

УДК: 547.831.1:[57083:004]

ПРОГНОЗ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СПОЛУК ЯК ОСНОВА ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ БІОРЕГУЛЯТОРІВ В РЯДУ N-АЦИЛЬНИХ ПОХІДНИХ S-(2-МЕТИЛХІНОЛІН-4-ІЛ)-L-ЦИСТЕЇНУ

І.Б. Лабенська

Запорізький національний університет

Проведен сравнительный анализ результатов виртуального компьютерного скрининга и данных экспериментальных исследований биологической активности новых N-ацильных производных S-(2-метилхинолин-4-ил)-L-цистеина. Определены перспективные направления синтеза соединений данного ряда, пополнен банк данных новыми дескрипторами для дальнейшего молекулярного дизайна.

N-ацильные производные S-(2-метилхинолин-4-ил)-L-цистеина, зависимость «компьютерный прогноз – структура – биологическая активность»

ВСТУП

Одним із перспективних напрямків у створенні біорегуляторів на сьогоднішній день є моделювання природних сполук, що поєднують у своєму складі декілька фармакофорів. Азотомісні гетероцикли протягом багатьох років успішно використовуються у багатьох галузях сільського господарства, промисловості, ветеринарії та медицини [1, 2, 8, 17, 18]. Хінолін та його меркаптопохідні є важливими біологічними об'єктами для дослідження, оскільки впливають на різні етапи процесу вільнорадикального окиснення ліпідів (ВРОЛ) за рахунок захисту ферментів антиоксидантного комплексу [2, 4, 18]. Їх структурна модифікація, а саме введення фрагментів та функціональних груп в якості замісників, надає можливість посилення окремих видів біологічної активності, що притаманні одній зі структур, та отримання речовин з новим комплексом біологічних властивостей. Сучасні досягнення комбінаторної хімії поєднані з аналізом зв'язку структури речовини та її біологічних властивостей, тому завданням цілеспрямованого синтезу виступають не тільки біологічно активні сполуки, а й оптимальні фармакокінетичні параметри їх біотрансформації. Основна перспектива комплексного підходу – аналіз залежностей між параметрами біологічної дії речовини та її молекулярними дескрипторами з використанням комп'ютерної програми, яка надає можливість прогнозувати імовірну біологічну дію сполук, виявляти нові ефекти та механізми дії відомих сполук, проводити відбір перспективних сполук для синтезу, визначати напрямки скринінгу, модифікувати дію синтезованих сполук шляхом введення необхідних фармакофорів.

Мета роботи – проведення порівняльної характеристики окремих видів біологічної активності, отриманих експериментальним і розрахунковим (PASS) шляхом, для виявлення активних структурних дескрипторів, визначення нових напрямків синтезу сполук із заданими видами біологічної активності N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну.

УМОВИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для реалізації поставлених завдань проведено віртуальний скринінг 80 нових N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну (рис. 1) з використанням комп'ютерної програми PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), сучасна версія якої прогнозує близько 4535 видів фармакологічних ефектів, механізмів дії, мутагенність, канцерогенність, тератогенність, ембріотоксичність на основі структурної формули сполуки [9,14].

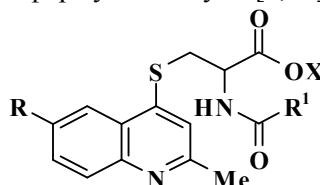


Рисунок 1 – R = H, MeO, EtO, Br; X = Na, Me; Pr-i; R1 = ацильна група

Синтез нових N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну, здійснено в лабораторії біотехнології ФАР Запорізького національного університету (зав. лаб. д.б.н., проф. О.А. Бражко). Точність прогнозу системи PASS, що становить 85 %, достатня для практичного використання її з метою передбачення спектра біологічної активності нових речовин. Результати виводяться програмою у вигляді переліку назв можливих видів активності з розрахованими оцінками вірогідності наявності (Pa) та відсутності (Pi) кожного виду активності, які мають значення від 0 до 1 [9, 14, 16]. Важливим моментом для отримання максимальної відповідності

