

М. В. Стасевич, В. І. Зварич, В. В. Лунін, Н. А. Копак, В. П. Новіков
 Національний університет “Львівська політехніка”,
 кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
 vnovikov@polynet.lviv.ua

ПРОГНОЗУВАННЯ *IN SILICO* БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЕРЕФУНКЦІОНАЛІЗОВАНИХ ПОХІДНИХ АМІНО-9,10-АНТРАЦЕНДІОНІВ

© Стасевич М. В., Зварич В. І., Лунін В. В., Копак Н. А., Новіков В. П., 2017

Здійснено комп'ютерний прогноз біологічної активності нових похідних 9,10-антрацендіону – 1,2,3-триазолів, дитіокарбаматів, гідразонів із застосуванням програм *PASS Online*, *Cell Line Cytotoxicity Predictor* та *Antiviral Compound Prediction*. Показано, що для переважної більшості сполук спрогнозована протипухлинна активність, яка у деяких випадках доповнюється антивірусною. Проведена комп'ютерна (*in silico*) оцінка афінності цього типу систем під час використання молекулярного докінгу, яка була порівняна із відповідними значеннями відомих протипухлинних препаратів мітоксантрона та іматиніба. Встановлено, що для досліджених структур найвищий рівень зв'язування (-9.44...-10.92) виявлений до сімейства рецепторних тирозинкіназ PDGF (код білка 1T46). Продемонстровано, що синтезовані нові системи відзначаються значенням скорингової функції Gscore на рівні модельного об'єкта.

Ключові слова: перефункціоналізовані 9,10-антрацендіони, *in silico* прогнозування, протипухлинна активність, антивірусна активність, *PASS Online*, *Cell Line Cytotoxicity Predictor*, *Antiviral Compound Prediction*.

M. V. Stasevych, V. I. Zvarych, V. V. Lunin, N. A. Kopak, V. P. Novikov

PREDICTION *IN SILICO* BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATIVES OF REFUNCTIONALIZED AMINO-9,10-ANTHRACENEDIONES

© Stasevych M. V., Zvarych V. I., Lunin V. V., Kopak N. A., Novikov V. P., 2017

The computer prediction of biological activity of the new derivatives of 9,10-anthracenedione – 1,2,3-triazoles, dithiocarbamates, hydrazones using the program *PASS Online*, *Cell Line Cytotoxicity Predictor* та *Antiviral Compound Prediction* was carried out. Anticancer and sometimes antiviral activities have been shown for majority of compounds. The computer (*in silico*) estimation of affinity of this systems type using molecular docking was carried out. The affinity was compared with the corresponding values of known anticancer agents – mitoxanthrone and imatinib. It is established that the proposed compounds have highest level of binding (-9.44...-10.92) to the family of receptor tyrosine kinases PDGF (protein code 1T46). It was demonstrated that new synthesized systems have scoring function Gscore on the level of the model object.

Key words: re-functionalized 9,10-anthracenediones, *in silico* prediction, anticancer activity, antiviral activity, *PASS Online*, *Cell Line Cytotoxicity Predictor*, *Antiviral Compound Prediction*.

Постановка проблеми. Статистика говорить про те, що за останні 100 років за рівнем захворюваності та смертності у світі онкопатологія перемістилася з десятого місця на друге, поступаючись лише хворобам серцево-судинної системи. За даними Всесвітньої організації

охорони здоров'я (ВООЗ), щороку на рак хворіють 10 млн осіб. Як стверджує ВООЗ, смертність від захворювань на рак до 2030 року зросте на 45 %, порівняно з рівнем 2007 року. Як заявили представники ВООЗ, кількість смертельних випадків, викликаних захворюванням, буде у Європі поступово збільшуватися. Україна знаходиться на другому місці у Європі за темпами поширення раку. Щороку у країні від раку помирають близько 90 тис. осіб, з них 35 % – люди працездатного віку. За розрахунками фахівців, до 2020 року кількість вперше захворілих на рак в Україні перевищить 200 тис. людей. За інформацією Національного реєстру раку, у нашій країні рак легенів у статистиці смертності від злоякісних новоутворень за підсумками 2008 року посідав перше місце у чоловіків і сьоме – у жінок. Протягом останніх 10 років рак молочної залози посідає перше місце у структурі захворюваності серед жіночого населення України на злоякісні новоутворення. За останні десятиліття минулого і на початок нинішнього століття рівень захворюваності на рак молочної залози в Україні зріс від 17.6 до 58.9 осіб на 100 тис. населення, або більше ніж у 3 рази.

Близько 50 лікарських препаратів застосовують у світовій медичній практиці як протипухлинні агенти, а потенціальних засобів вивчено понад 500 000. Головним недоліком більшості протипухлинних лікарських препаратів є мала вибірковість їхньої дії стосовно пухлинних клітин, висока токсичність, протипокази, значні побічні ефекти та висока вартість курсу лікування. Крім того, проблемою є те, що клітини злоякісних пухлин можуть виробляти стійкість до хіміотерапевтичних препаратів внаслідок довготривалого прийому, що вимагає застосування збільшених доз препарату для одержання належного фармакологічного ефекту або поєднання препаратів. Стійкість виникає внаслідок мутацій, які спонтанно виникають у будь-якій групі клітин, у якій є ріст. Одним із шляхів подолання цієї проблеми є комбінація препаратів з різними механізмами дії, або розроблення препарату, який містить субстанцію, яка проявляє, крім протипухлинної дії, ще антивірусну і/або імуномодельюючу активність. Враховуючи сказане, пошук нових сполук із протипухлинною активністю є актуальним та важливим завданням органічної та медичної хімії.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У світі, зокрема в Україні, одними з протипухлинних препаратів похідних 9,10-антрацендіону та споріднених карбоциклічних систем є Мітоксантрон, Епірубін, Доксорубін та ін. Постійно ведеться структурна модифікація з метою пошуку нових активних похідних 9,10-антрацендіону з протипухлинною дією [1–4]. Багато похідних перебувають на стадії доклінічних та клінічних досліджень [5]. Мітоксантрон – дизаміщений аміноалкіламіно-9,10-антрацендіон – використовується для лікування лейкемії, лімфоми, раку молочної залози та простати. З 2000 року у США його почали використовувати для лікування розсіяного склерозу, оскільки він має імуносупресивну дію [6]. Дослідженнями визначено, що для Мітоксантрона та споріднених антрациклінових систем протипухлинна активність пов'язана з їхньою дією на топоізомерази II [7] та інтеркаляцію ДНК [8]. Серед амінопохідних 9,10-антрацендіону відомий барвник Reactive Blue 2 (RB-2), похідні якого широко використовуються у світі для фармакологічних та біохімічних цілей [9], зокрема серед них виявлені інгібітори c-Met кінази ($IC_{50}=1.2 \mu\text{M}$), задіяні у різних типах раку [10].

