

Р.И.Джалмаханбетова

*Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана
(E-mail: rozadichem@mail.ru)*

Строение и биологическая активность галоциклопропансодержащих сесквитерпеновых лактонов

В статье представлены результаты сравнительного анализа биологической активности галоциклопропансодержащих производных природных сесквитерпеновых лактонов. Рассмотрена взаимосвязь «структура – фармакологическая активность» в ряду синтезированных соединений, содержащих такие фармакофорные группы, как хлор- и бромциклопропановые циклы. На основании полученных результатов установлено, что биологическая активность зависит от положения и характера заместителей в молекуле. Эти данные позволяют проводить дальнейшее совершенствование в конструировании молекул определенных классов соединений, с точки зрения повышения их эффективности.

Ключевые слова: природные соединения, сесквитерпеноиды, циклопропановый цикл, синтез, исследование, структура, фармакологическая активность, взаимосвязь.

Природные сесквитерпеновые лактоны обладают широким спектром фармакологического действия [1–3]. Производные сесквитерпеновых лактонов, содержащие циклопропановый цикл, изучены недостаточно, а сведения по биологической активности отсутствуют. В доступной нам литературе известна лишь одна работа, в которой описывается получение фторциклопропановых производных псевдогваянолидов [4]. В то же время известно, что введение в молекулу циклопропанового цикла оказывает существенное влияние на биологическую активность соединений [2, 5]. В последние годы были опубликованы работы по изучению реакции циклопропанирования [6–8].

Нами впервые изучена реакция циклопропанирования в ряду природных сесквитерпеновых лактонов (1–3), в результате которой синтезирован ряд новых соединений (4–10) [9–12]. В статье рассматривается взаимосвязь «структура – биологическая активность» синтезированных соединений.

Изучение антимикробной активности соединений проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательному штамму *Escherichia coli*. Антимикробная активность образцов оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов. Активность веществ сравнивали с действием линкомицина гидрохлорида и гентамицина. Антимикробную активность соединений оценивали по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметр зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антимикробной активности, 10–15 мм — как слабую активность, 15–20 мм — умеренно выраженную активность, свыше 20 мм — как выраженную. Каждый образец испытывался в трех параллельных опытах. Статистическую обработку проводили методом параметрической статистики с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки.

Изучение противогрибковой активности проводилось в отношении грибов *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Candida albicans* методом дисков. Антигрибковая активность оценивалась по диаметру зон задержки роста культуры грибов. Сплошной рост на чашке оценивали как отсутствие антигрибковой активности. В качестве препарата сравнения взят нистатин.

Цитотоксичность соединений исследовали в тесте выживаемости личинок морских рачков *Artemia salina*. Эксперименты проводились на личинках 2-дневного возраста в условиях культивирования *in vitro*. Личинки выращены погружением яиц морских рачков *Artemia salina* (Leach) в искусственную морскую воду и инкубированием в течение 48 ч при температуре 37 °С при постоянном освещении. С использованием полученных данных по верхнему и нижнему токсическим лимитам рассчитывали половинную токсическую дозу образцов. Препаратом сравнения служил гидрохлорид 13-диметиламино-1,10β-эпокси-5,6α,6,11β(Н)-гвай-3,4-ен-6,12-олид.

Для определения фагоцитоз-стимулирующей активности использована методика, предложенная В.Н.Галанкиным и соавторами [13], с дополнениями, предложенными А.Н.Медведевым и соавторами [14]. При микроскопировании (увеличение 15×90, масляная иммерсия) подсчитывали отдельно количество фагоцитирующих нейтрофилов и моноцитов (фагоцитарный индекс — ФИ1 и ФИ3) на 200

фагоцитов и количество стафилококков, поглощенных одним нейтрофилом или моноцитом (фагоцитарное число — ФЧ1 и ФЧ3). Статическую обработку результатов проводили методом параметрической статистики с вычислением средней арифметической (M) и ее стандартной ошибки (m). Препаратом сравнения служил иммунал.

