

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕОРГАНИЧЕСКИХ И ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

УДК 54.061: 54.066: 57.087.1

DOI: 10.17223/24135542/6/4

**С.Л. Сафронюк, Т.В. Крамарь, М.В. Назаренко**

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО  
«КФУ имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь, Россия)*

### **Оценка влияния заместителей в гетерофункциональных производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты на биолюминесценцию бактерий**

*Произведена оценка биологической активности производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты биолюминесцентным методом. Выявлена корреляция между структурой и биологическим эффектом. В результате проведенных исследований определен общий вид структуры с наиболее выраженной токсичностью в отношении люминесцентного штамма бактерии *Photobacterium leiognathi* Sh1.*

**Ключевые слова:** биолюминесценция; люминесцентные бактерии; гетерофункциональные производные; 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусные кислоты.

### **Введение**

В связи с современными требованиями экологической безопасности перед учёными различных специальностей – химиками, биологами, фармакологами – стоит задача разработки биологически активных препаратов, обладающих, наряду с минимальной опасностью для человека и окружающей среды, эффективным целевым действием [1]. Для этого было организовано много проектов по предсказанию биологической активности, основанные как на статистическом анализе частоты встречаемости функциональных групп (PASS) [2], так и на соответствии определенного набора физико-химических дескрипторов вещества наблюдаемым биологическим эффектам при их действии (MATRIX) [3]. Однако при поиске и создании новых лекарственных средств наряду с развитием скрининговых систем все большее значение приобретают рациональные подходы, основанные на исследовании зависимости биологической активности химических соединений от молекулярной структуры. Взаимосвязь «структура – активность» (Structure – Activity relationship – SAR; Quantitative Structure – Activity Relationship – QSAR) может быть использована для предсказания биологического действия нетестированных соединений с целью отбора более пер-

спективных химических структур для последующих углубленных исследований [4].

Цель исследования – произвести оценку биологической активности производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты (NKV) биолюминесцентным методом; определить заместители, введение которых в структуру исследуемых соединений изменяет биологический эффект и/или его силу в отношении светящихся бактерий.

### Материалы и методы

Тест-объектами в работе выступали различные производные 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты, синтезированные на кафедре фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета. Структурная формула представлена на рис. 1 [5].

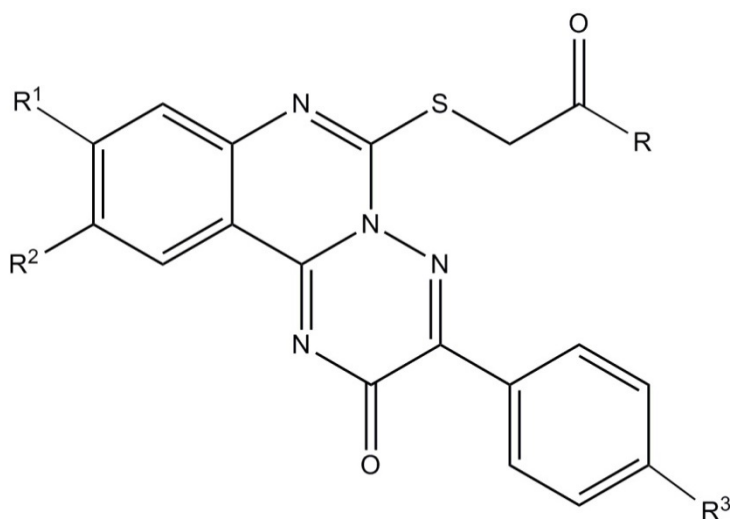


Рис. 1. Общая формула исследуемых производных  
 $R - OH, C_nH_mO_xF_yN_zBr_q$ ;  $R^1 - F, Cl, Br, I, H, O-CH_3, C_6H_5$ ;  $R^2, R^3 - F, Cl, Br, I, H$

Оценку растворимости NKV проводили визуально согласно методике оценки прозрачности и степени мутности жидкостей в компараторе [6]. Приготовление растворов осуществляли путем взвешивания 5 мг каждого образца на аналитических весах ВЛР – 200 (Госметр, Россия) или отбором 5–50 мкм<sup>3</sup> механическим дозатором переменного объема (Proline, Biohit, Финляндия) в пробирки 1,5 мл типа Эппендорф (с замком Safe-Lock, бесцветные, Eppendorf, Германия) с последующим добавлением растворителя или дисперсионной среды. Растворитель – диметилсульфоксид (ДМСО) (Таурус, Россия), оптимальный органический растворитель для проведения скринингового биотестирования веществ при различных условиях [7]. Дисперсная среда – 2,5–3%-ный (масса/объем) раствор натрия хлорида

(НПФ «Невский химик», Россия). Полученную систему интенсивно перемешивали с помощью вибрационной мешалки (ВМ-2, Россия) в течение 10–15 мин.

