



DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2023.2.14051>

УДК 547.789.1:615.012.1]073/.076

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКОПОДІБНОСТІ, ПАРАМЕТРІВ ТОКСИЧНОСТІ ТА МЕХАНІЗМУ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ 11-(ФУРАН-2-ІЛ)-9-ГІДРОКСИ-3,11-ДИГІДРО-2H-БЕНЗО[6,7]ТІОХРОМЕНО[2,3-D]ТІАЗОЛ-2,5,10-ТРИОНУ (LES-6400)

А. В. Лозинський

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
lozynskyandrii@gmail.com

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
02.02.2022

Після доопрацювання / Revised:
24.02.2023

Прийнято до друку / Accepted:
28.02.2023

Ключові слова:

нафтохінони;
юглон;
тіопірано[2,3-*d*]тіазоли;
SwissADME;
ProTox II;
PILOT.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Здійснити прогнозування лікоподібності та токсичності з використанням сучасних веб-інструментів сполуки Les-6400, а також віртуально спрогнозувати можливий механізм реалізації протипухлинної активності.

Матеріали і методи. Для сполуки Les-6400 проведено *in silico* скринінг лікоподібності та токсичності з використанням онлайн-сервісів SwissADME та ProTox II. Прогнозування механізму реалізації протипухлинної активності було проведено за допомогою сервісу PRISM Національного інституту раку США (NCI).

Результати й обговорення. Досліджувана сполука Les-6400 в результаті проведених *in silico* досліджень проявила задовільні лікоподібні характеристики та низький профіль токсичності. При використанні сервісу PRISM було спрогнозовано, що механізм протипухлинної активності сполуки Les-6400 реалізується шляхом інгібування трансформуючого фактора росту бета (TGFβ).

Висновки. Результати досліджень можуть стати платформою для подальшої структурної оптимізації ідентифікованої сполуки на основі тіопірано[2,3-*d*]тіазолу з фрагментом юглоноу в розробці сучасних протипухлинних лікарських засобів.

Вступ. Похідні нафтохінону – важлива група біологічно активних сполук, які привертають увагу науковців та дослідників через їх широкий спектр застосування в медицині та фармації. Вони належать до класу природних молекул зі складною хімічною структурою, що містить спряжений циклогексадієнон, включно з його анельованими аналогами. Загалом ідентифіковано близько 1200 різних похідних хінону, які здебільшого містяться в багатьох видах рослин, грибів, бактерій, а також тваринах, особливо голкошкірих [1]. Відомо, що похідні на основі нафтохінону також лежать в основі великої кількості лікарських засобів та біологічно активних сполук із різно-

манітною біологічною активністю, включно з антиоксидантною, протизапальною, протівірусною та протипухлинною [2]. Одним із ключових представників класу нафтохінонів є юглон, який знаходиться в різних рослинних джерелах, зокрема в родині горіхових *Juglandaceae*. Він здатний інгібувати дію ферменту рибонуклеази, що має важливе значення у регуляції різних генетичних процесів у клітинах, включно з розвитком канцерогенезу. Юглон відзначається також своїми антибактеріальними та протигрибковими властивостями, що робить його потенційним кандидатом у боротьбі з інфекційними захворюваннями та застосування в антимікробній терапії. Крім того,

Синтез біологічно активних сполук

Synthesis of biologically active compounds

юглон демонструє виражені антиоксидантні властивості, допомагаючи нейтралізувати вільні радикали, що можуть призвести до окислювального стресу в клітинах [3].

Зазначена робота є продовженням циклу досліджень похідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолу з фрагментом юглону в структурі як потенційних протипухлинних агентів [4], в якій буде проведено прогнозування лікоподібності та токсичності з використанням сучасних веб-інструментів SwissADME та ProTox II, а також встановлено можливий механізм реалізації протипухлинної активності сервісом PRISM Національного інституту раку США (NCI) на прикладі попередньо ідентифікованої сполуки-лідера Les-6400.

Матеріали і методи. Для прогнозування параметрів лікоподібності було використано сполуку під лабораторним шифром Les-6400 (11-(фуран-2-іл)-9-гідрокси-3,11-дигідро-2*H*-бензо[6,7]тіохромено[2,3-*d*]тіазол-2,5,10-тріон) (рис. 1), синтез, фізико-хімічні властивості та скринінг протипухлинної активності якої ми повідомляли раніше [4]. Параметри лікоподібності для сполуки оцінювали шляхом використання веб-ресурсу SwissADME Швейцарського інституту біоінформатики [5]. Веб-сервіс ProTox II, розроблений в університетській клініці Шаріте (м. Берлін, Німеччина), використовували для прогнозування токсичності [6]. Для встановлення механізмів реалізації протипухлинної активності сполуки Les-6400 було проведено аналіз за допомогою сервісу PRISM Національного інституту раку США (NCI) [7].

