

Введение В последние 10-15 лет внимание многочисленных исследователей, работающих с микроорганизмами в различных областях биологии и медицины, как в фундаментальных, так и в прикладных направлениях, было обращено на феномен, получивший название Quorum Sensing. Quorum Sensing (QS) – это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, зависящей от плотности их популяции. QS системы включают низкомолекулярные сигнальные молекулы (аутоиндукторы), легко диффундирующие из клеток в среду и обратно, и рецепторные регуляторные белки, с которыми взаимодействуют сигнальные молекулы. По мере того, как популяция бактерий увеличивается и достигает критического уровня, аутоиндукторы накапливаются до необходимого порогового значения и связываются с соответствующими рецепторными белками, что приводит к резкой активации (иногда – репрессии) транскрипции определенных наборов генов. С помощью сигнальных молекул QS систем происходит межклеточная коммуникация бактерий в популяциях, обеспечивающая скоординированный ответ бактерий на изменение условий среды. Тот факт, что QS может быть важнейшим фактором регуляции вирулентности бактерий, обусловил новое направление исследований, связанное с использованием QS регуляции в качестве потенциальной мишени для борьбы с инфекционными заболеваниями. В настоящее время этот подход рассматривается как новая перспективная стратегия антимикробной терапии. В большом количестве лабораторий проводится поиск и изучение веществ, подавляющих QS [1]. Большой научный интерес представляет исследование природных антагонистов аутоиндукторов QS, производных фуранонов, в том числе галогенированных [2]. Отсюда все больше внимания учёных привлекает исследования биологической активности галогенированных фуранонов. Фураноны – это аналоги гомосеринлактона, вмешивающиеся в процесс развития структуры биопленок у микроорганизмов, замещая молекулы гомосеринлактона и, тем самым, делая эти организмы более восприимчивыми к лечению природными биоцидами. После обнаружения эффекта фуранонов, образуемых *D. pulchra*, в различных лабораториях провели широкий скрининг природных соединений и химически синтезировали производные фуранонов, ингибиторов QS, в том числе производные фуранонов с ацильными цепями различной длины. Оказалось, что даже производные фуранонов без ацильной цепи с двумя атомами брома ингибировало QS-систему *P. aeruginosa*. Обнаружено, что производные фуранонов продуцируются различными организмами: морскими зелеными, красными и бурыми водорослями, грибами, асцидиями, актиномицетами и др. [3]. Изучение механизма действия этих веществ на QS системы показало, что соединения фураноновой природы конкурируют с АГЛ за участок связывания с рецепторными белками LuxR типа. Связывание фуранонов с рецептором влияет на стабильность комплекса белок-лиганд, приводя к быстрому расщеплению рецепторного белка [4]. Действие фуранонов приводит к

подавлению различных клеточных процессов, регулируемых QS: биолюминесценции *Vibrio fischeri*; продукции факторов вирулентности у *P. aeruginosa*, *Erwinia carotovora*; образования биопленок. Многие химически синтезированные фураноны значительно эффективнее, чем природные. Большой интерес представляет тот факт, что синтетические фураноны были активны против бактерий в составе биопленок в тех же концентрациях, что и против QS-регуляции планктонно размножающихся бактерий. Для подавления инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, растущих в биопленках, требуются существенно более высокие дозы антибиотиков [5]. Приведенные данные показывают, что производные фуранонов перспективны для получения на их основе терапевтических агентов, направленных против патогенности бактерий. Большинство испытанных к настоящему времени соединений, способных подавлять QS-регуляцию, токсичны для человека [5], для микроорганизмов [6], влияют на активность протеолитических ферментов [7]. Актуальную задачу представляет их модификация и поиски новых, нетоксичных веществ, пригодных для клинического применения. Целью данной работы было оценить биологические эффекты новых синтезированных фуранонов, модифицированных хлором, и серосодержащих галогенированных фуранонов. Материалы и методы исследования На рисунках 1 и 2 представлены две группы фуранонов: серосодержащие (галогенированные хлорсодержащие и негалогенированные) (рис. 1) и галогенированные хлорсодержащие (рис. 2) производные фуранонов, которые применяли в работе. Соединения синтезированы на кафедре Органической химии КФУ под руководством к.х.н., доцента Курбангалиевой А.Р. и предоставлены нам для исследования биологических эффектов. Рис. 1 – Формулы серосодержащих производных фуранонов группы I (условно обозначены 1, 2 и 3) Рис. 2 – Формулы галогенированных производных фуранонов группы II (условно обозначены 4, 5 и 6) Названия исследуемых соединений в соответствии с условными обозначениями (1-6). 1. 5-гидрокси-4-[(4-метилфенил)сульфонил]-3-хлор-2(5H)-фуранон 2. 5-[(4-метилфенил)сульфонил]-3,4-дихлор-2(5H)-фуранон 3. 7-гидрокси-2,3-дигидро-[1,4]дитиино[2,3-с]фуран-5(7H)-он-4-оксид 4. 5-гидрокси-3,4-дихлор-2(5H)-фуранон (мукохлорная кислота) 5. 5-гидрокси-3,4-дихлор-1,5-дигидро-2H-пиррол-2-он 6. 3,4-дихлор-5-(2-хлорэтокси)-2(5H)-фуранон Для определения возможных токсических эффектов разных концентраций фуранонов в работе применяли тест на определение токсичности по отношению к микроорганизмам. В тесте использовали тестерный штамм *Salmonella typhimurium* TA 100. Показателем токсического действия было число колониеобразующих единиц (КОЕ) в опыте (%) по сравнению с контролем [8]. Для определения мутагенных эффектов фуранонов был проведен стандартный тест Эймса без метаболической активации на тестерном штамме *Salmonella typhimurium* TA 100. Сущность теста заключается в том, что тестерные штаммы бактерий *Salmonella typhimurium* культивируют на специальной среде,