Мета роботи – оцінити ймовірний біологічний потенціал нових перефункціоналізованих похідних аміно-9,10-антрацендіону – 1,2,3-триазолів, дитіокарбаматів та гідразонів, за допомогою новітніх *in silico* ресурсів та визначити експериментальні напрямки досліджень їх фармакологічної активності.

Обговорення результатів. Щоб визначити найперспективніші напрямки експериментальних досліджень одержаних сполук, ми використали *in silico* підхід. Існує кілька інструментів, які можуть забезпечити оцінку ймовірної біологічної активності для попередників лікарських сполук на основі оцінки подібності структури або методів машинного навчання. Усі ці інструменти вимагають структурної формули як вихідної інформації, яка повинна бути представлена у вигляді MOL файлів (для однієї сполуки) або SDF файла (для набору усіх сполук).

Комп'ютерний прогноз біологічної активності 1,2,3-триазолів, дитіокарбаматів та гідразонів з використанням веб-ресурсів

З початку 2000 р. функціонує Інтернет-ресурс *PASS Online*, який використовується хімікамі-органіками для передбачення спектрів біологічної активності синтезованих речовин [11]. *PASS Online* (Прогнозування спектра біологічної активності речовин) оцінює ймовірність належності досліджуваної сполуки до “активних” P_a і “неактивних” P_i для більш ніж 6000 видів біологічної активності на основі аналізу структура-активність навчальної вибірки, до якої включені понад 1 млн біологічно активних сполук.

Хімічна структура представлена у *PASS Online* у вигляді оригінальних MNA (Multilevel Neighbourhoods of Atoms) дескрипторів. MNA дескриптори мають універсальний характер і з доволі високою точністю описують різноманітні залежності “структура-властивість”. Математичний алгоритм, який використовується у *PASS Online*, був відібраний за цілеспрямованого аналізу та порівняння ефективності для виконання подібних завдань великої кількості різних методів. Показано, що цей алгоритм забезпечує отримання стійких у статистичному сенсі залежностей “структура-активність” і, відповідно, результатів прогнозу.

Середня точність *PASS Online* прогнозування для усіх спрогнозованих біологічних активностей становить близько 95 %. Результат прогнозування представлений у вигляді списку активностей з наближенням P_a і P_i , який побудований у порядку зменшення залежності $(P_a - P_i) > 0$. P_a є оцінкою ймовірності сполуки бути активною та неактивною відповідно для кожного виду активності спектра біологічної дії. Її значення змінюються у межах від 0.000 до 1.000. За $P_a > 0.7$ сполука має подібну дію до експериментальної, у цьому випадку шанс цієї сполуки бути аналогом відомого фармакологічного препарату є дуже високим. Якщо $0.5 < P_a < 0.7$, сполука має подібну дію до експериментальної, але ця ймовірність менша і сполука не є подібною до відомого фармакологічного препарату. За $P_a < 0.5$ сполука не відповідає експериментальній активності, проте присутність цієї активності, підтвердженої експериментом, може стати новим хімічним об'єктом.

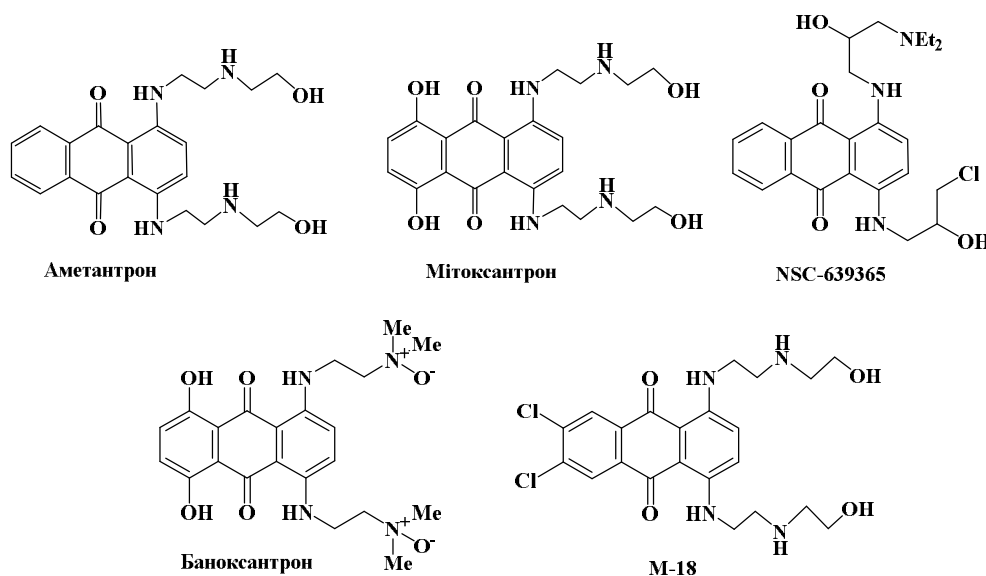


Рис. 1. Відомі протипухлинні препарати на основі амінопохідних 9,10-антрацендіону

Оскільки похідні аміно-9,10-антрацендіонів відомі, як речовини з протипухлинною дією, потрібно провести верифікацію практичних та спрогнозованих властивостей відомих препаратів з метою підтвердження пошуку та розроблення нових функціоналізованих 1(2)-аміно-9,10-антрацендіонових похідних. Для таких відомих протипухлинних препаратів на основі амінопохідних 9,10-антрацендіону (рис. 1), як Аметантрон, Мітоксантрон, Баноксантрон, та сполук, які проходять доклінічні дослідження NSC-639365 і М-18 [5], був здійснений комп'ютерний прогноз

за програмою *PASS Online*, результати якого цілком узгоджуються з експериментальними даними з протипухлинної активності [5] (табл. 1).

