

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Р. Б. Лесиком
УДК 547.551.42:54.06:530.145

IN SILICO ПІДХОДИ ДО РАЦІОНАЛЬНОГО ДИЗАЙНУ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛОПІРИДИНУ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ

© В. В. Огурцов, Т. І. Чабан, О. В. Кленіна, І. Г. Чабан, Й. Д. Комариця

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Резюме: проведено кореляційний аналіз залежності антиексудативної активності 36 сполук, що є похідними 5,7-диметил-6-фенілазо-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону, від різних типів молекулярних дескрипторів. Результати QSAR-аналізу свідчать про суттєвий вплив топологічної та геометричної тривимірної будови молекул на величини антиексудативної активності досліджуваних сполук. За результатами проведеного гнучкого молекулярного докінгу було підтверджено можливість утворення стійких комплексів похідних тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону з COX-2 як за рахунок утворення водневих зв'язків між відповідними атомами та функціональними групами ліганду і мішені, так і за рахунок суттєвої електростатичної взаємодії між ними.

Ключові слова: 3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-он, QSAR-аналіз, молекулярні дескриптори, молекулярний докінг.

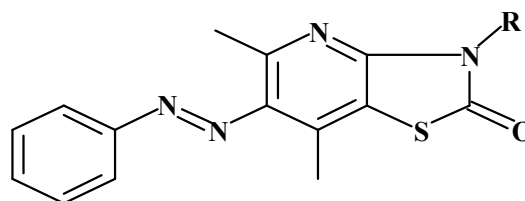
Важливим напрямком розвитку сучасної медичної хімії є розробка та удосконалення теоретичних (*in silico*) методів дослідження механізмів дії лікарських засобів, передбачення їх активності, віртуального дизайну нових препаратів. Досконалість алгоритмів програмування й моделювання дають можливість застосовувати комп'ютерні технології практично на всіх етапах фармакологічних і фармацевтичних досліджень з розробки лікарських засобів [1, 2]. *In silico* підходи дозволяють кількісно оцінити залежність фізико-хімічних характеристик процесів взаємодії лікарських засобів із біологічними системами від параметрів будови їх молекул та їх комплексів з біологічними рецепторами, враховуючи їх специфічність. Отримані закономірності можуть бути використані для прогнозування активності нових сполук та раціонального дизайну нових ефективних лікарських засобів. Поеднання методів комбінаторної хімії та високоефективного фармакологічного скринінгу дозволило ідентифікувати велику групу клітинних біомішеней, що стало ключовим фактором бурхливого розвитку фармакологічного потенціалу конденсованих похідних тіазолу і тіазолідону та знайшло відображення у відкритті нових фармакологічних ефектів зазначених сполук та розвитку раніше встановлених, шляхом деталізації особливостей механізмів дії на рівні «ліганд-рецептор» [3–10].

Мета роботи – встановлення кількісних закономірностей зв'язку між біологічною активністю похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону та параметрами їх молекулярної будови, а також можливих механізмів біологічної дії із використанням *in silico* методів, окреслення основних напрямків для раціональ-

ного дизайну похідних даного класу шляхом оптимізації структур «сполук-лідерів» для подальшого спрямованого синтезу нових біологічно активних речовин.

Для досліджень було вибрано 36 речовин – похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону, синтезованих на кафедрі загальної, біонеорганічної та фізколоїдної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького [11, 12], базовою гетероциклічною структурою яких є конденсований тіазолопіридиновий біцикл. Молекули всіх досліджуваних речовин містять 6-фенілазо-групу у *S*6-положенні базового гетероциклу та замісники різної природи з *N*3 положенні.

Загальна структура молекул досліджуваних речовин



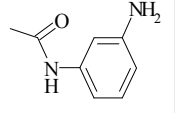
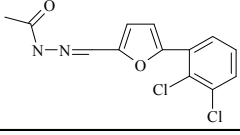
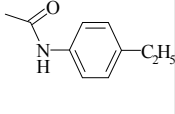
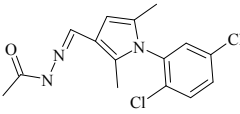
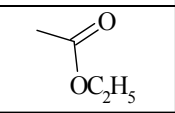
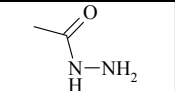
Вивчення впливу синтезованих речовин на перебіг ексудативної фази запалення проводили на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів. Структура замісників у *N*3 положенні молекул досліджуваних речовин та результати фармакологічних досліджень наведено в таблиці 1.

Оптимізацію структур досліджуваних речовин здійснювали методами молекулярної механіки MM+ та напівемпіричним AM1 з оптимізацією за Флетчером-Рівесом, використовуючи програмний пакет HyperChem 7.5 [13], а пошук та обчис-

Таблиця 1. Структура замісників у N3 положенні молекул досліджуваних речовин та величини їх протизапальної активності

Шифр сполуки	Структура замісників в N3 положенні	Величина антиексудативної активності, %	lg %	Шифр сполуки	Структура замісників в N3 положенні	Величина антиексудативної активності, %	lg %
1	H	57	1,7559	20		42	1,6232
2		54	1,7324	21		39	1,5911
3	C ₃ H ₅	42	1,6232	22		36	1,5563
4	n-C ₃ H ₇	45	1,6532	23		38	1,5798
5	i-C ₃ H ₇	47	1,6721	24		42	1,6232
6	n-C ₅ H ₁₁	50	1,6990	25		45	1,6532
7	i-C ₅ H ₁₁	48	1,6812	26		39	1,5911
8	C ₂ H ₄ Cl	36	1,5563	27		37	1,5682
9		35	1,5441	28		55	1,7404
10		28	1,4472	29		41	1,6128
11		31	1,4914	30		36	1,5563
12		33	1,5185	31		50	1,6990
13		29	1,4624	32		47	1,6721
14		32	1,5051	33		45	1,6532
15		39	1,5911	34		53	1,7243

Продовження табл. 1

Шифр сполуки	Структура замісників в N3 положенні	Величина антиексудативної активності, %	Ig %	Шифр сполуки	Структура замісників в N3 положенні	Величина антиексудативної активності, %	Ig %
16		33	1,5185	35		67	1,8261
17		39	1,5911	36		71	1,8513
18		44	1,6435		Ібупрофен	40	1,6021
19		40	1,6021		Вольтарен	52	1,7160

