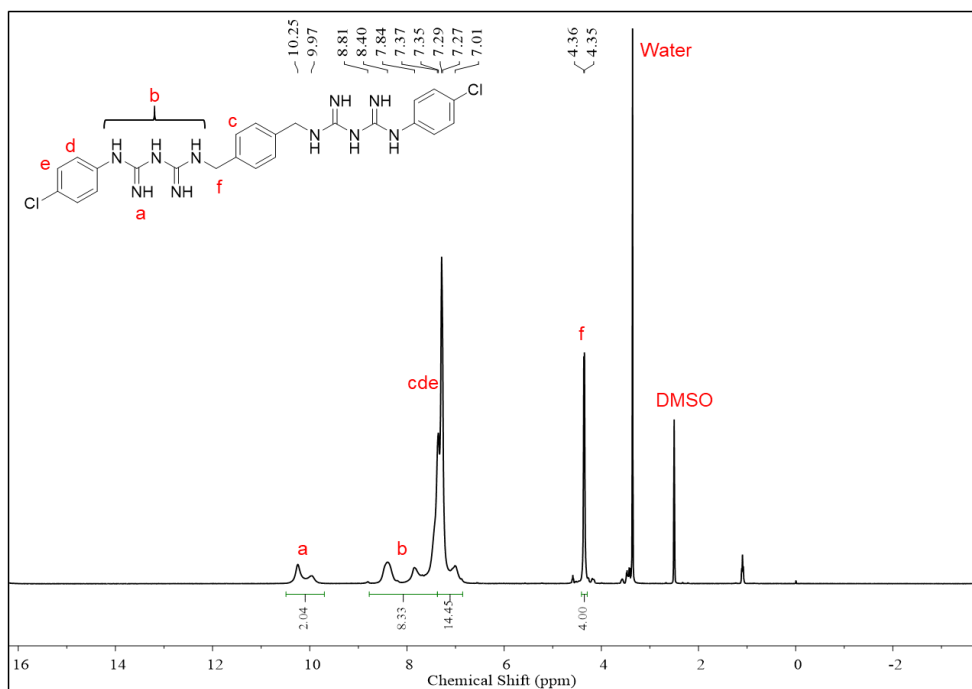
合成 5-1: 称取单体 M<sub>2</sub>（双盐酸盐形式，2.03 g，6 mmol，1eq）和 4-氯苯胺（盐酸盐形式，2.45 g，0.15 mmol，2.5 eq），然后加入溶剂乙二醇乙醚，135 °C 回流 8 h。反应得到的

105

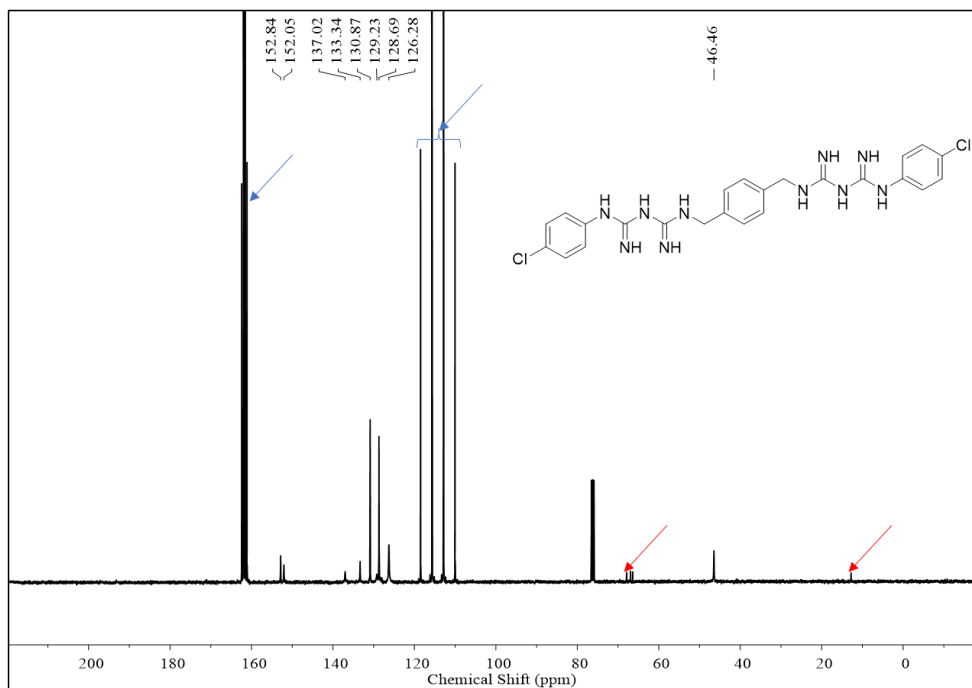
混合物用布氏漏斗过滤，并用分别用乙二醇醚和冰乙醇洗涤沉淀三次。将得到的固体真空干燥后得到白色粉末(2.73 g, 77%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.11 (*d*, *J* = 111.3 Hz, 2H), 8.12 (*d*, *J* = 223.4 Hz, 8H), 7.37 – 6.85 (*m*, 14H), 4.35 (*d*, *J* = 5.8 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 152.84, 152.05, 137.02, 133.34, 130.87, 129.23, 128.69, 126.28, 46.46. High-resolution ESI-MS: calculated for C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>): 525.1792, found 525.1799 ([M+H]<sup>+</sup>).

