

БИОЛОГИЯ

УДК 579.26+547.541.52.77

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕНАЗОЛИДОВ СУЛЬФОКИСЛОТ¹© 2006 З.П. Белоусова², Е.С. Селезнева³

Обнаружили, что спиртовые растворов бензимидазола, N-бензимидазолида метансульфокислоты, N-бензимидазолида бензолсульфокислоты, N-бензимидазолида толуолсульфокислоты, бензотризола, N-бензотриазолида метансульфокислоты, N-бензотриазолида бензолсульфокислоты, N-бензотриазолида толуолсульфокислоты в концентрациях 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 мг/мл ингибируют рост колоний *Staphylococcus aureus*. Установлена высокая нелинейная корреляция между антибактериальной активностью представленных азолидов и липофильностью. Другие физико-химические параметры слабо коррелировали со способностью подавлять рост *Staphylococcus aureus*. Выявлено усиление антибактериальных свойств бензазолидов при введении в структуру метильной группы.

Введение

В последние годы основные усилия многих исследователей были направлены на поиск связи между физико-химическими свойствами ксенобиотиков и их биологической активностью. В этом плане особый интерес представляют собой ряды гомологов, обладающие определенным типом биологической активности, к таким соединениям относятся различные бензазолиды. Их высокая биологическая активность связана с тем, что они являются структурными аналогами природных биологически активных соединений: пуринов, цитокининов, фитогормонов [1]. Многие бензазолиды широко используются фармакологии [2, 3].

Поэтому синтез веществ с теоретически прогнозируемым биологическим ответом является, безусловно, актуальной задачей современной химии и биологии. Выявление корреляции между физико-химическими параметрами и биологической активностью соединений позволит разработать эффективно работающие теоретические модели и уменьшить число экспериментальных животных.

¹ Представлена доктором биологических наук профессором В.Г. Подковкиным.

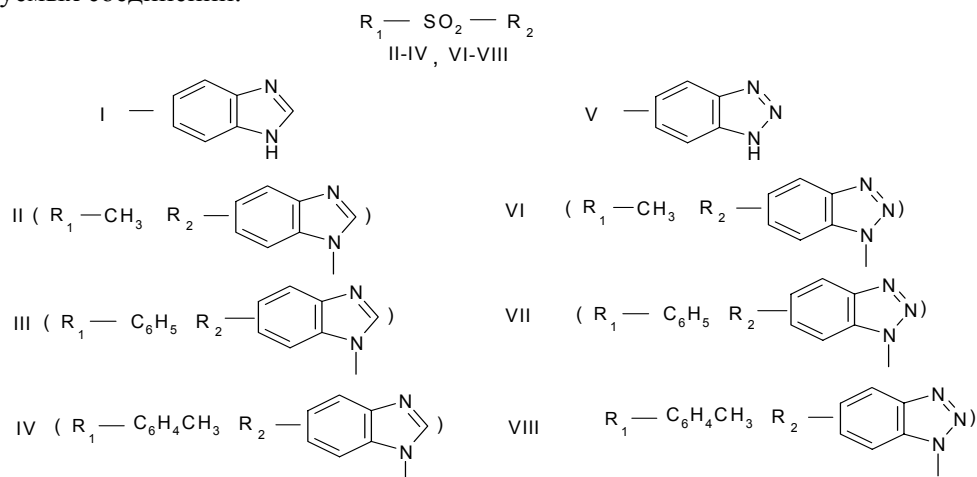
² Белоусова Зоя Петровна (zbelousova@mail.ru), кафедра органической химии, Самарского государственного университета, 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

³ Селезнева Екатерина Сергеевна, кафедра зоологии, генетики и общей экологии Самарского государственного университета, 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

Полученные сведения помогут предположить механизм действия данных соединений на прокариот и эукариот.

