

УДК 573.6:579.22:579.26:579.843

## УСТАНОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ СТРУКТУРА- АКТИВНОСТЬ (SAR) ДЛЯ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛ-О-В-D- ГЛЮКОЗАМИНИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕСТА НА СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

*Кацев А.М.<sup>1</sup>, Курьянов В.О.<sup>2</sup>, Чупахина Т.А.<sup>2</sup>, Чирва В.Я.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского,  
Симферополь, Украина

<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: katsev@mail.ru

С использованием биотеста на морских светящихся бактериях выявлено биологическое действие новых соединений-производных арил-О-β-D-глюкозаминидов. Показано, что эффект ингибирования бактериальной люминесценции связан с определенными функциональными группами, а также зависит от липофильности веществ. Построены QSAR-модели зависимости биологического эффекта от ClogP.  
**Ключевые слова:** биолюминесценция, светящиеся бактерии, биотест, QSAR.

### ВВЕДЕНИЕ

Биотест, основанный на использовании морских светящихся бактерий в качестве тест-объектов, широко используется во всем мире для анализа токсичности водных сред [1]. Исследования показали, что вещества с различным механизмом биологического действия, в том числе лекарственные препараты, ингибируют бактериальную биолюминесценцию [2]. Для некоторых групп лекарственных веществ, как, например, для полярных наркотиков, с помощью биотеста на светящихся бактериях были установлены QSAR между биологическим эффектом и свойствами препаратов [3].

Ранее было показано, что гликозидные производные N-ацетилглюкозамина, которые проявляют широкий спектр биологической активности, оказывают влияние на биолюминесценцию светящихся бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей [4]. Целью данной работы было установление SAR между действием на бактериальную биолюминесценцию и структурными и физико-химическими свойствами арил-О-β-D-глюкозаминидов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 28 производных арил-О-β-D-глюкозаминидов (№32 – 60), синтезированных на кафедре органической и биологической химии ТНУ

им. В.И. Вернадского. Синтез и биологические свойства этих соединений были описаны ранее [4].

Для изучения действия этих веществ на биолюминесценцию светящихся бактерий использовали штамм *Photobacterium leiognathi* Sh1, выделенный авторами из Азовского моря и отобранный по чувствительности для биотестирования. В работе использовали 10-минутный биотест на острую токсичность [5] и после введения в пробы питательной среды – 18-часовой тест на хроническую токсичность [6].

Липофильность тестируемых соединений оценивали по ClogP (логарифм коэффициента распределения октанол-вода), который рассчитывали с использованием компьютерных программ ChemOffice и ACD/ChemSketch Freeware, USA. Построение QSAR-моделей осуществляли с помощью Microsoft Office Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении эффекта арил-О-β-D-глюкозаминидов на биолюминесценцию светящихся бактерий было обнаружено разнонаправленное действие, по которому вещества можно разделить на три группы.

Первая группа – глюкозаминиды, подавляющие люминесценцию, хотя бы в одной из исследованных доз, не менее чем на 50%. К этой группе отнесены арилгликозиды 40, 44, 45, 48-50, 52, 54, 55, 58-60 [4], характеризующиеся наличием таких функциональных групп, как: =CH<sub>2</sub>, галоген- и дигалоген-производные, нитрогруппа, карбонильная и метоксикарбонильная группы, а также полицикличность.

Для наиболее сильных ингибиторов, которые подавляли биолюминесценцию на 80 и более процентов, в тестах на острую и хроническую токсичность, наблюдалась взаимосвязь между биологическим действием и их липофильностью, Таблица 1. Корреляция между значениями ЭК<sub>50</sub> в 10-мин тесте на светящихся бактериях и соответствующими значениями ClogP составляла -0,819, что свидетельствует о более высокой токсичности соединений с большей липофильностью. Аналогичной зависимости между физико-химическим свойством и хронической токсичностью не наблюдалось.