між показниками комп'ютерного прогнозу та експерименту є використання адекватної біологічної моделі дослідження, яка відтворює рецепторну мішень дії сполуки, має високу специфічність, дозволяє вилучити сторонні фактори впливу, визначити механізм впливу даної сполуки в динаміці перебігу патології на зазначені процеси і встановити кількісні показники протікання даного процесу. Для скринінгових досліджень антирадикальної дії (АРА) (in vitro) вивчали вплив речовин на швидкість реакції аутоокиснення адреналіну, який ґрунтується на інгібуванні активних форм кисню [11]. Мембраностабілізуючу дію досліджували на моделі токсичного гепатиту [3]. З метою визначення структурних перетворень в еритроцитах оцінювали їх стійкість до кислотного, осмотичного та перекисного гемолізу [12, 5, 10]. Гепатопротекторну активність оцінювали за ступенем цитолізу гепатоцитів за активністю маркерних ферментів, амінотрансфераз – АлАТ та АсАТ, у сироватці крові щурів кінетичним методом [5]. Еталон порівняння – тіотриазолін, сульфуровмісний антиоксидант та гепатопротектор [13]. Протизапальну дію сполук вивчали на моделі карагенінового набряку [3]. В якості препарату порівняння використовували розчин натрію диклофенаку [8]. Математичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel» [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну, вказує на імовірність наявності широкого спектру біологічної активності даних сполук: мембранопротекторної, протипухлинної, протигрибкової, антитоксичної, гепатопротекторної, антиоксидантної, антитромботичної, протизапальної, нейропротекторної, кардіопротекторної, імуностимулюючої та ін. Привертає увагу наявність комбінованої дії сполук, а саме варіанти поєднання мембранопротекторної, гепатопротекторної, антирадикальної та протизапальної активності. Велике значення має відсутність терато- та канцерогенності, ембріотоксичності [7]. Для встановлення залежності між біологічною дією і будовою ми визначили та синтезували сполуки з потенційно активними замісниками у шостому положенні хінолінового циклу, за аміно- та карбоксильною групами, які за результатами прогнозу мають високий рівень імовірної наявності відповідної дії. Найбільш перспективними ми вважали речовини при $0,5 < P_a < 0,7$ та при $P_a < 0,5$ тому, що вони часто виявляються принципово новими базовими структурами [9, 14, 15].

Помірна ефективність прогнозувалась для сполук, що вивчались на предмет антирадикальної активності і дослідження підтвердили цей факт. Результати прогнозу з розрахунковими параметрами імовірної наявності, які мають значення від 0 до 100 % та антирадикальної активності наведені на рис 2. Наявність в шостому положенні хіноліну алкоксигрупи сприяє помірному підвищенню АРА (сполуки 15–18, 20–22, 25–27), імовірно, за рахунок її дезалкілювання та утворення в експериментальних середовищах фенолятних структур, які здатні інгібувати утворення пероксидних радикалів. Введення бром у шосте положення хінолінового циклу призводить до значного зниження активності (сполуки 32, 33). Зменшення очікуваної активності окремих сполук (4, 14, 29, 30, 33) ми пов'язуємо з їх поганою розчинністю у буферному розчині.