110

其核磁氢谱和碳谱如下所示，其中用氘代三氟乙酸与氘代氯仿的混合溶剂打的核磁碳谱，碳谱中红色与蓝色箭头分溶剂乙二醇醚与氘代三氟乙酸的峰。



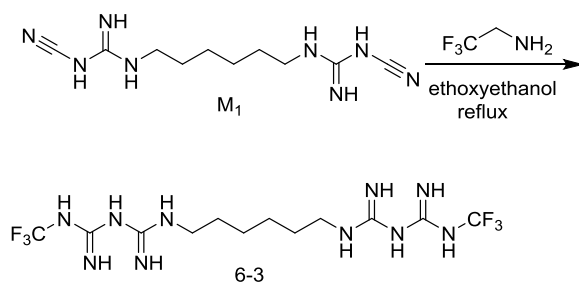
化合物 5-1 的核磁氢谱图



化合物 5-1 的核磁碳谱图

115

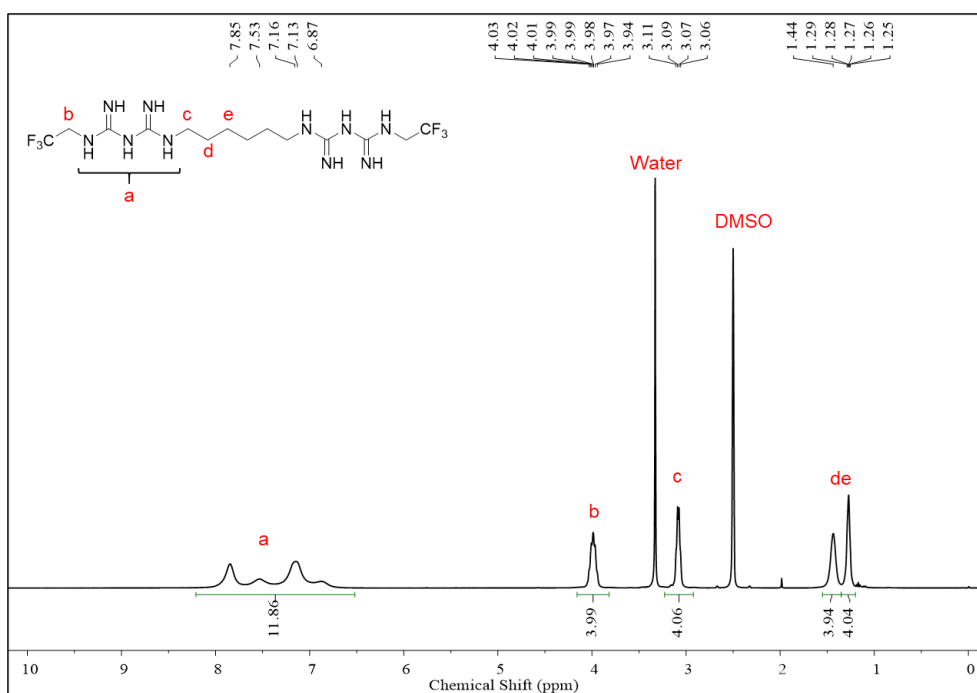
在参考文献<sup>[15]</sup>的基础上，合成具有对称双胍结构的化合物 6-3:



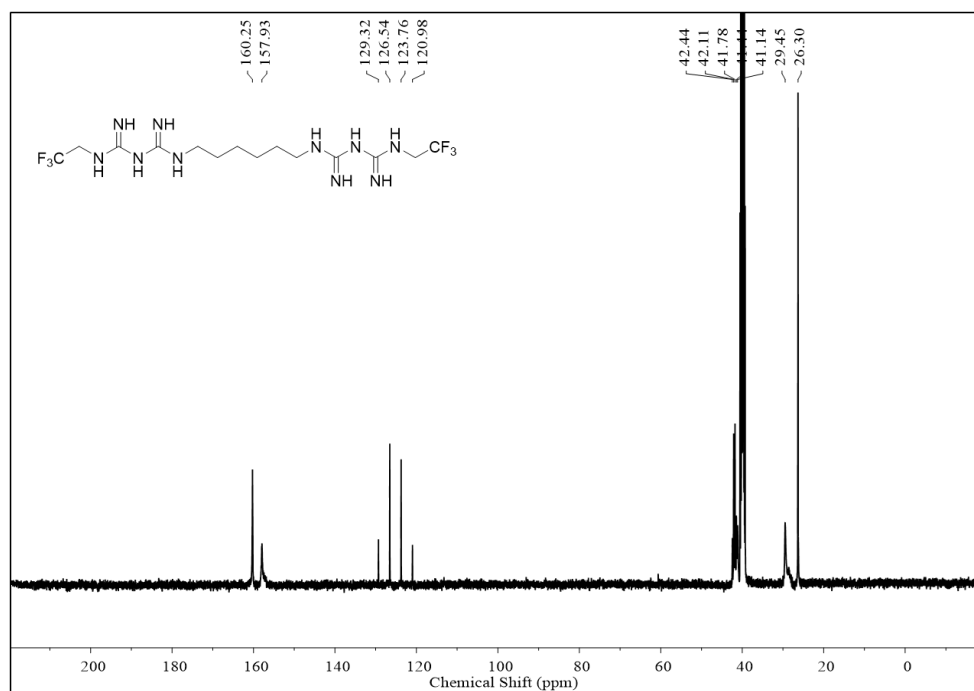
120

称取 1-1 (2.4g, 7.43 mmol, 1eq) 和三氟乙胺 (盐酸盐形式, 2.45 g, 20 mmol, 2.7 eq), 然后加入溶剂乙二醇乙醚, 135 °C 回流 6 h。将反应得到的混合物用布氏漏斗过滤, 并用乙二醇乙醚和冰乙醇洗涤沉淀三次。将得到的固体真空干燥后得到白色粉末(1.11 g, 29%, 双盐酸盐形式)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.18 – 6.63 (*m*, 12H), 4.16 – 3.82 (*m*, 4H), 3.23 – 2.92 (*m*, 4H), 1.55 – 1.35 (*m*, 4H), 1.35 – 1.20 (*m*, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 160.25, 157.94, 125.15 (*q*, *J* = 279.6 Hz), 41.94 (*q*, *J* = 33.6 Hz), 41.14, 29.45, 26.30。High-resolution ESI-MS: calculated for C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>F<sub>6</sub>N<sub>10</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>): 449.2319, found 449.2324 ([M+H]<sup>+</sup>)。化合物核磁氢谱和碳谱如下图所示。

