

Р.Я. Мусянович

Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

КОМП'ЮТЕРНИЙ І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ БІОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ У ВСТАНОВЛЕННІ ЗВ'ЯЗКУ «СТРУКТУРА-БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ» СУЛЬФУРОПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ

© Мусянович Р.Я., 2010

Проведено порівняльний аналіз результатів комп'ютерного та експериментального біологічного скринінгу нових сульфуровмісних похідних заміщеного 1,4-нафтохінону та встановлено кореляцію «комп'ютерний скринінг-структура – біологічна активність». Виявлено перспективні сульфуропохідні 1,4-нафтохінону.

The comparative analysis of results of computer and experimental biological screening of novel sulfurcontaining derivatives of substituted for 1,4-naphthoquinone is carried out and correlation "computer screening – structure – biological activity" is determined. Perspective sulfuroderivatives of 1,4-naphthoquinone were found.

Постановка проблеми і її зв'язок з важливими науковими завданнями. Сучасний розвиток науки дає змогу використовувати досягнення удосконаленої методології органічного синтезу, яка зазнала доволі істотних змін. Сьогодні хіміки-синтетики фактично відмовились від «сліпого» одержання великої кількості органічних речовин різноманітної будови з їх подальшим очищенням і дослідженням можливої біологічної активності методом первинного фармакологічного скринінгу.

Сьогодення вимагає використання новітніх технологій, а саме – комбінаторної хімії, тотального високоефективного скринінгу, віртуального скринінгу, моделювання молекул тощо. Ці підходи можуть бути впроваджені на різних етапах створення лікарських засобів.

Доволі перспективним напрямком для реалізації поставлених завдань є використання комп'ютерного прогнозування біологічної активності сполук за допомогою програми *PASS C&T* (Prediction of Activity Spectra for Substances) [1, 2].

PASS C&T передбачає приблизно 4535 видів фармакологічних ефектів, механізмів дії (фізіологічних та біохімічних) та специфічних токсичностей (мутагенність, канцерогенність, тератогенність, ембріотоксичність) з імовірністю виявлення активності 85 % на основі структурної формули сполуки. Отже, *PASS* можна використовувати для прогнозу спектра біологічної дії як для існуючих сполук, так і для сполук, які плануються для синтезу. Хімічна структура представлена у цій програмі у вигляді оригінальних дескрипторів MNA (Multilevel Neighborhoods of Atoms), що мають універсальний характер та з достатньо високою точністю описують різноманітні залежності «структура-дія».

Беручи до уваги, що підрахунок спектра біологічної активності для 1000 сполук займає приблизно 5 хв, застосування програми *PASS C&T* є одним з ефективних методів для прогнозу спектра активності для багатьох сполук з дослідницьких та комерційних баз.

Застосування *PASS C&T* є зручним та корисним, оскільки відбувається:

- виявлення нових ефектів та механізмів дії для відомих сполук;
- знаходження найбільш можливих нових лідерів з відповідним спектром активності серед сполук з дослідницьких та комерційних баз;
- відбір найперспективніших сполук для повномасштабного скринінгу з більшості наявних зразків;
- визначення напрямків скринінгу, які є найважливіші для індивідуальних сполук.

Значна перевага вищезазначеного напрямку полягає у тому, що на першому етапі відбору потенційних біологічно активних речовин немає необхідності у їх синтезі. Тобто спочатку створюються віртуальні бібліотеки органічних сполук певного ряду з урахуванням введення в їх структуру відомих фармакофорів, подібності вже існуючим лікарським засобам тощо. Результати прогнозування дають змогу в подальшому синтезувати потенційні сполуки-лідери. Якщо сполуки-лідери мають активності, які входять до списку активностей, прогнозованих за програмою PASS C&T, ймовірно стратегія, розглянута вище, є найкращою. Однак така стратегія не може бути використана у двох ситуаціях: фармакологічна мішень, для якої виявлені лідери, є швидше новою і немає сполук в ряду PASS з цією активністю, або компанія не хоче розголошувати сфери інтересів. У такому випадку дві інші стратегії є прийнятні.

