

Рациональный дизайн модели ациклических аналогов гидроксиизонипекотиновых кислот

Лахвич Ф. Ф., Зущик П. Ю., Лахвич А. Ф.

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Проведен синтез и изучена зависимость биологической активности (*in vitro* и *in silico*) от строения производных гидроксиизонипекотиновых кислот. На основании сравнения результатов *in vitro* и *in silico* предложена модель молекулярного докинга для массового скри-

нинга новых противотуберкулезных средств ряда циклических и ациклических производных полигидроксизамещенных кислот. Установлены основные структурно-функциональные особенности соединений, ответственных за эффективность связывания лиганда с рецептором. Предложена модель фармакофора.

Ключевые слова: ациклические аналоги, докинг; зависимость строение-активность; производные изонипекотиновой кислоты, фармакофор.

Введение. В настоящее время около трети населения мира инфицирована в латентной форме возбудителем туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis*. Из них ежегодно около 1,5 млн человек приобретают патогенную форму, которая уносит около 1,5 млн жизней [1]. Это делает туберкулез лидером среди причин смертности в развивающихся странах. Основные факторы, определяющие смертность от туберкулеза в развивающихся странах — пандемия ВИЧ/СПИДа, бедность и недоступность эффективного лечения. Однако туберкулез представляет серьезную проблему и для развитых стран, что связано с появлением новых штаммов *Mycobacterium tuberculosis* [2], ростом числа микобактериозов, которые вызывается нетуберкулезными видами микобактерий [3].

Противотуберкулезные лекарственные средства (далее — ЛС) — вещества химиотерапевтического назначения, активные по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* и применяемые для лечения туберкулеза. Современная фармакотерапия туберкулеза предусматривает комплексное использование специфических антибактериальных лекарственных средств разных фармакологических групп [4, 5].

Ранее специфические противотуберкулезные ЛС делили на [4]:

а) ЛС I ряда (основные); б) ЛС II ряда (резервные).

К ЛС I ряда, являющимся основными химиотерапевтическими средствами для лечения различных форм туберкулеза, относили *Изониазид* и его производные, антибиотики (*Стрептомицин*).

ЛС II ряда (резервные) менее активны по действию на микобактерии туберкулеза, чем изониазид и стрептомицин; однако они действуют на микобактерии, ставшие устойчивыми к ЛС I ряда. К ЛС II ряда относили *Этионамид*, *Протионамид*, *Этамбутол*, *Циклосерин*, *Пиразинамид*, *Тиоацетазон*, *Канамицин*, *Флоримицин* [3].

В настоящее время противотуберкулезные ЛС разделяют на 3 ряда [5].

I ряд — жизненно важные ЛС (применяемые для лечения впервые выявленных больных): *Изониазид*, *Рифампицин*, *Пиразинамид*, *Этамбутол*, *Стрептомицин*

II ряд — резервные ЛС (используются у больных, у которых предшествующая химиотерапия была неэффективной в связи с устойчивостью микобактерий или при плохой переносимости ЛС I ряда): аминогликозиды (*Канамицин*, *Амикацин*); полипептиды: капреомицин, виомицин, энвиомицин; фторхинолоны (*Офлоксацин*, *Ципрофлоксацин*, *Левифлоксацин*, *Моксифлоксацин*); тиоамиды (*Тионамид*, *Протионамид*); *Циклосерин*; *Теризидон*. В большинстве случаев это более токсичные или более дорогие ЛС, которые требуют более длительного и затратного лечения.

III ряд — ЛС с недостаточно проверенной эффективностью или те, которые одобрены к использованию в ограниченном числе стран: *Рифабутин*; *Кларитромицин*; *Кинезолид*; *Тиоацетазон*; *Тиоридазин*; *Бедаквилин*.

С конца прошлого века наблюдается резкий рост заболеваний туберкулезом, резистентного как к традиционному лечению (ЛС первого ряда), так и к лечению резервными препаратами другого ряда. При туберкулезе с множественной лекарственной устойчивостью (*Multidrug-resistant tuberculosis* (MDR-TB)) *Mycobacterium tuberculosis* резистентна, по меньшей мере, к *Изониазиду* и *Рифампицину*, двум самым мощным противотуберкулезным препаратам первой линии. При лечении такой формы используют ЛС второй линии, что требует проведения экстенсивной химиотерапии (лечения длительно до двух лет) относительно дорогими и токсичными ЛС [6]. В ряде случаев развивается еще более резистентная форма заболевания — туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (*Extensively drug-resistant TB* (XDR-TB)). При данной форме пациенты не реагируют на лечение ЛС второй линии. В 2017 г., по данным ВОЗ [1], было выявлено около 500000 новых случаев MDR-TB, из них около 10 % составлял XDR-TB. В связи с резистентностью *Mycobacterium tuberculosis* к традиционным ЛС поиск новых противотуберкулезных ЛС среди представителей других классов соединений может повысить выживаемость и качество жизни пациентов больных туберкулезом [7].