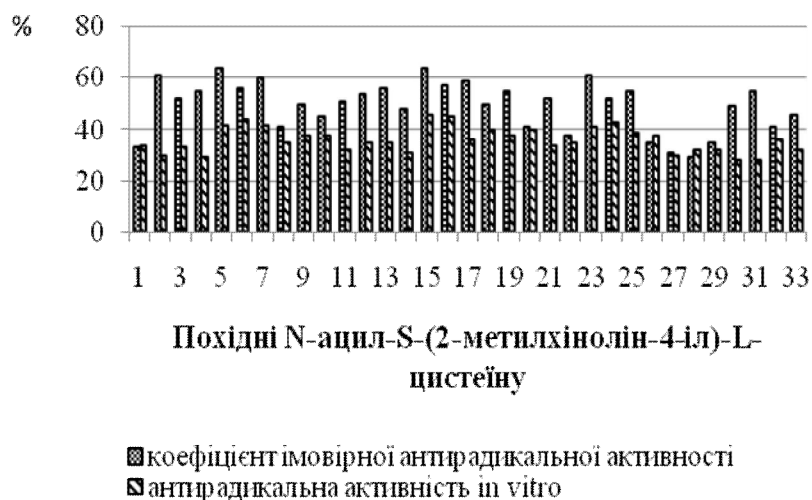


Рисунок 2 – АРА N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну

Найбільший рівень мембранопротекторної активності прогнозували для сполук 3, 12, 20, 22, що підтверджено результатами дослідження стійкості мембран еритроцитів до ушкоджень (табл. 1). Введення в шосте положення хінолінового циклу етоксигрупи (сполуки 18, 20, 22) призводило до зменшення кількості первинних та вторинних продуктів ВРОЛ та гальмування пошкодження еритроцитів, а відсутність замісника та введення метоксигрупи (сполуки 3, 12) помірно зменшувало позитивну динаміку. Модифікація природи ацильного фрагменту (сполуки 16, 23, 24) значно знижувала стійкість клітин до кислотного, гіпоосмотичного та перекисного навантаження. Етерифікація (сполуки 9, 18, 22) призводила до помірної мембраностабілізуючої активності.

Найбільша відповідність між прогнозом та гепатопротекторною активністю для всіх досліджених сполук спостерігалась на моделі токсичного гепатиту. Встановлено, що активність значною мірою залежить від природи замісників у шостому положенні хіноліну та у ацильному залишку L-цистеїну. Введення етоксигрупи у шосте положення хіноліну (сполука 20) сприяло значному підвищенню активності, що узгоджується з даними літератури [2, 4].

Таблиця 1 – Біологічні властивості похідних N-ацил-S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну

№ сполуки	Прогноз біологічної активності по PASS			Результати дослідження біологічної активності	
	Pa	Pi	Вид біологічної дії	% активності	Вид біологічної дії
1	0,511	0,007	Інгібітор лейкотрієнів	48	Протизапальна
3	0,638	0,010	Мембранопротекторна	44	Мембранопротекторна
	0,419	0,035	Гепатопротекторна	55	Гепатопротекторна
	0,384	0,021	Інгібітор лейкотрієнів	19	Протизапальна
6	0,336	0,036	Інгібітор лейкотрієнів	13	Протизапальна
9	0,457	0,058	Мембранопротекторна	42	Мембранопротекторна
	0,31	0,104	Гепатопротекторна	40	Гепатопротекторна
10	0,442	0,012	Інгібітор лейкотрієнів	52	Протизапальна
12	0,575	0,019	Мембранопротекторна	49	Мембранопротекторна
	0,423	0,034	Гепатопротекторна	61	Гепатопротекторна
	0,361	0,027	Інгібітор лейкотрієнів	32	Протизапальна
16	0,590	0,016	Мембранопротекторна	36	Мембранопротекторна
	0,336	0,119	Гепатопротекторна	48	Гепатопротекторна
	0,347	0,080	Інгібітор лейкотрієнів	16	Протизапальна
18	0,457	0,048	Мембранопротекторна	43	Мембранопротекторна
	0,303	0,198	Гепатопротекторна	45	Гепатопротекторна
20	0,597	0,015	Мембранопротекторна	59	Мембранопротекторна
	0,507	0,042	Гепатопротекторна	70	Гепатопротекторна
	0,397	0,018	Інгібітор лейкотрієнів	40	Протизапальна
22	0,422	0,085	Мембранопротекторна	48	Мембранопротекторна
	0,477	0,039	Гепатопротекторна	51	Гепатопротекторна
	0,397	0,018	Інгібітор лейкотрієнів	46	Протизапальна
23	0,513	0,167	Мембранопротекторна	28	Мембранопротекторна
	0,306	0,014	Гепатопротекторна	30	Гепатопротекторна
24	0,556	0,022	Мембранопротекторна	29	Мембранопротекторна
	0,313	0,098	Гепатопротекторна	33	Гепатопротекторна
26	0,360	0,027	Інгібітор лейкотрієнів	21	Протизапальна
31	0,458	0,010	Інгібітор лейкотрієнів	27	Протизапальна
34	-	-	Інгібітор лейкотрієнів	0	Протизапальна

Експериментальні дані підтвердили комп'ютерний прогноз про імовірність наявності протизапальної активності у досліджуваних сполук. На моделі карагенінового набряку всі досліджені речовини (крім сполуки 34) пригнічували розвиток процесу запалення. Ізопропілові естери (сполуки 1, 10), динатрієва сіль (сполука 20), метиловий естер (сполука 22) перевершували дію еталону ($P < 0,05$). Блокування аміногрупи L-цистеїну сукциноільним та бензоільним радикалами знижувало, а введення алкоксигрупи в шосте положення хіноліну підвищувало протизапальні властивості.