Материалы и методы

Задачей данного исследования является анализ связи между антибактериальной активностью спиртовых растворов бензимидазола (I), N-бензимидазолида метансульфокислоты (II), N-бензимидазолида бензолсульфокислоты (III), N-бензимидазолида толуолсульфокислоты (IV) бензотризола (V), N-бензотризолида метансульфокислоты (VI), N-бензотризолида бензолсульфокислоты (VII), N-бензотризолида толуолсульфокислоты (VIII) и их физико-химическими свойствами. Ниже представлено схематическое строение исследуемых соединений.



Экспериментальная химическая часть

Для проведения эксперимента были синтезированы бензазольные производные ароматических сульфокислот с различным числом атомов в гетероцикле. Синтез II-IV и VI-VIII производили методом, описанным в [4].

Физико-химические свойства синтезированных соединений рассчитаны с помощью программы «Nurg Chem», результаты представлены в табл.

Экспериментальная биологическая часть

Анализировали способность спиртовых растворов бензазолидов I-VIII в концентрациях 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 мг/мл ингибировать рост *Staphylococcus aureus*, штамм ATCC № 6578p. Растворителем служил 5% изопропиловый спирт.

Токсичность бензазолидов оценивали в соответствии с методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам по размеру зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* [6]. Тест-диски диаметром 6 мм, пропитанные спиртовыми растворами исследуемых соединений, раскладывали на поверхности агар-агара, засеянного суспензией *Staphylococcus aureus*, содержащей $5 \cdot 10^9$ клеток в 1 мл.

Таблица

Физико-химические свойства бензазолов их производных (I-VIII)

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Молекулярная масса, г/моль	118,13	196,23	258,30	272,33	119,13	197,22	259,29	273,29
Молекулярный объем, Å ³	406,03	543,07	694,59	695,72	390,22	531,92	687,53	740,05
LogP	0,92	4,23	5,91	5,91	1,09	4,40	6,08	4,61
Дипольный момент (Дебай)	3,14	3,34	6,12	3,98	3,65	3,43	1,49	5,398
Энергия гидратации, ккал/моль	-7,07	-5,86	-7,15	-6,87	-10,13	-7,47	-7,89	-6,79

Всего было проведено 7 повторов. Достоверность различий между опытом и контролем и токсичностью действующих соединений оценивали с помощью полного двухфакторного дисперсионного анализа, связь между антибактериальной активностью и физико-химическими свойствами исследованных соединений оценивали с помощью корреляционного анализа [6].

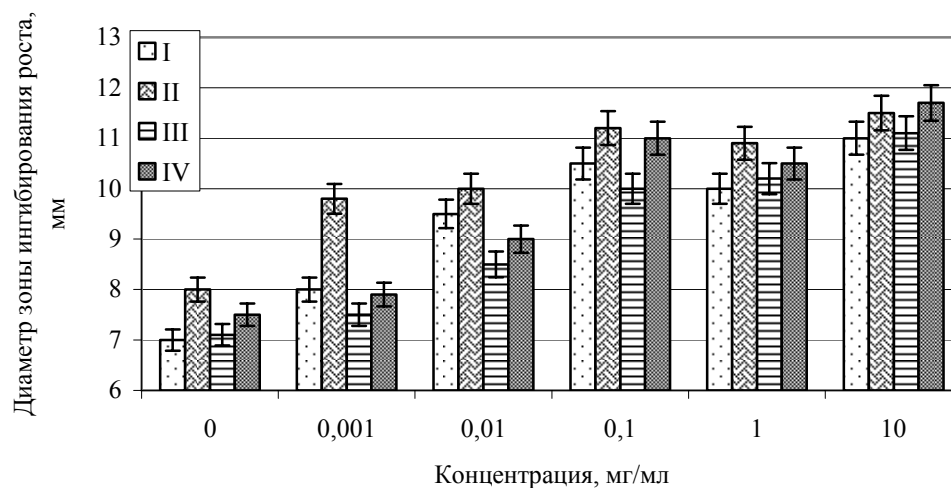
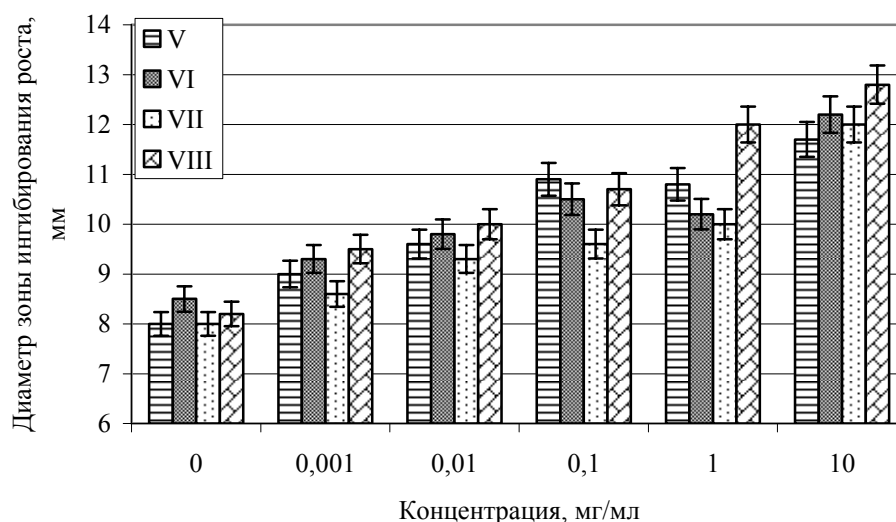
Результаты и обсуждение

