

*Е. А. Булава, П. Ю. Зущик*

**СИНТЕЗ, СТЕРЕОХИМИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ  
АКТИВНОСТИ ОТ СТРОЕНИЯ ЗАМЕЩЕННЫХ  
ГИДРОКСИИЗОНИПЕКОТИНОВЫХ КИСЛОТ И ИХ АНАЛОГОВ**

*Научный руководитель канд. хим. наук, доц. Ф. Ф. Лахвич*

*Кафедра биоорганической химии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

***Резюме:** Синтезированы производные дигидроксиизонипекотиновой кислоты и ее аналогов. Проведен сравнительный анализ зависимости строение–противотуберкулезная активность на штаммах *Mycobacterium tuberculosis* и *in silico*. Установлена зависимость активности синтезированных веществ от природы функциональной группы и взаимного пространственного расположения заместителей.*

***Ключевые слова:** белок–фермент; докинг; зависимость строение–противобактериальная активность; *Mycobacterium tuberculosis*; производные изонипекотиновой кислоты.*

***Resume:** Dihydroxyisonipicotinic acid derivatives have been synthesized. The comparative analysis of structure–activity dependence has been carried out. It was found that antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* depends on nature of –oyl–functional group and the relative spatial orienta-*

tion of all the substituents.

**Keywords:** *protein–enzyme; docking; addiction structure–antimycobacterial activity; Mycobacterium tuberculosis; isonipecotinic acid derivatives.*

**Актуальность.** В настоящее время у ряда штаммов *Mycobacterium tuberculosis* выработалась резистентность к средствам традиционной терапии. Поэтому поиск новых противотуберкулёзных лекарственных средств среди представителей других классов соединений может повысить выживаемость и качество жизни некурабельных больных.

**Цель:** изучение зависимости “структура – противотуберкулёзная активность” производных изонипекотиновой кислоты.

**Задачи:**

1. Синтез различных замещённых производных изонипекотиновой кислоты.
2. Сравнительный анализ зависимости противотуберкулёзная активность–строения на штаммах микобактерий (*ex vivo*) и *in silico* (компьютерное моделирование).

**Материал и методы.** Целевые структуры были синтезированы исходя из 3–гидроксипиперидин–4–онов с использованием химически чистых реактивов. Структура полученных соединений доказана с помощью ЯМР и ИК–спектроскопии. Исследование на штаммах микобактерий проводилось совместно с *TAACF, Southern Research Institute*. Исследование *in silico* проводили с использованием компьютерной программы DockingServer.

**Результаты и их обсуждение.** Известно, что производные изонипекотиновой кислоты обладают различными видами биологической активности, в частности связанной с их взаимодействием с опиоидными [1,2] и ГАМК [3,4] рецепторами. Целью данной работы был анализ возможной противотуберкулёзной активности производных изонипекотиновой кислоты, которые могут включаться в метаболизм бактерий в качестве аналогов ГАМК.

Совместно с *TAACF, Southern Research Institute* было изучено влияние природы функциональных групп, структуры и пространственного строения синтезированных нами ранее гидроксизамещённых производных изонипекотиновой кислоты на процесс ингибирования роста культур *Mycobacterium tuberculosis* для синтезированных нами ранее β–гидрокси замещённых производных изонипекотиновой кислоты и ее аналогов.

Компьютерное моделирование взаимодействия синтезированных веществ с рецептором (докинг) с помощью программы DockingServer дало сопоставимые результаты с ингибированием роста культуры бактерий.