125



化合物 6-3 的核磁氢谱图



化合物 6-3 的核磁共振谱图

### 1.2.2 药敏实验

130 本实验所有抗生素及化合物对鲍曼不动杆菌的抗菌活性测试 (MIC 测试) 参考 CLSI 标准进行<sup>[16]</sup>。具体实验流程如下: 将过夜培养的鲍曼不动杆菌 (*A.b-1* 或 *A.b-2*) 用新鲜无菌的 CAMHB 培养基 (Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted)) 稀释至终浓度为  $5 \times 10^5$  CFU/mL, 以此作为固定细菌浓度的工作溶液。用 8 道手动移液器将 100  $\mu$ L 固定细菌浓度的工作溶液铺满 96 孔板除最后一列以外的每个孔, 并在这些铺有固定细菌浓度的工作溶液孔的第一行加入所需浓度的抗生素或化合物, 随后用 8 道手动移液器另吸取 100  $\mu$ L 同样细菌浓度的工作溶液, 并在 96 孔板中从上至下将抗生素或化合物做 8 次连续的两倍稀释。将 96 孔板用封口膜密封, 放入恒温摇床在 37  $^{\circ}$ C 下, 以 220 rpm 的转速孵育 16-24 h, 并测量其在 595 nm 波长处的吸光度, 根据吸光度的大小判断抗生素及化合物对所测试的菌株的 MIC 值。每个药物至少包括两次独立实验。

## 140 2 实验结果与讨论

### 2.1 两株临床分离的鲍曼不动杆菌的药敏测试

145 为了了解我们所要测试的两株临床分离的鲍曼不动杆菌的耐药情况, 我们首先利用一系列标准抗生素对鲍曼不动杆菌 *A.b-1* 和 *A.b-2* 进行了药敏测试。主要包括  $\beta$ -内酰胺类抗生素 (美罗培南和青霉素 G), 氨基糖苷类抗生素 (庆大霉素和大观霉素), 大环内酯类抗生素 (红霉素和克林霉素), 喹诺酮类抗生素 (环丙沙星和新霉素), 多肽类抗生素 (万古霉素和多粘菌素 B), 磺胺类药 (磺胺嘧啶和甲氧苄啶) 以及抗分支杆菌类抗生素 (利福平和异烟肼)。药敏结果显示 (图 2), *A.b-1* 和 *A.b-2* 为多重耐药菌株, 对多种抗生素类别均具有耐药性。*A.b-1* 和 *A.b-2* 均对美罗培南中度耐药 (MIC 均为 32  $\mu$ g/mL)。但对于临床上用于革兰氏阴性菌感染治疗的最后一道防线药物多粘菌素而言, *A.b-1* 和 *A.b-2* 均对它敏感。而多