Таблиця 1

**Спрогнозована протипухлинна активність Ра
вдомих амінопохідних 9,10-антрацендіону**

Сполука	<i>Pa</i>	<i>Antineoplastic</i>	<i>Antineoplastic (non-Hodgkin's lymphoma)</i>	<i>Antineoplastic (multiple myeloma)</i>
Аметантрон		0.745	0.662	0.527
Мітоксантрон		0.798	0.671	0.536
Баноксантрон		0.906	0.868	0.366
NSC-639365		0.737	0.547	0.859
M-18		0.646	0.641	0.521

Враховуючи ці результати, об'єктами дослідження *in silico* з метою виявлення нових потенційних протипухлинних субстанцій стали перефункціоналізовані реакцією дедіазотування похідні 9,10-антрахінону – 1,2,3-триазоли [12], дитіокарбамати [13] та гідразони [14] (рис. 2).

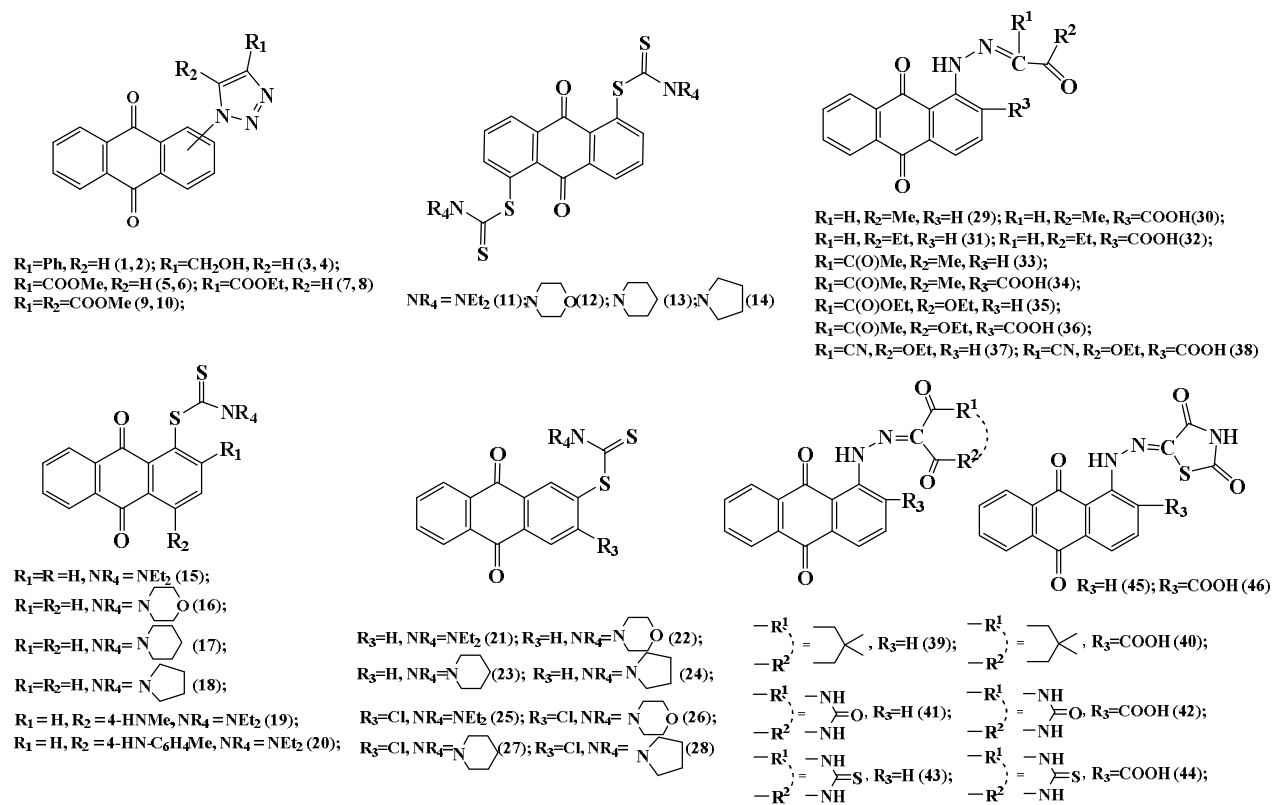
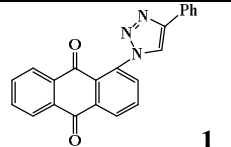
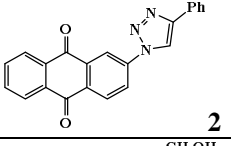
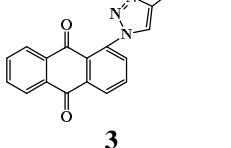
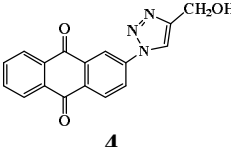
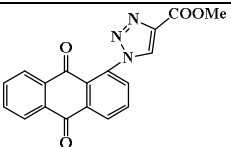
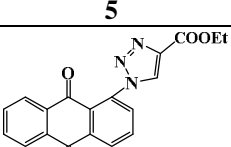
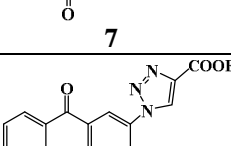
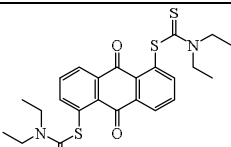