Для анализа *in silico* в программе DockingServer производных изонипекотиновой кислоты (лиганды) из банка данных 3–D структур белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank (PDB) были выбраны субстраты рецепторов [<http://tuberculist.epfl.ch/quicksearch.php?gene+name=kasa>]. Выбор конкретных белков–ферментов, катализирующих реакцию синтеза миколовых кислот, основан на

механизме действия одного из эффективных специфических лекарственных средств против туберкулёза изониазида. Известно, что изониазид ингибирует синтез миколовых кислот в клеточной стенке *Mycobacterium tuberculosis*. Для загрузки в программу докинга нами в компьютерных программах ISIS Draw, ChemDraw, Chem3D были смоделированы пространственные структуры синтезируемых веществ. После адаптации презентаций в программе DockingServer структур белков и лигандов (синтезированные вещества) был проведен докинг. Для анализа результатов докинга были выбраны свободная энергия связывания лиганда и рецептора и константа ингибирования. Очевидно, что величина свободной энергии связывания напрямую коррелирует с силой взаимодействия лиганда с белком. Константа ингибирования показывает минимальное количество лиганда необходимое для связывания.

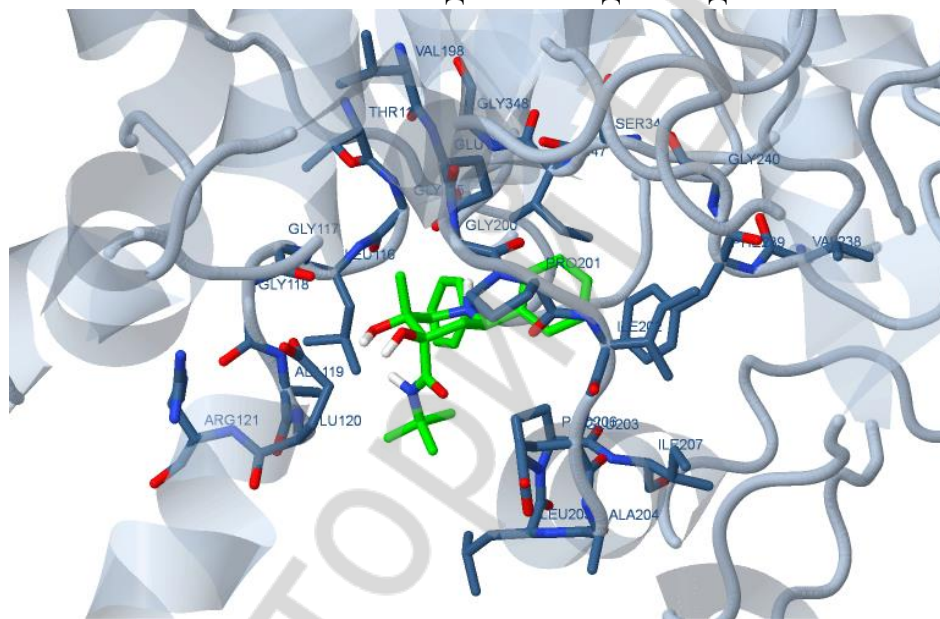


Рисунок 1. –Моделирование взаимодействия лиганда с рецептором – докинг.

**Таблица 1.** Зависимость структура–активность против *Mycobacterium tuberculosis*

№	Структура	Ex vivo	In silico	
		% ингибирования	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		65	-9.52 kcal/mol	105 nM
II		23	-8.14 kcal/mol	1.07 uM
III		18	-8.88 kcal/mol	307.63 nM
IV		13	-6.34 kcal/mol	22.50 uM
V		12	-8.68 kcal/mol	433.06 nM
VI		10	-6.58 kcal/mol	14.92 uM
VII		8	-7.45 kcal/mol	3.45 uM
VIII		8	-7.36 kcal/mol	4.06 uM
IX		5	-8.22 kcal/mol	949.25 nM
X		5	-7.59 kcal/mol	2.75 uM

