

УДК 544.165: 615.917

## **Исследование острой токсичности сложных эфиров на основе 2D-симплексного представления молекулярной структуры**

**О.В. Тиньков<sup>а\*</sup>, П.Г. Полищук<sup>б</sup>,  
А.Г. Артеменко<sup>б</sup>, Л.Н. Огниченко<sup>б</sup>, В.Е. Кузьмин<sup>б</sup>**

*<sup>а</sup> Приднестровский государственный университет  
им. Т.Г. Шевченко,*

*Республика Молдова, Приднестровье,  
г. Тирасполь MD-3300, ул. 25 Октября, 128*

*<sup>б</sup> Физико-химический институт  
им. А.В. Богатского НАН Украины,  
Украина 65080, г. Одесса, Люсторфская дорога, 86*

Received 04.03.2013, received in revised form 11.03.2013, accepted 18.03.2013

*Исследовано влияние молекулярной структуры сложных эфиров на острую токсичность при помощи 2D-симплексного представления молекулярной структуры и метода Partial Least Squares. Были получены адекватные QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) модели. На основе полученных моделей определены вклады структурных фрагментов в острую токсичность сложных эфиров. Кроме того, относительное влияние некоторых физико-химических факторов на изменение острой токсичности было оценено на основе QSAR-моделей.*

*Ключевые слова: острая токсичность, сложные эфиры, моделирование.*

### **Введение**

Сложные эфиры широко используются как растворители, ароматизаторы и консерванты в пищевой промышленности, как инсектициды и гербициды в сельском хозяйстве. При определении стратегии синтеза и биоиспытаний важно наряду с целевым эффектом оценивать токсикологическое действие, в частности острую токсичность –  $Ld_{50}$ . В мире известно более 2 млн химических соединений, для значительной части из которых нет сведений о важнейших токсикологических характеристиках, необходимых для определения их опасности. Затраты

© Siberian Federal University. All rights reserved

\* Corresponding author E-mail address: tinkov84@mail.ru

на экспериментальное определение не всегда целесообразны и доступны. Экспрессные прогностические оценки позволяют выявить наиболее эффективные и безопасные соединения на ранних стадиях исследования. При этом снижается риск позднего выявления их негативного воздействия на человека и окружающую среду [1].

В этой связи актуальны исследования на основе методов QSAR, в ходе которых моделируется зависимость токсичности органических соединений от их структуры. Затем полученные QSAR-модели могут использоваться для прогноза токсических свойств новых, еще не синтезированных химических соединений.

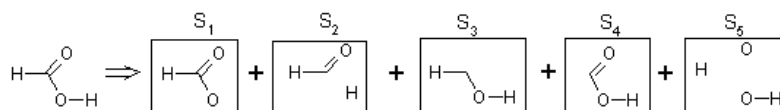
В связи с этим определены задачи данной работы:

1. Построение математических моделей прогноза острой токсичности сложных эфиров.
2. Исследование влияния структурных фрагментов на острую токсичность сложных эфиров.

### Материалы и методы

Информация по острой токсичности и химической структуре сложных эфиров для построения математических моделей была получена при помощи обработки электронной системы управления базами данных «Toxic v.1.1.5» [2]. На основе имеющейся информации была сформирована выборка из 71 соединения, для которых известны значения острой токсичности ( $Ld_{50}$ ) при пероральном введении крысам.

Для описания молекулярной структуры были использованы 2D-фрагментарные симплексные дескрипторы [3], расчет которых реализован в программном комплексе «TheorChem». В рамках симплексного представления молекулярной структуры молекула рассматривается как система различных симплексов – четырехатомных молекулярных фрагментов фиксированной структуры.



На 2D-уровне атомы (вершины симплекса) дифференцируют как по природе («метке») атома, так и с учетом различных физико-химических свойств – частичного заряда на атоме, его липофильности, рефракции, способности выступать донором или акцептором водорода при образовании водородной связи.