150 粘菌素的作用靶点也正是革兰氏阴性菌外膜的 LPS,其通过破坏细菌细胞膜而杀死细菌<sup>[17]</sup>。

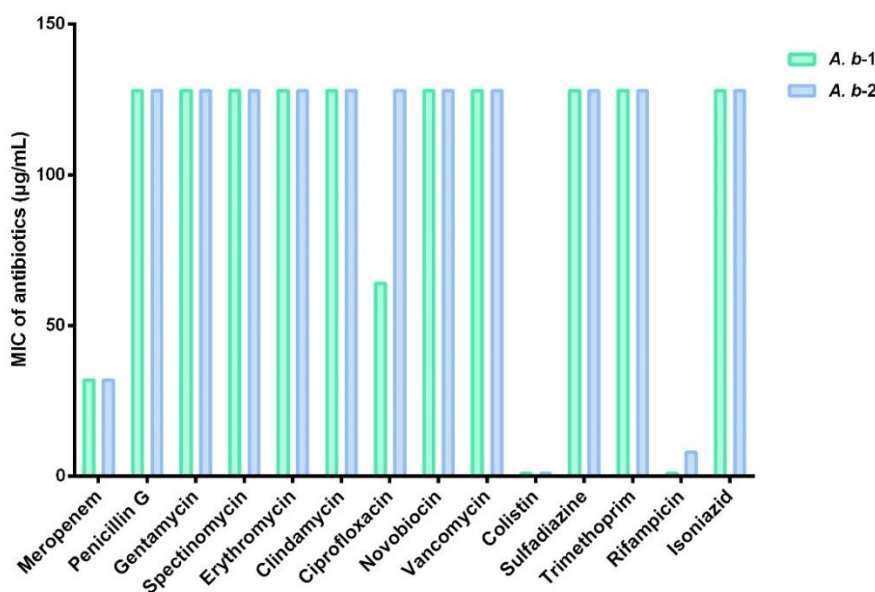


图 2 鲍曼不动杆菌临床分离株 (A. b-1 与 A. b-2) 的药敏结果

注: MIC 显示为 128 或 1 时为极限点, 分别表示 MIC>128 µg/mL 或 MIC<1 µg/mL

Fig. 2 Antimicrobial susceptibility of two clinical isolates of *A. baumannii* (A. b-1 and A. b-2)

155 Note: When MIC is shown as 128 or 1 µg/mL, it's the limit point, which means MIC>128 or MIC<1 µg/mL

## 2.2 氯己定及其类似物对鲍曼不动杆菌的活性及构效关系

我们对氯己定及其类似物进行了抗菌活性的测试, 结果如图 3。首先, 氯己定本身具有对称的双胍结构特征, 该阳离子特征赋予了它与革兰氏阴性菌高负电荷的细菌外膜结合的能力。因此, 其对革兰氏阴性菌的外膜具有损伤作用, 从而具有一定的抗菌活性。实验结果表明氯己定对两株临床分离的美罗培南耐药的鲍曼不动杆菌具有较好的抗菌活性, MIC 均为 16 µg/mL。

160 据文献报道<sup>[18]</sup>, 类似洗必泰这种线性对称阳离子结构的分子可与 LPS 的主要成分 Lipid A 结合。在结合过程中, 该类分子中连接两个阳离子基团的中间链依附在 Lipid A 的双糖基上, 而该分子对称的阳离子则与双糖基上对称的磷酸基团结合, 同时该类分子的尾部基团则插入 Lipid A 疏水的烷基链中加强膜扰动。

165 基于上述结合模型, 我们首先从不同阳离子结构与磷酸基团整合的角度出发, 测试了非对称结构的单边双胍化合物 Proguanil 对两株鲍曼不动杆菌的活性。结果显示, Proguanil 对鲍曼不动杆菌完全丧失了活性 (其对两株鲍曼不动杆菌的 MIC 均大于 128 µg/mL), 这很可能是由于单边的双胍无法同时满足对 Lipid A 双糖基上对称的两个磷酸基团的整合。同时我们将对称的双胍阳离子结构变为对称的单胍阳离子结构进一步合成了化合物 5-2。结果显示其抗菌效果仍然很差, 对应的 MIC 为 128 或者大于 128 µg/mL。该结果充分说明了单胍与 Lipid A 的整合程度不够, 远不及双胍 (氯己定 MIC=16 µg/mL) 与 Lipid A 的整合程度。

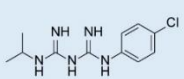
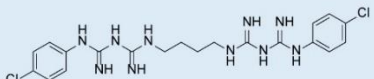

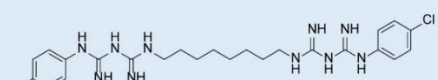
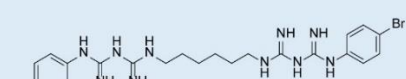
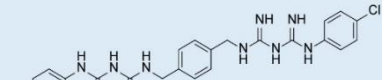
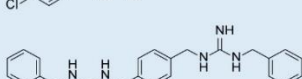
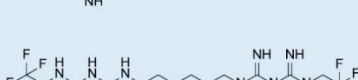
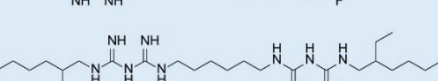
170 接下来, 我们从连接两个阳离子基团的中间链出发, 合成了一系列具有不同中间链结构的化合物。结果显示, 中间链的长度对抗菌活性具有很大的影响。具有 4 个碳的氯己定类似物 4-1 抗菌效果最差, 其对两株鲍曼不动杆菌的 MIC 均为 64 µg/mL。当中间链在 4-1 的基础上增加 2 个碳的长度时, 氯己定的抗菌活性有极大的提升, 其对两株鲍曼不动杆菌的 MIC 均为 16 µg/mL。进一步增加中间链的长度至 8 个碳时, 8-1 的活性最好, 其对两株鲍曼不动