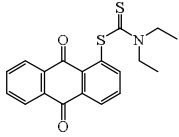
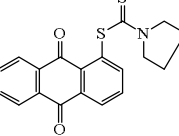
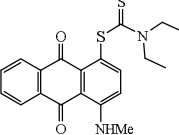
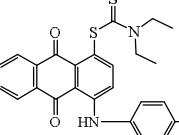
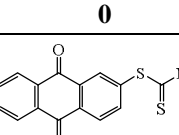
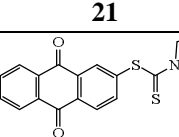
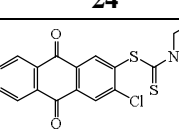
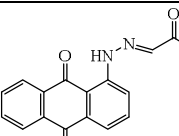
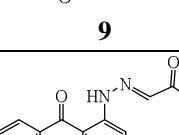
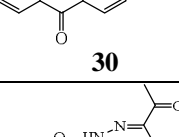
Рис. 2. Об'єкти дослідження *in silico* біологічної активності

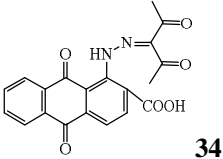
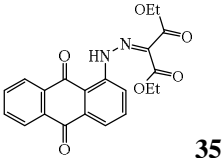
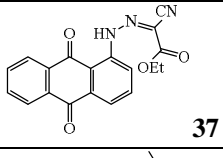
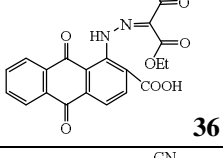
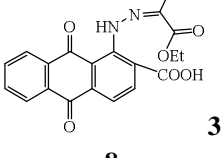
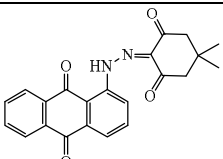
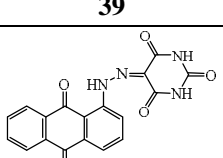
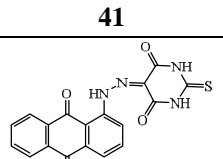
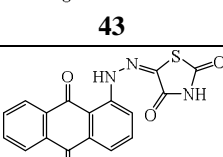
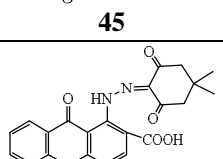
Результати спрогнозованої біологічної активності похідних 9,10-антрацендіону (рис. 2) за програмою *PASS* показали, що для переважної більшості структур найвираженішою є протипухлинна активність, яка здебільшого доповнюється прогнозом антивірусної активності стосовно пікарно-, адено- та ріновірусів (табл. 2).

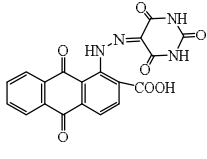
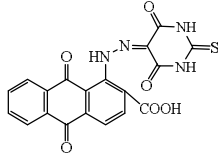
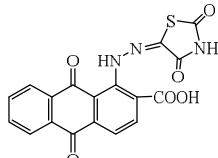
Як можна побачити з даних табл. 2, багато значень *Pa* досліджених структур антрацендіонів знаходяться у межах 0.4–0.6. Проте з врахуванням концепції значень *Pa* вибірки у програмі *PASS* це є свідченням того, що такі похідні 9,10-антрацендіону, як 1,2,3-триазоли, дитіокарбамати та гідразони, є новими оригінальними речовинами порівняно з відомими біологічно активними субстанціями навчальної вибірки цієї програми.

**Спрогнозована протипухлинна активність програмою PASS Ра
за умови Ра > 0.4 нових перефункціоналізованих похідних 9,10-антрацендіону**

Активність, Ра	<i>Antineoplastic</i>	<i>Antineoplastic (melanoma)</i>	<i>Antineoplastic (solid tumors)</i>	<i>Antineoplastic (cervical cancer)</i>	<i>Antineoplastic (non-Hodgkin's lymphoma)</i>	<i>Antileukemic</i>	<i>Antineoplastic (breast cancer)</i>	<i>Preneoplastic conditions treatment</i>	<i>Antiviral (Picornavirus)</i>	<i>Antiviral (Adenovirus)</i>	<i>Antiviral (Rhinovirus)</i>
Сполука	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,2,3-Триазоли											
 1	0,750	-	-	-	-	0,507	0,443	0,437	0,420	-	-
 2	0,653	-	-	-	-	0,416	-	0,437	0,470	-	-
 3	0,672	-	-	-	-	0,437	-	-	0,464	0,412	-
 4	0,615	-	-	-	-	-	-	-	0,419	0,412	-
 5	0,674	-	-	-	-	-	-	0,495	-	-	-
 7	0,589	-	-	-	-	-	-	-	0,449	0,438	0,410
 8	0,567	-	-	-	-	-	-	-	0,449	0,438	0,410
Дитіокарбамати											
 11	-	0.604	0.414	0.469	-	-	-	-	-	0,445	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
 15	-	0,604	-	0,469	-	-	-	-	-	0,445	-
 18	-	-	0,584	0,439	-	-	-	-	0,405	-	-
 19	-	-	0,468	0,515	-	-	-	-	0,496	0,434	-
 20	-	0,459	-	0,551	-	-	-	-	-	-	-
 21	-	0,648	0,426	0,469	-	-	-	-	-	0,445	-
 24	-	-	0,486	0,439	-	-	-	-	0,490	0,431	-
 25	-	0,559	0,476	0,447	-	-	-	-	-	-	-
Гідразони											
 29	0,368	-	-	-	-	-	-	0,557	-	-	-
 30	0,589	-	-	-	-	-	-	0,593	-	-	-
 33	-	-	-	-	0,450	-	-	0,583	0,429	-	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
 34	-	-	-	-	-	-	-	0,631	0,469	0,480	-
 35	-	-	-	-	0,464	-	-	0,592	0,487	0,432	0,425
 37	-	-	-	-	0,485	-	-	0,497	0,450	0,457	0,486
 36	-	-	-	-	-	-	-	0,592	0,413	0,429	0,412
 8	-	-	-	-	0,452	-	-	-	0,490	0,429	0,412
 39	0,524	-	-	-	0,416	-	-	0,436	-	-	-
 41	0,530	-	-	-	0,499	-	-	-	0,404	-	-
 43	0,507	-	-	-	0,403	-	-	-	-	-	-
 45	-	-	-	-	0,452	-	-	-	-	-	-
 40	0,475	-	-	-	0,475	-	-	0,486	0,434	0,471	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
 2	0,480	-	-	-	0,457	-	-	-	0,450	0,466	-
 44	0,461	-	-	-	-	-	-	-	0,410	0,470	-
 46	-	-	-	-	0,415	-	-	0,446	0,421	-	-