Друга стратегія ґрунтується на умові, що новизна сполук по відношенню до сполук, отриманих з бази PASS, є ймовірно вищою для виявлення нових хімічних об'єктів NCE (New Chemical Entity). Отже, сполуки з високою кількістю дескрипторів мають бути включені у ці підгрупи. Обидві стратегії були протестовані на сукупності даних 100000 сполук та показано їх ефективність. У результатах прогнозування можна одержати кількість нових хімічних дескрипторів сполук та кількість дескрипторів, порівняно з дескрипторами 30 900 сполук бази PASS. У разі збігу результатів біологічних випробувань з даними комп'ютерного прогнозування є можливість застосування сполук-лідерів як синтонів для створення віртуальних бібліотек потенційних біологічно активних речовин [1, 2].

Мета роботи – порівняльний аналіз результатів віртуального комп'ютерного скринінгу та даних експериментальних досліджень біологічної активності та визначення перспективних сполук на їх основі.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Більшість відомих сульфенільних похідних мають широкий спектр біологічної дії та широко застосовуються як синтони у виробництві таких препаратів, як фталан, каптан, еупарен, еупарен-М, радіопротектори у полімерній хімії, у процесах вулканізації тощо.

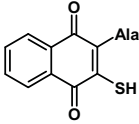
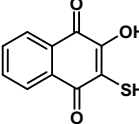
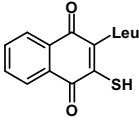
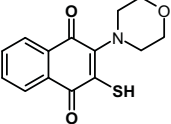
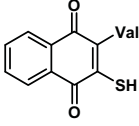
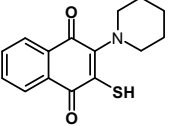
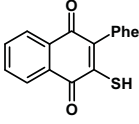
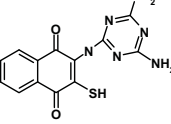
У зв'язку з особливою цінністю похідних 1,4-нафтохінону та сульфурвмісних сполук безумовний інтерес викликають дослідження з синтезу сполук – потенційних лікарських засобів, що міститимуть одночасно сульфенільну та хіноїдну системи. Після появи перших повідомлень [3] про біологічну активність сульфенамідів почали інтенсивно проводитися дослідження у цьому напрямку. Сьогодні опубліковано багато патентів та наукових статей за цією тематикою, частково їх результати проаналізовані в [4–8]. Основними досягненнями можна вважати відкриття фунгіцидної активності деяких сульфенамідів, розробку технології виробництва та впровадження у сільське господарство високоефективних фунгіцидних препаратів на їх основі.

Представниками фунгіцидів є N-трихлорметилтіо-фталімід (фталан), N-трихлорметилтіо-1,2,5,6-тетрагідрофталімід (каптан) [9, 10], еупарен, еупарен-М [10, 11]. Близькими аналогами еупарену та еупарену-М за фунгіцидною дією виявились інші фторвмісні сульфенаміди [12–14]. Порівняно високу фунгіцидну активність мають деякі фосфоровмісні сульфенаміди [12, 15–17] та похідні сульфенілсечовини [18, 19], які також виявляють інсектицидну активність [20]. Гербіцидна, інсектицидна та нематоцидна активність виявлена у N-заміщених піридин-4-сульфенамідів [21] та 2-нітробензолсульфенамідів [22]. Порівняно високу рїстрегулювальну активність мають *n*-бензолзаміщені сульфенаміди [23].

Проведення експерименту. Для 20 вибраних сполук серед синтезованих сірковмісних похідних 1,4-нафтохінону – тіолів [24, 25], сульфідів [28], сульфенамідів [26, 27] та відомого фунгіциду 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону (ДХНХ) були одержані значення прогнозованих фармакологічних ефектів за програмою прогнозу біологічної активності PASS C&T за умови, коли $P_a > 0,2$, і, зокрема, для антибактеріальної та фунгіцидної активностей.

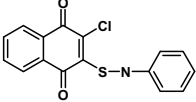
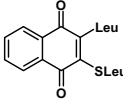
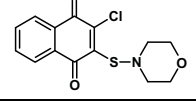
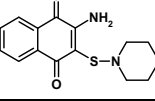
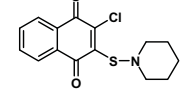
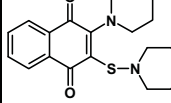
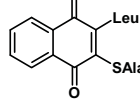
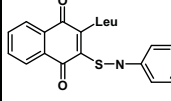
Ймовірність прояву антимікробної активності для тіолів, сульфідів та сульфенамідів подана відповідними значеннями у табл. 1–3. Варто зазначити, що антибактеріальна та фунгіцидна активності були наявні майже для усіх досліджених сполук.