Результаты анализа зависимости токсичности от концентрации бензимидазолидов представлены на рис 1.

Из представленных результатов видно, что с ростом концентрации I-IV увеличивается их способность ингибировать рост *Staphylococcus aureus*. Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние на способность ингибировать рост *Staphylococcus aureus* не только концентрации соединений, но и их структуры ($p < 0,01$). Почти во всех исследованных концентрациях наиболее сильно выраженными антибактериальными свойствами обладало соединение II. Токсичность исследованных соединений, в состав которых входила метильная группа (II, IV), достоверно ($p < 0,01$) выше их аналогов без нее (I, III).

Результаты исследований антибактериальной активности бензотриазолидов представлены на рис.2.

С увеличением концентрации V-VIII возрастала их токсичность для *Staphylococcus aureus*. Проведенный полный двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние на ингибирование роста *Staphylococcus aureus* ($p < 0,01$) как концентрации соединения, так и его строения. Для VI-VII также подтверждено наличие связи между увеличением токсичности для *Staphylococcus aureus* и введением метильной группы в структуру бензотриазолида.


 Рис. 1. Анализ способности I-IV ингибировать рост *Staphylococcus aureus*

 Рис. 2. Анализ способности V-VIII подавлять рост *Staphylococcus aureus*

Поиск корреляции между антибактериальной активностью исследованных соединений и их физико-химическими свойствами привел к следующим выводам: была выявлена высокая нелинейная корреляция между величиной Log P (липофильность) и способностью соединений подавлять рост колоний *Staphylococcus aureus* ($r_k = 0,9 \pm 0,01$ для $p < 0,5$). Была установлена слабая нелинейная связь между величиной энергии гидратации, объемом молекулы, молекулярной массой и антибактериальными свойствами. Величина дипольного момента не коррелировала с исследованной биологической активностью ни линейно, ни криволинейно. Кроме того, мы обнаружили интересный факт: при

увеличении концентрации исследованных соединений уменьшается зависимость токсичности от избранных физико-химических параметров. Необходимо отметить, что коэффициент нелинейной корреляции между энергией гидратации и антибактериальными свойствами бензазалидов равен 0,5, что говорит, по нашему мнению, о сильном влиянии на токсичность бензазолида введение метильной группы, которая изменяла способность соединения растворяться в воде (см. таблицу и рис.1, 2).