Скрининг биологической активности производили с использованием биолюминесцентного метода [8], позволяющего неспецифически, независимо от механизма действия химических веществ определять их концентрацию по биологическому эффекту на морские светящиеся бактерии [9]. При анализе производных NKV использовали люминесцентные бактерии *Photobacterium leiognathi* Sh1 [10, 11], выделенные из Азовского моря, входящие в состав коллекции светящихся бактерий Медицинской академии имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Детальное изучение этого штамма выявило его высокую чувствительность к действию химических веществ различной структуры и биологической активности [11, 12]. Культивирование, пролонгирование жизнедеятельности и получение чистых культур клеток проводили с использованием микробиологических подходов [13] на жидких и плотных питательных средах (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия).

Для определения интенсивности биолюминесценции бактерий в методике использовали биохемилюминометр БХЛ-06 (Нижний Новгород, Россия). Биологический эффект исследуемых образцов анализировали с использованием двух подходов в тестировании:

– Острое действие (токсичность) образцов определяли путем внесения в кюветы люминометра, при смешивании 0,8–0,9 мл тестируемого раствора в 2,5–3%-ном (масса/объем) растворе натрия хлорида и 50 мкм<sup>3</sup> бактериальной суспензии. Регистрировали изменение интенсивности биолюминесценции в течение 10–15 мин с использованием самописца. Результаты представляли в виде зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации вещества [14]:

$$I = I_i/I_0 \times 100\%,$$

где  $I_i$  – интенсивность биолюминесценции в присутствии вещества;  $I_0$  – интенсивность биолюминесценции в контроле.

– Хроническое действие (токсичность) определяли по эффекту тестируемого объекта на рост и биолюминесценцию светящихся бактерий. В кюветы люминометра вносили 0,8–0,9 мл 3%-ного (масса/объем) раствора хлорида натрия, 5–50 мкм<sup>3</sup> тестируемого образца, 50 мкм<sup>3</sup> суспензии светящихся бактерий и 20–50 мкм<sup>3</sup> стерильной среды для светящихся бактерий. Помещали в термостат (ТС-80М, Россия) при температуре 30°C на 16 ч. Измерение биолюминесценции и обработку результатов проводили аналогично методике определения острого действия [Там же].

## Результаты и обсуждение

Определение заместителей в ряду производных 1,2,4-триазинохиназол-интиоуксусных кислот проводилось по 2D структурам молекул, описанных

в методиках синтеза [5]. В качестве основной цепи соединений выбрали гетероцикл 6-((2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио)ацетамид. В результате определили: циклические радикалы (адамантан, азапен, бицикло[2,2,1]гептан (норборан)), ароматические радикалы (анизол, трифлюоробензен), гетероциклические радикалы (1-метилпирроллидон, 3-метилпиперидин, 5-метилизоксазол, триметилморфолин), галоген-радикалы (бром, йод, фтор, хлор) и карбоксильная группа. Выделенные заместители содержали фармакофорные группы или их комбинации с циклическими, ароматическими или гетероциклическими фрагментами. В свою очередь адамантан, азапан, бицикло[2,2,1]гептан, анизол, трифлюоробензен, 1-метилпирроллидон, 3-метилпиперидин, 5-метилизоксазол, триметилморфолин, бром, йод, фтор, хлор сами по себе обладают антибактериальными свойствами, связанными с физико-химическими особенностями молекул и атомов [16–22]. Повышение активности системы флавиновых ферментов с образованием перекиси водорода вместо воды и/или нарушение синтеза воска, входящего в состав клеточной стенки, оказывала карбоксильная группа, что вызывало наиболее сильное снижение люминесценции бактерий.