Адекватные QSAR-модели, использующиеся для предсказания активности еще не исследованных молекул, должны иметь высокие статистические характеристики. Однако хороший набор статистических характеристик еще не означает, что модель будет обладать высокой предсказывающей способностью. Для оценки такой способности используется метод формирования внешней тестовой выборки (test set – ts). В ходе этой процедуры часть молекул (до 50 %) исключается из процесса построения модели, оставшиеся молекулы формируют обучающую выборку (work set – ws). После построения модель используется для прогноза активности соединений тестовой выборки. Ввиду небольшого количества изучаемых сложных эфиров и их структурного разнообразия была проведена пятикратная внешняя кросс-валидация. Для этого все соединения обучающей выборки были разделены на 5 групп таким образом, чтобы

соединения внутри каждой группы по величине изучаемой токсичности были распределены похожим образом. Для этого все соединения предварительно были отсортированы по их величине токсичности и каждое пятое соединение помещено в отдельную группу. Затем 4 из 5 полученных групп объединяли и для этой выборки строили QSAR-модель, оставшуюся пятую группу соединений использовали в качестве тестовой выборки. Эту процедуру повторяли пять раз таким образом, чтобы все соединения один раз попали в тестовую выборку.

Для каждого из пяти сформированных наборов обучающей и тестовой выборок строили математические модели, которые потом объединяли в консенсусную модель. В данной консенсусной модели вычисленные значения активностей соответствуют средним значениям активностей, рассчитанным при помощи вышеуказанных моделей.

Для оценки устойчивости получаемых моделей использовали процедуру скользящего контроля, в ходе которой каждое соединение исключается из выборки и для него предсказывается значение активности. Коэффициент детерминации, вычисленный в рамках процедуры скользящего контроля ( $Q^2$ ), рассчитывался по формуле

$$Q^2 = \frac{SD - PRESS}{SD}, \quad PRESS = \sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i^{CV})^2, \quad SD = \sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)^2, \quad (1)$$

где  $m$  – количество молекул в выборке;  $y_i$  – заданное значение активности,  $\hat{y}_i$  – вычисленное значение активности;  $\hat{y}_i^{CV}$  – значение активности, вычисленное в условиях скользящего контроля для  $i$ -й молекулы.

Качество прогнозов на основе QSAR-моделей оценивалось коэффициентом детерминации для внешней тестовой выборки:

$$R^2_{\text{test}} = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i (y_i - y_{i\text{mean}})^2}, \quad (2)$$

где ( $R^2_{\text{test}}$ ) – коэффициент детерминации для внешней тестовой выборки;  $y_i$  – наблюдаемое значение активности для  $i$ -го соединения тестовой выборки;  $\hat{y}_i$  – предсказанное значение активности для  $i$ -го соединения тестовой выборки;  $y_{i\text{mean}}$  – среднее значение активности для всех соединений обучающей выборки.

Стандартная ошибка предсказания ( $S$ ) определяется следующей формулой:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)^2}{m - 1}}. \quad (3)$$

Для более строгой оценки статистической достоверности моделей были определены коэффициенты детерминации с применением процедуры рандомизации, заключающейся в создании выборки, для которой случайным образом перемешиваются значения токсичности, при этом значения дескрипторов остаются прежними. После этого происходит построение 100 моделей. Значительно более низкие средние статистические показатели данных 100 моделей по сравнению со значениями оригинальной модели свидетельствуют о статистической достоверности полученных оригинальных моделей.

В качестве статистического метода построения QSAR-моделей был выбран метод частичных наименьших квадратов (PLS – Partial Least Squares) [4].

Расчет вкладов структурных фрагментов на величину острой токсичности был выполнен при помощи программы «Lattice & Simplex Modelling» (LSM), входящей в вышеуказанный программный комплекс «TheorChem».

Подробное описание используемых QSAR-методов приведено в соответствующей литературе [5, 6].