Співставлення результатів віртуального скринінгу, експериментальних досліджень, залежності між хімічною будовою та біологічною активністю в ряду N-ацильних похідних S-(2-

метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну свідчить, що активність значною мірою залежить від природи замісників у шостому положенні хіноліну та у ацильному залишку L-цистеїну.

Порівняльний аналіз даних комп'ютерного прогнозу та біологічного скринінгу показав значну відповідність для тих видів активності, що мають вірогідність наявності активності (Pa) у діапазоні 0,3–0,7, а її відсутності (Pi) – 0,05–0,1. Це надало можливість поповнити банк даних для ефективного пошуку біоактивних молекул у даному ряді сполук та підтвердило їх перспективність як з теоретично-розрахункової точки зору, так і практичної. Незначні розбіжності між показниками комп'ютерного прогнозу та даними експерименту, на нашу думку, пов'язані з наявністю у вивчених структурах нових дескрипторів, що змінювали вірогідність прогнозу.

ВИСНОВКИ

1. Співставлення даних комп'ютерного прогнозу та біологічного скринінгу показало значну відповідність при вірогідності наявності активності (Pa) у діапазоні 0,3–0,7, а її відсутності (Pi) – 0,05–0,1.

2. Поновлено банк даних пам'яті комп'ютерних програм новими дескрипторами для подальшого молекулярного дизайну в даному ряді сполук.

3. Розширено можливості цілеспрямованого конструювання нових біологічно активних речовин.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Алексєєва І.В. Синтез і дослідження біологічної активності азотовмісних гетероциклічних сполук – регуляторів ферментів біосинтезу нуклеїнових кислот / І.В. Алексєєва, А.Д. Швед // *Biopolymers and Cell*. – 2013. – V.29(4). – P. 324–329.

2. Бражко О.А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами: Дис. ... д-ра біологічних наук: 02.00.10 / Інст. біоорган. та нафтохімії НАН України – К., 2005. – 456 с.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації) / наук. ред. Стефанов О.В. – К., 2001. – 528 с.

4. Завгородній М.П. Біологічна активність нових тіопохідних хіноліну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Завгородній М.П. – Запоріжжя, 2004. – 18 с.

5. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / наук. ред. Меньшиков В.В. – М.: Медицина, 1987. – 360 с.

6. Лапач С.П. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.П. Лапач, А.В. Губенко, П. Бабиц – К.: Морион, 2000. – 320 с.

7. Лабенська І.Б. Молекулярний дизайн біорегуляторів серед S-(2-метилхінолін-4-іл) заміщених L-цистеїну / І.Б. Лабенська, М.М. Корнет, О.А. Бражко, Л.О. Омелянчик // *Комп'ютерне моделювання в хімії та технологіях: тези доповідей, 12-16 травня 2008 р* – Черкаси, 2008. – С. 21–22.

8. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.

9. Poroikov V.V., Filimonov D.A. How to acquire new biological activities in old compounds by computer prediction. // *J. Comput. Aid. Molec. Des.* – 2002 – V. 11. – P. 819–824.

10. Пат. 2296992 РФ, МПК7 C1 G 01 N 33/48. Способ определения состояния мембран эритроцитов / Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. и др. – Опубл. 10.04.07. Бюл. № 9–10 с.

11. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Сирота Т.В. // *Вопросы медицинской химии*. – 1999. – № 31. – С. 3–14.

12. Тресков И.А. Метод кислотных эритрограмм / Тресков И.А., Гительзон И.И. // *Биофизика*. 1957. – 11, № 2. С. 259–266.

13. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / [И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман и др.]. – Запорожье, 2005. – 160 с.

14. Филимонов Д.А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / Д.А. Филимонов, В.В. Поройков // *Рос. хим. журн.* – 2006. – Т. L, № 2. – С. 66–75.

15. Filimonov D. PASS: Prediction of Biological Activity Spectra for Substances. // In: *Predictive Toxicology*. Ed. by Christoph Helma. N.Y.: Marcel Dekker. – 2005. – P. 459–478.

16. Чекман І.С., Казакова О.О., Небесна Т.Ю. Методи комп'ютерних розрахунків у квантовій фармакології // *Фармакологія та токсикологія*. – 2008. – № 1. – С. 48–56.