Для оценки биологической активности производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты исследовали возможность получения истинных растворов (ИР) гомологов в анализируемой пробе, поскольку измерения интегрального светового потока проводятся в жидкой фазе [15]. Вначале исследовали возможность порошков NKV с ДМСО образовывать ИР. Мониторинг солюбилизации производных при нормальных условиях ( $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ,  $101,3 \pm 0,1$  кПа) показал следующее: 12 субстанций растворимы в ДМСО с образованием ИР, 30 соединений сформировали суспензии. Для 30 систем-суспензий производили нагрев до  $60 \pm 0,1^\circ\text{C}$  в течение 60 мин во избежание изменения в физико-химических свойствах синтезированных структур, а растворимость оценивалась через каждые 15 мин согласно указанной ранее методике [6]. По истечении одного часа выдержки бинарных систем (суспензий) при  $60 \pm 0,1^\circ\text{C}$  6 производных NKV не произвели переход из суспензионного в истинный тип раствора. После охлаждения образцов до комнатной температуры ИР вещества NKV–64 преобразовался в суспензию. Результаты оценки растворимости производных представлены в табл. 1.

Проводили оценку агрегативной устойчивости полученных систем, растворов NKV в ДМСО, после внесения в 2,5–3%-ный (масса/объем) раствор натрия хлорида – оптимальный для жизнедеятельности тест-штамма бактерий, который выступал в качестве дисперсной среды при биолюминесцентном скрининге. Изменения дисперсности регистрировали как в предыдущей серии экспериментов по исследованию растворимости NKV в ДМСО. В итоге при введении в пробу  $5 \text{ мкм}^3$  систем исследуемых гомологов 25 соединений давали видимый осадок. При добавлении  $25 \text{ мкм}^3$  получили только 3 ИР. При внесении  $50 \text{ мкм}^3$  только вещества с кодовыми названиями NKV–35 и NKV–40 не выпали в осадок.

Таблица 1

## Результаты оценки растворимости производных NKV

| Название вещества |                                                   |        | Номер NKV                                                           |                                                |                                                                |                |        |    |    |
|-------------------|---------------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------|--------|----|----|
|                   |                                                   |        | 29, 55, 57, 60, 63, 65                                              | 30, 32, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 50, 53, 59, 61 | 31, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 49, 51, 52, 54, 56, 58, 67, 69, 70 | 34, 40, 68, 71 | 46, 62 | 64 | 66 |
| Свойства          |                                                   |        |                                                                     |                                                |                                                                |                |        |    |    |
| Окраска раствора  |                                                   |        | Прозрачный, соломенно-желтый, лимонный, желто-коричневый, оранжевый |                                                |                                                                |                |        |    |    |
| Растворимость     | При 25±0,1°C                                      |        | —                                                                   | +                                              | —                                                              | —              | —      | —  | —  |
|                   | При нагре-<br>вании до<br>60±0,1°C<br>в течение   | 15 мин | —                                                                   | +                                              | +                                                              | —              | —      | —  | —  |
|                   |                                                   | 30 мин | —                                                                   | +                                              | +                                                              | —              | +      | —  | —  |
|                   |                                                   | 45 мин | —                                                                   | +                                              | +                                                              | +              | +      | +  | —  |
|                   |                                                   | 60 мин | —                                                                   | +                                              | +                                                              | +              | +      | +  | +  |
|                   | При охлаждении<br>до 25±0,1°C после<br>нагревания |        | —                                                                   | +                                              | +                                                              | +              | +      | —  | +  |

Примечание. «+» – производное образует ИР с ДМСО при указанных условиях; «–» – производное не образует ИР с ДМСО при указанных условиях.

В результате использованных подходов для получения ИР NKV в ДМСО показали, что из 42 исследуемых субстанций получение ИР семи производных (NKV–29, NKV–55, NKV–57, NKV–60, NKV–63, NKV–64, NKV–65) оказалось невозможным (в искомых условиях) при исходной концентрации 5 мг/мл. По полученным данным 95% порошков NKV при внесении в заданные условия для проведения скрининга биологической активности с использованием биолюминесцентного метода образовывали суспензии. В результате для достижения наиболее сопоставимых условий с методикой тестирования на *P. Leiognathi* Sh1 [15] при исследовании производных NKV вводили дополнительный фактор перемешивания в методику острого и хронического подхода к биотестированию.