180

杆菌的 MIC 均为 4  $\mu\text{g/mL}$ 。这种抗菌活性随中间链长度增加而增加的趋势可能是受到 Lipid A 上双糖基的影响。据文献报道, Lipid A 上双糖基两侧的磷酸基团的距离在 13  $\text{\AA}$  左右。而当 8-1 的中间链到达 8 个碳后, 其长度恰好约为 13  $\text{\AA}$ 。此外化合物 5-1 的中间链长介于 4 至 5 个碳之间, 其抗菌活性却可以达到中间链长为 6 个碳链长度的氯己定的效果 (MIC 均为 16  $\mu\text{g/mL}$ )。这可能是 5-1 刚性的苯环中间链减小了其在 Lipid A 的双糖基上依附时的灵活性, 使两者的结合更加紧密。

185

最后, 我们从起膜扰动作用的端基出发, 合成了具有不同端基结构的化合物。从结果上看, 对苯环端基的不同取代 (氯己定与 6-2) 对抗菌活性没有显著的差异。刚性 (氯己定) 和柔性 (Alexidine) 端基都可以对膜起到扰动作用, 都具有较好的抗菌活性。从化合物 6-3 (MIC > 128  $\mu\text{g/mL}$ ) 与 Alexidine (MIC = 4  $\mu\text{g/mL}$  或 2  $\mu\text{g/mL}$ ) 的抗菌活性差异, 我们可以看出, 端基越长, 其对膜的扰动越强, 抗菌活性也越强。

Name	Structure	MIC <sub>A.b-1</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC <sub>A.b-2</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
Proguanil		>128	>128
4-1		64	64
Chlorhexidine		16	16
8-1		4	4
6-2		8	8
5-1		16	16
5-2		128	$\geq 128$
6-3		>128	>128
Alexidine		4	2

190

图 3 氯己定及其类似物的抗菌活性

注: MIC<sub>A.b-1</sub> 与 MIC<sub>A.b-2</sub> 分别表示氯己定及其类似物对 A.b-1 与 A.b-2 的 MIC

Fig. 3 Antibacterial activity of chlorhexidine and its analogs

Note: MIC<sub>A.b-1</sub> and MIC<sub>A.b-2</sub> are the MIC of chlorhexidine and its analogs against A.b-1 and A.b-2, respectively

### 3 结论

195 本实验评估了氯己定以及合成的氯己定类似物对临床分离的鲍曼不动杆菌的抗菌活性，  
并进一步探究了它们对鲍曼不动杆菌抑制的构效关系。通过对临床分离的鲍曼不动杆菌的药  
敏测试，我们发现两株临床分离的鲍曼不动杆菌对多种抗生素高度耐药，对美罗培南中度耐  
药，但对 LPS 靶向的多粘菌素仍保持敏感。通过测试同样有 LPS 结合特性的氯己定以及合  
200 成的氯己定类似物对两株鲍曼不动杆菌的抗菌活性，我们发现具有单边双胍（Proguanil）或  
者双边单胍（5-2）的氯己定类似物抗菌活性较差，其抗菌活性皆弱于具有对称双胍的结构  
的氯己定，这可能是由于对称双胍与 Lipid A 的磷酸基团的螯合作用更强。此外，氯己定及  
其类似物结构中连接两个对称阳离子的中间链越长抗菌活性越好，且到达 13 Å 时最佳（13  
Å 约为 Lipid A 中双糖基上两磷酸基团的距离）。并且氯己定及其类似物柔性端基链越长抗  
菌效果也越好，其原因可能是越长的端基链对 Lipid A 的疏水烷基链部分扰动更强。本实验  
205 从革兰氏阴性菌外膜上 LPS 主要成分 Lipid A 的结构出发，合理设计氯己定类似物的结构，  
为后续开发靶向 LPS 的抗生素提供了一个很好的思路。