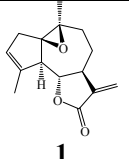
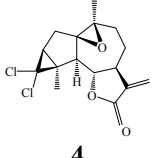
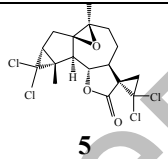
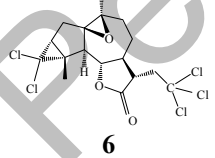
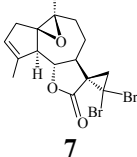
При исследовании взаимосвязи «строение – биологическая активность» циклопропансодержащих производных сесквитерпеновых лактонов арглабина (**1**), людартина (**2**) и эстафиатина (**3**) выявлены описанные ниже результаты.

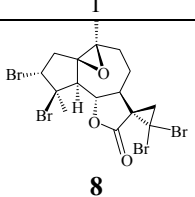
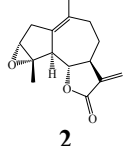
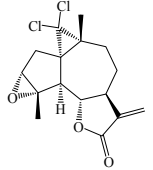
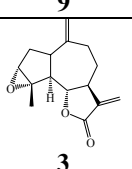
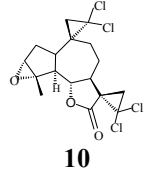
В результате исследования антимикробной активности установлено, что, по сравнению с исходным лактоном (**1–3**), введение галогенциклопропанового фрагмента в молекулу приводит к изменению активности.

Как видно из таблицы 1, по отношению к штамму грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* 505 и к грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* M-17 синтезированные галоциклопропансодержащие производные (**4–10**) показали высокую антимикробную активность по сравнению с исходным лактоном, поскольку исходные лактоны (**1–3**) не проявляли антигрибковые действия к этим видам штаммов. Антимикробное действие по отношению грамположительному штамму *Bacillus subtilis* у хлорциклопропансодержащих производных арглабина (**4–6**) по сравнению с исходным лактоном арглабином (**1**), остается почти без изменений, а у дибромциклопропансодержащего производного арглабина (**7**) увеличивается в 1,3 раза. Дальнейшее бромирование двойной связи (**7**) привело к снижению активности у соединении (**8**) по отношению ко всем видам штаммов. Антимикробная активность хлорциклопропансодержащих производных людартина и эстафиатина (**9, 10**) оказалась высокой по сравнению с исходным лактоном (**2**) и (**3**).

Таблица 1

Антимикробная активность циклопропансодержащих соединений

Структура соединения	Название соединения	<i>Staphylococcus aureus</i> 505	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> M-17
1	2	3	4	5
	Арглабин	–	15±0,1	–
4	Дихлорциклопропанпроизводное арглабина	17±0,2	14±0,2	13±0,1
				
5	Тетрахлорциклопропанпроизводное арглабина	15±0,2	15±0,1	13±0,1
				
6	Пентахлорпроизводное арглабина	16±0,1	13±0,2	14±0,3
				
7	Дибромциклопропанпроизводное арглабина	17±0,1	20±0,1	16±0,2
				

1	2	3	4	5
 8	Тетрабромпроизводное арглабина	13±0,2	16±0,1	—
 2	Людартин	17±0,2	14±0,2	15±0,1
 9	Дихлорциклопропанпроизводное людартина	17±0,1	16±0,1	14±0,1
 3	Эстафиатин	—	15±0,1	—
 10	Тетрахлорциклопропанпроизводное эстафиатина	16±0,1	18±0,1	15±0,2
Линкомицина гидрохлорид		25±0,3	24±0,2	22±0,1
Гентамицин		26±0,1	24±0,1	23±0,2

Примечание. «—» — зона задержки роста отсутствует.

Как видно из таблицы 2, из исследованных образцов в отношении дрожжевого гриба *Candida albicans* соединение (4) обладает умеренно выраженным антигрибковым действием. Соединение (8), испытанное на противогрибковую активность в отношении *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* и *Epidermophyton floccosum*, проявляет выраженное действие к *Epidermophyton floccosum* и умеренно выраженное действие к *Aspergillus flavus*.