лення структур конформаційних ізомерів – методом ММ+. Значення ациклічних торсійних кутів та гнучкості торсійних кутів у циклах задано у межах $\pm 10-180^\circ$. Аналіз структур з мінімальною енергією дозволив встановити, що всі атоми базового гетероциклу, азогрупи та з'єданого з нею фенільного кільця лежать практично в одній площині із значеннями торсійних кутів між площинами від $-179,93$ до $0,43^\circ$. Існування ізомерів можливе за рахунок зміни конформацій радикалів у N3 положенні гетероциклу, при цьому величини торсійних кутів між площинами циклу та з'єданого з ним атома Карбону у складі радикала зростають при переході від сполук з алкільними радикалами ($0,572^\circ$) до етилового естеру ацетатної кислоти ($4,939^\circ$) та похідних ацетаміду ($5,284^\circ$ для сполуки **9**). Аналогічним чином зростають величини торсійних кутів для наступних атомів Карбону у складі радикала: від $-0,609^\circ$ для замісників алкільної природи до $89,631^\circ$ у похідних ацетаміду.

Величини молекулярних дескрипторів сполук були згенеровані програмою E-Dragon [14, 15], що дозволяє обчислити більше 1600 молекулярних дескрипторів. При цьому залежно від розмірності структури, що використовується для їх розрахунку, обчислено такі групи дескрипторів: 0D, що не залежать від порядку з'єднання атомів у молекулі та існування конформерів (брутто-формула молекули, молекулярна маса, число атомів та зв'язів певного типу); одинимірні 1D, що містять інформацію про кількість та склад структурних фрагментів, їх розрахунок не залежить від інформації про структуру молекули в цілому; двовимірні 2D (конституційні і топологічні, визначення яких базується на дослідженні структурного

графа молекули); тривимірні 3D (властивості, що визначаються просторовою структурою молекули та геометричними координатами атомів).

У даній роботі вибір оптимального набору молекулярних дескрипторів здійснювали з використанням ієрархічного послідовного алгоритму та методу множинної лінійної регресії (MLR – Multiple Linear Regression) для одержання QSAR-моделей з використанням програми BuiltQSAR [16], причому дескриптори з різних груп спочатку використовували для побудови окремих моделей, а потім дескриптори, що найповніше описують зміну біологічної активності, використано для одержання змішаних моделей. Це дозволило вибрати одно- або багатопараметричну модель з максимальним значенням коефіцієнта кореляції (r) та мінімальною величиною стандартного відхилення (s) і суми квадратів похибки прогнозування S_{PRESS} . Дескриптори з високою парною кореляцією, визначені на основі аналізу кореляційної матриці, виключено з багатовимірного дескрипторного простору. Вибрані моделі в подальшому досліджували на підтвердження адекватності за допомогою коефіцієнта Фішера (F) та оцінювання їх прогнозуючої здатності за допомогою коефіцієнта крос-валідації Q^2 . Прогнозуючу здатність QSAR-моделей можна визначити шляхом внутрішньої або зовнішньої валідації. У даній роботі ми здійснили розподіл загальної вибірки сполук на навчальну і контрольну за критерієм величини їх протизапальної активності, вираженої у формі десятичного логарифму рівня пригнічення запальної реакції. Усі сполуки були розташовані в порядку зменшення активності та розділені на 6 груп (кількість сполук у навчальній вибірці ста-

новить 75 % від їх загальної кількості, а у контрольній – 25 %). Неоднакову кількість сполук у кожній групі можна пояснити тим, що для ряду сполук значення протизапальної активності є близькими за величиною або однаковими. З кожної групи по 1 або 2 сполуки були віднесені до контрольної вибірки, а решта складала навчальну, причому кількості сполук з невисоким,

помірним та високим рівнями активності у кожній вибірці є приблизно однаковим. Результати розподілу загальної вибірки на навчальну і контрольну наведено у таблиці 2.

QSAR-моделі, побудовані з використанням 2D молекулярних дескрипторів (табл. 3), характеризуються високими значеннями r , F і Q^2_{Loo} (табл. 4, 5).

Таблиця 2. Склад навчальної та контрольної вибірки сполук для проведення QSAR-аналізу

Номер групи	К-сть сполук у групі	Шифри сполук у вибірці		Номер групи	К-сть сполук у групі	Шифри сполук у вибірці	
		навчальна	контрольна			навчальна	контрольна
1	6	36	35	4	6	29	15
		1	2			19	
		28				17	
		34				21	
2	5	6	7	5	6	26	
		31				23	22
		5				27	
		32				8	
3	7	4	25	6	6	30	
		33	3			9	
		18				12	16
		20				14	13
		24				11	
						10	

Таблиця 3. Характеристика 2D молекулярних дескрипторів

Назва дескриптора	Підгрупа	Опис дескриптора
GATS7m	2D автокореляційні	Автокореляційний коефіцієнт Гері з лагом 7, зважений за атомною масою
GATS8m	2D автокореляційні	Автокореляційний коефіцієнт Гері з лагом 8, зважений за атомною масою
MATS4m	2D автокореляційні	Просторовий автокореляційний коефіцієнт Морана з лагом 4, зважений за атомною масою
MATS4e	2D автокореляційні	Просторовий автокореляційний коефіцієнт Морана з лагом 7, зважений за електронегативністю
MSD	Топологічні	Індекс середньоквадратичної відстані (індекс Балабана)
DECC	Топологічні	Ексцентрик
Xt	Топологічні	Індекс зв'язуваності загальної структури
T(O..Cl)	Топологічні	Сума топологічних відстаней між атомами Оксигену та Хлору

Таблиця 4. Одно-, дво- і трипараметричні 2D QSAR-моделі: протизапальна, $\lg\% = a \cdot X_1 + b \cdot X_2 + c \cdot X_3 + d$

Модель	a	X_1	b	X_2	c	X_3	d
1.2	- 0,3138	GATS7m	–	–	–	–	2,0150
2.2	- 0,2208	GATS8m	–	–	–	–	1,9289
3.2	0,4487	MATS4e	- 0,2549	GATS7m	–	–	2,0291
4.2	1,5502	MATS4m	- 0,2748	GATS7m	–	–	2,0855
5.2	7,7606	MSD	- 0,0954	DECC	0,0071	T(O..Cl)	- 0,1349
6.2	0,5536	MATS4e	5,2976	MSD	0,0048	T(O..Cl)	0,3746
7.2	1,9729	Xt	7,2909	MSD	0,0073	T(O..Cl)	- 0,6655