“-” – ця активність не спостерігається за умови $P_a > 0.4$

Оскільки за даними програми *PASS* для триазольних, дитіокарбаматних та гідразонових похідних, окрім протипухлинної активності, була спрогнозована ще противірусна активність стосовно пікорнавірусу, аденовірусу та риновірусу, що вписується у сучасну стратегію створення протипухлинних препаратів з антивірусною дією, тому структури цих сполук були оброблені з використанням створеного у кінці 2016 року веб-ресурсу *Antiviral Compound PredictionAVCpred* [15], який прогнозує антивірусну активність у відсотках ймовірного інгібування стосовно вірусів ВІЛ (HIV), гепатитів В (HCV) і С (HBV) та герпесу (HHV) (табл. 3).

Таблиця 3

Прогнозований відсоток інгібування за програмою AVC преднових перефункціоналізованих похідних 9,10-антрацендіону

Сполука	<i>Human immunodeficiency virus (HIV)</i>	<i>Hepatitis C virus (HCV)</i>	<i>Hepatitis B virus (HBV)</i>	<i>Human herpes virus (HHV)</i>
1	2	3	4	5
1	64.89	56.46	19.90	31.84
2	66.83	29.57	24.17	35.20
3	54.92	36.49	16.27	21.02
4	57.31	44.86	19.50	41.20
5	53.77	44.54	21.09	8.62
7	60.84	37.14	21.15	3.77
8	59.49	62.14	21.11	33.12
11	57.22	58.35	19.25	21.61
15	51.14	65.67	22.66	33.51
18	53.28	72.81	22.69	33.21
19	75.84	56.65	22.15	47.28
20	50.66	92.65	28.66	50.77
21	56.47	76.24	19.46	55.40
24	56.21	54.34	30.29	56.21
25	60.10	63.78	22.17	25.70
29	63.71	73.35	20.29	26.87
30	57.49	43.45	19.08	59.39
34	60.86	53.88	20.59	28.83
35	65.89	63.61	20.22	35.93
36	64.93	58.30	18.40	33.34

1	2	3	4	5
37	66.46	87.71	26.91	30.69
38	63.44	48.73	20.17	19.39
39	62.18	57.39	15.86	8.38
40	67.38	39.24	19.61	52.81
41	64.02	56.63	21.17	21.60
42	66.26	33.80	20.98	14.56
43	64.08	50.59	20.98	21.60
44	74.15	38.71	22.09	40.41
45	60.55	55.55	21.73	42.83
46	60.64	49.42	20.63	37.75

Аналіз даних за *AVCpred* показує, що усі досліджувані похідні можуть спричиняти інгібуючий ефект на вірус імунодефіциту людини. Серед дитіокарбаматних похідних найбільший відсоток інгібування ВІЛ має сполука **19** (75.84 %), а серед гідразонів – сполука **44** (74.15 %). Одержані результати також свідчать, що інгібуюча дія деяких досліджуваних похідних може проявитися стосовно вірусу гепатиту С: серед дитіокарбаматів це є сполуки **18** (72.81 %), **20** (92.65 %) та **29** (73.35 %), а серед гідразонів – **37** (87.71 %). Стосовно ймовірності впливу ряду перифункціоналізованих похідних 9,10-антрахінону на вірус герпесу людини, то лише для однієї похідної **30** прогнозується інгібування на рівні 59.39 %, у той час як інші мають невисокі значення інгібуючого ефекту. Дослідження *in silico* стосовно можливості інгібування вірусу гепатиту В показали найменші значення (15.86–26.91 %) для усіх досліджуваних сполук порівняно з ВІЛ, вірусами гепатиту С та герпесу.

Враховуючи одержані результати прогнозованої протипухлинної активності, проведено прогнозування ймовірної цитотоксичної дії стосовно різних ліній раку з використанням веб-ресурсу *Cell Line Cytotoxicity Predictor (CLC-Pred)* (табл. 4)[16].

Проведений аналіз даних табл. 4 показав, що для досліджених класів 9,10-антрацендіону основними тканинами, де може відбуватися ймовірне інгібування клітин раку, є легенева, м'язова та залозиста тканина молочної залози. Згідно з одержаними результатами *CLC-Pred* для 19 сполук з досліджуваної вибірки найімовірнішою прогнозується цитотоксична активність стосовно лінії клітин рабдоміосаркоми (TE-671), 12 структур – дія стосовно плоскоклітинної карциноми легень (SK-MES-1), 10 речовин – ймовірне інгібування росту аденокарциноми шлунка (MKN-74) та 10 похідних – вплив на аденокарциному молочної залози (MDA-MB-453). Для інших ліній клітин раку (остеосаркома HOS-TE85, панкреатична аденокарцинома HuP-T3, гліобластома SF-295, імунобластна лімфома SR, меланома M14 та SK-MEL-28, недрібноклітинний рак легень NCI-H460, карцинома легень DMS-114, карцинома молочної залози MCF7) кількість ймовірних структур з відповідною прогнозованою активністю становить 5–8. Здебільшого, як можна побачити з даних табл. 4, значення Ра так само є невисокими (як у табл. 2), проте і у цьому випадку можна також стверджувати, що новизна цих сполук занижує значення Ра під час їх обробки навчальною вибіркою програми *CLC-Pred*.