Результаты скрининга биологической активности с использованием биолюминесцентного метода представлены на рис. 2. По данным [8–10, 14], как ингибирование биолюминесценции, так и ее активирование более чем на 50% связано с проявлением токсичности. На основании полученных данных все NKV условно можно разделить на 4 группы по уровню токсичности и/или эффективно действующей концентрации, изменяющей (для данной группы веществ – ингибирующей) интенсивность люминесценции на 50% (ЭК<sub>50</sub>).

В первую группу «нейтральные вещества» ЭК<sub>50</sub> свыше 0,25 мг/мл вошли представители NKV № 29, 33, 34, 36, 38, 40, 56, 57, 59, 62, 63, 68, 69. Вторая группа, «слабые ингибиторы» (ЭК<sub>50</sub> от 0,175 до 0,25 мг/мл), состоит из NKV № 30, 32, 35, 37, 39, 55, 61. Третья группа, «умеренные ингибиторы» (ЭК<sub>50</sub> от 0,05 л до 0,1 мг/мл), состоит из NKV № 31, 58, 60, 64, 65, 66, 70, 71. Четвертая группа, «сильные ингибиторы» (ЭК<sub>50</sub> меньше 0,025 мг/мл), состоит из NKV № 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 67.

При оценке данных острой и хронической биологической активности с использованием биолюминесцентного метода анализа выявили корреляционную зависимость к ингибированию люминесценции в обоих подходах к тестированию (рис. 3).

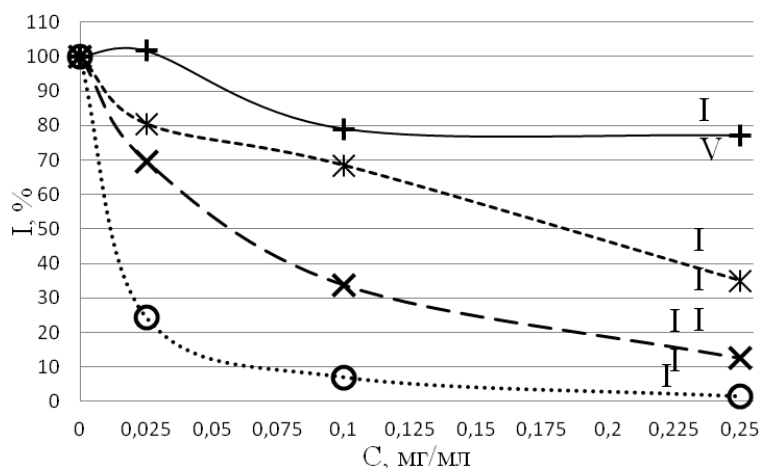


Рис. 2. Интенсивности люминесценции от концентрации производного NKV в пробе.  
I – «нейтральные вещества»; II – «слабые ингибиторы»; III – «умеренные ингибиторы»;  
IV – «сильные ингибиторы»

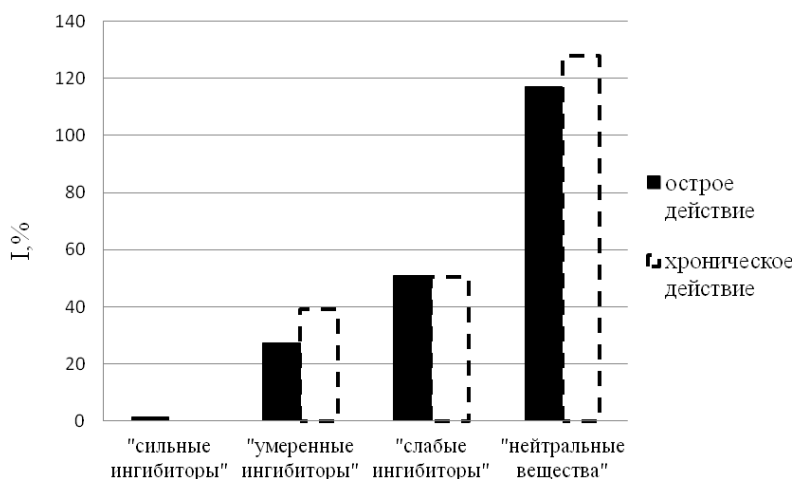


Рис. 3. Корреляция ингибирования свечения по группам

Сравнение структуры и биоактивности тестируемых веществ выявило ряд зависимостей, влияющих на силу ингибирующего эффекта свечения соединения в отношении тест-культур бактерий. Увеличение токсического действия непосредственно связано с изменением числа галогенов от 1 до

