

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ IN SILICO ЭКОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ ДО И ПОСЛЕ ИХ ХИМИЧЕСКОЙ УТИЛИЗАЦИИ

Чимба А. В., Авсейко М., Яранцева Н. Д.

Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра фармацевтической химии, г. Минск

**Ключевые слова:** QSTR, экотоксикология, токсикология *in silico*, химическая утилизация, бета-лактамы.

**Резюме:** для химической утилизации бета-лактамных антибиотиков был использован щелочной гидролиз. Были осуществлены и описаны реакции гидролиза амоксициллина, цефтриаксона, дорипенема, азтреонама с последующим определением экотоксических свойств исходных веществ и продуктов гидролиза с помощью программного обеспечения TEST. Было установлено, что токсичность всех изучаемых продуктов гидролиза бета-лактамных антибиотиков, ниже по сравнению с токсичностью исходных лекарственных веществ, за исключением незначительного увеличения  $LC50 D. magna$  у продукта гидролиза амоксициллина.

**Resume:** for the chemical utilization of beta-lactam antibiotics, alkaline hydrolysis was used. Hydrolysis reactions of amoxicillin, ceftriaxone, doripenem, aztreonam were described, followed by determination of the ecotoxic properties of the starting materials and hydrolysis products using TEST software. It was found that the toxicity of all studied products of the hydrolysis of beta-lactam antibiotics is probably lower than the toxicity of the starting drugs, with the exception of a slight excess of  $D. magna$   $LC50$  in the hydrolysis product of amoxicillin.

**Актуальность.** Антибиотики, в частности бета-лактамы, являются одними из самых часто используемых лекарственных средств. Повсеместное применение и выброс антибиотиков в окружающую среду может привести к бактериальной устойчивости к лекарственным средствам данной группы, что, в свою очередь, может представлять серьезную опасность для людей и животных [1]. Для уменьшения экологического вреда, наносимого неправильно утилизированными антибиотиками, необходимы разработка и применение новых методов обработки отходов, способствующих разложению токсичных соединений [2]. Одним из перспективных методов может быть химическая утилизация лекарственных веществ с применением доступных, экологически безопасных химических реактивов.

Для оценки токсичности биоактивных молекул в последнее время часто используется метод количественного соотношения структура-токсичность (QSTR). Высокая воспроизводимость и легкая интерпретация результатов делают данный метод привлекательным для анализа соединений различных химических классов [3].

**Цель:** определить целесообразность химической утилизации бета-лактамных антибиотиков с помощью щелочного гидролиза.

**Задачи:** 1) осуществить и описать реакции химического разрушения бета-лактамных антибиотиков; 2) определить основные экотоксические свойства лекарственных веществ и продуктов их разрушения; 3) сделать выводы о токсичности исходных веществ и о продуктах их деструкции.

**Материалы и методы.** Для анализа были выбраны наиболее популярные бета-лактамы из разных химических подгрупп [4]: амоксициллин, цефтриаксон, дорипенем, азтреонам. Структуры были взяты из базы данных NCBI PubChem [5], реакции построены с помощью ChemDraw JS [6].

Для разрушения бета-лактамного цикла использовалась реакция гидролиза с применением 0,1 М раствора гидроксида натрия.

Оценка токсичности исходных веществ и продуктов гидролиза проводилась с использованием программы Toxicity Estimation Software Tool (TEST) [7], которая принадлежит агентству по охране окружающей среды США. Это программное обеспечение предсказывает несколько физических и токсикологических свойств, используя различные алгоритмы. В качестве экотоксических показателей были использованы 96-часовая летальная концентрация *Pimephales promelas* (LC50) и 48-часовая летальная концентрация *Daphnia magna* LC50.

**Результаты и их обсуждение.** Для химической утилизации бета-лактамных антибиотиков был предложен щелочной гидролиз так как он протекает быстрее по сравнению с кислотным. Щелочной гидролиз бета-лактамов начинается с нуклеофильной атаки гидроксильного иона на карбонильную группу, за которой следует расщепление связи C – N с раскрытием кольца 3-тиоазетидин-2-она и образованием карбоксильной группы. Продукты гидролиза изображены на рисунке 1