Таблиця 5. Статистичні характеристики 2D QSAR-моделей

Модель	<i>n</i>	<i>R</i>	<i>s</i>	<i>F</i>	Q^2_{LOO}	S_{PRESS}	<i>p</i>	SDEP
1.2	27	0,812	0,053	48,295	0,603	0,058	< 0,0001	0,057
2.2	27	0,725	0,063	27,752	0,437	0,069	< 0,0001	0,067
3.2	27	0,877	0,045	40,045	0,699	0,051	< 0,0001	0,049
4.2	27	0,873	0,046	38,370	0,691	0,052	< 0,0001	0,050
9.2	27	0,917	0,038	40,604	0,768	0,046	< 0,0001	0,043
10.2	27	0,913	0,039	38,187	0,775	0,045	< 0,0001	0,043
11.2	27	0,911	0,039	37,564	0,739	0,049	< 0,0001	0,046

2D дескриптори розраховуються на основі опису структурної формули сполуки за допомогою молекулярного графа *G*, що є двовимірним зображенням молекули (вершини відповідають атомам, а ребра – хімічним зв'язкам молекули). При цьому до уваги беруть лише скелетні атоми (без урахування атомів Гідрогену) та зв'язки між ними. Для оцінки топологічних індексів найчастіше застосовують матрицю суміжності *A(G)* та матрицю відстаней *D(G)*. Елементи матриці суміжностей a_{ij} дорівнюють 1 (якщо вершина *i* зв'язана із вершиною *j* ребром) або 0 (якщо ці вершини безпосередньо не зв'язані). При цьому кількість значень значень 1 в *i*-му рядку або *j*-му стовбчику матриці дорівнюють степеню вершини. Кожний елемент d_{ij} матриці відстаней *D(G)* (топологічна відстань) є кількістю ребер, що з'єднують вершини *i* та *j* за найкоротшим шляхом $\min p_{ij}$:

$$d_{ij} = \begin{cases} \min p_{ij} & (i \neq j) \\ 0 & (i = j) \end{cases}$$

2D автокореляційні дескриптори [17] обчислюються з молекулярного графа, базуючись на величині автокореляційної функції *ATS(d)* (Autocorrelation of Topological Structure):

$$ATS(d) = \sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^A \delta_{ij} \cdot (\omega_i \cdot \omega_j)_d, \text{ де } d \text{ – відповідний}$$

лаг, або кількість топологічних відстаней в одиничному фрагменті молекулярного графа, може приймати значення від 1 до максимальної топологічної відстані у молекулі; *A* – кількість

атомів у молекулі; $\delta_{ij} = \begin{cases} 0 & (d_{ij} \neq d) \\ 1 & (d_{ij} = 0) \end{cases}$ – дельта Кронекера; ω_i, ω_j – фізико-хімічні властивості томів *i* та *j* (атомні маси *m*, поляризованість *p*, електро-негативність *e*, ван-дер-Ваальсовий об'єм *v*).

Таким чином, 2D автокореляційні дескриптори обчислюють з молекулярних графів шляхом сумування добутків властивостей термінальних (кінцевих) атомів у молекулярному фрагменті на

довжину фрагмента (лаг).

Просторові 2D автокореляційні індекси Морана обчислюють за формулою:

$$I(d) = \frac{\frac{1}{\Delta} \cdot \sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^A \delta_{ij} \cdot (\omega_i - \bar{\omega}) \cdot (\omega_j - \bar{\omega})}{\frac{1}{A} \cdot \sum_{i=1}^A (\omega_i - \bar{\omega})^2}, \text{ де } \bar{\omega} \text{ – се-}$$

реднє значення певної властивості даного атома, обчислене для атомів усієї молекули; $\Delta = \sum \delta_{ij}$ – число пар вершин молекулярного графа, топологічна відстань між якими дорівнює *d*.

Автокореляційні індекси Морана зазвичай приймають значення в інтервалі [-1, +1], при цьому позитивні автокореляції відповідають додатним значенням індексів Морана, тоді як негативні автокореляції відповідають від'ємним значенням цих індексів.

Просторові 2D автокореляційні індекси Гері обчислюють за формулою:

$$C(d) = \frac{\frac{1}{2\Delta} \cdot \sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^A \delta_{ij} \cdot (\omega_i - \omega_j)^2}{\frac{1}{(A-1)} \cdot \sum_{i=1}^A (\omega_i - \bar{\omega})^2}$$

2D автокореляційні коефіцієнти Гері є функцією відстані і можуть змінюватись в межах від 0 до ∞. При цьому сильні взаємні кореляції властивостей атомів відповідають низьким значенням індексу Гері, зазвичай від 0 до 1, тоді як негативні взаємні кореляції – значенням коефіцієнта Гері більше 1, тобто твердження «автокореляція відсутня» відповідає рівності $C(d) = 1$.

Таким чином, 2D автокореляційні дескриптори, що представляють топологічну структуру сполук, описують взаємну кореляцію певних властивостей атомів в інтервалах, що дорівнюють сумі топологічних відстаней *y* у відповідних структурних фрагментах.

Топологічні дескриптори MSD і DECC можна обчислити, виходячи з матриці відстаней молекулярного графа. Максимальне значення еле-

мента матриці відстаней у ряду i називають ексцентриситетом атома η_i , який визначає максимальну топологічну відстань від вершини i до усіх інших вершин графа: $\eta_i = \max_j(d_{ij})$. Топологічний дескриптор ексцентриситета молекули визначається як сума ексцентриситетів всіх її

атомів: $\eta = \sum_{i=1}^A \eta_i$, а середнє значення ексцентриситета молекули дорівнює: $\bar{\eta} = \frac{1}{A} \sum_{i=1}^A \eta_i$.