### Результаты и обсуждение

В ходе исследования был получен ряд адекватных QSAR-моделей (табл. 1).

В организме под влиянием ферментов (различных эстераз) сложные эфиры гидролизуются, поэтому характер их токсического действия в значительной степени зависит от образующихся в процессе гидролиза кислот и спиртов. Характер, место и сила действия зависят от скорости гидролиза. Эфиры, при гидролизе которых образуются сильные кислоты, раздражают преимущественно слизистые оболочки. Типичным примером служат сложные эфиры галогенозамещенных кислот. Некоторые из этих соединений обладают и высокой общей токсичностью, обусловленной токсичностью продуктов распада.

Для фрагментов кислот и спиртов, входящих в состав исследуемых сложных эфиров, на основании консенсусной модели были определены их вклады в величину острой токсичности (табл. 2). Приведенная информация позволит осуществлять предварительную селекцию потенциально опасных соединений.

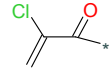
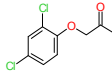
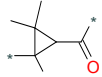




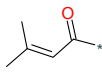
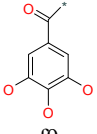

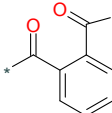
Согласно полученным результатам, можно сделать вывод, что значительный вклад в повышение токсичности сложных эфиров оказывают производные акриловой кислоты (фрагменты f1, f4, f8). Свидетельство такого воздействия акрилатов на организм приведено в работе [7]. При нанесении метилового эфира акриловой кислоты на кожный покров кроликов менялось содержание белковых фракций сыворотки крови животных. По другим данным [8], акриловая кислота у крыс вызывает поражение желудка, некрозы и геморрагии. Необходимо отметить,

Таблица 1. Статистические характеристики QSAR-моделей по острой токсичности<sup>1</sup>

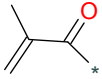

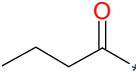
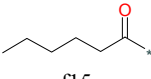
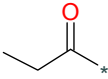
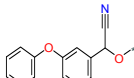
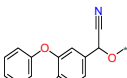
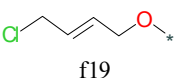
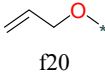
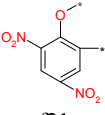
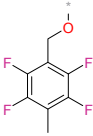
Модель	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>test</sub>	S <sub>ws</sub>	S <sub>cv</sub>	S <sub>is</sub>	A	R <sup>2*</sup>
1	0.84	0.79	0.69	0.31	0.37	0.56	3	0.08
2	0.90	0.78	0.65	0.26	0.39	0.53	3	0.19
3	0.86	0.76	0.75	0.31	0.43	0.45	2	0.26
4	0.82	0.74	0.66	0.36	0.45	0.43	2	0.11
5	0.88	0.80	0.73	0.29	0.39	0.38	3	0.16
6 (консенсусная)	0.88	–	0.69	0.27	–	0.46	–	–

<sup>1</sup> R<sub>2</sub> – коэффициент детерминации; Q<sup>2</sup> – коэффициент детерминации, вычисленный в рамках процедуры скользящего контроля; R<sup>2</sup><sub>test</sub> – коэффициент детерминации для внешней тестовой выборки; S<sub>ws</sub> – стандартная ошибка предсказания для рабочей выборки; S<sub>cv</sub> – стандартная ошибка, вычисленная в рамках процедуры скользящего контроля; S<sub>is</sub> – стандартная ошибка предсказания для внешней тестовой выборки; A – количество латентных переменных; R<sup>2\*</sup> – средний коэффициент детерминации, вычисленный в рамках процедуры рандомизации.