6 единиц в структуре соединения с учетом индивидуальных физико-химических свойств атомов в ряду йод, бром, хлор, фтор. К примеру, сила ингибирования свечения производного NKV, содержащего в своей структуре два атома фтора, меньше, чем аналогичный эффект, оказываемый NKV, содержащим один атом хлора. Замещение атома водорода на галоген в 9-м положении, относительно основной гетероциклической цепи 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты, характеризует более сильным снижением люминесценции, чем в 10-м. Удлинение углеродной цепи в радикалах на одну метильную или метокси-группу приводит к снижению токсического воздействия NKV. Определили, что производные 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты являются более сильными ингибиторами бактериальной люминесценции, чем тиацетамиды 1,2,4-триазинохиназолина. В свою очередь, среди 1,2,4-триазино-[2,3-с]хиназолин-6-илтиоацетамидов сила токсического действия увеличивается, если в ацетамидном участке (R, см. рис. 1) производили замещение водорода на фармакофорные группы или их комбинации с циклическими, ароматическими или гетероциклическими фрагментами. Определен общий вид структуры среди тестируемых NKV с наиболее выраженной способностью к ингибированию люминесценции штамма *P. Leiognathi* Sh1 - 2-((9-R<sup>1</sup>-10-R<sup>2</sup>-3-(4-R<sup>3</sup>-фенил)-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио)уксусные кислоты (рис. 4). Вне зависимости от заместителей R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> сила токсического действия составила 80±10% от контрольных значений люминесценции для производных.

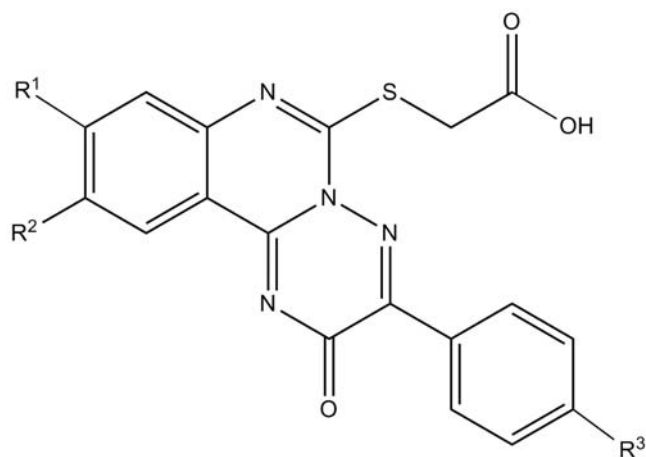


Рис. 4. Схема производных NKV с наибольшим ингибирующим действием  
R<sup>1</sup> – F, Cl, Br, I, H, O–CH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> – F, Cl, Br, I, H [7,5 см]

### Выводы

В результате проведенных исследований определен общий вид структуры с наиболее выраженной токсичностью 2-((10-R<sup>1</sup>-9-R<sup>2</sup>-3-(4-R<sup>3</sup>-фенил)-

2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио)уксусной кислоты, согласно рис. 4. Определены группы, влияющие на силу биоцидного действия производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты. Полученные результаты дают основу для создания фрагментных дескрипторов, которые вместе с физико-химическими дескрипторами позволят выстроить количественные модели SAR и QSAR в ряду производных 1,2,4-триазинохиназолинтиоуксусной кислоты.