Топологічний дескриптор DECC (ексцентрик молекули) обчислюють за формулою:

$$DECC = \Delta\eta = \frac{1}{A} \sum_{i=1}^A |\eta_i - \bar{\eta}|.$$

Топологічний дескриптор MSD (індекс середньоквадратичної відстані) обчислюють за формулою:

$$MSD = \frac{\left(\sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^A (d_{ij}^2) \right)^{1/2}}{A \cdot (A-1)} = \left(\frac{\sum_{k=1}^D k \cdot f \cdot k^2}{\sum_{k=1}^D k \cdot f} \right)^{1/2}, \text{ де } k^f$$

– кількість топологічних відстаней порядку k у молекулярному графі;

D – топологічний діаметр, $D = \max_i(z_i)$.

Індекс MSD зменшується із зростанням розгалуженості молекули. Цей дескриптор чутливий до структурних характеристик молекули: розміру, форми, симетрії, розгалуженості і циклічності, а також може кодувати інформацію стосовно типів атомів та порядків зв'язків.

X_i – індекс зв'язуваності загальної структури, що вираховується для всіх вершин молекулярного графа за формулою: $X_i = \left(\sum_{j=1}^A \delta_{ij} \right)^{-1/2}$,

де δ_i – степінь певної вершини i у графі. Таким чином, дескриптор X_i дорівнює кількості зв'язків, що з'єднують атом i зі всіма іншими атомами. При цьому сумування проводять по всіх ребрах молекулярного графа, а величина індекса зв'язуваності загальної структури визначає розгалуженість молекули.

Одержані з використанням 2D дескрипторів рівняння багатопараметричної регресії містять величини MATS4m, MATS4e, GATS2v, T(O..Cl), для яких коефіцієнти регресії мають додатні значення, та величини дескрипторів GATS7m, GATS8m з від'ємними знаками відповідних коефіцієнтів регресії. Таким чином, протизапальна активність досліджуваних сполук зростає при збільшенні величин дескриптора GATS2v, зменшенні величин від'ємних значень дескрипторів MATS4m і MATS4e та при зменшенні величин дескрипторів GATS7m і GATS8m. Активність зростає також при збільшенні величини суми топологічних відстаней між атомами Оксигену і Хлору, що відповідає зростанню величини дескриптора T(O..Cl).

Отже, присутність у молекулах досліджуваних речовин структурних фрагментів із сумою топологічних відстаней (лагом), рівною 2 або 4 (дескриптори MATS4m, MATS4e, GATS2v) та із термінальними (кінцевими) атомами з найбільшою атомною масою, електронегативністю та ван-дер-Ваальсовим об'ємом, відповідно, збільшують значення цих дескрипторів, що, у свою чергу, відповідає зростанню протизапальної активності сполук. Дескриптори GATS7m і GATS8m вказують на присутність у молекулах речовин структурних фрагментів із сумою топологічних відстаней (лагом) 7 і 8, у яких термінальні атоми мають найменші атомні маси.

Топологічні дескриптори MSD і X_i вносять додатний внесок у величину активності, тоді як коефіцієнт регресії для дескриптора DECC має від'ємний знак. Отже, активність зростає при збільшенні розмірів та розгалуженості молекул, проте середнє по всіх атомах відхилення максимальної топологічної відстані у молекулах від її середнього значення повинно зменшуватись, тобто довжини ребер у графі повинні бути приблизно однаковими.

Дво- і трипараметричні QSAR-моделі, одержані з використанням 3D дескрипторів (табл. 6) та їх статистичні характеристики, наведено у таблицях 7 і 8.

Таблиця 6. Характеристика 3D молекулярних дескрипторів

Назва дескриптора	Підгрупа	Опис дескриптора
G(O..Cl)	Геометричні	Сума геометричних відстаней між атомами Оксигену і Хлору
HATS8m	GETAWAY	Зважена системою важелів автокореляція з лагом 8 / зважена за масою
Mor21m	3D-MoRSE	Сигнал 21 / зважений за масою
Mor29u	3D-MoRSE	Сигнал 29 / незважений
Gu	WHIM	Індекс загальної симетрії / незважений
G3u	WHIM	Спрямований WHIM індекс симетрії 3-ї компоненти
Gm	WHIM	Індекс загальної симетрії / зважений за масою

Таблиця 7. Дво- і трипараметричні 3D QSAR-моделі: протизапальна, $\lg\% = a \cdot X_1 + b \cdot X_2 + c \cdot X_3 + d$

Модель	<i>a</i>	<i>X</i> ₁	<i>b</i>	<i>X</i> ₂	<i>c</i>	<i>X</i> ₃	<i>d</i>
1.3	0,0062	G(O..Cl)	- 1,5220	HATS8m	–	–	1,7914
2.3	0,0050	G(O..Cl)	0,2377	Mor21m	–	–	1,7283
3.3	0,0078	G(O..Cl)	- 0,2958	Mor29u	–	–	1,6690
4.3	0,0067	G(O..Cl)	0,6813	Gu	- 1,3087	HATS8m	1,6369
5.3	0,0066	G(O..Cl)	0,1345	G3u	- 1,3024	HATS8m	1,7307
6.3	0,0067	G(O..Cl)	0,6405	Gm	- 1,3276	HATS8m	1,6581

Таблиця 8. Статистичні характеристики 3D QSAR-моделей

Модель	<i>n</i>	<i>R</i>	<i>s</i>	<i>F</i>	<i>Q</i> ² _{LOO}	<i>S</i> _{PRESS}	<i>p</i>	SDEP
1.3	27	0,899	0,041	50,636	0,768	0,045	< 0,0001	0,043
2.3	27	0,829	0,052	26,379	0,611	0,058	< 0,0001	0,056
3.3	27	0,827	0,052	26,000	0,604	0,059	< 0,0001	0,056
4.3	27	0,929	0,035	48,611	0,814	0,041	< 0,0001	0,039
5.3	27	0,928	0,036	47,436	0,802	0,042	< 0,0001	0,040
6.3	27	0,927	0,036	47,055	0,800	0,043	< 0,0001	0,040