**Прогнозована антибактеріальна та протигрибкова активність тіолів
2-заміщеного 1,4-нафтохінону за програмою PASS C&T (Pa>0.2)**

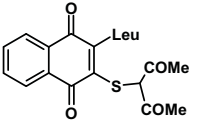
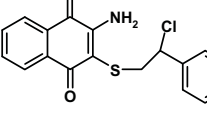
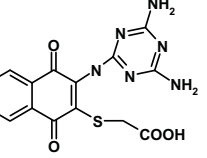
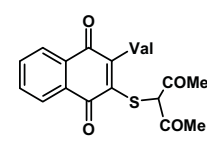
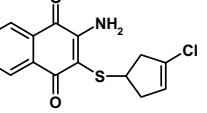
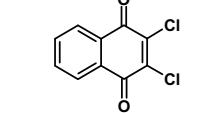
Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія	Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія
	0,339	0,315		0,281	0,499
	0,323	0,323		0,385	0,531
	0,321	0,287		0,369	0,521
	0,356	0,300		0,241	0,140

Таблиця 2

**Прогнозована антибактеріальна та протигрибкова активність сульфенамідів
2-заміщеного 1,4-нафтохінону за програмою PASS C&T (Pa>0.2)**

Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія	Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія
	0,315	0,330		0,307	-
	0,435	0,338		0,392	0,559
	0,421	-		0,369	0,707
	0,298	0,277		0,298	0,297

**Прогнозована антибактеріальна та протигрибкова активність сульфідів
2-заміщеного 1,4-нафтохінону за програмою PASS C&T (Pa>0.2)**

Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія	Сполука	Антимікробна дія	Фунгіцидна дія
	0,251	0,280		0,297	0,373
	0,299	0,256		0,257	0,271
	0,322	0,478		0,468	0,455

На основі даних таблиць прогнозованих активностей можна дати сумарну кількісну оцінку прогнозованих антибактеріальної та фунгіцидної активностей за програмою *PASS C&T* (рис. 1).

