

13. Vasil'ev V. P. Analiticheskaja himija: uchebnik dlja himiko-tehnol. spec. vuzov / V. P. Vasil'ev. – M. : Vysshaja shkola, 2006. – 775 s.
14. Bjujul' A. SPSS: iskusstvo obrabotki informacii. Analiz statisticheskikh dannyh i vosstanovlenie skrytyh zakonomernostej /A. Bjujul', P. Cefel'. – Spb. : OOO DiaSoftJuP, 2005. – 608 s.
15. Lucevich D. D. Analitichna himija / D. D. Lucevich, A. S. Moroz, O. V. Gribal's'ka. – K. : Medicina, 2009. – 416 s.

УДК 547.831:54.06

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛЮ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 2-МЕТИЛХІНОЛІН-4-ТІОЛІВ МЕТОДАМИ ХЕМОІНФОРМАТИКИ

Завгородній М. П., Веселков А. В., Бражко О. А., Завгородній В. М.

*Запорізький національний університет  
69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

zavzp@mail.ru

У статті подано результати аналізу похідних 2-метилхінолін-4-тіолу методами хемоінформатики. Основними завданнями дослідження є розрахунок, систематизація та аналіз отриманого масиву даних, які співвідносяться із різними біологічними ефектами. Результати були отримані шляхом *in silico* розрахунків SAR кореляцій для подальшого раціонального дизайну лікарських препаратів, разом із проведенням молекулярного докінгу по відношенню до обраного ензиму SOD1.

Визначено залежності «структура-активність» щодо вірогідного впливу фізико-хімічних та структурних особливостей досліджуваних сполук на їхню біологічну активність. Визначено найбільш потенційно вірогідні сайти зв'язування для досліджуваних сполук із ферментом SOD1.

*Ключові слова: 2-метилхінолін-4-тіол, хемоінформатика, показники біологічної активності.*

Завгородний М.П., Веселков А.В., Бражко А.А., Завгородний В.М. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 2-МЕТИЛХИНОЛИН-4-ТИОЛОВ МЕТОДАМИ ХЕМОИНФОРМАТИКИ / Запорожский национальный университет; 69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66

В статье представлены результаты анализа производных 2-метилхинолин-4-тиола методами хемоинформатики. Основными задачами данного исследования является расчет, систематизирование и анализ полученного массива данных, которые соотносятся с различными биологическими эффектами. Результаты были получены путем *in silico* расчетов SAR корреляций для дальнейшего рационального дизайна лекарственных препаратов, вместе с проведением молекулярного докинга по отношению к выбранному энзиму SOD1.

Определены зависимости «структура-активность» относительно влияния физико-химических и структурных особенностей исследуемых соединений на их биологическую активность. Определены потенциально возможные сайты связывания для исследуемых соединений с ферментом SOD1.

*Ключевые слова: 2 метилхинолин-4-тиол, хемоинформатики, показатели биологической активности.*

Zavgorodniy M.P., Veselkov A.V., Brazhko O.A., Zavgorodniy V.M. STUDYING OF BIOLOGICAL ACTIVITY PROFILE OF 2-METHYLQUINOLINE-4-THIOL DERIVATIVES WITH CHEMOINFORMATIC METHODS / Zaporizhzhya national university; 69600, Ukraine Zaporizhzhya, Zhukovsky str., 66

In the early stages of research and development of new drugs for reducing of spent time and research resources, quick and efficient methods based on the use of computer technologies become more and more popular such as: bio- and chemoinformatics, molecular modeling and mathematical statistics.

Among the derivatives of 2-methylquinoline-4-thiols there is a number of biologically active compounds with wide range of action which can become a basis for new drugs. One of the main problems of such choice is the range of biological activity, the level of potential toxicity and determination of pharmacodynamic, which explains the practical usefulness of chemoinformatic methods. The ultimate

goal of this research is systematizing and summarizing of obtained data by these methods to create a modular basis, which later can be used for goal-seeking and selective search of compounds with desired characteristics.