WHIM (Weighted Holistic Invariant Molecular descriptors) – зважені цілісні інваріантні молекулярні дескриптори, які одержано в результаті аналізу методом основних компонент зваженої матриці, побудованої на основі відцентрованих атомних координат для найбільш енергетично вигідної конформації молекули. При цьому використовують 6 важелів *w* – незважені (*u*), атомні маси (*m*), ван-дер-Ваальсові об'єми (*v*), атомні електронегативності (*e*), атомні поляризованості (*p*) та електростатичні індекси (*s*). Для кожної зваженої схеми *w* на підставі трьох основних компонент *t_m* (*m* = 1,2,3) розраховують 11 напрямлених дескрипторів, що містять інформацію про розмір (L1*w*, L2*w*, L3*w*), форму (P1*w*, P2*w*), симетрію молекул (G1*w*, G2*w*, G3*w*) та розподіл (доступність) у них атомів (E1*w*, E2*w*, E3*w*), а також 6 глобальних дескрипторів (T*w*, A*w*, G*w*, K*w*, D*w*, V*w*), які визначаються з напрямлених дескрипторів та різним чином характеризують загальну форму молекул. Осьова симетрія атомів у молекулі за новими внутрішніми осями координат (осями трьох основних компонент) можна обчислити за рівнянням

$$\gamma_m = \left\{ 1 - \left[\frac{n_s}{A} \cdot \log_2 \frac{n_s}{A} + n_a \cdot \left(\frac{1}{A} \cdot \log_2 \frac{1}{A} \right) \right] \right\}^{-1}, \quad m =$$

1, 2, 3, де *n_s* – кількість симетричних атомів вздовж осей основних компонент, *n_a* – кількість несиметричних атомів, *A* – число атомів у молекулі. Тоді індекси загальної симетрії молекули обчислюють так: $G = (\gamma_1 \cdot \gamma_2 \cdot \gamma_3)^{1/3}$.

Значення індексів загальної симетрії прямують до 1, якщо атоми в молекулі розташовані симетрично вздовж кожної осі, і до 0, якщо ато-

ми мають низьку симетрію відносно хоча б однієї з осей основних компонент.

3D-MoRSE (3D Molecule Representation of Structures based on Electron diffraction) дескриптори розраховуються з моделі ІЧ-спектра з використанням загальної функції розсіювання. Звичайно MoRSE дескриптор позначається як *Morsw* де *s* та *w* приймають значення $1 \leq s \leq 32$, *w* – відповідний атомний важель. Вираз загальної функції розсіювання, *G(s)*, було одержано у вигляді специфічного аналітичного сигналу дифракції рентгенівських променів та електронів відомими молекулярними структурами:

$$G(s) = \sum_{i=1}^A f_i \cdot \exp(2\pi i \cdot r_i \cdot s), \quad \text{де } G(s) \text{ – розсіювання електронів у різних напрямках групою з } A \text{ атомів, що розташовані в точці } r_i; s \text{ – величина, що визначає кут розсіювання, } s = 4\pi \cdot \sin(\theta/2)/\lambda, \text{ де } \theta \text{ – кут розсіювання, } \lambda \text{ – довжина хвилі пучка електронів; } f_i \text{ – фактор форми, що бере до уваги залежність напрямку розсіювання від сферичного об'єму певного розміру. Рівняння для } G(s) \text{ використовують у модифікованій формі:}$$

$$Mor(s, w) = I(s, w) = \sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{i-1} w_i w_j \sin(\pi r_{ij} / s) / (s r_{ij}),$$

де *I(s, w)* – інтенсивність розсіювання електронів; *r_{ij}* – евклідова відстань між атомами *i* та *j*; *w_i* і *w_j* – маса атомів *i* та *j* відповідно.

Для одержання дескрипторів уніфікованого розміру, розподіл інтенсивності *I(s, w)* визначено як дискретний, її величини розраховують в послідовності рівномірно розподілених значень – 32 або 64 в діапазоні *s* 1 – 31 Å. Зрозуміло, що чим більшим є число значень, тим вищою є

роздільча здатність тривимірного представлення молекули.

GETAWAY (GEometry, Topology, and Atom-Weights Assembly) дескриптори – це молекулярні дескриптори, що поєднують геометричну, топологічну і хімічну інформацію про структуру молекули, які одержують з матриці молекулярного впливу. Існують два набори дескрипторів цього типу: *H*-GETAWAY, що визначаються з *H*-матриці молекулярного впливу (*HATSkw*, *Hkw*) та *R*-GETAWAY, які визначаються з *R*-матриці впливу/відстані (*Rkw* and *R*kw*), де $1 \leq k \leq 8$, і $w = f(u, m, v, e, p)$. *AT*S дескриптори розраховуються для молекули, що містить атоми Гідрогену. *H*-матриця молекулярного впливу будується так. Нехай *M* – матриця геометричних відстаней, яка складається з *n* рядків, де кожний рядок призначений для одного з *n* атомів молекули, та 3 стовбців, що відповідають *x*-, *y*-, *z*- координатам атомів у молекулі. Атомні координати вважають розрахованими відносно геометричного центра молекули. *H*-матрицю молекулярного впливу одержують з *M*-матриці: $H = M \cdot (M^T \cdot M)^{-1} \cdot M^T$, де *M*^T – транспозиція матриці *M*, а $(M^T \cdot M)^{-1}$ – обернена величина $(M^T \cdot M)$. Елементами молекулярної матриці *M* є відцентровані декартові координати *x*, *y*, *z* усіх атомів молекули (включно атоми Гідрогену) у вибраній конформації. Атомні координати повинні бути визначені відносно геометричного центру молекули з метою досягнення їх трансляційної інваріантності. Діагональні елементи h_{ij} матриці молекулярного впливу, які називають важелями, змінюються в межах від 0 до 1 і кодують інформацію стосовно впливу кожного атома на визначення форми усієї молекули: атоми, розташовані далі від центру молекули, завжди мають вищі значення h_{ij} , ніж атоми, розташовані біля її центру. До того ж, значення максимального важеля у молекулі залежить від її розмірів та форми. Величини важелів також чутливі до значних конформаційних змін та довжин зв'язків між різними типами атомів і порядків зв'язків. Кожен недіагональний елемент h_{ij} позначає міру доступності *j*-го атома для взаємодії з атомом *i*, тобто тенденцію здатності двох певних атомів до взаємодії. Від'ємне значення недіагонального елемента вказує, що два атоми розташовані з протилежних сторін від центру молекули, тому ступінь їх взаємної доступності низький. Група автокореляційних GETAWAY дескрипторів базується на їх обчисленні за просторовими автокореляційними формулами: індекси із лагом *k* одержують шляхом сумування добутків певних властивостей всіх пар атомів *i* та *j*, топологічна відстань між якими дорівнює величині лагу *k*:

$$\text{HATS}_k(w) = \sum_{i=1}^{A-1} \sum_{j=i}^A (w_i \cdot h_{ii}) \cdot (w_j \cdot h_{jj}) \cdot \delta(k; d_{ij}), \quad k = 0, 1, 2, \dots, d,$$

де *A* – кількість атомів у молекулі (включно атоми Гідрогену); *d* – топологічний діаметр молекули; d_{ij} – топологічна відстань між атомами *i* та *j*;

w_i – фізико-хімічний внесок атома *i*; – функція Дірака.