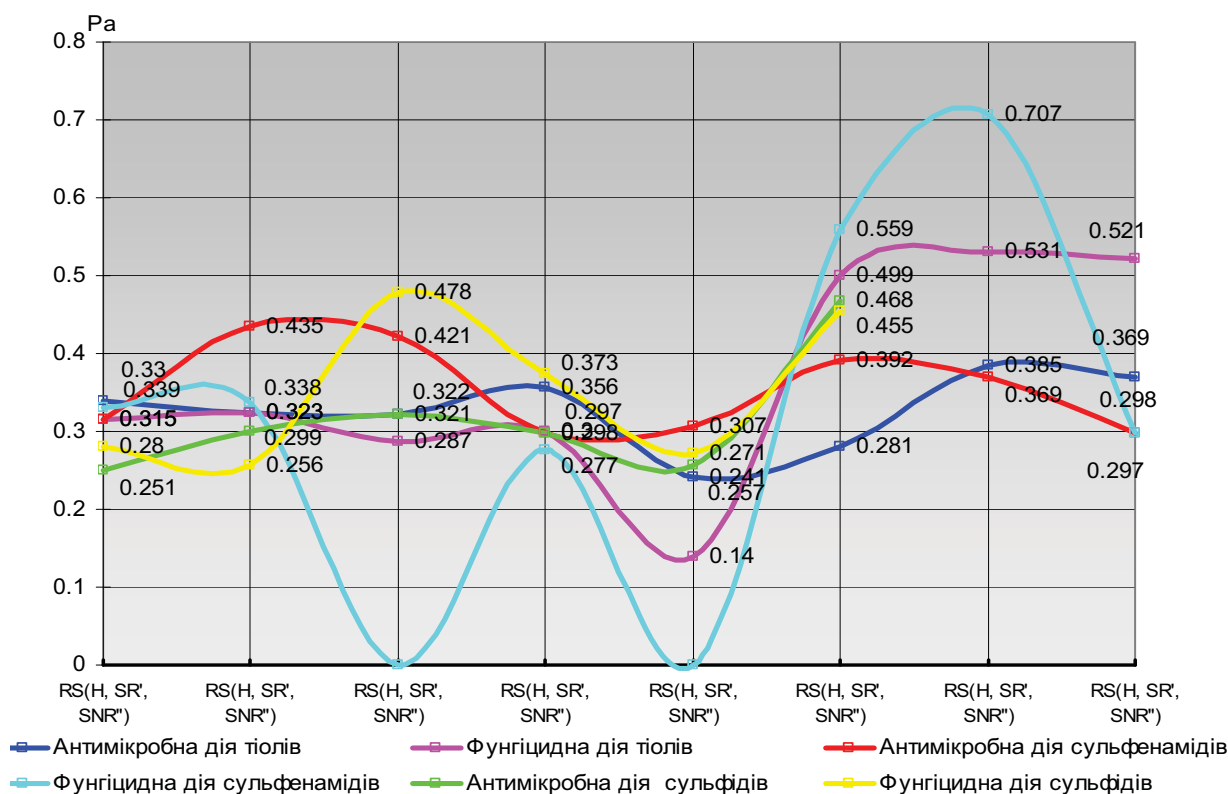


Рис. 1. Сумарна кількісна оцінка прогнозованих антибактеріальної та фунгіцидної активностей за програмою *PASS*

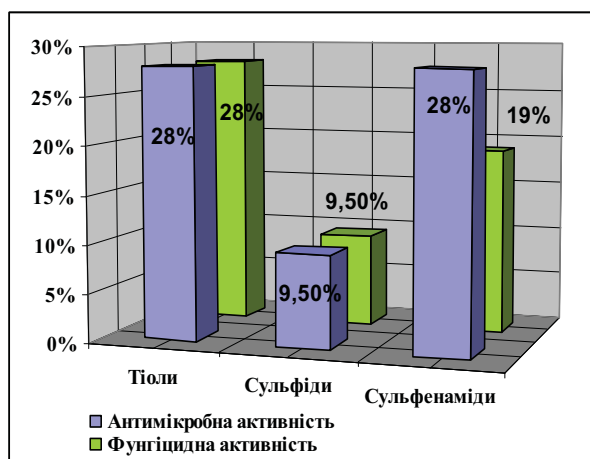


Рис. 2. Співвідношення сполук з прогнозованою антимікробною та фунгіцидною дією серед синтезованих сірковмісних сполук ($P_a > 0,3$)

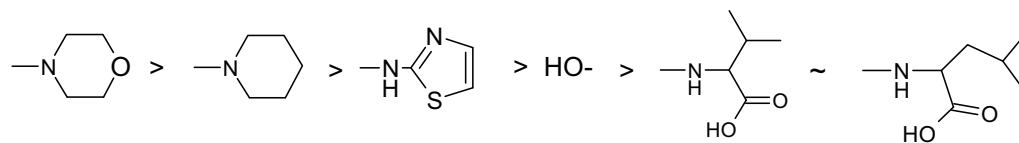
Експериментальні дослідження антибактеріальної та фунгіцидної активності [24, 28] були проведені для сполук, які за програмою *PASS* показали найкращі результати. Попередню антимікробну активність вивчали методом лунок [29]. Для сполук, що проявили найбільшу активність порівняно з еталонами, проводили досліди *in vitro* методом “серійних розведень” [24, 28, 29]. Вивчення антимікробної активності синтезованих сполук вивчали на таких штаммах культур: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium luteum*, *Aspergillus niger*, *Candida tenuis* та *Candida albicans*. Експериментальний біологічний скринінг показав, що частина сполук виявила помірно виражену антимікробну активність, проте були відзначені речовини з яскраво вираженою антибактеріальною та фунгіцидною активністю стосовно грампозитивних та грампегативних бактерій та грибів *A. niger* та *C. tenuis*, для яких були визначені точні ефективні концентрації. Як еталони порівняння були взяті ДХНХ (фігон) та оксацилін, для яких діаметри зон затримки росту становлять відповідно: *St.aureus* – 20 та 24 мм, *E.coli* – 17 та 0 мм. Частина сполук виявила помірно виражену антимікробну активність [24, 28]. Проте були відзначені речовини з яскраво вираженою активністю, про що свідчать дані табл. 4–6.

Таблиця 4

**Антибактеріальна та протигрибкова активності тіолів
2-заміщеного 1,4-нафтохінону**

Сполука	Діаметр зон, мм		Сполука	Діаметр зон, мм	
	<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>		<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>
	13	8		14	15
	15	10		15	16
	13	11		45	12
	14	11		23	12

Було встановлено залежність між будовою та антимікробною дією досліджених сполук до грам-негативних та грам-позитивних бактерій. Активність тіолів заміщеного 1,4-нафтохінону зменшується в ряду замісників в такий спосіб [24]:



Аналіз результатів дослідження протимікробної дії синтезованих тіолів показує, що серед цих сполук високою активністю стосовно штамів *St. aureus*, *E. Coli* володіють 2-морфоліно- та 2-піперидино-3-тіол-1,4-нафтохінон. Інші тіоли проявляють помірно виражену бактеріостатичну активність.