Compounds which have been used as a total sample – derivatives of 2-methylquinoline-4-thiol – are part of longstanding experimental base of Zaporizhzhya National University laboratory of biotechnologies of physiologically active compounds.

For the computer experiment was used the following software in chemoinformatics: UCFS Chimera, AutoDock, AutoDockTools, PaDEL-ADV, AmberTools, Toxicity Estimation Software Tool, VCCLab - ALogP / S, OpenBabel.

The total size of the sample, which was used for computer calculations - 64 compounds. The study was conducted in two stages. The first stage - determination of physicochemical parameters and indices of toxic effects of selected parameters (water solubility, hydrophobicity, LC50 for Fathead minnow, Daphnia magna, IGC50 Tetrahymena pyriformis, LD50 bioaccumulation factor, the total index of embryotoxic and teratogenic activity, Amos test). Second stage – definition of active binding sites of superoxide dismutase SOD1 (code PubChem – 3LTV) for *Mus musculus* with derivatives of 2-methylquinoline-4-thiols. Final conclusion describes results on a sample of key compounds and calculated indices which have minimum and maximum values.

It may be noted, that compounds which major functional group is residue of amino propionic acid in the second position, have a significant deviation from the mean LogP value in the negative area. This complication or substitution of amino group in second position increases LogP value. Maximum LogP has compound № 9, which can be explained by presence of the phenyl radical.

Solubility index is in the range of -5.88 to -3.27, the average is about -4.22, which coincides with an interval of many known drugs. Among the features may be noticed the minimum values of compounds № 9, 10, 11 which have aromatic residues. Results of biological activity analysis shown in Table 2. In summary, compounds № 8-11, 17, 18 have been identified as the most toxic (at the same time have largest LogP values and the lowest LogS values).

We can conclude that there is a direct tendency to increase the level of toxicity of the compounds (reducing the concentration of the compound causing toxic effect) with the increase of bioaccumulation value and reduced solubility in water. However, this tendency is generalized and applies only to most of the compounds.

According to results of the virtual screening with molecular docking with the SOD1 enzyme were identified four potential binding sites, including one location to which all studied compounds might be jointed, among which was found the overall potential binding site for derivatives of 2-methylquinoline-4-thiol, which was identified as the most binding compound in quantitative terms (46 of 64 compounds) and the qualitative (binding energy among the possible conformations).

The strongest binding energy with the investigational SOD1 enzyme have compounds № 9 and № 15 – more than 8 kcal / mol, and among basic amino acid residues of both enzyme chains with which these compounds form hydrogen bonds are ASN: 206B, VAL: 160B, VAL: 301B, VAL: 7A, VAL: 148A. The largest number of hydrogen bonds formed last two residues. Thus the basic amino acid residues that define binding strength of this enzyme are valine residues

*Key words: 2-methylquinoline-4-thiol, Chemoinformatics, biological activity.*

## ВСТУП

Пошук лікарських засобів, які мають чітко виражений цілеспрямований ефект, є одним з головних завдань медичної хімії. Особливу увагу в сучасній медичній галузі приділено питанню специфічності дії лікарських препаратів з метою зменшення шкідливого або небажаного впливу на живі організми та досягнення максимального лікувального результату. На перших стадіях дослідження та розробки нових лікарських засобів для зменшення витраченого часу та дослідницьких ресурсів все більш популярними стають швидкі та ефективні методи, засновані на використанні комп'ютерних технологій: біо- та хемоінформатики, молекулярного моделювання та математичної статистики.