В этом контексте особую актуальность приобретают исследования, направленные на разработку новых эффективных противотуберкулезных ЛС с отличными от доступных в настоящее время ЛС механизмами бактерицидного действия [8]. После 40-летнего перерыва *Бедаквилин* стал первым новым ЛС, одобренным для лечения туберкулеза в США в 2012 г. [9]. В том же году были одобрены клинические испытания нового ЛС SQ109, биологическая активность которого была показана в начале этого века [10].

В последнее время проводились интенсивные исследования по изучению механизма действия новых противотуберкулезных ЛС. Так, было показано, что микобактериальные мембранные белки MmpLs, которые играют решающую роль в транспорте липидов, полимеров и иммуномодуляторов, а также экструдируют ЛС, являются одними из наиболее важных терапевтических мишеней для указанных ЛС. Были изучены кристаллические структуры микобактериального MmpL3 отдельно и в комплексе с четырьмя кандидатами в ЛС против туберкулеза (SQ109 (в фазе 2b-3 клинических испытаний), AU1235, ICA38 и Римонабант) (рисунок 1). Эти структурные данные будут способствовать разработке ингибиторов MmpL3 в качестве новых противотуберкулезных препаратов [11].

Был синтезирован ряд структурных аналогов SQ109, которые были испытаны на противотуберкулезную активность, а также активность по отношению к другим бактериям, грибкам и паразитам. Было показано, что помимо ингибирования транспортера MmpL3, который участвует в биосинтезе клетки бактерий, SQ109 и его структурные аналоги могут действовать на целевые ферменты, которые участвуют в биосинтезе менахинона, нарушая тем самым электрон-транспортные цепи бактерий. Результатом такого многоцелевого (*Multitarget Drug*) действия является сильное ингибирование роста клеток *Mycobacterium tuberculosis*, а также очень низкие показатели спонтанной лекарственной устойчивости. Подобный механизм характерен для бактерий, рост клеток которых тормозится при использовании ЛС данного типа [7].

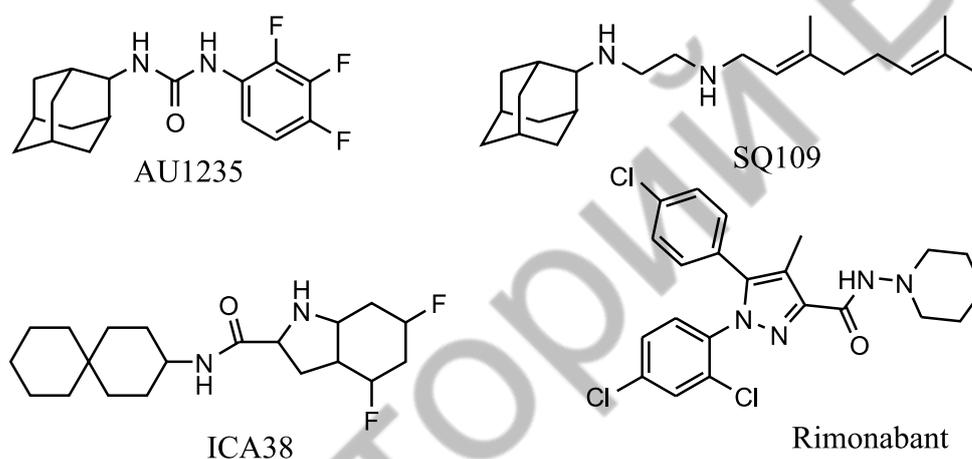


Рисунок 1 — Структура ингибиторов микобактериального MmpL3

Очевидно, что поиск новых противотуберкулезных ЛС среди представителей других классов соединений является актуальной и практически значимой задачей, решение которой повысит выживаемость и качество жизни пациентов больных туберкулезом.