На основании полученных данных построена простейшая QSAR-модель, связывающая биологический эффект и липофильность (рис. 1), которую можно представить уравнением

$$ЭК_{50} = -0,1042ClogP + 0,228,$$

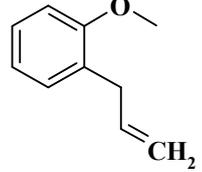
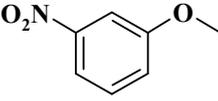
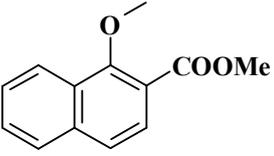
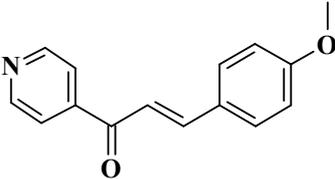
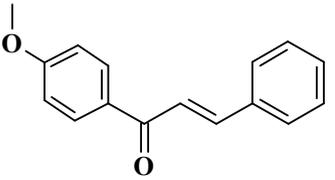
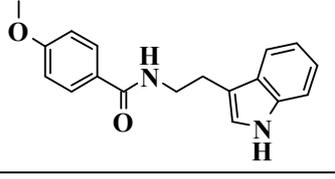
с достоверностью аппроксимации R<sup>2</sup>=0,671.

Во вторую группу были отнесены производные 35, 38, 43, 46, 61, не оказывающие существенного влияния на бактериальную люминесценцию. Третью группу составили гликозиды, преимущественно активирующие люминесценцию – 32-34, 36, 37, 39, 41, 42, 47, 51, 53, 56, 57 [4].

Анализ физико-химических свойств и структуры этих веществ выявил некоторые дополнительные закономерности. Для галогензамещенных арилгликозидов 41-45 действие на светящиеся бактерии являлось функцией липофильности. Менее липофильные монохлорпроизводных 41, 42 (ClogP 1,07)

активировали биолюминесценцию и рост бактерий, *p*-бромпроизводное 43 (ClogP 1,46) практически не влияло на бактериальный рост, но ингибировало биолюминесценцию, а более липофильные производные *p*-иодфенилгликозид 44 (ClogP 1,72) и 2,4-дихлорфенилгликозид 45 (ClogP 1,84) оказывали ингибирующее действие на рост бактерий, но не обладали острым действием (табл. 2).

**Таблица 1**  
**Свойства и токсичность арил-*O*- $\beta$ -D-гликозаминидов-ингибиторов**  
**бактериальной люминесценции**

№	Структура радикала R	Острая токсичность, ЭК <sub>50</sub>	Хроническая токсичность, ЭК <sub>50</sub>	ClogP
40		0,03	0,44	1,53
48		0,15	0,18	0,5
54		0,02	0,09	1,61
58		0,21	0,01	0,83
59		0,03	0,02	2,24
60		0,08	0,20	1,47

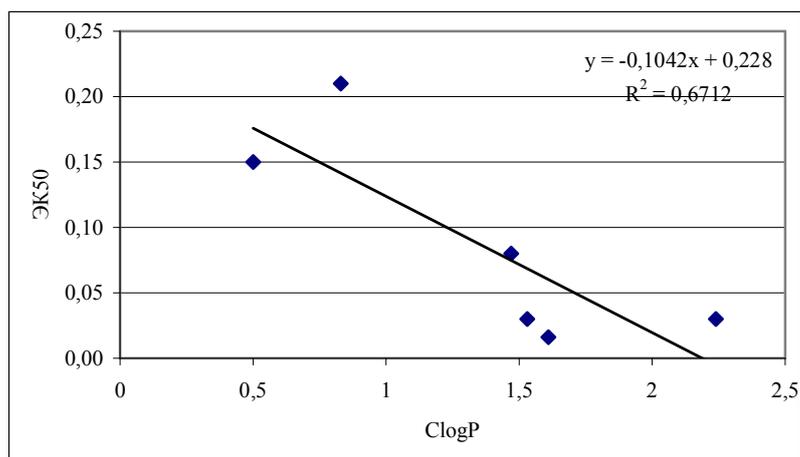


Рис. 1. Зависимость между ЭК<sub>50</sub> и Clog P для глюкозаминидов – ингибиторов бактериальной люминесценции.