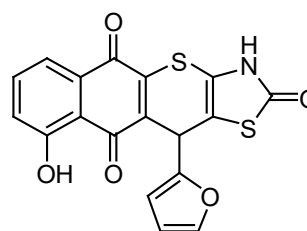


Рис. 1. Структура досліджуваної сполуки Les-6400.

Результати й обговорення. База даних SwissADME дає змогу розрахувати гідро- та ліпофільність сполук, ряд фармакокінетичних параметрів (гастроінтестинальну абсорбцію; проникність через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ); інгібування цитохромів CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4; проникність через шкіру), відповідність правилам Ліпінського, Вебера (GSK), фільтрам Ghose, Egan, Muegge (Bayer), а також здатність бути акцепторами Міхаеля (PAINS) [8]. На основі результатів оцінки активності сполуки-хіта Les-6400 базою даних SwissADME встановлено, що досліджувана сполука у всіх випадках має задовільні фізико-хімічні параметри (молекулярна маса, ліпофільність, розчинність, полярність), а SwissADME радар біодоступності підтвердив їх подібність до ліків з оцінкою їх показника 0.55 одиниць (табл. 1, рис. 2).

Для сполуки Les-6400 також було проведено тест BOILED-Egg. Даний тест дає змогу оцінити пасивну

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники, параметри ADME, фармакокінетичні властивості, параметри лікоподібності сполуки Les-6400

Фізико-хімічні властивості	Les-6400
Молекулярна маса	383.40
Число важких атомів	26
Число ароматичних важких атомів	16
Число зв'язків, що обертаються	1
Число донорів протону	2
Число акцепторів протону	5
Молярна рефрактерність	95.61
TPSA Å ²	153.91
Узгоджена log Po/w	2.73
Правило Ліпінського	Так
Фармакокінетичні параметри	
Гастроінтестинальна абсорбція	Низька
Проникність через ГЕБ	Ні
P-гр субстрат	Ні
Log Kp (SP) (cm/s) (шкірна проникність)	-6.48
Параметр біодоступності	0.55

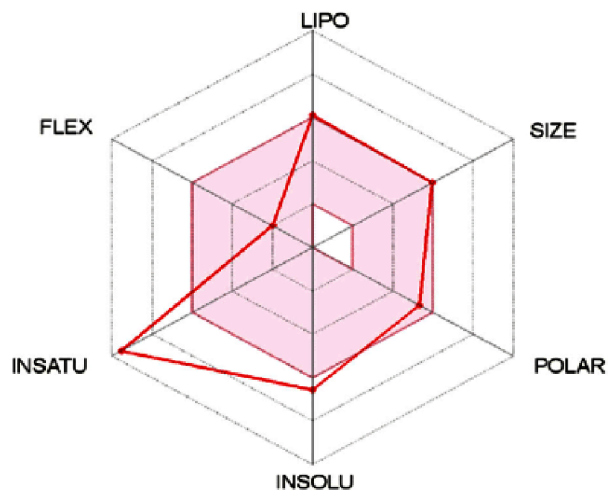


Рис. 2. SwissADME радар біодоступності досліджуваної сполуки.

шлунково-кишкову абсорбцію і проникнення через ГЕБ залежно від положення молекул у референсі WLOGP- проти -TPSA. Біла область – для високої ймовірності пасивного всмоктування шлунково-кишковим трактом, а жовта область (жовток) – для високої ймовірності проникнення через гематоенцефалічний бар'єр. Области жовтка та білка не виключають один одного. Крім того, точки забарвлені синім кольором, якщо передбачено, що він активно виділяється Р-гр (PGP+), і червоним, якщо передбачено, що він не є субстратом Р-гр (PGP-). Треба відзначити, що на основі проведеного тесту BOILED-Egg похідне

Les-6400 має низьку здатність до проходження гематоенцефалічного бар'єру (рис. 3).