Молекулярний докінг нових перифункціоналізованих похідних 9,10-антрацендіонів

Комп'ютерну (*in silico*) оцінку афінності (сили зв'язування) великої кількості хімічних сполук на основі моделювання їх взаємодії з відповідною молекулою мішені з експериментально визначеною афінністю можна отримати під час використання молекулярного докінгу. Просторова структура молекулярної мішені та просторова структура ліганду (сполуки) дає змогу на молекулярному рівні пояснити механізм взаємодії ліганду з білком, розрахувати афінність ліганду з мішенню. Вихідною інформацією для докінгу є тривимірні структури білка (рецептора) і ліганду, конформаційна рухливість і взаєморозташування яких моделюється у процесі докінгу. Результатом моделювання є конформація ліганду, який якнайкраще взаємодіє з білковим сайтом зв'язування.

Ймовірна цитотоксичність нових перефункціоналізованих похідних 9,10-антрацендіону стосовно різних ліній раку за програмою CLC-Pred за умови $P_a > 0.3$

Pa Сполука	Лінія клітин раку											
	<i>Osteosarcoma cells HOS-TE85</i>	<i>Pancreatic adenocarcinoma cellsHuP-T3</i>	<i>Human Rhabdomyosarcoma cell lineTE-671</i>	<i>Melanoma cells M14 / SK-MEL-28</i>	<i>Non-small cell lung carcinomaNCI-H460</i>	<i>Glioblastoma cellsSF-295</i>	<i>Lung carcinoma cells DMS-114</i>	<i>Adult immunoblastic lymphoma cells SR</i>	<i>Squamous cell lung carcinoma cells SK-MES-1</i>	<i>Breast carcinoma cells MCF7</i>	<i>Stomach adenocarcinoma cells MKN-74</i>	<i>Breast adenocarcinoma cells MDA-MB-453</i>
1	0.759	0.662	0.595	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.841	0.759	0.595	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.410	-	0.435	-	-	0.51	-	-	-	-	-	-
4	0.494	0.400	0.435	-	-	0.56	-	-	-	-	-	-
5	-	0.347	0.525	-	-	0.41	-	-	-	-	-	-
7	0.350	0.323	0.482	-	-	0.33	-	-	0.373	-	-	-
8	0.410	0.354	0.482	-	-	0.37	-	-	0.347	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	0.607	0.413	0.467	0.38	-	-
15	-	-	-	-	-	-	0.610	0.410	0.479	0.36	-	-
18	-	-	-	/0.35	-	-	-	-	0.491	0.46	0.321	-
19	-	-	-	-	-	-	0.597	0.529	0.376	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	0.524	0.414	0.354	-	-	-
21	0.748	0.669	0.601	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	0.482	0.37	0.321	-
25	-	-	-	-	-	-	0.561	0.448	0.477	-	-	-
29	-	-	0.681	0.77	0.632	-	-	-	-	0.62	0.372	-
30	-	-	0.710	0.66	0.507	-	-	-	-	0.55	0.395	-
33	-	-	0.614	-	-	-	-	-	-	-	0.373	-
34	-	-	0.350	-	-	-	-	-	-	-	0.367	-
35	-	-	0.568	-	-	-	-	-	-	-	0.334	0.472
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.441
37	-	-	0.422	-	-	-	-	-	-	-	-	0.444
38	-	0.422	0.400	-	-	-	-	-	-	-	0.318	0.444
39	-	-	0.526	-	0.343	-	-	-	0.334	-	0.445	0.438
40	-	-	-	-	0.323	0.35	-	-	-	-	0.439	0.400
41	-	-	0.430	/0.31	-	-	-	-	0.367	-	-	0.579
42	-	-	-	-	0.309	-	-	-	0.322	-	-	0.544
43	-	-	0.397	0.49	0.497	0.61	-	0.592	-	-	-	0.595
44	-	-	-	0.54	0.524	0.63	-	0.620	-	-	-	0.560
45	-	-	0.397	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	0.312	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

“-” – ця активність не спостерігається за умови $P_a > 0.3$

Використовуючи цей підхід для встановлення механізмів реалізації біологічної активності, ми провели молекулярний докінг для 46 нових функціоналізованих 9,10-антрацендіонів з використанням програмного пакета *Schrödinger Suite 2014* [17]. Процес проведення докінгу складався з таких етапів:

Øвибір та підготовка протеїну (білка-мішені):

– вибір білка-мішені, кристалографічна структура якого була одержана з Protein Data Bank (PDB) [18];

– підготовка білка-мішені за допомогою Protein Preparation Wizard з видаленням молекул води, які не утворюють водневих зв'язків, заповненням відсутніх петель з PDB файлу, додаванням відсутніх атомів гідрогену у структурі білка-мішені;

- оптимізація структури білка при рН 7.0 з використанням підпрограми PROBKA;
- мінімізація структури протеїну OPLS-2005;
- Ø підготовка лігандів з використанням LigPrep Wizard та встановленням порядку зв'язків і кутів з подальшою мінімізацією силового поля OPLS-2005. Для коректності протонованих станів ліганда у біологічних умовах був використаний Ерік;
- Ø генерування області зв'язування ліганда з рецептором з використанням Receptor Grid Generation модуля Glide Maestro;
- Ø віртуальний скринінг Glide Maestro у фазі XP.