### *Литература*

1. Кирлан С.А. Моделирование и прогноз свойств биологически активных гетероциклических соединений на основе связи «структура–активность–токсичность»: дис. ... д-ра хим. наук. Уфа, 2011. 302 с.
2. Соломонов Б.Н., Седов Н.А. Метод расчета энергий гиббса гидрофобного эффекта и специфического взаимодействия неэлектролитов в водных растворах // Журнал физической химии. 2008. Т. 83, № 7. С. 1259–1263.
3. Смирнов И.В. Новые подходы к оценке взаимосвязи электронного строения и специфической активности лекарственных веществ на примере производных сульфонилбензойной кислоты: дис. ... д-ра мед. наук. Барнаул, 2012. 270 с.
4. Габриелян Л.И. Исследование взаимосвязей между молекулярной структурой и гепатозащитной активностью химических соединений: дис. .... канд. биол. наук. М., 2005. 117 с.
5. Nosulenko I.S., Voskoboynik O.Yu., Berest G.G., Safronyuk S.L., Kovalenko S.I., Katshev A.V., Sinyak R.S., Palchikov V.O. Synthesis and antiviral activity of [(9-R1-10-R2-3-R2-OXO-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-c]QUINAZOLIN-6-YL)thio] acetamides derivatives with the fragments of carcass amines // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2014. Т. 1, № 12. С. 17–27.
6. Определение прозрачности и степени мутности жидкостей. Государственная фармакопея. 1984. Vol. XII(1). С. 680–681.
7. Кацев А.М., Шандровская А.С., Абдураманова Э.Р. Оптимизация выбора органических растворителей для проведения скринингового биотестирования лекарственных веществ // Запорожский медицинский журнал. 2011. Т. 13. № 1. С. 83–86.
8. Roda A., Guardigli M., Mishelini E. [et al.] Peer reviewed: analytical bioluminescence and chemiluminescence // Anal. Chem. 2003. Vol. 75, No. 25. P. 462–470.
9. Кацев А.М., Сафронюк С.Л., Цокало И.Е., Шереметьева А.В., Стародуб Н.Ф. Оценка применимости билюминесцентного анализа при определении активности лекарственных препаратов // Ветеринарна біотехнологія. 2013. № 22. С. 188–195.
10. Дерябин Д.Г. Бактериальная билюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 248 с.
11. Кацев А.М., Макемсон Дж. Идентификация светящихся бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей // Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». 2006. Вып. 19, № 4. С. 111–116.
12. Katsev A.M., Wegrzyn G., Szpilewska H. Effects of hydrogen peroxide on light emission by various strains of marine luminescent bacteria // J. Basic Microbiol. 2004. V. 44, No. 3. P. 178–184.
13. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Ширококов В.П. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие. М., 2003. 464 с.
14. Кацев А.М., Скамрова Г.Б., Евстигнеев М.П. Изучение биологического действия комбинаций ДНК-интеркаляторов с кофеином на люминесцентные бактерии // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». 2014. Вып. 27 (66), № 2. С. 186–195.

15. Методика визначення токсичності води на бактеріях *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford // Свидетельство № 224. 01. 13. 194/2002, выданное Уральским НИИ метрологии, а также согласно КНД 211. 1. 4. 060–97.
16. Leonova M.V., Golovin E.V., Shiriaev A.K., Savinova O.V., Klimochkin Yu.V., Skomorohov M.Yu., Kuznetsov S.A. Aminoderivatives of adamantane with antiviral activity against influenza viruses. Pat. of Russian Federation № 2401263.
17. Buagergen R., Burry B., Burry M., Kazella P., Erber J. M., Ler P., Nizato P., Raymon P., Verner J. Benzene derivatives, methods of their preparation and pharmaceutical composition with their content. Pat. of Russian Federation № 2248964. Application Date: 08.06.2000, Publication Date: 10.09.2003.
18. Bernardon J.-M. Bicyclic aromatic compounds and baised on them composition. Pat. of Russian Federation № 2188190.
19. Слепенькин А.В. Метаболизм адамантана и его производных бактериями рода *Pseudomonas*, несущими плазмиду биodeградации : дис. ... канд. биол. наук. Пушино, 2000. 141 с.
20. Исаханян А.У., Геворгян Г.А., Арутюнян Н.С., Токмаджян Г.Г., Пароникян Р.В., Татевосян А.А., Шахатунни А.А. Синтез и некоторые биологические свойства йодметилатов аминокислотных эфиров замещенных уксусных и пропионовых кислот // Химико-фармацевтический журнал. 2013. № 9. С. 29–32.
21. Кнунянц И.Л. Химическая энциклопедия. М., 1988. Т. 1. 623 с.
22. Калюкова Е.Н. Свойства неметаллов и их соединений : учеб. пособие. Ульяновск, 2002. 112 с.