Серед похідних 2-метилхінолін-4-тіолів існує значна кількість біологічно активних сполук широкого спектру дії, які можуть стати основою для нових лікарських засобів. Серед основних проблем вибору таких сполук є спектр їхньої біологічної активності, рівень потенційної токсичності та визначення їхньої фармакодинаміки, чим пояснюється практична доцільність використання методів хемоінформатики. Кінцевою метою

дослідження є систематизація та узагальнення даних, отриманих цими методами для створення модульного базису, який надалі може бути використаний для ціленапрявленого та більш селективного пошуку сполук із необхідними характеристиками.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Сполуки, які були використані як генеральна вибірка – похідні 2-метилхінолін-4-тіолу – складають частину багаторічної експериментальної бази лабораторії біотехнології фізіологічно-активних речовин Запорізького національного університету [1-3].

Для проведення комп'ютерного експерименту використовували таке програмне забезпечення у сфері хемоінформатики: UCFS Chimera, AutoDock, AutoDockTools, PaDEL-ADV, AmberTools, Toxicity Estimation Software Tool, VCCLab – ALogP/S, OpenBabel [5-9].

Загальний розмір вибірки, яка була використана для комп'ютерних розрахунків, – 64 сполуки.

Дослідження проведено у два етапи. Перший етап – визначення фізико-хімічних показників та показників токсичної дії за обраними параметрами (розчинність у воді, ліпофільність, LC50 для *Fathead minnow*, *Daphnia magna*, IGC50 *Tetrahymena pyriformis*, LD50 фактор біоаккумуляції, сумарний показник ембріотоксичної та тератогенної активності, тест Еймса). Другий – визначення активних сайтів зв'язування супероксиддисмутази SOD1 (код PubChem – 3LTV) для *Mus musculus* із похідними 2-метилхінолін-4-тіолів. У висновках наведені результати щодо вибірки із ключових сполук, розраховані показники яких мають мінімальні та максимальні значення. Перелік досліджуваних сполук із загального набору досліджуваних сполук наведений у таблиці 1.

Таблиця 1 – Вибірка із генеральної сукупності досліджуваних сполук із мінімальними та максимальними значеннями досліджуваних показників.

№	Назва сполуки за IUPAC	№	Назва сполуки за IUPAC
1	2	3	4
1	2-метил-хінолін-4-тіолу	13	2-карбоксаміно-3-(8-метокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) пропіонова кислота
2	6-метокси-2-метил-хінолін-4-тіол	14	2-(2-хлор-ацетиламіно)-3-(8-метокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) пропіонова кислота
3	6-етокси-2-метил-хінолін-4-тіол	15	2-бензоіламіно-3-(8-метокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) пропіонова кислота
4	6-хлор-2-метил-хінолін-4-тіол	16	3-[1-карбоксі-2-(8-метокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) -етілкарбамоіл] акрилова кислота
5	6-бром-2-метил-хінолін-4-тіол	17	3-(6-метокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл)-пропіонової кислоти метиловий ефір
6	(2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) оцтова кислота	18	3-(6-етокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл)-пропіонової кислоти метиловий ефір
7	3-(6-хлор-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) пропіонова кислота	19	2-[(6-фтор-2-метил-4-хінолін) сульфанилацетіл]етанамін дигідрохлорид

1	2	3	4
8	(6-бром-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) гідрозид оцтова кислота	20	N-[1-карбокси-2-(6-етокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл)етил]-сукцинатна кислота
9	2-(6-бром-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл)-N-феніл-ацетамід	21	N-[1-карбокси-2-(5,8-диметокси-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл)етил]-сукцинатна кислота
10	(6-бром-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) -оцтової кислоти бензиліден-гідрозид	22	8-метокси-2-метил-хінолін-4-тіол
11	(6-бром-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) оцтової кислоти (4-диметиламіно-бензиліден) -гідрозид	23	5,8-диметокси-2-метил-хінолін-4-тіол
12	2-аміно-3- (6-хлор-2-метил-хінолін-4-ілсульфаніл) пропіонова кислота		

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Значення показників ліпофільності (LogP) досліджуваних сполук знаходяться в діапазоні від -0.67 до 4.84. При цьому середній показник складає приблизно 2.5.