Об'єктами докінгових досліджень стали рецепторні білки-тирозинкінази EGFR (1NQL, 1IVO, 1M17, 2GS6) та PDGF (1T46), нереперторні тирозинкінази SRC (1SKJ) і неспецифічні тирозинкінази ABL (3OXZ, 3QRJ, 2ABL), неспецифічні серин/треонін протеїнкінази (4I41) та ДНК топоізомерази (4G0V). Згідно з одержаними значеннями скорингової функції для багатьох досліджених сполук були виявлені речовини з афінитетом на середньому та нижче середнього рівні. Проте найвищі рівні зв'язування (табл. 5) були виявлені до сімейства рецепторних тирозинкіназ тромбоцитарного фактора росту PDGF (код білка 1T46) для 1,2,3-триазолів **2, 4, 7**, дитіокарбаматів **21, 24, 25** та гідразонів **29, 30, 41** (показник зв'язування -9.44...-10.92) та ДНК топоізомераз (код білка 4G0V) на рівні зв'язування -8.31...-9.21 для триазолів **2-7**, дитіокарбамату **20** та гідразонів **29, 30, 33** та **39**. Як препарати порівняння були взяті мітоксантрон та іматиніб, які використовувались як стандартні ліганди.

Таблиця 5

Результати модуля GlideMaestro у фазі XP

Сполука Код білка	2	3	4	5	6	7	20	21	24	25	29	30	33	39	41	Мітоксантрон	Іматиніб
1T46	-10.83		-10.89					-9.86	-10.92	-10.27	-10.10	-9.44			10.42	-5.81	-11.01
4G0V	-8.36	-9.21	-8.97	-8.32	-8.39	-8.35	-8.48				-8.62	-8.68	-8.94	-8.93		-12.77	-6.71

На основі даних молекулярного докінгу можна зробити висновок, що досліджені сполуки не виступають активними інтеркаляторами ДНК, оскільки рівень зв'язування до білка 4G0V становить лише -8.31...-9.21, у той час, як у мітоксантрона, механізм дії якого експериментально встановлений [5] стосовно ДНК топоізомерази II, становить -12.77. Тому, враховуючи результати значень рівня зв'язування для 1T46, можна припустити дію визначених активними речовин **2, 4, 24, 25, 29** та **41** на рівні впливу стандартного ліганда порівняння іматиніба. Молекула досліджуваного дитіокарбамату **24** має значення скорингової функції Gscore = -10.92, що свідчить про високий рівень зв'язування сполуки-хіта з зоною білка 1T46. На рис. 3 показано 3D-візуалізацію цієї взаємодії.

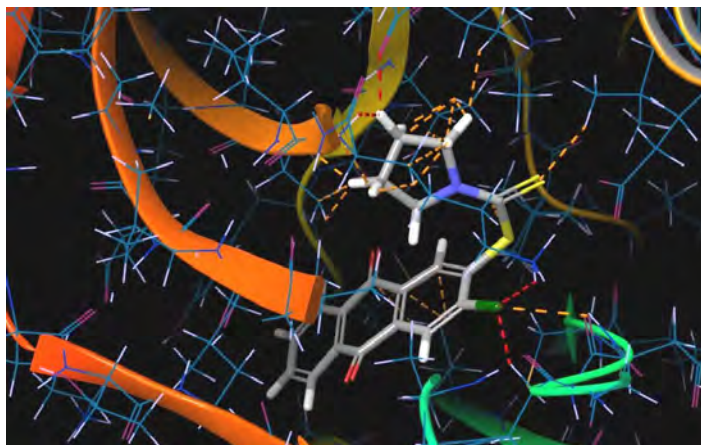


Рис. 3. Візуалізація утримування сполуки-хіта **24** в активній зоні білка 1T46

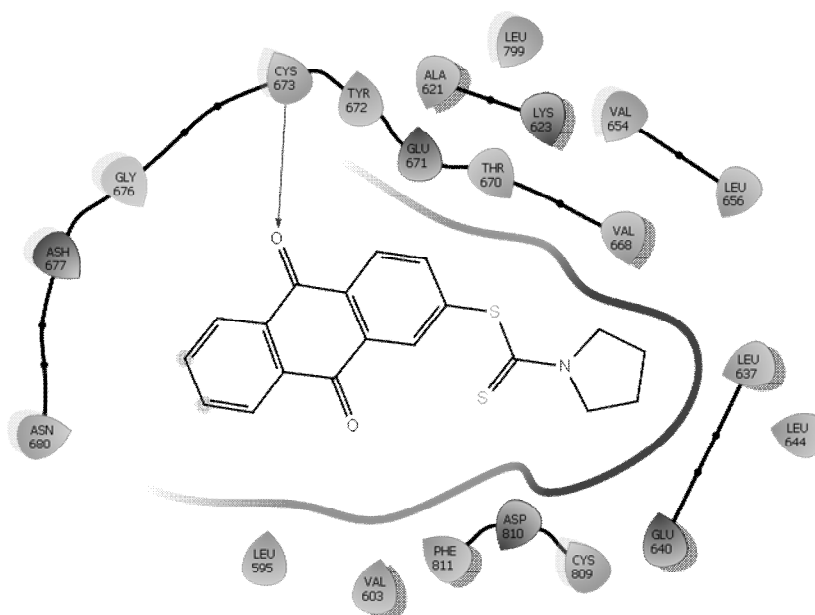


Рис. 4. Типи взаємодії сполуки-хіта **24** в області зв'язування з білковою мішенню IT46

Дитіокарбамат **24** знаходиться у гідрофобній кишені (рис. 4), утвореній амінокислотними залишками лейцину (LEU:595, LEU:799, LEU:637, LEU:644, LEU:656), валіну (VAL:668, VAL:603, VAL:654), фенілаланіну (PHE:811), цистеїну (CYS:673, CYS:809) та тирозину (TYR:672), з негативно зарядженими залишками аспарагіну (ASH:677), глутамінової кислоти (GLU:671, GLU:640), аспарагінової кислоти (ASP:810) та позитивно зарядженим фрагментом лізину (LYS:623). Молекула сполуки **24** утворює водневий зв'язок між атомом кисню карбонільної групи 9,10-антрацендіонового фрагмента і полярним амінокислотним залишком CYS:673 основного пептидного ланцюга.