Індекси HATS є молекулярними дескрипторами для встановлення кореляції структура-властивість, вони кодують інформацію про структурні фрагменти, а також про ефективні положення замісників і фрагментів у молекулярному просторі.

Аналіз одержаних рівнянь регресії, що містять 3D дескриптори, дозволив встановити, що протизапальна активність досліджуваних сполук зростає при збільшенні суми геометричних відстаней між атомами Оксигену та Хлору (дескриптор G(O..Cl) міститься в усіх моделях як позитивний доданок). Також для збільшення активності сполук їх молекули повинні мати вищу симетрію як вздовж осі третьої компоненти (G3u), так і загальну симетрію всіх атомів (Gu) і важких атомів (Gm). Від'ємний знак коефіцієнта регресії для дескриптора HATS8m вказує, що для зростання активності діагональні елементи *H*-матриці h_{ij} , які входять у формулу для обчислення даного дескриптора, повинні мати менші значення, тобто активність сполук зростатиме, коли важкі атоми будуть у молекулярному просторі ближче до центру молекули, причому перевага надається парам важких атомів, топологічна відстань між якими (лаг) дорівнює 8. Протизапальна активність сполук визначається також величинами 3D-MoRSE дескрипторів Mor21m і Mor29u, при цьому активність зростає при зменшенні величин Mor29u та при збільшенні величин Mor21m (зменшенні їх від'ємних значень). Отже, зростання активності відбувається, якщо розсіювання потоку електронів групою атомів буде відбуватися переважно за рахунок важких атомів.

Об'єднання 0D, 2D і 3D дескрипторів, використаних для побудови окремих QSAR-моделей для кожної з цих груп, дозволило одержати змішані моделі ($n = 27$, $p < 0,0001$) (табл. 9).

Прогнозуючу здатність моделей у даній роботі визначали з використанням процедури крос-валідації за методом leave-one-out (LOO) та leave group out (LGO) для зовнішнього прогнозування і характеризували величинами коефіцієнтів крос-валідації Q^2_{LOO} та Q^2_{LGO} (табл. 10, рис. 1).

За результатами проведеного фармакологічного скринінгу синтезованих похідних тіазоло[4,5-в]піридин-2-ону встановлено, що більшість з них проявляють помірну або високу протизапальну активність, що стало підставою для подальших досліджень механізмів їх дії на

Таблиця 9. Двопараметричні QSAR-моделі, одержані з використанням дескрипторів всіх груп: протизапальна, $\lg\% = a \cdot X_1 + b \cdot X_2 + c$

Модель	<i>a</i>	<i>X</i> ₁	<i>b</i>	<i>X</i> ₂	<i>c</i>	<i>R</i>	<i>s</i>	<i>F</i>	<i>Q</i> ² _{LOO}	<i>S</i> _{PRESS}	SDEP
1	0,0062	G(O.,Cl)	- 1,5220	HATS8m	1,7914	0,899	0,041	50,636	0,768	0,045	0,043
2	- 1,5087	HATS8m	0,0049	T(O..Cl)	1,7901	0,892	0,042	46,690	0,752	0,046	0,045

Таблиця 10. Обчислення коефіцієнта крос-валідації *Q*²_{LGO}

Модель 1			Модель 2		
Шифр сполуки	<i>lg</i> % прогнозована	<i>lg</i> % експериментальна	Шифр сполуки	<i>lg</i> % прогнозована	<i>lg</i> % експериментальна
35	1,920	1,826	3,42	1,891	1,826
25	1,689	1,653	3,38	1,663	1,653
22	1,528	1,556	3,30	1,529	1,556
16	1,549	1,519	3,23	1,550	1,519
15	1,531	1,591	3,21	1,532	1,591
13	1,572	1,462	3,13	1,573	1,462
7	1,638	1,681	3,8	1,638	1,681
3	1,630	1,623	3,4	1,630	1,623
2	1,642	1,732	3,59	1,642	1,732
<i>Q</i> ² _{LGO} = 0,62186			<i>Q</i> ² _{LGO} = 0,6800		

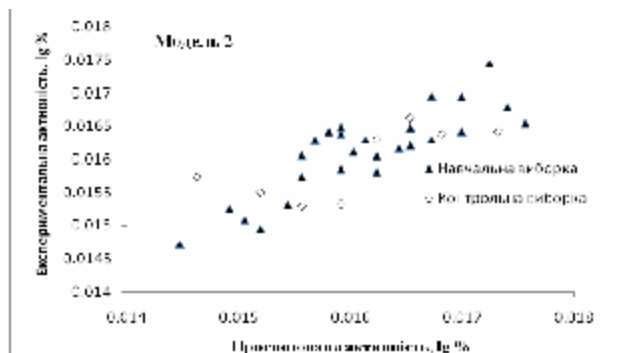
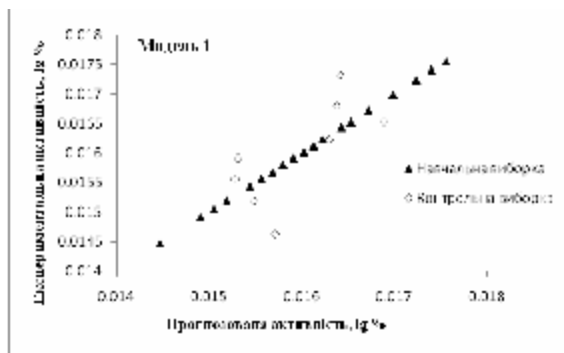


Рис. 1. Залежність величини прогнозованої активності від експериментально визначеної для моделей 1 і 2.