Известно, что биологическая активность зависит от вида транспорта соединения к месту назначения и от способности связываться с мишенями. По-видимому, решающую роль в этих процессах играет рассчитанная нами липофильность, что согласуется с данными, полученными другими исследователями [7].

Для *Staphylococcus aureus* характерна высокая резистентность к различным веществам, что связано с его повсеместным распространением. По-видимому, низкие концентрации соединения позволяют эффективно «сработать» механизмам резистентности на уровне оболочки бактериальной клетки [8]. При действии высоких концентраций эти механизмы оказываются неэффективными, и рост клеток ингибируется. В этом случае сказывается способность соединений проникать через клеточную мембрану и вмешиваться в метаболизм. Возможно, что все исследованные соединения «способны использовать» имидазолингуанидиновые рецепторы [9], кроме того, их высокая липофильность позволяет предположить способность соединений растворяться в клеточной оболочке *Staphylococcus aureus*.

Ранее было показано, что бензимидазол и его производные способны вмешиваться в метаболизм пуринов, что приводит к торможению синтеза нуклеиновых кислот [3]. Бензотриазол, имеющий аналогичное строение, более токсичен, так как его молекулы более полярны и, следовательно, химически более активны, возможно, и бензотриазол и его производные так же способны вмешиваться в метаболизм нуклеиновых кислот.

Полученные нами результаты хорошо коррелируют с результатами других авторов, анализирующих связь между строением соединений и их биологической активностью [7].

Литература

- [1] Овчинников, Ю.А. Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
- [2] Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – Вильнюс: ЗАО «Гамта», 1994. – Т. 2. – 527 с.
- [3] Розин, М.А. Производные бензимидазола и неспецифическая сопротивляемость / М.А. Розин // Производные бензимидазола и клеточная резистентность – Л.: Наука, 1972. – С.5-32.

- [4] Синтез и биологическая активность азолидов алифатических и ароматических сульфокислот / И.А. Потапова [и др.] // Хим.-фарм. журнал. – 2001. Т. 35. – №11. – С. 5-7.
- [5] Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков –.М: Мин. здрав. СССР, 1962. – 16 с.
- [6] Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
- [7] Barratt, M.D. Prediction of toxicity from chemical structure / M.D. Barratt // Cell Biology and Toxicology. – 2000. – V. 16. – P. 1-13.
- [8] Effects of NaIA inhibitors on in vitro antibacterial activities and postantibiotic effects to levofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin in genetically related strains of *Staphylococcus aureus* / J.R. Aeschlimann [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 1999. – V. 42. – P. 335-340.
- [9] Visualization of multiple imidazoline/guanidinium-receptiven sites / S.M. Lanier, [et.al.] // J.Biol.Chem. – 1993. – V. 268 (210). – P. 16047-16051.

Поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 4/X/2006.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PHISICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SULFOACID BENZOAZOLIDES⁴

© 2006 Z.P. Belousova⁵, E.S. Selezneva⁶

It is found that alcohol solutions of benzimidazole, N-benzimidazolidine methansulfoacid, N-benzimidazolidine benzolsulfoacid, N-benzimidazolidine toluolsulfoacid, benzotriazole, N-benzotriazolidine methansulfoacid, N-benzotriazolidine benzolsulfoacid, N-benzotriazolidine toluolsulfoacid in concentrations 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 mg/ml inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* colonies. The antibacterial activity of the named substances demonstrates the high non-linear correlation with their lipophylity. The other physical and chemical parameters very weak correlate with the ability to depress the *Staphylococcus aureus* colonies growth. The strengthening benzazolidines antibacterial activity is shown be a result of methyl radical complementing to molecule structure.

Paper received 25/IX/2006.
Paper accepted 4/X/2006.

⁴ Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. V.G. Podkovkin.

⁵ Belousova Zoya Petrovna (zbelousova@mail.ru), Dept. of Organic Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁶ Selezneva Ekaterina Sergeevna, Dept. of Zoology, Genetics and General Ecology, Samara State University, Samara, 443011, Russia.