**Авторский коллектив:**

**Сафронок Сергей Леонидович**, ассистент кафедры медицинской и фармацевтической химии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь, Россия). E-mail: pharmlab01@mail.ru

**Крамарь Татьяна Вадимовна**, студентка 4-го курса 2-го медицинского факультета специальности «Лечебное дело» Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь, Россия). E-mail: kramarva@gmail.com

**Назаренко Мария Викторовна**, ассистент кафедры медицинской и фармацевтической химии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь, Россия). E-mail: maryn1988@gmail.com

*Tomsk State University Journal of Chemistry*, 2016, 4 (6), 39–49. DOI: 10.17223/24135542/6/4

---

**S.L. Safronyuk, T.N. Kramar, M.V. Nazarenko**

*Crimean Federal University V.I. Vernadsky, Medical Academy S.I. Georgievsky  
(Simferopol, Russian Federation)*

**The influence of substituents in the heterofunctional derivatives  
of 1,2,4-triazinohinazolin thioacetic acid on bioluminescent bacteria**

*Substituents were identified in the structure of test compounds: cyclic radicals (adamantane, azapen, norborane), aromatic radicals (anisole, trifluorobenzene), heterocyclic radicals (1-methyl pyrrolidone, trimethyl morfolin), halogen radicals (bromine, iodine, fluorine, chlorine), and a carboxyl group. Correlation between the structure and the biological effect was found.*

*An assessment of the biological activity of 1,2,4-triazinohinazolin thioacetic acid (NKV) was created by a bioluminescent method. Results of screening the biological activity divided conditionally all NKV into 4 groups by level of toxicity: 'neutral substance' with  $EC_{50}$  of 0.25 mg/ml; 'weak inhibitor' with  $EC_{50}$  of 0.175–0.25 mg/ml;*

'moderate inhibitor' with  $EC_{50}$  of 0.05–0.1 mg/ml; and 'strong inhibitor' with  $EC_{50} < 0.025$  mg/ml.

The study defined the general form of the structure with the most severe toxicity: 2-((10-R1-9-R2-3-(4-R3-phenyl)-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio)acetic acid.

**Keywords:** bioluminescence; luminescent bacteria; heterofunctional derivatives; 1,2,4-triazinohinazolin thioacetic acid.

## References

1. Kirlan S.A. *Modelirovanie I prognoz svoystv biologicheskii aktivnykh geterociklicheskih soedineniy na osnove svyazi «struktura-aktivnost'-toksichnost'»* [Thesis for the degree of Doctor of Science]. Ufa; 2011:302. In Russian.
2. Solomonov B.N., Sedov I.A. A method for calculating the Gibbs energies of hydrophobic effects and specific interactions of nonelectrolytes in aqueous solutions. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2008;82(7):1110–1114.
3. Smirnov I.V. *Novye podhodyk ocenke vzaimosvyazi elektronnoy stroeniya I specificheskoy aktivnosti lekarstvennykh veshchestv na primere proizvodnykh sulfonilbenzoinoy kisloty* [Thesis for the degree of Doctor of Science]. Barnaul; 2012:270. In Russian.
4. Gabrielyan L.I. *Issledovanie vzaimosvyazey mezhdu molekulyarnoy strukturoy I gepatozashchitnoy aktivnost' u khimicheskikh soedineniy* [Thesis for the degree of Doctor of Science]. Moscow; 2005:117. In Russian.
5. Nosulenko I.S., Voskoboinik O.Yu., Berest G.G., Safronuk S.L., Kovalenko S.I., Katsev An.V., Sinyak R.S., Palchikov V.O. Synthesis and antiviral activity of [(9-R1-10-R2-3-R2-OXO-2 H-[1,2,4]-triazino[2,3- C]quinazolin-6-yl)thio] acetamides derivatives with the fragments of carcass amines. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії* [Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry]. 2014;12(1):17–27.
6. *Opređenje prozračnosti I stepeni mutnosti gidkostey. Gosudarstvennaya farmakopeya*. 1984;XII(1):680–681
7. Katsev A. M., Shandrovskaia A.S., Abduramanova E.P. Optimizaciya vybora organicheskikh rastvoriteley dlya provedeniya skringovogo biotestirovaniya lekarstvennykh veshchestv. *Zaporozhskiy medicinskiy zhurnal* [Zaporozhye Medical Journal]. 2011;13(1):83–86
8. Roda A., Guardigli M., Michelini E., Mirasoli M., Pasini P. Peer reviewed: analytical bioluminescence and chemiluminescence. *Analytical chemistry*. 2003;75(21):462A–470A.
9. Katsev A. M., Safronuk S.L., Tsokalo I.E., Sheremet'eva A.V., Starodub N.F. Otsenka primenimosti bioluminestsennogo analiza pri opredelenii aktivnosti lekarstvennykh preparatov. *Veterinarnaya biotekhnologiya*. 2013;22:188–195.
10. Deryabin D.G. *Bakterialnaya bioluminestsentsiya: fundamentalnye I prikladnye aspekty*. Moscow: Science, 2009. P. 248. In Russian.
11. Katsev A.M., Makemson J. Identifikatsiya svetyashchikhsya bakteriy, vydelennykh iz Chernogo I Azovskogo morey. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsionalnogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, khimiya*. 2006;19(58),4:111–116. In Russian.
12. Katsev A.M., Wegrzyn G., Szpilewska H. Effects of hydrogen peroxide on light emission by various strains of marine luminescent bacteria. *J. Basic Microbiol*. 2004;44(3):178–184.
13. Vorob'ev A.A., Krivognein Yu.S., Shirobokov V.P. *Meditinskaya I sanitarnaya mikrobiologiya*. Uchebnoe posobie. Moscow: 2003;464. In Russian.
14. Katsev A.M., Skamrova G.B., Evstigneev M.P. Izuchenie biologicheskogo deystviya kombinatsiy DNK-interkalyatorov s kofeinom na luminestsentnye bakterii. *Uchenye*

- zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, khimiya.* 2014;27(2):186–195. In Russian.
15. Metodika viznachennja toksichnosti vodi na bakterijah *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford // *Svidetel'stvo* № 224. 01. 13. 194/2002, vydannoe Ural'skim NII metrologii, a takzhe soglasno KND 211. 1. 4. 060–97. In Russian.
  16. Patent RU 2401263 Aminoderivatives of adamantane with antiviral activity against influenza viruses. Leonova M. V., Golovin E. V., Shiriaev A. K., Savinova O. V., Klimochkin Yu. V., Skomorohov M. Yu. Kuznetsov S. A.
  17. Patent RU 2248964 Benzene derivatives, methods of their preparation and pharmaceutical composition with their content. Buagergen R., Burry B., Burry M., Kazella P., Erber J. M., Ler P., Nizato P., Raymon P., Verner J. Application Date: 08.06.2000, Publication Date: 10.09.2003.
  18. Patent RU2188190 Bicyclic aromatic compounds and based on them composition. Bernardon J.-M.
  19. Slep'en'kin A. V. Metabolizm adamantana i ego proizvodnyh bakterijami roda *Pseudomonas*, nesushhimi plazmidu biodegradacii [Thesis for the degree of Doctor of Science]. Pushhino; 2000:141. In Russian.
  20. Isahanjan A.U., Gevorgjan G.A., Arutjunjan N.S., Tokmadzhjan G.G., Paronikjan R.V., Tatevosjan A.A., Shahatuni A.A. Sintez i nekotorye biologicheskie svojstva jodmetilatov aminoalkilovyh jefirov zameshennyh uksusnyh i propionovyh kislot. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal.* 2013;9:29–32. In Russian.
  21. Knunjanc I.L. *Himicheskaja jenciklopedija.* Moskva. 1988. Part 1. P. 623. In Russian.
  22. Kaljukova E.N. *Svojstva nemetallov i ih soedinenij: uchebnoe posobie*, Ul'janovsk. 2002. 112 s. In Russian.

**Information about authors:**

**Safronyuk Sergey L.**, Crimean Federal University V.I. Vernadsky, Medical Academy S.I. Georgievsky (Simferopol, Russian Federation). E-mail: [pharmalab01@mail.ru](mailto:pharmalab01@mail.ru)

**Kramar Tatyana N.**, Crimean Federal University V.I. Vernadsky, Medical Academy S.I. Georgievsky (Simferopol, Russian Federation). E-mail: [kramarva@gmail.com](mailto:kramarva@gmail.com)

**Nazarenko Maria V.**, Crimean Federal University V.I. Vernadsky, Medical Academy of S.I. Georgievsky (Simferopol, Russian Federation). E-mail: [maryn1988@gmail.com](mailto:maryn1988@gmail.com)