Варто відзначити, що аналіз фізико-хімічних ознак сполуки-хіта Les-6400 виявив окремі негативні характеристики, зокрема погану розчинність у воді. Окрім того, розгляд розрахунків параметрів медичної хімії, а саме структурних PAINS, Brenk та Lead-likeness, які складаються із токсичних, хімічно-реакційних, метаболічно нестабільних фрагментів або які властивості з незадовільною фармакокінетикою показали, що сполука Les-6400 також мала певні структурні порушення через наявність фрагменту хінону у

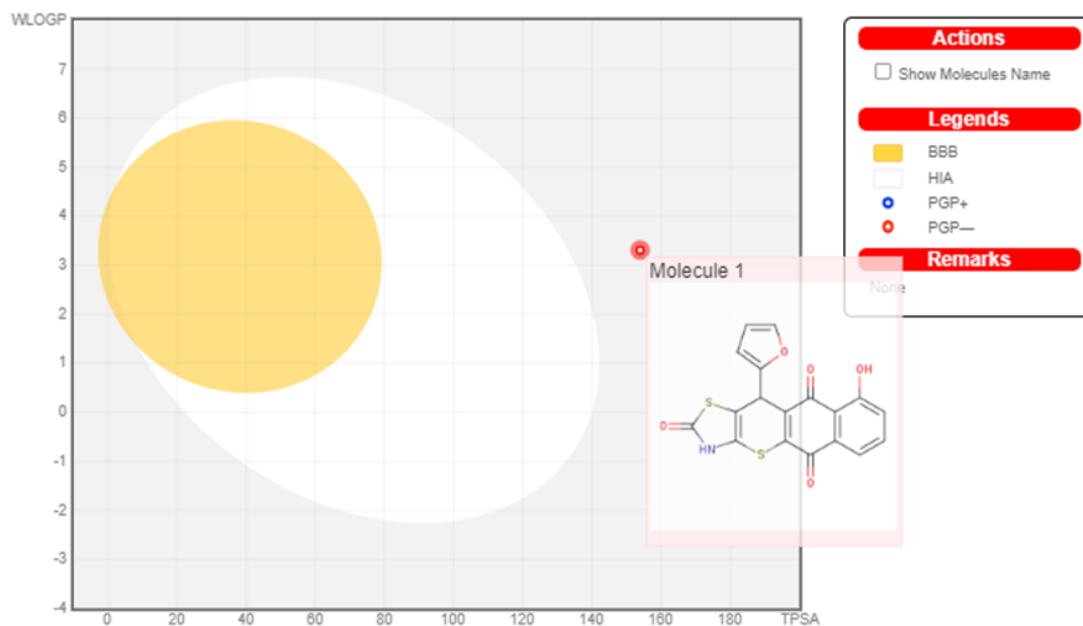


Рис. 3. Гастроінтестинальна адсорбційна здатність (біла область) та проникність через гематоенцефалічний бар'єр (жовта область) сполуки Les-6400.

Синтез біологічно активних сполук Synthesis of biologically active compounds

структурі. З іншого боку, дані показники не є критичними згідно з сучасними критеріями створення лікарських засобів і можуть бути оптимізовані.

Додаткове прогнозування пероральної токсичності за допомогою сервісу Pro Tox II показало, що сполука Les-6400 належить до IV класу токсичності (LD_{50} 1000 мг/кг) (табл. 2). Проте сполука має застереження щодо гепатотоксичності та імунотоксичності і потребує більш ретельної попередньої оцінки токсичності *in vivo*.

Треба відзначити, що сполука Les-6400 мала високий рівень протипухлинної активності зі значеннями GP_{mean} -2.68% та діапазоном мітотичної активності – -97.70÷145.55%. Окрім того, зазначене похідне пригнічувало ріст 50 зі 60 досліджуваних ліній ракових клітин із діапазоном мітотичної активності більш ніж на 50 %, і виявляло не тільки цитостатичний ефект, але також високу цитотоксичність. З іншого боку, детальний механізм реалізації біологічної активності даної сполуки потребує встановлення. Відповідно, з метою додаткового встановлення механізмів реалі-

зації протипухлинної активності сполуки Les-6400 було проведено аналіз за допомогою сервісу PRISM Національного інституту раку США (NCI). Даний сервіс дає змогу порівняти унікальні фінгерпринти біологічної активності досліджуваної сполуки з іншими молекулами з бази даних NCI. PRISM відображає коефіцієнт кореляції з метою ідентифікації молекул, що можуть мати подібні механізми реалізації біологічної активності. Відповідно, ми виконали PRISM-аналіз сполуки Les-6400, яка була протестована в градієнті п'яти концентрацій, що дозволив ідентифікувати 2,3-диметилбензо[*g*]хіноксалін-5,10-діон з найвищим показником коефіцієнта кореляції, який становив 0.72 (рис. 4).