Зазначимо, що сполуки, які мають головною функціональною групою залишок пропіонової кислоти із аміногрупою у другому положенні, мають значне відхилення від середнього значення LogP у від'ємну область. При цьому ускладнення або заміщення аміногрупи в другому положенні збільшує показник LogP. Максимальне значення LogP має сполука № 9; це можна пояснити наявністю фенільного залишку.

Показник розчинності лежить у діапазоні від -5.88 до -3.27, середнє значення складає приблизно -4.22, і збігається з інтервалом багатьох відомих лікарських засобів [10]. Серед особливостей можна відмітити мінімальні показники у сполук №№ 9, 10, 11, які мають ароматичні залишки. Результати аналізу показників біологічної активності наведені в таблиці 2. Підсумовуючи, сполуки № 8-11, 17, 18 були визначені як найбільш токсичні (водночас мають одні з найбільших значень LogP та одні з найменших значень LogS).

Можна підсумувати, що є пряма тенденція до збільшення рівня токсичності сполуки (зменшення концентрації сполуки, що спричинює токсичний ефект) із збільшення показника біоаккумуляції та зменшенням розчинності у воді. Однак дана тенденція є узагальненою та відноситься лише до більшої частини досліджуваних сполук.

Однією з специфічних хвороб, яка зараз є фактично невиліковною та пов'язана із мутаціями гену SOD1 є бічний аміотрофічний склероз (Amyotrophic Lateral Sclerosis – ALS). Ряд досліджень та публікацій, пов'язаних із SOD1, стосуються саме проблеми визначення етимології ALS.

Бічний аміотрофічний склероз – прогресуюче, смертельне нейродегенеративне захворювання, яке характеризується втратою верхніх і нижніх моторних нейронів. Достеменно відомо, що існує прямий взаємозв'язок між домінуючими мутаціями Cu,Zn-SOD та випадками спадкового захворювання на ALS. Оскільки клінічна картина спадкового захворювання ALS подібна до неспадкового захворювання ALS, то можливо, що основні дефекти у функції рухових нейронів, що виникають у випадку обох форм захворювання, можуть бути пов'язані між собою, і терапевтичні агенти визначені для однієї форми захворювання, можуть бути також ефективними й для інших форм ALS.

Таблиця 2 – Звітна інформація за значеннями показників біологічної активності

Показник	Мінімум	Максимум	Приклади сполук із максимальним або мінімальним значенням
Фактор біоаккумуляції (умовні одиниці)	0.31	56.79	Сполуки №№ 17, 18 мають максимальні значення
<i>Daphnia magna</i> LC50 48 год (мг/л)	0.16	56.54	Сполуки №№ 10, 11 мають мінімальні значення
Ембріотоксичність (умовні одиниці)	Усі сполуки мають позитивне значення, окрім сполук №№ 2-5, 19 та 22		
<i>Fathead minnow</i> LC50 96 год (мг/л)	0.00375	8.15	Сполуки №№ 10, 11 мають мінімальні значення
Мутагенність (тест Еймаса)	Серед сполук, які були спрогнозовані як немутагенні, №№ 7, 9-16, 20, 21		
LD50 для щурів орально (мг/кг)	360.19	4274.19	Сполуки №№ 1, 6, 8, 11 мають мінімальні значення
Розчинність у воді (мг/л)	0.38	413.41	Сполуки №№ 9-11 мають мінімальні значення

За результатами віртуального скринінгу із проведення молекулярного докінгу за ферментом SOD1 було визначено декілька локацій зв'язування, серед яких було знайдено загальний потенційний сайт зв'язування для похідних 2-метилхінолін-4-тіолу, до якого було визначено найбільше зв'язування як за кількісним показником (46 сполук із 64), так і за якісним (енергія зв'язування серед можливих конформерів). Ця локація наведена на рис. 1.