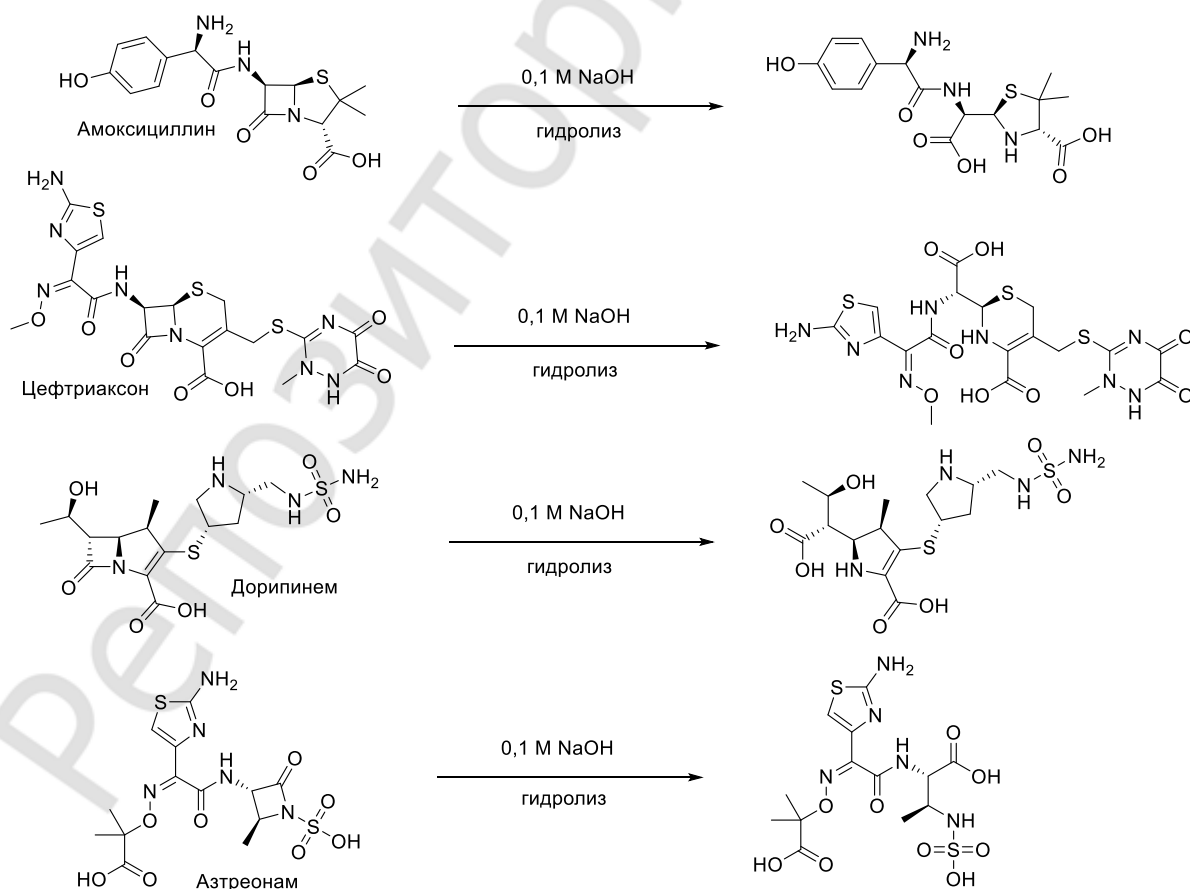


Рис. 1 – Гидролиз бета-лактамных антибиотиков

Наиболее важными параметрами, влияющими на степень гидролиза, являются температура и pH. Скорость гидролиза обычно увеличивается при повышении температуры и pH (относительно нейтральной реакции среды) [9].

Оценка экотоксичности лекарственных веществ и продуктов гидролиза представлена в таблице 1.

**Табл.1** – Показатели экотоксичности, рассчитанные с помощью программы TEST

	-log LC50 <i>C. promelas</i> (моль/л)	-log LC50 <i>D. magna</i> (моль/л)
Амоксициллин	5,21	4,22
Продукт гидролиза амоксициллина	4,65	4,32
Цефтриаксон	6,82	3,57
Продукт гидролиза цефтриаксона	5,18	3,35
Дорипенем	5,64	2,97
Продукт гидролиза дорипенема	5,31	2,53
Азтреонам	7,40	2,96
Продукт гидролиза азтреонама	6,07	2,85

Токсичность всех изучаемых продуктов гидролиза бета-лактамовых антибиотиков, ниже по сравнению с токсичностью исходных лекарственных веществ, за исключением небольшого превышения LC50 *D. magna* у продукта гидролиза амоксициллина. Стоит также отметить, что при определении токсичности азтреонама и его продукта гидролиза, наблюдался низкий коэффициент подобия (<0,5), что может говорить об ошибочном или неточном определении. Это может быть связано с тем, что в тренировочном наборе при разработке модели определения не было структур, схожих с азтреонамом.

Для более точного определения токсических свойств веществ необходимо строить локальные QSTR-модели, которые основаны на родственных химических веществах. Такие модели более точны и могут дать представление о механизме действия вещества, но вместе с этим возникают большие траты на разработку отдельной модели для каждой группы химических веществ.

Уменьшение токсичности продуктов гидролиза можно объяснить тем, что они более полярны, что приводит к более высокой растворимости в воде и более низким коэффициентам распределения октанол/вода, что в свою очередь может привести к более низкой биоаккумуляции и более быстрому выведению.

**Выводы:** 1) щелочной гидролиз бета-лактамов является эффективным и относительно безопасным методом утилизации бета-лактамовых антибиотиков; 2) прогнозирование экотоксичности лекарственных веществ и продуктов их деструкции методами *in silico* может являться достойной альтернативой *in vivo* методам при условии построения локальных QSTR-моделей, основанных на родственных химических веществах.

### Литература

1. Martinez J. L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants //Environmental pollution. – 2009. – Т. 157. – №. 11. – С. 2893-2902.
2. Baquero F., Martínez J. L., Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments //Current opinion in biotechnology. – 2008. – Т. 19. – №. 3. – С. 260-265.
3. Raies A. B., Bajic V. B. In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity //Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science. – 2016. – Т. 6. – №. 2. – С. 147-172.
4. Евстигнеев С. В. и др. Оценка потребления антибактериальных лекарственных средств в многопрофильном стационаре, проведенная по методологии АТС/DDD анализа //Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2017. – Т. 19. – №. 7.
5. Pubchem URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 10.02.2020).
6. ChemDraw JS Sample Page URL: <https://chemdrawdirect.perkinelmer.cloud/js/sample/index.html#> (дата обращения: 10.02.2020).
7. United States Environmental Protection Agency URL: <https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test> (дата обращения: 10.02.2020).
8. Frau J. et al. Alkaline and acidic hydrolysis of the  $\beta$ -lactam ring //Electronic Journal of Theoretical Chemistry. – 1997. – Т. 2. – №. 1. – С. 56-65.
9. Mitchell S. M. et al. pH and temperature effects on the hydrolysis of three  $\beta$ -lactam antibiotics: Ampicillin, cefalotin and cefoxitin //Science of the total environment. – 2014. – Т. 466. – С. 547-555.