клітинному та субклітинному рівнях. З метою пошуку ефективних напрямків подальшого раціонального дизайну структур-лідерів серед похідних тіалоло[4,5-в]піридин-2-ону здійснено вивчення молекулярних механізмів дії речовин, що базувалось на проведенні гнучкого молекулярного докінгу, та визначено їх афінність до ЦОГ-2 як до рецептора. Для докінгових досліджень було використано кристалографічну структуру COX-2 у комплексі з селективним інгібітором SC-558 з Protein Data Bank (pdb code 6COX). Гнучкий молекулярний докінг було проведено з використанням програмного пакета Molegro Virtual Docker, Trial version [18], а для візуалізації результатів докінгу було використано програму Molegro Molecular Viewer. Скорингову функцію MolDock Score, яку використовують у програмі для обчислення афінитету низькомолекулярних сполук до макромолекул біомішеней, було розроблено на основі скорин-

гової функції PLP типу (Piecewise Linear Potential Scoring Function) [19].

Необхідно зазначити, що процедура проведення докінгових досліджень включала оптимізацію розташування атомів Гідрогену у молекулах досліджуваної сполуки та протеїну, встановлення гнучкості бічних фрагментів і груп поліпептидних ланцюгів молекули протеїну, пошук можливих активних центрів та місць зв'язування у структурі мішені. Крім того, при зв'язуванні молекули низькомолекулярної речовини з активним центром COX-2 враховували можливі конформаційні зміни у структурі речовини, з яких було обрано найсприятливіше конформаційне положення ліганда за результатами докінгових досліджень. Значення розрахованих скорингових функцій гнучкого молекулярного докінгу сполук, що проявляють високу протизапальну активність до COX-2, наведено в таблицях 11, 12.

Таблиця 11. Результати проведення гнучкого молекулярного докінгу тіазоло[4,5-в]піридин-2-ону до біологічної мішені ЦОГ-2 (кристалографічна модель 6COX)

Шифр сполуки	E-Inter (protein - ligand)	E-Total	HBond	Rerank Score	Steric	VdW (LJ12-6)	BindingAffinity
Вольтарен	-114,564	-106,042	-2.6239	-26.779	-108.042	74.687	-30.571
1	-105,504	-94,870	-3.444	-81.297	-102.06	-33.126	-27.858
6	-123,094	-116,69	-3.10431	-77.5908	-119.99	-2.886	-25.218
31	-177,176	-150,741	-3.79808	-118.291	-173.378	-35.762	-34.759
34	-209,637	-201,104	-3.37387	-156.085	-206.263	-50.324	-46.074
35	-199,882	-196,948	-1.47182	-146.403	-198.41	-40.245	-38.785
36	-198,264	-178,591	-3.27332	-145.872	-194.991	-55.694	-39.112

Таблиця 12. Значення величин, що містяться у файлі результатів докінгових досліджень

Обчислена величина	Значення
E-Inter (protein - ligand)	Скорингова функція взаємодії між певним конформаційним положенням ліганду та білковою мішенню
E-Total	Скорингова функція загальної енергії, визначається як сума внутрішньої енергії лігандів та енергії їх взаємодії з білковою мішенню
HBond	Енергія утворення водневих зв'язків між протеїном і лігандом
RerankScore	Повторно обчислена скорингова функція (виражена в умовних одиницях)
Steric	Енергія стеричних взаємодій між протеїном і лігандом
VdW (LJ12-6)	Енергія стеричних взаємодій у макромолекулі протеїну, обчислена у наближенні LJ12-6 VdW
BindingAffinity	Афінність даного ліганда до певної біологічної мішені, виражена у кДж/моль

Величину BindingAffinity обчислено з використанням математичної моделі для прогнозування афінності ліганду до протеїну, яка є складовою частиною програми Molegro Virtual Docker та була відкалібрована з вико-

ристанням структурних даних для більш ніж 200 комплексів (дані взято з PDB data bank). Візуалізацію результатів докінгу (програма Molegro Molecular Viewer) представлено на рисунку 2.

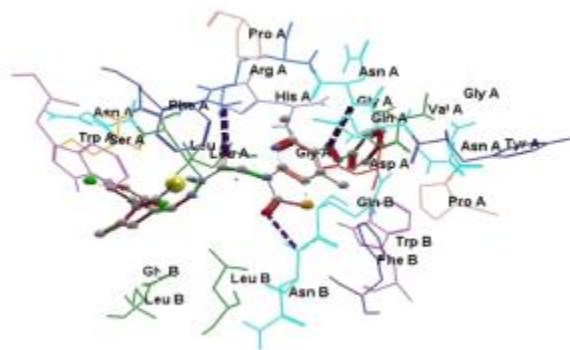
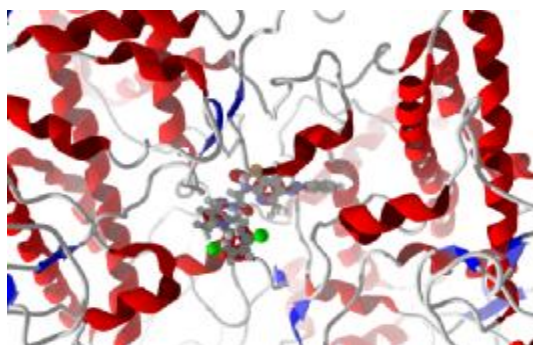


Рис. 2. Сполука **36** у ділянці зв'язування фрагмента білка COX-2 (кристалографічна модель 6COX): положення молекули у порожнині з радіусом 20 Å та утворення водневих зв'язків між атомами сполуки **36** та залишками відповідних амінокислот (показані пунктирними лініями).

Висновки. 1. Проведено QSAR-аналіз для 36 сполук – похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3H-тіазоло[4,5-в]піридин-2-ону як потенційних протизапальних засобів. За результатами аналізу залежності антиексудативної активності від величин молекулярних дескрипторів встановлено, що активність сполук найбільшою мірою визначається топологічною та геометричною будовою їх молекул (2D і 3D дескриптори).

2. Результати проведеного молекулярного докінгу вказують на можливість утворення стійких комплексів синтезованих похідних тіазоло[4,5-в]піридин-2-ону з циклооксигеназою-2 як за рахунок утворення водневих зв'язків між відповідними атомами та функціональними групами ліганда і мішені, так і за рахунок суттєвої електростатичної взаємодії між ними.