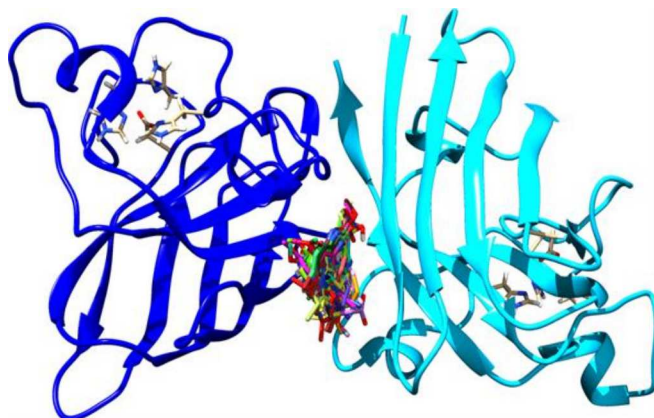


Рис. 1. Зображення докінгу до основного сайту зв'язування ензиму 3LTV

Аналізуючи характер конформацій сполук у цій області, можна зазначити значну подібність у положенні, торсійних кутах та утворених водневих зв'язках між атомами функціональних груп сполук та амінокислотними залишками ензиму.

Так, серед залишків амінокислот обох ланцюгів ферменту, основними, з якими ці сполуки утворюють водневі зв'язки, є ASN:206B, VAL:160B, VAL:301B, VAL:7A, VAL:148A. Найбільшу кількість водневих зв'язків утворюють останні два залишки. Отже, основними амінокислотними залишками, які визначають міцність зв'язування із даним ензимом є залишки валіну.

Середня енергія зв'язування складає від -5,8 кКал/моль до -8,7 кКал/моль. Середнє значення складає приблизно -7 кКал/моль. Найменшу енергію зв'язування мають сполуки №№ 1-5, 22, 23 – менше за -6,3 кКал/моль. Найбільшу енергію зв'язування мають сполуки №№ 9 та 15 – більше за 8 кКал/моль.

У середньому відстань між обома ланцюгами у просторі сайту зв'язування складає близько 10 Ангстрем. Відстані від сайту зв'язування до каталітичних центрів із йоном цинку складає 22-23 Ангстреми (рис. 2), торсійний кут між «центром мас» конформерів сполук та йонами Цинку складає приблизно 120 градусів (рис. 3).

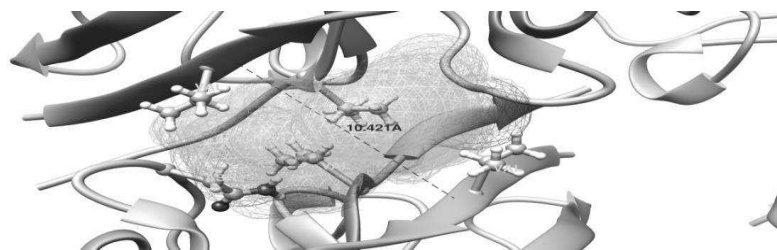


Рис. 2. Відстань між ланцюгами А та В в області активного сайту

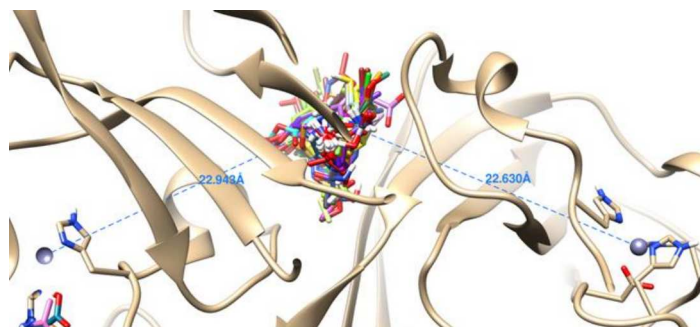


Рис. 3. Відстань між «центрами мас» конформерів лігандів та йонами цинку в каталітичних центрах ензиму 3LTV

Загалом було виявлено чотири основні потенційні сайти зв'язування, які наведені на рис. 4.