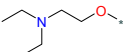
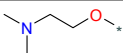

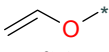
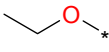
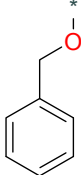
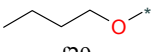
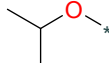
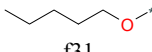
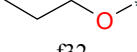
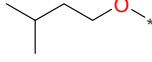
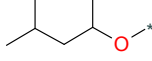
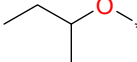
Таблица 2. Вклады структурных фрагментов в острую токсичность сложных эфиров

Фрагмент	Число соединений с этим фрагментом	Минимальный вклад	Максимальный вклад	Средний вклад
1	2	3	4	5
Кислотные остатки				
 f1	1	-1.339	-1.339	-1.339
 f2	4	-0.631	-0.545	-0.597
 f3	8	-0.627	-0.333	-0.468
 f4	3	-0.430	-0.429	-0.430
 f5	2	-0.385	-0.378	-0.381
 f6	1	-0.336	-0.336	-0.336
 f7	2	-0.258	-0.254	-0.256
 f8	1	-0.233	-0.233	-0.233
 f9	3	-0.198	-0.174	-0.186
 f10	4	-0.060	0.014	-0.005
 f11	4	0.079	0.081	0.079

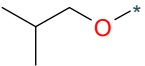
Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5
 f12	4	0.177	0.220	0.196
 f13	16	0.117	0.253	0.238
 f14	1	0.307	0.307	0.307
 f15	1	0.308	0.308	0.308
 f16	3	0.342	0.343	0.342
Спиртовые остатки				
 f17	2	-1.428	-1.016	-1.222
 f18	1	-0.766	-0.766	-0.766
 f19	1	-0.735	-0.735	-0.735
 f20	1	-0.628	-0.628	-0.628
 f21	2	-0.547	-0.539	-0.543
 f22	1	-0.305	-0.305	-0.305

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5
 f23	1	-0.210	-0.210	-0.210
 f24	1	-0.084	-0.084	-0.084
 f25	17	-0.218	0.052	-0.013
 f26	2	-0.014	-0.004	-0.009
 f27	13	-0.126	0.145	0.012
 f28	1	0.023	0.023	0.023
 f29	13	-0.233	0.213	0.081
 f30	2	0.075	0.231	0.153
 f31	1	0.161	0.161	0.161
 f32	3	0.004	0.249	0.164
 f33	1	0.179	0.179	0.179
 f34	1	0.257	0.257	0.257
 f35	1	0.335	0.335	0.335

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
 f36	1	0.355	0.355	0.355

Примечание. Наименьшее значение вклада соответствуют более токсичным фрагментам. Символ «\*» в приведенных структурах фрагментов соответствует месту связи данного фрагмента с любой частью молекулы.

что – согласно полученным данным – хлорпроизводные акриловой кислоты (фрагмент f1) более токсичны, чем ее другие производные (фрагменты f4, f8). Замещение хлора на метильный фрагмент у эфиров акриловой кислоты приводит к значительному снижению токсичности (фрагмент f12).

Синтетические пиретроиды, сложные эфиры, содержащие фрагменты f3, f17 и f18, также проявляют высокую острую токсичность, что не противоречит данным [9], согласно которым соединения, в состав которых входят вышеуказанные фрагменты, относятся к инсектицидным препаратам с достаточно выраженным нейротоксическим эффектом. Влияние данных соединений на функциональное состояние периферической нервной системы объясняется способностью этих соединений взаимодействовать с натриевыми каналами нейрональной мембраны и таким образом усиливать активацию входящего натриевого тока в период генерации потенциала действия нейронов, вследствие чего повышается период невозбудимости нервного волокна, нарушается генерация импульса в перехватах Ранвье, снижается скорость распространения возбуждения. Вместе с тем синтетические пиретроиды могут оказывать влияние на ионофорные каналы рецепторов различных нейротрансмиттеров. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что цианосодержащие синтетические пиретроиды, т.е. содержащие фрагменты f17 и f18, могут взаимодействовать с рецепторами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в синапсомозгах мозга кролика [10]. Таким образом, способность синтетических пиретроидов оказывать влияние на трансмембранные ионные процессы, а также их взаимодействие с ГАМК-рецепторами приводит к существенным нарушениям баланса тормозных и возбуждающих процессов как в периферической, так и центральной нервной системе.