Рациональное конструирование ЛС (*Rational Drug Design*) является перспективным направлением в поиске новых методов лечения больных туберкулезом. Схематично разработку нового ЛС можно разделить на несколько этапов. На первом этапе химик-фармацевт проводит молекулярный дизайн нового вещества. После получения вещества химиком-синтетиком фармакологи проводят изучение биологической активности. После интерпретации данных всей командой проводят расширение базы соединений (те же этапы, но намного больше работы и материальных затрат). И на завершающей стадии проводят доклинические и клинические испытания. Синтез и исследование биологической активности в клинике и на культурах клеток является сложным и дорогостоящим процессом. Для уменьшения временных, материальных и финансовых затрат параллельно с основными исследованиями целесообразно проводить моделирование с помощью компьютерных программ молекулярного докинга для скрининга большого массива «претендентов» для целевого синтеза и дальнейших биологических и клинических испытаний [12].

Широкое использование молекулярного докинга для скрининговых исследований потенциальных ЛС сталкивается с рядом проблем и, в первую очередь, с необходимостью выбора адекватной модели для изучения взаимодействия субстрат (протеин из базы данных) — лиганд (потенциальный лекарственный агент). Строго говоря, следует рассматривать взаимодействия с субстратом продуктов трансформации потенциального ЛС, а не нативного соединения. Однако при скрининговых исследованиях, которые включают вещества различных классов, зачастую невозможно предсказать все возможные биохимические превращения субстрата *in vitro*, и тем более *in vivo*. Вариантом выбора

является модель докинга, построенная на сравнительном анализе зависимости биологической активности ограниченного массива синтезированных веществ одного класса на реальных культурах клеток (*in vitro*) с результатами моделей *in silico*. При выявлении схожей зависимости биологической активности от строения соединений, можно предположить, что выбранная модель в исследованиях только *in silico* покажет для смоделированных «претендентов» адекватные результаты. Выбранные «претенденты» являются перспективными кандидатами для синтеза и дальнейшего изучения биологической активности *in vitro*.

Нами в данном исследовании были синтезированы производные гидроксизонипекотиновых кислот, которые были изучены на противотуберкулезную активность *in vitro*. Была выявлена зависимость структура-активность (SAR), которая включала анализ природы заместителей и относительную конфигурацию стереоцентров. Выбор модели докинга включал выбор активных рецепторов с учетом результатов установленной SAR *in vitro*. На основании выбранной модели был проведен дизайн и исследование биологической активности *in silico* синтетически легкодоступных ациклических аналогов биологически активных гидроксизонипекотиновых кислот. В качестве базисных исходных были выбраны производные моносахаридов, которые характеризовались набором функциональных групп и относительной конфигурацией стереоцентров веществ — лидеров циклического ряда. При этом предполагалось, что ациклические соединения могут образовывать при взаимодействии с рецептором биологически-активную квази-циклическую конформацию.

Материалы и методы. Дизайн структур выполнен с помощью химических программ *ChemOffice*. Выбор белков-рецепторов проведен из банка данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот *Protein Data Bank*. Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью программы *Docking server* с использованием полуэмпирического метода расчетов квантовой химии PM6, метода геометрической оптимизации MMFF94 и метода расчета заряда *Gasteiger* при значении pH 7.0 [13].

К атомам лиганда были добавлены частичные заряды Гастейгера. неполярные атомы водорода были объединены, и были определены вращающиеся связи. Моделирование стыковки проводилось с использованием генетического алгоритма Ламарка (LGA) и метода локального поиска *Solis & Wets*. Исходное положение, ориентация и кручение молекул лиганда были установлены случайным образом. Все вращающиеся торсионы были выпущены во время стыковки. Каждый эксперимент по стыковке был получен из 100 различных прогонов, которые должны были завершиться расчетом энергии связывания для максимум 2500000 поз лиганда в рецепторе [13, 14]

Исходные вещества: реактивы и растворители, используемые в работе, имели квалификацию «ч», «ч.д.а.», «х.ч.» и перед введением в реакцию подвергались перегонке или кристаллизации. Исходные пиперидин-4-оны и пергидрохинолин-4-оны были получены взаимодействием соответствующих циннамоилоксиранов с бензальдегидами в присутствии щелочи в спиртах или водном диоксане.

ИК спектры в таблетках КВг или растворов в CCl_4 или CHCl_3 (концентрация $c = 5 \cdot 10^{-1}$ моль/л, длина поглощающего слоя $l = 2$ мм), а также разбавленных растворов в CCl_4 (концентрация $c = 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, длина поглощающего слоя $l = 10$ мм) записаны на спектрофотометрах *Specord IR-75*.