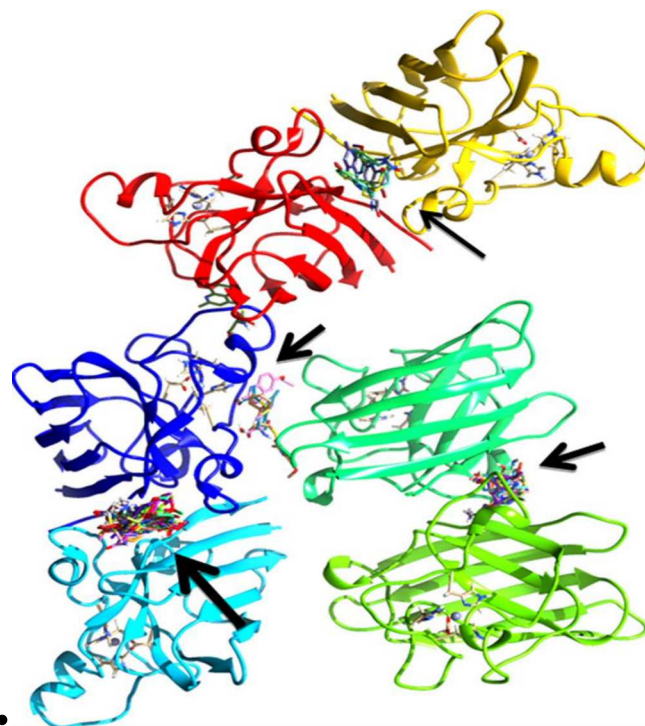


Рис. 4. Сайти зв'язування між ензимом 3LTV та досліджуваними сполуками

Отже, проведені дослідження дозволять провести біологічний скринінг у ряду похідних 2-метилхінолін-4-тіолу та відібрати найбільш перспективні сполуки для подальшого дослідження.

### ВИСНОВКИ

1. Значення показників ліпофільності досліджуваних сполук знаходяться в діапазоні від -0.67 до 4.84. При цьому середній показник складає приблизно 2.5. Тобто досліджувані сполуки є ліпофільними та потенційно схильними до накопичення в організмі, на що також вказують високі значення фактора біоаккумуляції.
2. Показник розчинності лежить у діапазоні від -5.88 до -3.27, середнє значення складає приблизно -4.22. Тобто загалом усі сполуки мають розраховану розчинність, близьку до середньої розчинності більшості відомих ліків.
3. Сполуки № 8-11, 17, 18 були визначені як найбільш токсичні (водночас мають одні з найбільших значень LogP та одні з найменших значень LogS).
4. За результатами докінгу визначено чотири потенційні сайти зв'язування, серед яких визначено одну локацію, до якої можливе стикування усіх досліджуваних сполук.
5. Найбільшу енергію зв'язування із досліджуваним SOD1 мають сполуки № 9 та № 15 – більше за 8 кКал/моль, а серед основних залишків амінокислот обох ланцюгів ферменту, з якими дані сполуки утворюють водневі зв'язки, є ASN:206B, VAL:160B, VAL:301B, VAL:7A, VAL:148A. Найбільшу кількість водневих зв'язків утворюють два останні залишки. Отже, основними амінокислотними залишками, які визначають міцність зв'язування із цим ензимом, є залишки валіну.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Бражко О. А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами: дис. доктора біол. наук: спец. 02.00.10 – «Біоорганічна хімія» / Бражко Олександр Анатолійович. – К., 2005. – 456 с.
2. Бражко О. А. Дослідження антимікробної дії 2-тіопохідних хіноліну / О. А. Бражко // Актуальні питання фарм. та мед. науки і практики. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 4. – С. 23–26.
3. Бражко А. А. Синтез, свойства и биологическая активность 2-тио- и 4-тио, 2-гидразино- и 4-гидразинохинолинов и их производных: автореф. дис. на соискание науч. звания к.ф.н.: спец. 15.00.02 – «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» / А. А. Бражко. – Львов, 1989. – 20 с.
4. Gaikwad J. V. Application of chemoinformatics for innovative drug discovery / J. V. Gaikwad // International Journal of Chemical Sciences and Applications. – 2010. – Vol. 1. – P. 16–24.
5. Pettersen E. F. UCSF Chimera – A Visualization System for Exploratory Research and Analysis / E. F. Pettersen, T. D. Goddard // J. Comput. Chem. – 2004. – Vol. 25. – P. 1605–1612.
6. Martin T.M. Toxicity Estimation Software Tool (TEST) / T. M. Martin // U. S. Environmental Protection Agency: Washington DC, 2016.
7. Trott O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading / O. Trott, J. Olson // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – Vol. 31. – P. 455-461.
8. Tetko I. V. Virtual computational chemistry laboratory – design and description / I. V. Tetko, J. Gasteiger // J. Comput. Aid. Mol. Des. – 2005. – Vol. 19. – P. 453–463.