Соединения, содержащие фрагменты f21 и f22 в соответствии с полученными результатами также проявляют высокую токсичность, что может быть объяснено тем, что они выступают в качестве разобщителей тканевого дыхания. Механизм токсического действия данных веществ заключается в разобщении процессов биологического окисления и фосфорилирования. По существующим представлениям разобщители тканевого дыхания, будучи липофильными соединениями, накапливаются в митохондриальной мембране и за счет относительно легко диссоциирующей группы *-OH* облегчают трансмембранный перенос протонов в соответствии с градиентом их концентрации. Вследствие такого повреждения мембраны и увеличения ее проницаемости для протонов ионы водорода устремляются во внутренние среды митохондрий, градиент протонов исчезает, синтез аденозинтрифосфата (АТФ) и других макроэргов прекра-



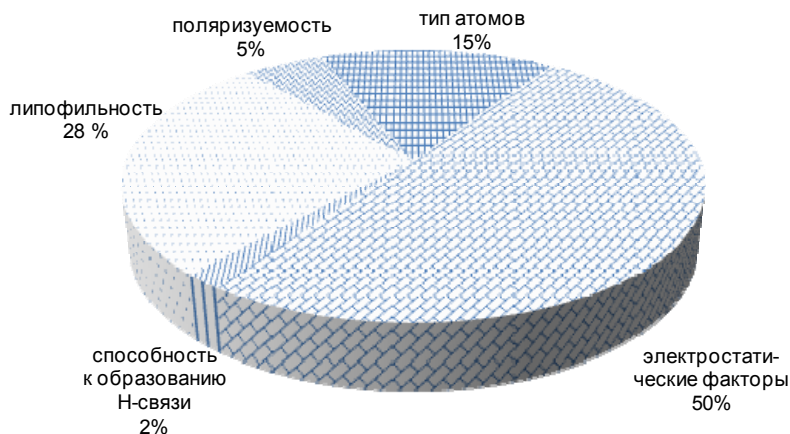


Рис. 1. Относительное влияние физико-химических характеристик исследуемых соединений на значения их среднесмертельных доз при пероральном введении для крыс

щается. При этом вся энергия, запасенная в субстратах, при их биологическом окислении рассеивается в форме тепла [11].

На основании проведенного анализа можно отметить общую закономерность в проявлении острой токсичности для сложных эфиров: ненасыщенные углеводородные фрагменты кислот и спиртов более токсичны по сравнению с насыщенными фрагментами. При этом введение галогенов в ненасыщенные фрагменты способствует повышению токсичности.

На основании полученной консенсусной модели проведен анализ относительных влияний физико-химических характеристик сложных эфиров на их острую токсичность, результаты которого представлены на рис. 1.

В ходе проведенного анализа выявлена доминирующая роль электростатических факторов взаимодействия токсикантов с мишенью. Помимо этого высока роль липофильности, что, вероятно, связано с процессом пассивной диффузии токсикантов через мембрану клеток при всасывании в органах и тканях.

### Заключение

Проведенные исследования позволили:

- получить ряд адекватных QSAR-моделей, описывающих зависимость между структурой и острой токсичностью сложных эфиров;
- на основе полученных QSAR-моделей определить фрагменты, повышающие и понижающие токсичность, что может быть полезным при проведении молекулярного дизайна новых соединений с низкой степенью токсичности. Для некоторых молекулярных фрагментов, повышающих токсичность, рассмотрены возможные механизмы токсического патогенеза;
- проведен анализ относительных влияний физико-химических характеристик сложных эфиров на их острую токсичность.

Данная работа не претендует на исчерпывающее раскрытие вопроса, было бы целесообразно продолжить ее в направлении расширения выборки изучаемых соединений для построения QSAR-моделей.