на которой могут расти лишь мутанты этих штаммов, у которых произошла мутация от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. Без внешних воздействий такие мутации происходят с низкой частотой [8]. Токсические эффекты исследуемых фуранонов

Проверке на мутагенность должна обязательно предшествовать оценка токсичности образца по отношению к тестерным штаммам для исключения возможности получения ложноотрицательных результатов в испытаниях на мутагенность. В тесте использовали мутантный штамм *Salmonella typhimurium* TA100 из набора для теста Эймса. Предварительно в тесте на токсичность были проверены все исследуемые серосодержащие производные фуранонов. Токсические эффекты не были обнаружены ни для одного из исследуемых соединений в концентрациях от 0.1 до 10 мкг/мл. Превышение числа колоний в опытных вариантах над контрольными отсутствовало. Данный тест был проведён и со второй группой галогенированных хлорсодержащих производных фуранонов. В результате определения возможных токсических эффектов было выявлено, что ни один из опытных образцов не обладает токсичностью по отношению к тестерному штамму *Salmonella typhimurium* TA100, за исключением растворов образца фуранона №6. В концентрациях 10 мкг/мл и 1 мкг/мл растворы данного фуранона оказали гипертоксический эффект на тестерный штамм. Однако раствор фуранона №6 в концентрации 0.1 мкг/мл практически не проявил токсического действия на тестерный штамм сальмонеллы. Исходя из данных эксперимента на токсичность различных концентраций представленных производных фуранонов, было установлено, что исследовать данные концентрации в экспериментах на определение мутагенности можно. Исключение составляют гипертоксические концентрации фуранона №6.

Определение мутагенных эффектов исследуемых фуранонов

Результаты экспериментов показали, что образцы серосодержащих фуранонов 2 и 3, так же как и образцы галогенированных хлорсодержащих фуранонов, 4, 5 и 6 (в исследуемой концентрации), не проявили мутагенных эффектов по отношению к тестерному штамму *Salmonella typhimurium* TA 100, т.к. превышение числа ревертантов над контролем отсутствовало. Однако остальные образцы фуранонов продемонстрировали несколько иные результаты. На рис. 3 показано, что серосодержащий фуранон №1 в концентрации 10 мкг/мл обладает слабой мутагенной активностью. Количество колоний-ревертантов превышено над контролем приблизительно в 4.5 раза. На рисунке 4 показаны результаты теста Эймса для фуранонов группы II. Рис. 3 – Мутагенные эффекты серосодержащего фуранона №1 Рис. 4 – Мутагенные эффекты галогенированных хлорсодержащих фуранонов Аналогичные результаты получены и для фуранонов №№2,3. Таким образом, мутагенные эффекты не были выявлены ни для одного из исследуемых фуранонов, за исключением фуранона №1 в концентрации 10 мкг/мл. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что представленные группы

фуранонон могут быть использованы в дальнейших исследованиях биологической активности с перспективой синтеза новых лекарственных препаратов на основе данных соединений.