Висновки. Проведене комп'ютерне прогнозування прояву ймовірної біологічної активності перефункціоналізованих похідних 9,10-антрацендіону – 1,2,3-триазолів, дитіокарбаматів та гідразонів з використанням веб-ресурсів *PASS*, *AVCPred*, *CLC-Pred* показало пріоритетний напрямок досліджень цих сполук на протипухлинну та антивірусну активності, що відповідає новітнім тенденціям у розробленні нових препаратів для боротьби із захворюваннями раку. Отримані невисокі значення прогнозу ймовірної активності P_a (0.4-0.6) вказують на відсутність аналогів цим структурам внаслідок поєднання відомих фармакофорних фрагментів в одній молекулі, що може призводити до зміни експериментально встановленого раніше механізму дії, який вносить той чи інший фармакофор. Дані проведеного молекулярного докінгу показали, що відомий механізм інтеркаляції ДНК топоізомераз, характерних для мітоксантрона та його похідних, може не реалізовуватися на досліджених похідних 9,10-антрацендіону, а ймовірним механізмом протиракової активності цих сполук може бути інгібування тирозинкінази тромбоцитарного фактора росту за допомогою зв'язування з активною зоною білка IT46 за рахунок водневого зв'язку з полярним амінокислотним залишком CYS:673 і утримування молекули у гідрофобній ділянці білка-мішені завдяки фармакоформним фрагментам пірролідиндитіокарбаматної групи і 9,10-антрацендіону.

1. Huang Q., Lu G., Shen H. M., Chung M. C. M., Choon N. O. *Anti-cancer properties of anthraquinones from Rhubarb. Med. Res. Rev.* 2007. – Vol. 27(5). – P.609–630.
2. Murdock K. C., Child R. G., Fabio P. F., Angier R. B., Wallace R. E., Durr F. E., Citarella R. V. *Antitumor Agents. I. 1,4-Bis [(aminoalkyl) amino]-9, 10-anthracenediones. J. Med. Chem.* – 1979. – Vol. 22(9). – P.1024–1030.
3. Shrestha J. P., Fosso M. Y., Bearss J., Chang C.-W. T. *Synthesis and anticancer structure activity*

relationship investigation of cationic anthraquinone analogs. *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 77. – P. 96–102. 4. Shrestha J. P., Subedi Y. P., Chen L., Chang C.-W. T. A mode of action study of cationic anthraquinoneanalogs: A new class of highly potent anticancer agents. *Med. Chem. Comm.* – 2015. – Vol. 6(11). – P. 2012–2022. 5. Thomson Reuters IntegritySM. Thomson ReutersTM; software available at <http://thomsonreuters.com/en/products-services/pharma-life-sciences/pharmaceutical-research/integrity.html>. 6. Fox E. J. Mechanism of action of mitoxantrone. *Neurology.* – 2004. – Vol. 63(12 Suppl 6). – S. 15–S18. 7. Nitiss J. L. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer.* – 2009. – Vol. 9(5). – P. 338–350. 8. Wu C.-C., Li Y.-C., Wang Y.-R., Li T.-K., Chan N.-L. On the structural basis and design guidelines for type II topoisomerase-targeting anticancer drugs. *Nucleic Acids Res.* – 2013. – Vol. 41(22). – P.10630–10640. 9. Malik E. M., Muller Ch. E. Anthraquinones as Pharmacological Tools and Drugs. *Med. Res. Rev.* – 2016. – Vol. 36(4). – P. 705–748. 10. Liang Z., Ai J., Ding X., Peng X., Zhang D., Zhang R., Wang Y., Liu F., Zheng M., Jiang H., Liu H., Geng M., Luo C. Anthraquinone derivatives as potent inhibitors of c-Met kinase and the extracellular signaling pathway. *ACS Med. Chem. Lett.* – 2013. – Vol. 4(4). – P.408–413. 11. Lagunin A., Stepanchikova A., Filimonov D., Poroikov V. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics.* – 2000. – Vol. 16, No. 8. – P. 747–748. 12. Stasevych M., Zvarych V., Lunin V., Vovk M., Novikov V. The new 1,2,3-triazolylantracene-9,10-diones: synthesis and computer bioactivity screening. *Chem. & Chem. Tech.* – 2017. – Vol. 11(1). – P. 1–9. 13. Zvarych V., Stasevych M., Lunin V. et al. Synthesis and investigation of antioxidant activity of the dithiocarbamates derivatives of 9,10-anthracenedione. *Monatsh. Chem.* – 2016. – Vol. 147(12). – P. 2093–2101. 14. Стасевич М. В., Зварич В. И., Лунин В. В., Вовк М. В., Новиков В. П. Удобный метод синтеза 1-гидразинилантрацен-9,10-дионов. *Журн. Орг. Хим.* – 2017. – Т. 53, Вып. 3. – С.438–440. 15. Qureshi A., Kaur G., Kumar M. AVCpred: An integrated web server for prediction and design of antiviral compounds. *Chem. Biol. Drug. Des.* – 2017. – Vol. 89. – P. 74–83. 16. Konova V., Lagunin A., Pogodin P., Kolotova E., Shtil A., Poroikov V. Virtual Screening of Chemical Compounds Active Against Breast Cancer Cell Lines Based on Cell Cycle Modeling, Prediction of Cytotoxicity and Interaction with Targets. *SAR & QSAR Environ. Res.* – 2014. – Vol. 26. – P. 595–604. 17. R. Friesner A., Murphy R. B., Repasky M. P. et. al. Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein-Ligand Complexes. *J. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 49. – P. 6177–6196. 18. The Protein Data Bank [Электронный ресурс]. – H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng et. al. *Nucleic Acids Research.* – 2000. – Vol. 28. – P. 235–242.