Продолжение таблицы 1				
XI		0	-6.96 kcal/mol	7.90 uM

Анализ данных таблицы показывает корреляцию результатов исследования активности на штаммах бактерий и *in silico*. Наиболее выраженное действие характерно для производных I и II. Анализ структуры синтезированных веществ показывает, что ингибирование жизнедеятельности бактерий напрямую зависит не только от класса веществ, но и от относительной конфигурации заместителей. По-видимому, активность производных дигидроксипиперидинкарбоновых кислот связана с их включением в метаболизм бактерий в качестве аналогов ГАМК. Можно выделить два фактора, определяющих активность исследуемых веществ: легкость превращения до аминокислоты и степень конфигурационного отличия от ГАМК в ее физиологически активной конформации. Так, более активными являются производные с *трет.*-бутиламидной, затем сложноэфирными группами (сравни активность амида II и сложного эфира III с одинаковой конфигурацией стереогенных центров), затем следуют соединения с амидной и нитрильной группами (можно предположить, что условия конверсии амидов до кислот в организме бактерий близки к механизмам типа  $S_N1$  и *трет.*-бутиламидная группировка оказывается наиболее активной в реакции гидролиза). Среди всех проанализированных веществ выделяется амид I с *транс*-диаксиальным расположением гидроксильных групп, активность которого в 5 раз превышает активность его ацилированного производного IV и в 2,5 раза превышает активность эпимерного по  $C_3$  амида II. Очевидно, именно подобная конфигурация с *транс*-диаксиальным расположением гидроксильных групп обеспечивает наиболее выраженное ингибирующее действие на развитие бактерий в результате нарушения естественных процессов метаболизма. В то же время соединения с аксиальным расположением кислотообразующей группировки обладают минимальной активностью (отсутствие активности для амида XII).

Результаты проведенного первичного исследования говорят о том, что синтезированные нами производные изонипекотиновой кислоты могут представлять интерес в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения туберкулеза, и что варьирование конфигурации стереогенных центров и природы кислотообразующей группы могут привести к открытию новых веществ с препаративными значениями антибактериальной активности. Это является особенно актуальным с учетом резистентности патогенных организмов к существующим традиционным лекарственным средствам.

#### Выводы:

1 Активность  $\alpha,\beta$ -дигидрокси замещенных производных изонипекотиновой (пи-

перидин-4-карбоновой) кислоты зависит от природы и пространственного положения функциональных групп.

2 Более активными являются производные с трет.-бутиламидной группой в экваториальном положении и с *транс*-диаксиальным расположением гидроксильных групп.

3 Исследование *ex vitro* и *in silico* дают сопоставимые результаты и использование данных методов в совокупности может быть эффективным для дизайна и разработки методов синтеза новых перспективных лекарственных средств для лечения туберкулёза.

*E. A. Bulava, P. Y. Zushik*

**SYNTHESIS, STEREOCHEMISTRY AND STUDY THE DEPENDENCE OF  
ACTIVITY ON STRUCTURE SUBSTITUTED HYDROXYIZONIPEKOTINIC  
ACIDS AND ANALOGS**

*Tutor PhD, associate professor F. F. Lahvich*

*Department of Bioorganic Chemistry,  
Belarusian State Medical University, Minsk*

**Литература**

1. Dugas, H. Bioorganic Chemistry. A Chemical Approach to Enzyme Action/ H. Dugas// NY: Springer Verl. – 1989. – P. 96–109.
2. Synthesis of 4,4-Disubstituted Piperidine Analogs of ( $\pm$ )-*cis*-N-[1-(2-Hydroxy-2-Phenylethyl)-3-methyl-4-piperidyl]-N-phenylpropanamide. / Brine G. A., Stark P. A., Carroll F. L., Singh P. / J. Het. Chem. – 1994. – Vol. 31, N 3. – P. 513–520.
3. Копелевич, В.М. Успехи поиска лекарственных средств на основе  $\gamma$ -амино-масляной кислоты / В.М. Копелевич / Успехи химии. – 1979. – Т. 48 – № 7. – С. 1272–1296.
4. Hydroxy- and Amino-substituted Piperidinecarboxylic Acids as  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Agonist and Uptake Inhibitors. // Jacobsen P, Labouta I., Schaumburg K., Falch E, Krogsgaard-Larsen P // J. Med. Chem. – 1982. – Vol. 25, N 10. – P. 1157-1162.
5. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in *Mycobacterium tuberculosis* / Takayama K, Wang C, Besra GS. / Clin Microbiol Rev. – 2005. – №2. – P. 81-101.