9. Case D.A. AMBER 2016 / D.A. Case, R.M. Betz // University of California : San Francisco, 2016.
10. Abolghasem J. Experimental and Computational Methods Pertaining to Drug Solubility / J. Abolghasem, A. F. Mohammad // Toxicity and Drug Testing. – 2012. – P. 187–218.

#### REFERENCE

1. Brazhko O. A. Biologichno aktivni pohidni hinolinu ta akridinu z azoto- ta sirkovmisnimi funkcional'nimi grupami: dis. doktora biol. nauk: spec. 02.00.10 – «Bioorganichna himija» / Brazhko Oleksandr Anatolijovich. – K., 2005. – 456 s.
2. Brazhko O. A. Doslidzhennja antimikrobnoyi diyi 2-tiopohidnih hinolinu / O.A. Brazhko // Aktual'ni pitannja farm. ta med. nauki i praktiki. – Zaporizhzhja, 1999. – Vip. 4. – S. 23–26.
3. Brazhko A. A. Sintez, svojstva i biologicheskaja aktivnost' 2-tio- i 4-tio, 2-gidrazino- i 4-gidrazinohinolinov i ih proizvodnyh: avtoref. dis. na soiskanie k.f.n.: spec. 15.00.02 – «Farmaceutichna himija ta farmakognozija» / A. A. Brazhko. – L'vov, 1989. – 20 s.
4. Gaikwad J. V. Application of chemoinformatics for innovative drug discovery / J. V. Gaikwad // International Journal of Chemical Sciences and Applications. – 2010. – Vol. 1. – P. 16–24.
5. Pettersen E. F. UCSF Chimera – A Visualization System for Exploratory Research and Analysis / E. F. Pettersen, T. D. Goddard // J. Comput. Chem. – 2004. – Vol. 25. – P. 1605–1612.
6. Martin T.M. Toxicity Estimation Software Tool (TEST) / T.M. Martin // U.S. Environmental Protection Agency: Washington DC, 2016.
7. Trott O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading / O. Trott, J. Olson // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – Vol. 31. – P. 455–461.
8. Tetko I. V. Virtual computational chemistry laboratory – design and description / I. V. Tetko, J. Gasteiger // J. Comput. Aid. Mol. Des. – 2005. – Vol. 19. – P. 453–463.
9. Case D. A. AMBER 2016 / D. A. Case, R.M. Betz // University of California: San Francisco, 2016.
10. Abolghasem J. Experimental and Computational Methods Pertaining to Drug Solubility / J. Abolghasem, A. F. Mohammad // Toxicity and Drug Testing. – 2012. – P. 187–218.