Таблица 2

Противогрибковая активность циклопропансодержащих производных

Соединение	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>Candida albicans</i>
1	2	3	4	5	6
 4	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	16±0,1
 6	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	11±0,3

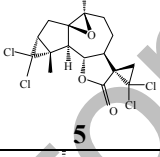
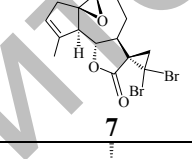
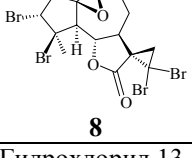
Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
 8	15±2	11±2	17±3	21± 3	Не изучалась
 10	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	Не изучалось	14±0,2
Нистатин	16±3	12±1	15±3	12±1	22±0,1

Из синтезированных соединений цитотоксичность изучена для соединений (**5**, **7**, **8**) (табл. 3). Изучено влияние различных концентрации исследуемых веществ на выживаемость морских рачков *Artemia salina*. Экспериментально установлено, что тетрахлоркарбенпроизводное арглабина (**5**) проявляет высокую цитотоксическую активность, превосходящую эффект гидрохлорида 13-диметиламино-1,10β-эпокси-5,7α,6,11β(H)-гвай-3,4-ен-12,6-олида. Половинная токсическая доза для данного соединения составляет 0,63 мкг/мл, в то время как для гидрохлорида 13-диметиламино-1,10β-эпокси-5,7α,6,11β(H)-гвай-3,4-ен-12,6-олида — 20,6 мкг/мл.

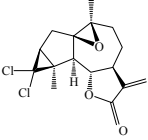
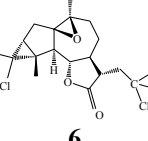
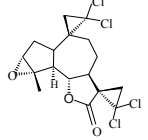
Т а б л и ц а 3

Цитотоксическая активность циклопропансодержащих производных

Соединение	LD ₅₀ , мкг/мл
 5	0,63
 7	825,3
 8	—
Гидрохлорид 13-диметиламино-1,10β-эпокси-5,7α,6,11β(H)-гвай-3,4-ен-12,6-олида	20,6

Из результатов, приведенных в таблице 4, следует, что дихлорциклопропановое производное (**4**) показало дозозависимое, выраженное по интенсивности стимулирующее действие на нейтрофилы (количественная стимуляция). Действие на моноциты стабильно нарастает во времени, но интенсивность его умеренная. Пентахлорпроизводное (**6**) и тетрахлорциклопропановое производное (**10**) обладают выраженным стимулирующим действием только в дозе 0,1 мг/мл и в основном на нейтрофилы. Соединение (**10**) в дозе 0,1 мг/мл умеренно, стабильно повышает количество активных моноцитов.

Фагоцитоз-стимулирующая активность циклопропансодержащих производных

Соединение	Концентрация	Нейтрофилы		Моноциты		Индекс стимуляции нейтрофилов		Индекс стимуляции моноцитов	
		ФЧ1, ед.	ФЧ3, ед.	ФЧ1, ед.	ФЧ3, ед.	через 1 час	через 3 часа	через 1 час	через 3 часа
Контроль средней разведения	—	5,21±0,64	8,18±0,38	4,46±0,64	6,75±0,83	—	—	—	—
Иммунал	8 %	6,25±0,2	8,61±0,87	5,6±0,28	7,62±0,39	33,3	33,76	50,68	14,13
	80 %	5,84±0,56	8,45±0,65	5,1±0,39	7,64±0,71	68,7	25,46	61,36	34,03
 4	1 мг/мл	4,69±0,48	7,24±0,84	3,43±0,31	6,58±0,36	49,3	13,7	4,1	28
	0,1 мг/мл	6,1±0,51	6,12±0,11	7,0±0,87	7,67±0,62	36,14	2,6	26,35	30,51
 6	1 мг/мл	5,48±0,24	5,69±0,44	4,52±0,39	4,73±0,72	34,9	14,99	15,33	6,6
	0,1 мг/мл	6,21±0,41	6,62±0,74	4,39±0,54	5,57±0,33	56,79	7,71	23,31	18,1
 10	1 мг/мл	4,28±0,57	6,53±0,87	5,11±0,91	6,43±0,85	20,9	8,12	-3,9	36,15
	0,1 мг/мл	7,09±0,19	8,26±0,68	6,8±0,68	10,1±0,8	52,35	10,11	31,8	33,9

Таким образом, галогенциклопропановые производные сесквитерпеновых лактонов могут оказывать антимикробное, противогрибковое, фагоцитоз-стимулирующее действия, а также проявляют цитотоксическую активность. Полученные результаты свидетельствуют о том, что биологическая активность синтезированных соединений зависит от положения и характера заместителей в молекуле. Кроме этого, полученные данные позволяют проводить дальнейшее совершенствование в конструировании молекул определенных классов соединений, с точки зрения повышения их эффективности.