Таблиця 5

Антибактеріальна та протигрибкова активності сульфенамідів 2-заміщеного 1,4-нафтохінону

Сполука	Діаметр зон, мм		Сполука	Діаметр зон, мм	
	<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>		<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>
	17	13		23	20
	30	19		19	-
	19	15		17	15
	29	0		27	15

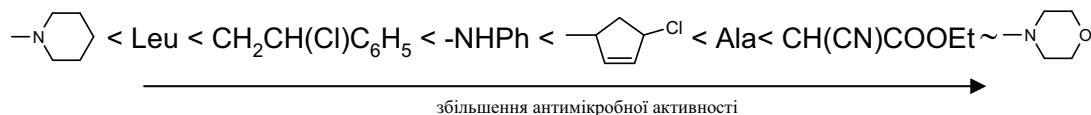
Таблиця 6

Антибактеріальна та протигрибкова активності сульфідів 2-заміщеного 1,4-нафтохінону

Сполука	Діаметр зон, мм		Сполука	Діаметр зон, мм	
	<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>		<i>St.aureus</i>	<i>Asp. niger</i>
	30	16		25	20
	14	12		28	15
	28	17		25	23

Враховуючи дані табл. 5, 6, можна вивести таку залежність між будовою та антимікробною дією досліджених сполук:

- наявність 4-хлороциклопентенільного фрагмента підвищує активність проти грампозитивних та знижує дію стосовно грамм-негативних мікроорганізмів;
- антимікробна активність стосовно штаму *St.aureus* посилюється в ряду замісників біля атома сірки:



- при переході від первинного до вторинного атома азоту спостерігається зниження активності стосовно штаму *St.aureus* та зростання – стосовно штаму *E.coli*.

Отже, загальну оцінку антимікробної активності сульфуропохідних 1,4-нафтохінону відображено графічно на рис. 3–4.