Література

1. Pharmacophore-based discovery of ligands for drug transporters / C. Chang, S. Ekins, P. Bahadduri [et al.] // Adv. Drug Delivery Reviews. – 2006. – Vol. 58. – P. 1431–1450.
2. S. Ekins In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond / S. Ekins, J. Mestres, D. Testa [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2007. – Vol. 152. – P. 21–37.
3. Комариця Й. Д. Синтез, властивості та антимікробна дія 6-арилазо-7-метил-5-окси-2,3-дигідротіазоло[4,5-*b*]піридин-2-онів / Й. Д. Комариця, І. Г. Чабан, В. М. Герман // Фармацевтичний журнал. – 1992. – № 4. – С. 39–43.
4. Al-Thebeiti Marzoog S. Synthesis of some new thiazolo[3,2-*a*]pyridines and related heterocyclic systems / Marzoog S. Al-Thebeiti // Il Farmaco. – 2000. – Vol. 55. – P. 109–118.
5. Ulrich H. Science of Synthesis / H. Ulrich // Georg Thieme Verlag: Stuttgart. – New York. – 2002. – Vol. 11. – P. 835–912.
6. El-Hiti G. A. A convenient one step procedure for the formation of 2-substituted thiazolopyridines / G. A. El-Hiti // Monatshefte fuer Chemie. – 2003. – Vol. 134. – P. 837–841.
7. Gu L. Synthesis and antitumor activity of 6-minophosphonates containing thiazole[5,4-*b*]pyridine moiety / L. Gu, C. Jin // Org. Biomol. Chem. – 2012. – Vol. 10. – P. 7098–7102.
8. Kulkarni S. S. Discovery of heterobicyclic templates for novel metabotropic glutamate receptor subtype 5 antagonists / S. S. Kulkarni, A. H. Newman // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2007. – Vol. 17. – P. 2987–2991.
9. Design, synthesis, and biological activity of novel factor Xa inhibitors: Improving metabolic stability by S1 and S4 ligand modification / S. Komoriya, S. Kobayashi, K. Osanai [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2006. – Vol. 14. – P. 1309–1330.
10. Novel and Potent Adenosine 3',5'-Cyclic Phosphate Phosphodiesterase III Inhibitors: Thiazolo[4,5-*b*][1,6]naphthyridin-2-ones / B. Singh, E. R. Bacon, G. Y. Leshar [et al.] // J. Med. Chem. – 1995. – Vol. 38. – P. 2546–2550.
11. Синтез та вивчення антиексудативної активності 6-аміно-5,7-диметил-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону та його 6-ариліденамінопохідних / Т. І. Чабан, В. В. Огурцов, І. Г. Чабан [та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 2 (18). – С. 10–13.
12. Синтез та вивчення антимікробної активності деяких тіазоло[4,5-*b*]піридинів / Т. І. Чабан, В. В. Огурцов, І. Г. Чабан [та ін.] // Журнал органічної та фармацевтичної хімії – 2012. – Т. 10, Вип. 2 (38). – С. 70–76.
13. HuperCube, Inc.: <http://www.hyper.com> HyperChem software. HuperCube, Inc. 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601 USA <http://www.hyper.com>
14. Tetko I. V. Virtual computational chemistry laboratory - design and description / I. V. Tetko, J. Gasteiger, R. Todeschini [et al.] // J. Comput. Aid. Mol. Des. – 2005. – 19. – P. 453–463.
15. VCCLAB, Virtual Computational Chemistry Laboratory, <http://www.vcclab.org>, 2005.
16. de Oliveira D. B. BuiltQSAR: A New Computer Program for QSAR Analysis / D. B. de Oliveira, A. C. Gaudio // Quantitative Structure – Activity Relationships. – 2000. – Vol. 19. – № 6. – P. 599–601.
17. Todeschini R. Molecular descriptors for chemoinformatics / R. Todeschini, V. Consonni. – Weinheim (Germany), WILEY-VCH, 2009. – 1257 p.
18. Molegro – a CLC bio company: <http://www.clcbio.com>. Finlandsgade 10-12 8200 Aarhus N Denmark.
19. Yang J-M. GEMDOCK: A Generic Evolutionary Method for Molecular Docking / J-M. Yang, C-C. Chen // Proteins. – 2004. – Vol. 55. – P. 288–304.

IN SILICO ПОДХОДЫ К РАЦИОНАЛЬНОМУ ДИЗАЙНУ ПРОИЗВОДНЫХ ТИАЗОЛОПИРИДИНА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

В. В. Огурцов, Т. И. Чабан, Е. В. Кленина, И. Г. Чабан, И. Д. Комарица

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Резюме: осуществлен корреляционный анализ зависимости антиэкссудативной активности 36 соединений, являющихся производными 5,7-диметил-6-фенилазо-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-она, от молекулярных дескрипторов разных типов. Результаты QSAR-анализа свидетельствуют о существенном влиянии топологического и геометрического трехмерного строения молекул на величины антиэкссудативной активности исследуемых соединений. В соответствии с результатами проведенного молекулярного докинга была подтверждена возможность образования стойких комплексов производных тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-она с COX-2 как за счет образования водородных связей между соответствующими атомами и функциональными группами лиганда и мишени, так и за счет значительного электростатического взаимодействия между ними.

Ключевые слова: 3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-он, QSAR-анализ, молекулярные дескрипторы, молекулярный докинг.

IN SILICO APPROACHES TOWARDS RATIONAL DESIGN OF THIAZOLOPYRIDINE DERIVATIVES AS PERSPECTIVE ANTIINFLAMMATORY AGENTS

V. V. Ohurtsov, T. I. Chaban, O. V. Klenina, I. H. Chaban, Y. D. Komarytsia

Lviv National Medical University by Danylo Halytskyi

Summary: the correlarian analysis between anti-exudative activity and molecular descriptors of different blocks was carried out for 36 compounds 5,7-dimethyl-6-phenylazo-3*H*-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-2-one derivatives. The regression models derived with QSAR-analysis display the significant influence of topological and spatial three-dimensional molecular structure on the anti-exudative effect of the compounds. According to the obtained results of flexible molecular docking the possibility of stable complexes formation between thiazolo[4,5-*b*]pyridine-2-ones molecules and COX-2 was confirmed on the account of both hydrogen binding and electrostatic interactions.

Key words: 3*H*-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-2-one, QSAR-analysis, molecular descriptors, flexible molecular docking.