Список литературы

- 1 Huo J., Yang Sh.P., Ding J., Yue J.M. Cytotoxic Sesquiterpene Lactones from *Eupatorium lindleyanum* // J. Nat. Prod. — 2004. — Vol. 67. — P. 1470–1475.
- 2 Levina E.V., Kalinovsky A.I., Andriyashenko P.V., Dmitrenok P.S., Aminin D.L., Stonik V.A. Phrygiasterol, a Cytotoxic Cyclopropane-Containing Polyhydroxysteroid, and Related Compounds from the Pacific Starfish *Hippasteria phrygiana* // J. Nat. Prod. — 2005. — No. 10. — P. 1541–1544.
- 3 Wu T.Sh., Damu A.G., Su Ch.R., Kuo P.Ch. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities // Nat. Prod. Rep. — 2004. — No. 21. — P. 594–624.
- 4 Salazar I., Dfaz E. Carbofluorination of pseudoguaianolide sesquiterpene lactones // Tetrahedron. — 1979. — Vol. 35. — P. 815–818.
- 5 Salaiin J. Synthetic potential and bioactivity of cyclopropanes // Journal of org. chemistry. — 1997. — Vol. 33. — P. 806–848.
- 6 Комиссарова Н.Г., Беленкова Н.Г., Шитикова О.В., Спирихин Л.В., Юнусов М.С. Циклопропанирование бетулина и его диацетата дигалогенкарбенами // Журн. орган. химии. — 2004. — Т. 40. — С. 1511–1516.
- 7 Шкуро О.А., Никитина Л.Е., Племенков В.В., Струнская Е.И. Подход к синтезу циклопропанов терпенового ряда на примере камфена // Журнал орг. химии. — 1997. — Т. 33, Вып. 6. — С. 902–904.
- 8 Климкин М.А., Куковинец О.С., Касрадзе В.Г., Спирихин Л.В., Галин Ф.З. Взаимодействие (1S,3S)-1-(2-ацетоксивинил)-2,2-диметил-3-ацетоксиметилциклопропана с галоформами в условиях межфазного катализа // Изв. РАН. Сер. Химия. — 2002. — № 9. — С. 1620–1621.
- 9 Джалмаханбетова Р.И., Ралдугин В.А., Багрянская И.Ю., Гатилов Ю.В., Шакиров М.М., Кульясов А.Т., Адекенов С.М. Синтез дигалогенкарбеновых производных арглабина // Химия природ. соедин. — 2005. — № 5. — С. 451–453.
- 10 Джалмаханбетова Р.И., Ахметова С.Б., Ралдугин В.А., Гатилов Ю.В., Атажанова Г.А., Адекенов С.М. Кристаллическая структура тетрабромпроизводного циклопропилдигидроарглабина и его противогрибковая активность // Химия природ. соедин. — 2006. — № 3. — С. 253–254.

11 Джалмаханбетова Р.И., Атажанова Г.А., Ралдугин В.А., Багрянская И.Ю., Гатилов Ю.В., Шакиров М.М., Адекен С.М. Получение и установление строения двух минорных продуктов взаимодействия арглабина с хлороформом в присутствии краун-эфира // Химия природ. соедин. — 2007. — № 5. — С. 450–452.

12 Джалмаханбетова Р.И., Ралдугин В.А., Багрянская И.Ю., Гатилов Ю.В., Шакиров М.М., Атажанова Г.А., Адекен С.М. Синтез дигалогенкарбеновых производных гваянолида эстафиатина // Химия природ. соедин. — 2007. — № 5. — С. 453–455.

13 Галанкин В.Н., Юнусходжаев Э.Х., Токмаков А.М. и др. Способ определения фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов // Архив патологии. — 1987. — № 6. — С. 78–80.