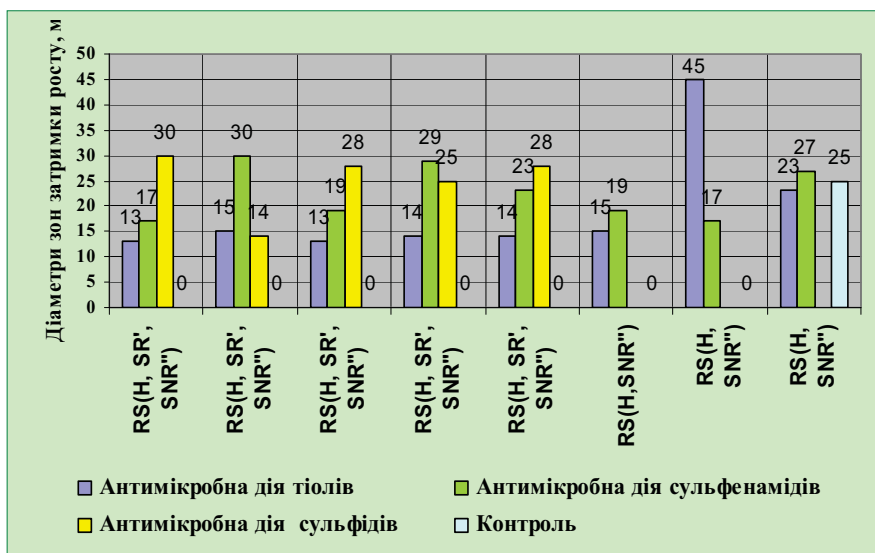


Рис. 3. Антимікробна активність сірковмісних похідних 1,4-нафтохінона

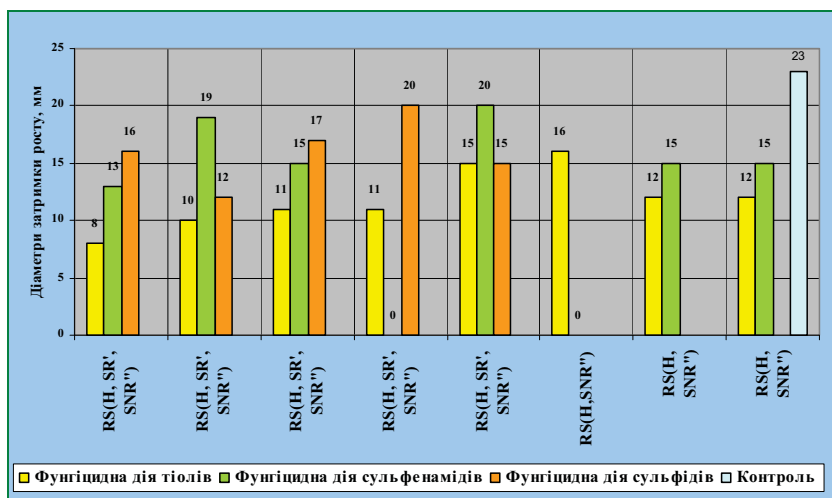


Рис. 4. Фунгіцидна активність сірковмісних похідних 1,4-нафтохінона

Проведений мікробіологічний скринінг показав відсоткове співвідношення антимікробної активності серед досліджуваних сірковмісних похідних 2-заміщеного 1,4-нафтохінону на діаграмі (рис. 5):

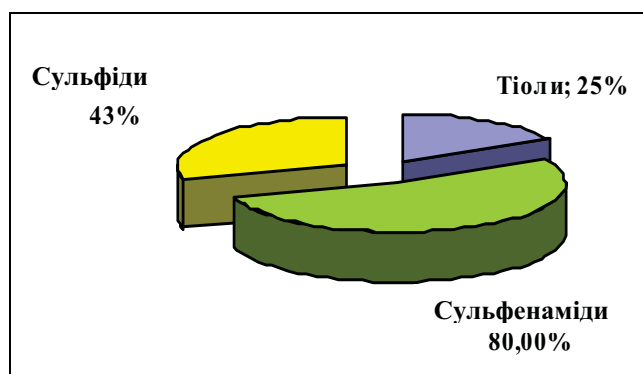
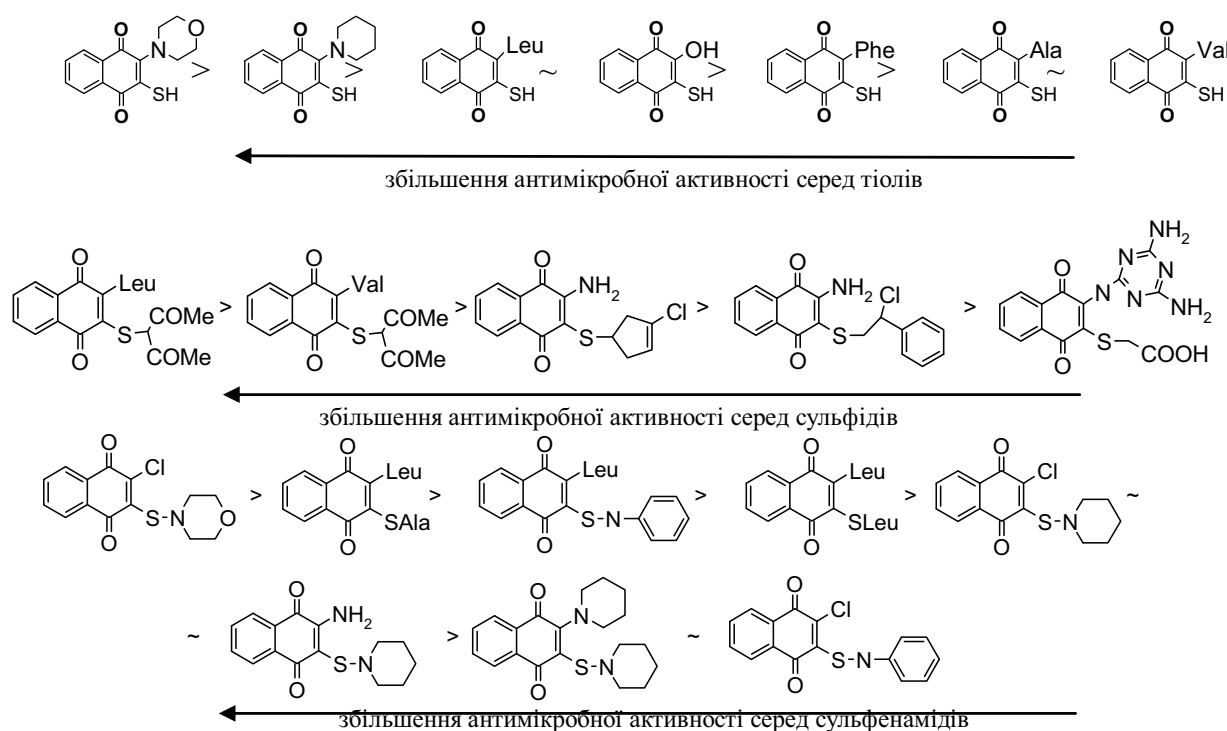