### Список литературы

1. Кирлан А.В. Планирование направления синтеза биологически активных окси- и амидо-содержащих гетероциклических соединений с учётом токсичности: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Уфа, 2003. 24 с.
2. Тиньков О.В., Полищук П.Г., Артеменко А.Г., Огниченко Л.Н., Кузьмин В.Е. Альтернативные методы изучения и прогнозирования токсичности органических соединений // Вестник Приднестровского гос. ун-та. 2011. № 2. С. 112-118.
3. Кузьмин В.Е., Артеменко А.Г., Челомбитько В.А., Муратов Е.Н., Желтвай А.И., Мещеряков А.К., Ляховский А.В. Иерархическая система моделей QSAR (1D–4D) на базе симплексного представления молекулярной структуры // Тр. науч. сем. «Связь «структура-активность» биологически активных веществ». Гурзуф, 2002. С. 22-26.
4. Rännar S., Lindgren F., Geladi P., Wold S. A PLS Kernel Algorithm for Data Sets with Many Variables and Fewer objects. Part 1: Theory and Algorithm // Journal of Chemometrics. 1994. Vol. 8. P. 111–125.
5. Kuz'min V.E., Artemenko A.G., Muratov E.N., Polischuk P.G., Ognichenko L.N., Liahovsky A.V., Hromov A.I. and Varlamova E.V. Virtual screening and molecular design based on hierarchical QSAR technology // Recent Advances in QSAR Studies. Eds. T. Puzyn, J. Leszczynski, M.T.D. Cronin. London: Springer, 2010. P. 127-176.
6. Pavel G. Polishchuk, Eugene N. Muratov, Anatoly G. Artemenko, Oleg G. Kolumbin, Nail N. Muratov, and Victor E. Kuz'min, Application of Random Forest Approach to QSAR Prediction of Aquatic Toxicity // J. Chem. Inf. Model. 2009. Vol. 49. P. 2481-2488.
7. Суворов А.П. Изменение содержания белковых фракций сыворотки крови кроликов при нанесении им на кожный покров метилового эфира акриловой кислоты // Фармакол. – Токсикол. 1969. № 32. С. 105-107.
8. Acrylic Acid Env. Health. Criteria 191. Geneva: WHO. 1997. P. 106.
9. Кокшарёва Н. В и др. Синтетические пиретроиды: механизм нейротоксического действия, поиск средств лечения острых отравлений // Современные проблемы токсикологии. 2000. № 3. С. 21-25.
10. Narahashi T. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids // Neurotoxicology. 1985. V. 2, N 6. P. 3-22.
11. Куценко С.А.. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. СПб: ФОЛИ-АНТ, 2004. С. 191-194.

## **The Investigation of Acute Toxicity of Esters on the Base 2D Simplex Representation of Molecular Structure**

**Oleg V. Tinkov<sup>a</sup>,  
Pavel G. Polischuk<sup>b</sup>, Anatoly G. Artemenko<sup>b</sup>,  
Liudmila N. Ognichenko<sup>b</sup> and Victor E. Kuz'min<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*T.G. Shevchenko Transdnistria State University,  
107 25 October Str., Tiraspol, MD-3300, Moldova, Transdnistria*

<sup>b</sup>*A.V. Bogatsky Physical-Chemical Institute NAS of Ukraine  
86 Lustdorfskaya Doroga, Odessa, 65080 Ukraine*

---

*The investigation of influence of the molecular structure of esters on acute toxicity has been carried out by 2D simplex representation of molecular structure with help of approaches Partial Least Squares. The quite satisfactory QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) models has been obtained. On the basis of the obtained models the structural fragments raising toxicity are revealed. In addition relative influence of some physical-chemical factors on variation of acute toxicity estimated on the base of QSAR models.*

*Keywords: acute toxicity, esters, modeling.*

---