14 Медведев А.Н., Чаленко В.В. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза // Лабораторное дело. — 1991. — № 2. — С. 19–20.

Р.И.Джалмаханбетова

Сесквитерпенді лактондардың галоциклопропанды туындыларының құрылымы және биологиялық белсенділігі

Мақалада табиғи сесквитерпенді лактондардың галоциклопропанды туындыларының биологиялық белсенділіктерінің салыстырмалы талдау нәтижелері көрсетілген. Хлор- және бромциклопропан сақинасы сияқты фармакофорлы топтары бар синтезделген қосылыстар қатарында «құрылым – фармакологиялық белсенділік» өзара байланысы қарастырылған. Алынған нәтижелер негізінде биологиялық белсенділік молекула құрамындағы орынбасушылардың орнына және сипатына байланысты екендігі анықталған. Бұл мәліметтер нақты бір топ қосылыстар молекулаларын алуда, олардың тиімділігін арттыру мақсатында, одан әрі жетілдіруді жүргізуге мүмкіндік береді.

R.I.Dzhalmakhanbetova

Structure and biological activity of halocyclopropane-containing derivatives of sesquiterpene lactones

This paper presents the results of the comparative analysis of biological activity of halocyclopropane-containing derivatives of natural sesquiterpene lactones. Examined the relationship structure — pharmacological activity in a row of synthesized compounds containing such pharmacophoric groups as chloro- and bromocyclopropane cycles. Based on these results, it was established that the biological activity depends on the position and properties of substituents in the molecule. These data allow further improvement in the design of molecules of certain classes of compounds, from the point of view of increasing their effectiveness.

References

- Huo J., Yang Sh.P., Ding J., Yue J.M. *J. Nat. Prod.*, 2004, 67, p. 1470–1475.
- Levina E.V., Kalinovskiy A.I., Andriyashenko P.V., Dmitrenok P.S., Aminin D.L., Stonik V.A. *J. Nat. Prod.*, 2005, 10, p. 1541–1544.
- Wu T.Sh., Damu A.G., Su Ch.R., Kuo P.Ch. *Nat. Prod. Rep.*, 2004, 21, p. 594–624.
- Salazar I., Dfaz E. *Tetrahedron*, 1979, 35, p. 815–818.
- Salaün J. *Journal of org. chemistry*, 1997, 33, p. 806–848.
- Komissarova N.G., Belenkova N.G., Shitikova O.V., Spirikhin L.V., Yunusov M.S. *Journal of org. chemistry*, 2004, 40, p. 1511–1516.
- Shkuro O.A., Nikitina L.E., Plemenkov V.V., Strunskaya E.I. *Journal of org. chemistry*, 1997, 33, 6, p. 902–904.
- Klimkin M.A., Kukovinets O.S., Kasradze V.G., Spirikhin L.V., Galin F.Z. *Izv. RAS. Ser. chemistry*, 2002, 9, p. 1620–1621.
- Dzhalmakhanbetova R.I., Raldugin V.A., Bagryanskaya I.Yu., Gatilov Yu.V., Shakirov M.M., Kulyasov A.T., Adekenov S.M. *Chemistry of natur. comp.*, 2005, 5, p. 451–453.
- Dzhalmakhanbetova R.I., Akhmetova S.B., Raldugin V.A., Gatilov Yu.V., Atazhanova G.A., Adekenov S.M. *Chemistry of natur. comp.*, 2006, 3, p. 254.
- Dzhalmakhanbetova R.I., Atazhanova G.A., Raldugin V.A., Bagryanskaya I.Yu., Gatilov Yu.V., Shakirov M.M., Adekenov S.M. *Chemistry of natur. comp.*, 2007, 5, p. 450–452.
- Dzhalmakhanbetova R.I., Raldugin V.A., Bagryanskaya I.Yu., Gatilov Yu.V., Shakirov M.M., Atazhanova G.A., Adekenov S.M. *Chemistry of natur. comp.*, 2007, 5, p. 453–455.
- Galankin V.N., Yunushodjaev E.H., Tokmakov A.M. et al. *Archives of pathology*, 1987, 6, p. 78–80.
- Medvedev A.N., Chalenko V.V. *Lab. work*, 1991, 2, p. 19–20.