Для этой группы производных QSAR-модели были построены по параметрам, характеризующим биолюминесценцию в присутствии вещества, и ClogP (рис. 2). Так, для значений биолюминесценции при концентрации вещества 0,5 мг/мл, зависимость имеет вид

$$I\% = -311,06ClogP + 568,23 \quad (R^2 = 0,965).$$

При использовании интегрального показателя свечения, который определяли, как площадь под графической зависимостью биолюминесценции от концентрации, QSAR выражалась уравнением

$$I = -103,14ClogP + 203,22 \quad (R^2 = 0,829).$$

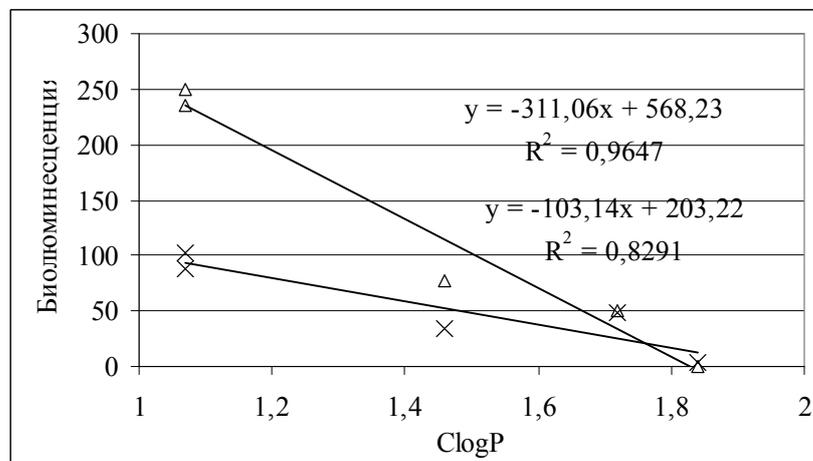
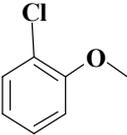
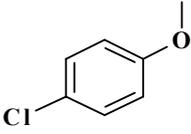
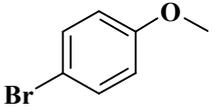
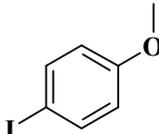
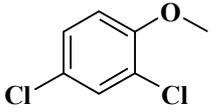
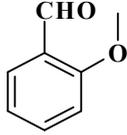
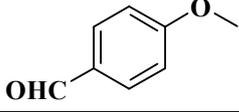
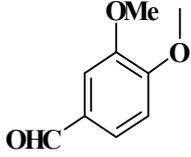


Рис. 2. Корреляция между биолюминесценцией *P. leiognathi* Sh1 в присутствии арилглюкозидов и их липофильностью.

Таблица 2.

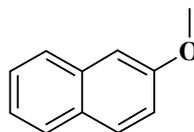
Структура и свойства замещенных арилгликозидов

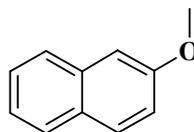
№	Структура радикала R	ClogP	Влияние на биолюминесценцию	Биолюминесценция при 0,5 мг/мл	Площадь под кривой ингибирования
41		1,07	А	250	88,54
42		1,07	А	236	102,84
43		1,46	НВ	78	33,78
44		1,72	И	50	49,18
45		1,84	СИ	0	3,27
Корреляция ClogP				-0,982	-0,911
49		0,17	И	22,2	24,17
50		0,17	И	22,0	22,43
51		-0,16	А	493,5	191,78
Корреляция ClogP				-1	-0,999

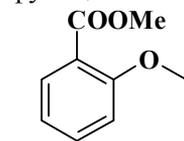
В группе формилфенилгликозидов 49-51 ингибиторами роста и люминесценции также являются производные с большей липофильностью (49, 50, ClogP 0,17), тогда как положение формильной группы в ароматическом ядре не определяет бактерицидную активность (табл. 1).

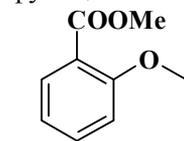
Для гликозидов халконов отмечено усиление ингибирующего эффекта у *para*-производных (соединения 58, 59 и 60 [4]), в то время как для *o*-замещенных соединений характерны меньший эффект, его отсутствие или активирующее действие на свечение бактерий. При этом липофильность соединений не значительно влияла на их биологическую активность.