Окрім того, ми використали інструмент PILOT (Pharmacophore Identification Lead Organisation) сервісу PRISM. Інструмент PILOT здійснює стеричне вирівнювання у фармакофорну конструкцію попередньо ідентифікованих фазою порівняння сервісу PRISM сполук. Оскільки сполуки з потенційно подібним механізмом дії можуть зв'язуватися ідентичними

Таблиця 2

Результати прогнозування токсичності сполуки Les-6400 сервісом ProTox II

Сполука	LD_{50} (мг/кг)	Клас токс.	Вид токсичності				
			гепатотоксичність	канцерогенність	імунотоксичність	мутагенність	цитотоксичність
les-6400	1000	4	Активна	Інактивна	Активна	Інактивна	Інактивна

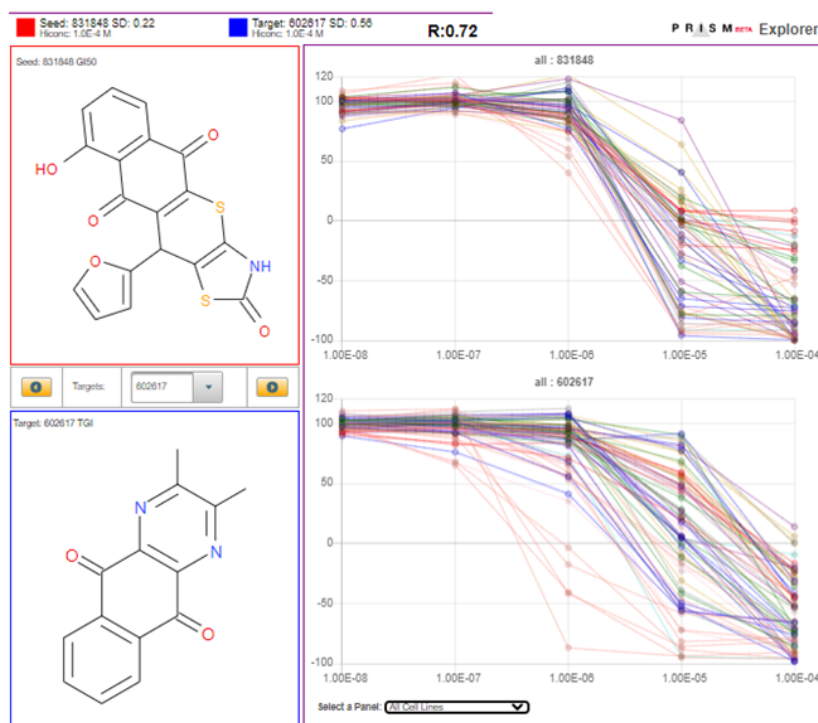


Рис. 4. Візуалізація NCI-60 PRISM аналізу, проведеного для сполуки Les-6400.

біомішенями, відповідно, зазначений набір сполук можна в аналогічній спосіб вирівнювати у стерично-му та фармакофоричному вимірах. Інструмент PILOT знаходить сполуки з найбільш жорсткою структурою в серії та використовує зазначену молекулу як шаблон для вирівнювання решти структур, вибраних у сервісі PRISM. Так, згідно з результатами функції PILOT 2,3-диметилбензо[*g*]хіноксалін-5,10-діон добре узгоджується з досліджуваною сполукою Les-6400, що може свідчити про те, що дані молекули можуть зв'язуватися з тим самим сайтом біомішені шляхом подібної орієнтації у просторі. Результати фармакофорної подібності повною мірою корелюють з результатами фінгерпринтів біоактивності. Треба відзначити, що для похідних 2,3-диметилбензо[*g*]хіноксалін-5,10-діону детально встановлено механізм протипухлинної активності, який реалізується шляхом інгібування ізоформ убіхітин-специфічних протеаз, сприяючи передачі сигналу TGF- β , безпосередньо

взаємодіючи з рецептором TGF- β типу I (T β RI) захищаючи його від деградації на плазматичній мембрані [9].

Висновки. Комплексними дослідженнями фізико-хімічних показників, параметрів ADME, фармакокінетичних властивостей та параметрів лікоподібності, а також механізмів реалізації протипухлинної активності *in silico* встановлено значний потенціал сполуки Les-6400, який можна розглядати як потенційний напрямок подальшого поглибленого дослідження похідних тіопіранотіазолу з фрагментами юглону у структурі.