17. Чоп'як В.В. Особливості застосування фторхінолонів у клінічній практиці / В.В. Чоп'як, Ю.В. Федоров // *Клиническая антибиотикотерапия*. – 2005. – № 2. – С. 31–33.

18. Штрыголь С.Ю. 2-Метил-3-фениламинометил-хинолин-4-он – потенціальний антидепрессант с ноотропными свойствами / С.Ю. Штрыголь, В.А. Зубков, И.Н. Подольский, И.С. Гриценко // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2012. – Т. 75, № 4. – С. 7–9.

THE FORECAST OF BIOLOGICAL ACTIVITY COMPOUNDS AS A BASIS FOR SEARCH OF NEW BIOREGULATORS IN A ROW N-ACETYLDERIVATIVES OF S-(2-METHYLQUINOLIN-4-YL)-L-CYSTEINE

I. Labenska

Nitrogen-containing heterocycles have been successfully used in different fields of agriculture, industry, veterinary science and medicine for many years. Quinoline and its mercaptoderivatives are the important biological objects for the research because they influence different stages of the process of free radical oxidation of lipids (FROL). They protect enzymes of the antioxidant complex.

Their structural modification, based on the analysis of the dependences between the parameters of biological action of substance and molecular descriptors, with the use of computer programs considerably expands the possibility of purposeful synthesis of substances.

That's why the aim of our research was the realization of the comparative characteristic of some types of biological activity received by experimental and settlement (PASS) methods for N-acetyl derivatives of S-(2-methylquinolin-yl)-L-cysteine, to discover active structural descriptors and to determine new directions of synthesis of substances with certain types of biological activity.

The virtual screening of 80 new N-acetyl derivatives of S-(2-methylquinolin-yl)-L-cysteine with the use of the computer programs PASS Inet (Prediction of Activity Spectra for Substances) was held to meet the objectives. The analysis of the computer forecast results of N-acetyl derivatives of S-(2-methylquinolin-yl)-L-cysteine, indicates the probability of presence of a wide spectrum of biological activity of the following structures: membraneprotector, antineoplastic, antifungal, antitoxic, hepatoprotective, antioxidant, antithrombotic, anti-inflammatory, neuroprotective, cardioprotective, immunostimulating and etc.

To determine the dependence between biological action and structure we defined and synthesized the structures with potentially active deputies in the sixth position of a quinoline cycle, by amino- and to carboxyl groups in the laboratory of biotechnology of physiologically active structures of Zaporizhzhya National University (Head of the lab. Prof. Brazhko O.A.), which according to the results of the forecast have a high level of probable presence of appropriate action.

To screen anti-radical action (*in vitro*) the influence of substances on the speed of adrenaline autoxidation reaction was studied. Membrane stabilizing effect was studied on the model of toxic hepatitis according by their resistance to acid, osmotic and peroxide hemolysis. Hepatoprotective activity was studied according to the activity of aminotransferases in blood serum of rats by the kinetic method. The anti-inflammatory action of substances was studied on the model of karageninovy hypostasis. Mathematical processing of the results was carried out by means of the computer program "Microsoft Excel".

The comparison of the computer forecast data and the biological screening showed a considerable compliance for those types of activity which have the probability of the presence of activity (P_a) with in the range 0,3–0,7, and the probability of absence of activity (P_i) – 0,05–0,1. It is defined that the activity considerably depends on the nature of the deputies in the sixth provision of quinoline and acyl residue L-cysteine rest. It provided an opportunity to enlarge the computer memory database with the new descriptors for further molecular design in the given range of programs' compounds and to widen the possibilities of the purposeful design of the new biologically active substances.

УДК: 547.831.1:[57083:004]

Лабенська І.Б. Прогноз біологічної активності сполук як основа для пошуку нових біорегуляторів в ряду N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну / І.Б. Лабенська // *Питання біоіндикації та екології*. – Запоріжжя: ЗНУ, 2013. – Вип. 18, № 2. – С. 314–324.

Проведено порівняльний аналіз результатів віртуального комп'ютерного скринінгу й даних експериментальних досліджень біологічної активності нових N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну. Визначені перспективні напрямки синтезу сполук даного ряду, поповнено банк даних новими дескрипторами для подальшого молекулярного дизайну.

Бібл. 19. Рис. 2. Табл.1.