#### [参考文献] (References)

- 210 [1] WILLYARD C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats[J]. Nature News, 2017,  
543(7643): 15.  
[2] JAWAD A, SEIFERT H, SNELLING A, HERITAGE J, HAWKEY P M. Survival of *Acinetobacter baumannii*  
on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates[J]. Journal of clinical microbiology, 1998, 36(7):  
1938-1941.  
215 [3] DIJKSHOORN L, NEMEC A, SEIFERT H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter*  
*baumannii*[J]. Nature reviews microbiology, 2007, 5(12): 939-951.  
[4] SEIFERT H, STRATE A, SCHULZE A, PULVERER G. Vascular Catheter-Related Bloodstream Infection Due  
to *Acinetobacter johnsonii* (Formerly *Acinetobacter calcoaceticus* var. *lwoffii*): Report of 13 Cases[J]. Journal of  
Clinical Microbiology, 1993, 17(4): 632-636.  
220 [5] SPELLBERG B, BONOMO R A. The Deadly Impact of Extreme Drug Resistance in *Acinetobacter baumannii*[J].  
Critical Care Medicine, 2014, 42(5): 1289  
[6] ZHOU H, YANG Q, YU Y-S, WEI Z-Q, LI L-J. Clonal spread of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*  
among different cities of China[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2007, 45(12): 4054-4057.  
[7] TURNER P J, GREENHALGH J, M. The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains  
isolated from European hospitals, 1997-2000[J]. Clinical Infectious Diseases, 2003, 9(6): 563-567.  
225 [8] ZAVASCKI A P, NATION R L. Nephrotoxicity of polymyxins: is there any difference between colistimethate  
and polymyxin B?[J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2017, 61(3).  
[9] LEVIN A S, BARONE A A, PENÇO J, SANTOS M V, MARINHO I S, ARRUDA E A, MANRIQUE E I,  
COSTA S F. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas*  
*aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*[J]. 1999, 28(5): 1008-1011.  
230 [10] HEMBACH N, SCHMID F, ALEXANDER J, HILLER C, ROGALL E T, SCHWARTZ T. Occurrence of the  
*mcr-1* colistin resistance gene and other clinically relevant antibiotic resistance genes in microbial populations at  
different municipal wastewater treatment plants in Germany[J]. Frontiers in microbiology, 2017, 8:1282.  
[11] RICHTER M F, HERGENROTHER P J. The challenge of converting Gram-positive-only compounds into  
broad-spectrum antibiotics[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2019, 1435(1): 18.  
235 [12] MAY K L, GRABOWICZ M. The bacterial outer membrane is an evolving antibiotic barrier[J]. Proceedings  
of the National Academy of Sciences, 2018, 115(36): 8852-8854.  
[13] ZORKO M, JERALA R. Alexidine and chlorhexidine bind to lipopolysaccharide and lipoteichoic acid and  
prevent cell activation by antibiotics[J]. Journal of antimicrobial chemotherapy, 2008, 62(4): 730-73  
[14] CHEN Z, HUANG W, ZHENG N, BAI Y. Design and synthesis of a polyguanidium vector with enhanced  
DNA binding ability for effective gene delivery at a low N/P ratio[J]. Polymer Chemistry, 2020, 11(3): 664-668.  
240 [15] GRÄBER M, HELL M, GRÖST C, FRIBERG A, SPERL B, SÄTTLER M, BERG T. Oral disinfectants inhibit  
protein-protein interactions mediated by the anti-apoptotic protein bcl-2 and induce apoptosis in human oral  
tumor cells[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 52(16): 4487-4491.

245

- [16] WIEGAND I, HILPERT K, HANCOCK R E. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances[J]. Nature protocols, 2008, 3(2): 163.
- [17] VAARA M. Polymyxins and their novel derivatives[J]. Current opinion in microbiology, 2010, 13(5): 574-581.
- [18] DAVID S A. Towards a rational development of anti - endotoxin agents: novel approaches to sequestration of bacterial endotoxins with small molecules[J]. Journal of Molecular Recognition, 2001, 14(6): 370-387.