Дані про фінансову підтримку. Це дослідження було профінансоване Міністерством охорони здоров'я України [0121U100690] та Національним фондом досліджень України, за номером проєкту: 2020.02/0035.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

IN SILICO STUDY OF DRUG SIMILARITY, TOXICITY PARAMETERS AND MECHANISM OF ANTI-TUMOR ACTIVITY OF 11-(FURAN-2-YL)-9-HYDROXY-3,11-DIHYDRO-2H-BENZO[6,7]THIOCHROMENO[2,3-D]THIAZOLE-2 ,5,10-TRIONE (LES-6400)

A. V. Lozynskyi

Danylo Halytsky Lviv National Medical University
lozynskyiandrii@gmail.com

The aim of the work. To predict drug-likeness and toxicity using modern web tools of the compound Les-6400 and to virtually evaluate a possible mechanism of antitumor activity.

Materials and Methods. For the compound Les-6400, an *in silico* drug-likeness and toxicity screening was performed using SwissADME and ProTox II online services. Prediction of the mechanism of realization of antitumor activity was analyzed using the US National Cancer Institute (NCI) PRISM service.

Results and Discussion. The studied compound Les-6400 showed satisfactory drug-like characteristics and a low toxicity profile due to *in silico* studies. The PRISM service predicted that the mechanism of antitumor activity of the compound Les-6400 is realized through the inhibition of transforming growth factor beta (TGF β).

Conclusions. The results obtained in the research process can become a platform for further structural optimization of the identified compound based on thiopyrano[2,3-*d*]thiazole with a juglone fragment in developing modern anticancer drugs.

Key words: naphthoquinones; juglone; thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles; SwissADME; ProTox II; PILOT.

Список бібліографічних посилань

1. Naphthoquinone derivatives isolated from plants: recent advances in biological activity. E. Ahmadi, A. Tajbakhsh, M. Iranshahy, J. Asili. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 20. P. 2019–2035.
2. Tandon V., Kumar S. Recent development on naphthoquinone derivatives and their therapeutic applications as anticancer agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2013. Vol. 23. P. 1087–1108.
3. Juglone: a versatile natural platform for obtaining new bioactive compounds. C. dos S Moreira, T. Santos, R. Freitas et al. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2021. Vol. 21. P. 2018–2045.
4. Molecular design, synthesis and anticancer activity of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles based on 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone). I. Ivasechko, A. ozynskyi, J. Senkiv et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 252. P. 115304.
5. SwissADME. Available from: <http://www.swissadme.ch>
6. ProTox II. Available from: https://tox-new.charite.de/protox_II/
7. PRISM DTP NCI. Available from: <https://dtp.cancer.gov/compsub/prism/index.xhtml>
8. Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. R. Brenk,

A. Schipani, D. James et al. *Chem. Med. Chem: Chemistry Enabling Drug Discovery*. 2008. Vol. 3. P. 435–444.

References

1. Ahmadi ES, Tajbakhsh A, Iranshahy M, Asili J, Kretschmer N, Shakeri A, Sahebkar A. Naphthoquinone derivatives isolated from plants: recent advances in biological activity. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2020;20(19): 2019-35.
2. Tandon VK, Kumar S. Recent development on naphthoquinone derivatives and their therapeutic applications as anticancer agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2013;23(9): 1087-108.
3. dos S Moreira C, Santos TB, Freitas RH, Pacheco PA, da Rocha DR. Juglone: a versatile natural platform for obtaining new bioactive compounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2021;21(22): 2018-45.
4. Ivasechko I, Lozynskyi A, Senkiv J, Roszczenko P, Kozak Y, Finiuk N, et al. Molecular design, synthesis and anticancer activity of new thiopyrano[2,3-*d*] thiazoles based on 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone). *European journal of medicinal chemistry*. 2023;252: 115304.
5. SwissADME. Available from: <http://www.swissadme.ch>
6. ProTox II. Available from: https://tox-new.charite.de/protox_II/
7. PRISM DTP NCI. Available from: <https://dtp.cancer.gov/compsub/prism/index.xhtml>
8. Brenk R, Schipani A, James D, Krasowski A, Gilbert IH, et al. Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*. 2008;3(3): 435-44.
9. Fauvarque MO, Mortier M, Pillet C, Aguilar C, Soleilhac E, Barette C, Remusat V, Terme T, Vanelle P, inventors; Aix Marseille Universite, Universite Grenoble Alpes, assignee. Heterocyclic naphthoquinones derivatives for use in the treatment of cancers including Cushing disease. United States patent US 11,306,063. 2022.

Відомості про автора

Лозинський А. В. – канд. фармацевт. наук, докторант, доцент кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: lozynskyiandrii@gmail.com, ORCID 0000-0001-7151-2159.

Information about the author

Lozynskyi A. V. – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: lozynskyiandrii@gmail.com, ORCID 0000-0001-7151-2159.