Рис. 5. Відсоткове співвідношення антимікробної активності сірковмісних похідних 2-заміщеного 1,4-нафтохінону

Одержані дані антимікробної активності досліджених сполук дали змогу вивести таку кореляцію в ряду «структура – антимікробна активність»:



Аналізуючи дані віртуального комп'ютерного скринінгу програми *PASS C&T* та отримані дані експериментальних досліджень антибактеріальної та протигрибкової активності та встановленої кореляції «структура – дія» в рядах тіолів, сульфідів та сульфенамідів, можна сказати, що перспективність синтезованих сполук підтверджена як з теоретично-розрахункової точки зору, так і практичної.



Висновки. Під час проведення аналізу результатів комп'ютерного скринінгу ймовірного прояву біологічних дій та експериментальних досліджень антибактеріальної та протигрибкової активності нових сульфуровмісних похідних заміщеного 1,4-нафтохінону було встановлено, що вони збігаються більш ніж на 90 %. На основі отриманих даних були визначені кореляції «комп'ютерний скринінг – структура – біологічна активність» в рядах тіолів, сульфідів та сульфенамідів та виявлені перспективні сульфуропохідні 1,4-нафтохінону, які потребують подальших фармакологічних досліджень.

1. 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.
2. Poroikov V., 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.
3. Emde Dr. Hans. Verfahren zur herstellung von sulfensaehalogeniden. Пат. 255886 Швейцария; *Chem. Abstracts* 48, 7633d (1944).
4. Коваль И.В. Успехи химии пергалогенметансульфенилгалогенидов // *Успехи химии.* – 1991. – 60, 1645.
5. Петров К.А., Руднев Г.В., Сорокин В.Д. Сульфенамиды и их производные // *Успехи химии.* – 1990. 59, 1431.
6. Oae S., Shinhasse K., Kim J.H. Reactons of tert-alkyl thionitrates with p-aminophenols: one-pot syntheses of N-(tert-alkylthio)-pbenzoquinoneimines. *Chem. Lett.* – 1979. 1077–1080.
7. Riesz E. Sulfenamides. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1966. – 1449.
8. Hennart C. Synthetic routes to halogenated sulfenic compounds. General review. *Bull. Soc. Chim. Fr.* – 1967. 4395.
9. Мельников Н.Н. Химия пестицидов. – М.: Химия, 1968. – 168 с.
10. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Пылова Т.Н. Химические средства защиты растений. – М.: Химия, 1980. – 235 с.
11. Ягупольский Л.М. Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями. – К.: Наук. думка, 1988.
12. Craine L., Raban M. The chemistry of Sulfenamides. *Chem.Rev.* – 1969. – 89, 689.
13. Grantham G.D. Miticidal, fungicidal and ovicidal diphenylsulfenamides. Пат. 4323580 США; *Chem. Abstracts* 97, 5979p (1982).
14. Anthochnich L., Zupanchych B. Process for thepreparation of pentachloroethylsulfenyl chloride. Пат. 12036 Европа; *Chem. Abstracts* 93, 239032u(1980).
15. Makovec Francesco; Peris Walter. Process for producing n-phenylbenzamide derivatives and pharmaceutical compositions comprising such compounds as active ingredient. Пат. 60464A1 Европа; *Chem. Abstracts* 98, 143640r (1983).
16. Agricultural phosphorus-containing sulfenamides. Пат.4341772 A США; *Chem. Abstracts* 98, 16845p (1983).
17. Holiok J. Pesticidal phosphorus sulfenamides. Пат. 4302451 A США; *Chem. Abstracts* 96, 99434m (1982).
18. Fukuto Tetsuo R; Black Allan L . N-Arylsulfenylated Derivatives Of Benzofuranyl Methylcarbamates. Пат. 55442 A2 Европа; *Chem. Abstracts* 97, 215593 (1982).
19. Phillips W. Substituted Alpha,Alpha-Dichloro-Methane-Sulfenyl Chlorides And Their Manufacture. Пат. 55429 A1 Европа; *Chem. Abstracts* 97, 162622 (1982).
20. Maurer Fritz De; Luerssen Klaus Dr. Sulphenic Acid Derivatives. Пат. 3314383 A1 Германия; *Chem. Abstracts* 100, 68028d (1984).
21. Промоненков В.К., Кобраков К.И., Швехгеймер М.А., Руденко В.А., Шатанская М.В., Лейтис Л.Я.:

В кн. Актуальные направления исследования и применения химических средств защиты растений / Под ред. М.И. Кабачника. – М.: Наука, 1990, – 327 с. 22. Коваль И.В., Мартюшенко В.А. Вопросы химии и хим. технологии. – 1991. – 96, 60.23. Пелькис Н.П., Карабанов Ю.В., Борисенко В.П., Левченко Е.С. Физиологически активные вещества. – 1984. – 16, 47. 24. Synthesis and antimicrobial evaluation of novel 2-substituted-3-mercapto-1,4-naphthoquinones / M.V. Stasevych, V.G. Chervetsova, M.Yu. Plotnikov, M.O. Platonov, S.I. Sabat, R.Ya. Musyanovych, V.P. Novikov // *Ukrainika Biorganica Acta*. – 2006. – Т. 4. – № 2. – P.33–39. 25. Sulfurcontaining derivatives of 1,4-naphthoquinone. Part 1. Disulfide synthesis / M.V. Stasevych, R.Ya. Musyanovych, M.Yu. Plotnikov, M.O. Platonov, S.I. Sabat, V.P. Novikov // *Heteroatom Chemistry*. – 2005. – Vol.16. – № 3. – P.205–211. 26. Sulfurcontaining derivatives of 1,4-naphthoquinone. Part 2. Sulfenyl derivatives synthesis / M.V. Stasevych, R.Ya. Musyanovych, M.Yu. Plotnikov, M.O. Platonov, S.I. Sabat, V.P. Novikov. // *Heteroatom Chemistry*. – 2005. – Vol.16. – № 7. – P.587–598. 27. Sulfenaphthoquinones / M. Stasevych, M. Semenjuk, I. Mandzya, M. Plotnikov, R. Musyanovych, V. Novikov // *Chemistry and Chemical Technology*. – 2007. – Vol.1. – №1. – P. 35 – 40. 28. Біологічні дослідження нових сульфенільних похідних 1,4-нафтохінону / М.В. Стасевич, В.Г. Червцова, Р.Я. Мусянович, В.П. Новіков // Вісник НУ „Львівська політехніка” „Хімія, технологія речовин та їх застосування”. – 2005. – № 536. – С. 97–108. 29. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1972. – 536 с.

УДК.547.673

Т.М. Тарас, Є.Р. Лучкевич, О.П. Сабадах, Л.Д. Болібрух, І.І. Губицька*
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
*Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

СИНТЕЗ ТРИАЗЕНІВ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ 9,10-АНТРАХІНОНУ

© Тарас Т.М., Лучкевич Є.Р., Сабадах О.П., Болібрух Л.Д., Губицька І.І. 2010

Синтезовано триазени із ароматичними і аліфатичними амінами на основі похідних 9,10-антрахінону. Розроблено методику синтезу діазоаміносполук. Структуру підтверджено даними ЯМР H^1 -спектроскопії.

It is synthesized triazeni with aromatic and aliphatic amines on the basis of derivatives of 9,10-antraquinone. The developed method of synthesis of diazoaminocompounds. A structure is confirmed information of PMR-spectroscopy.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. За останні тридцять років хімія триазенів одержала потужний розвиток. Ці сполуки знайшли широке використання у різних напрямках хімічної науки. На їх основі синтезовано чисельні комплекси з Ni, Ag, Cu та іншими металами, де $-N=N-NH-$ виступає як хелатна група. Як ініціатор в реакція вільно-радикальної полімеризації використовують різноманітні триазени із-за їх здатності розкладатися під дією світла та у твердофазному синтезі як якірна група. Серед триазенів відомі сполуки, що володіють мутагенною, карціногенною та іншою протипухлинною активністю, а 5-(N,N-диметилтриазено)імідазол-4-карбоксамід (DTIC) використовується у клінічній практиці для лікування меланоми [1]. Проте, аналізуючи різні дані, можна побачити, що усі одержані триазени містять бензеновий фрагмент.

Мета роботи – синтез триазенів, що містять антрахінонових фрагмент та інші фармакоформні групи.