В ряду нафтилгликозидов (32, 33, 54 [4]) при одинаковой липофильности, ингибирующей активностью обладает только гликозид 54 (табл. 1), что, по-видимому, связано с наличием 2-метоксикарбонильной группы, поскольку его



ближайший структурный аналог 33 (R - ) , не содержащий этой функциональной группы, является активатором роста бактерий, а соединение 52 (R



- ) с той же метоксикарбонильной группой ингибирует рост бактерий.

### ВЫВОДЫ

1. Выявлено три типа биологического эффекта арил-О-β-D-глюкозаминидов на биолюминесценцию светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1.
2. Установлено, что ингибирование бактериальной биолюминесценции вызывают соединения, которые являются галоген- и дигалоген-производными, содержат функциональные =CH<sub>2</sub>, нитро-, карбонильную, метоксикарбонильную группы или обладают полициклическостью.
3. Показано, что ингибирование бактериальной биолюминесценции определяется липофильностью соединений с корреляцией 0,82. Построены простейшие QSAR-модели, описывающие биологический эффект арил-О-β-D-глюкозаминидов, в зависимости ClogP.

### Список литературы

1. Bioluminescent bacteria as indicators of chemical contamination of coastal waters / M. E. Frischer, J. M. Danforth, T. F. Foy [et al.] // J. Environ. Qual. – 2005. – Vol. 34, № 4. – P. 1328–1336.
2. Кацев А. М. Біолюмінесцентний підхід з використанням бактерій, що світяться, для проведення фармацевтичного аналізу / А. М. Кацев // Фармацевтичний часопис. – 2008. – №1(5). – С. 50–53.
3. Toxicity assessment of atrazine and related triazine compounds in the microtox assay, and computational modeling for their structure–activity relationship / P.B. Tchounwou, B. Wilson, A. Ishaque [et al.] // Intern. J. Mol. Sci. – 2000. – Vol. 1. – P. 63–74.

4. Синтез арил-*O*- $\beta$ -D-глюкозаминидов и оценка их биологической активности в тесте ингибирования биолюминесценции морских светящихся бактерий / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, А.М. Кацев, В.Я. Чирва // Журнал орг. та фарм. хімії. – 2009. – Т. 7, вып. 4(28). – С. 30–40.
5. Farré M. Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri* / M. Farré, D. Asperger, L. Kantiani // Anal. Bioanal. Chem. – 2008. – Vol. 390, №8. – P. 1999–2007.
6. Gellert G. Sensitivity and Significance of Luminescent Bacteria in Chronic Toxicity Testing Based on Growth and Bioluminescence / Georg Gellert // Ecotoxicology and Environmental Safety – 2000. – Vol. 45, № 1. – P. 87–91.

**Кацев А.М. Встановлення деяких залежностей структура-активність (SAR) для похідних арил-*O*- $\beta$ -D-глюкозамінідов з використанням біотесту на світних бактеріях / А.М. Кацев, В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, В.Я. Чирва // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 143-149.**

З використанням біотесту на морських бактеріях, що світяться, виявлена біологічна дія нових похідних Арил-*O*- $\beta$ -D-глюкозамінідов. Показано, що ефект інгібування бактерійної люмінесценції пов'язаний з певними функціональними групами, а також залежить від ліпофільності речовин. Побудовані QSAR-моделі залежності біологічного ефекту від CLOGP.

**Ключові слова:** : біолюмінесценція, бактерії, що світяться, біотест, QSAR.

**Katsev A.M. Structure-activity relationship for aryl-*O*- $\beta$ -D-glucosaminides studied by luminescent bacteria biotesting / A.M. Katsev, V.O. Kuruanov, T.A. Chupakhina, V.Ya. Chirva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 143-149.**

The biological action of new derivatives of aryl-*O*- $\beta$ -D-glucosaminides is studied by luminescent bacteria biotesting. It is shown that inhibition effect of bacterial luminescence is related to the certain functional groups, and depends on lipophilicity of substances. The QSAR-models of dependence between biological effect and ClogP values are present.

**Keywords:** bioluminescence, luminescent bacteria, biotesting, QSAR.

*Поступила в редакцію 19.05.2011 г.*