Спектры ЯМР ^1H растворов в CDCl_3 , CD_3OD , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, DMCO-d_6 ($5 \cdot 10^{-2} - 10^{-1}$ моль/л) и ^{13}C в CD_3OD и DMCO-d_6 ($4 \cdot 10^{-1} - 1$ моль/л) получены на спектрометрах *Bruker AC-500* с рабочей частотой для ядер ^1H 500 МГц, а для ядер ^{13}C 200 МГц соответственно.

Контроль процесса, чистота и индивидуальность полученных соединений контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах *Silufol*, Плазмахром RP 3, *Kieselgel 60 F₂₅₄*, а также с помощью масс, ИК и ЯМР спектроскопии. Масс-спектры регистрировались на хромато-масс-спектрометре QP- 5000 (энергия электронов 70 эВ). Данные элементного анализа на С,Н,N соответствуют расчетным.

Синтез ацетоксикарбоксамидов IVD-Н.

Метод А. Растворили при комнатной температуре 6,8 ммоль соответствующего пиперидона в 12 мл дихлорметана, затем добавили 1,5 мл (13,3 ммоль) трет-бутилизонитрила и 1,5 мл (26,2 ммоль) ледяной уксусной кислоты. Через 3 ч растворитель и реагенты отогнали при пониженном давлении, а к остатку добавили диэтиловый эфир. выпадающий кристаллический остаток представляет α -ацетоксикарбоксамид D или E, которые при кипячении в толуоле в течение 15 мин количественно переходят в соответствующие β -ацетоксикарбоксамиды.

Метод В аналогичен методу А, однако после удаления реагентов и растворителя остаток растворяют при нагревании в 10 мл толуола. Кристаллизация из толуола при -15°C дает β -ацетоксикарбоксамиды (67 %). При кристаллизации остатка из смеси гексана и эфира получили 0,7 г амида G или H (24 %).

Количественное соотношение продуктов реакции, вычисленное при сравнении интенсивностей сигналов метильной группы эимерных амидов в спектре ЯМР ^1H реакционной смеси составляет 75/25 соответственно.

При взаимодействии пиперидона *C* с трет-бутилизонитрилом в условиях методик А и В образуется только ацетоксамид *F* без видимых следов второго эимера.

Синтез (*N*-трет-бутил)дигидроксикарбоксамидов I, II, VI.

1,1 ммоль соответствующего амида растворили при нагревании в смеси 20 мл диоксана и 8 мл воды, содержащей 0,3 г NaOH, и кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч. По окончании реакции смесь разбавили 30 мл воды и выпавшие кристаллы отделили на фильтре. Кристаллизация из этилацетата дала хроматографически и спектрально чистый продукт.

Синтез эфиров дигидроксипиперидинкарбоновых кислот III, V.

2,5 ммоль соответствующего амида растворили в 25 мл концентрированной соляной кислоты и кипятили с обратным холодильником до исчезновения в смеси исходного амида. Реакционную смесь упарили при пониженном давлении и полученный в остатке гидрохлорид растворили в 20 мл сухого метилового спирта, насыщенного хлороводородом. По окончании реакции растворитель отогнали досуха при пониженном давлении, а гидрохлорид растворили в воде и подщелочили раствором гидрокарбоната натрия. Свободное основание экстрагировали этилацетатом и после отгонки растворителя кристаллизовали из смеси этилацетата и гексана.

Результаты и их обсуждение. Синтез производных гидроксиизоникотиновых кислот. Синтез данных соединений представляет особый интерес, так как в них присутствуют все четыре возможные относительные конфигурации у C_3 , C_4 .

Трехкомпонентная реакция присоединения изонитрилов по двойной связи кетон, известная как реакция Пассерини, является эффективным методом синтеза производных α -гидрокси-карбоновых кислот, хотя до наших исследований не была изучена стереохимия присоединения изонитрилов по карбонильной группе циклических кетон. Нами были синтезированы производные I–VI при взаимодействии трет-бутилизонитрила с исходными гидроксипиперидонами в условиях реакции Пассерини, а также при дальнейшем гидролизе и алкоголизе полученных ацетокси-производных.

Нами изучены стереохимия и реакции продуктов присоединения трет-бутил-изонитрила к 3-гидроксипиперидин-4-онам А, В, С с целью синтеза производных гидроксиизоникотиновой кислоты. Показано, что реакция присоединения трет-бутилизонитрила к пиперидонам А, В, С протекает стереоселективно с образованием диастереомерных ацилированных амидов D–H (рисунок 2).

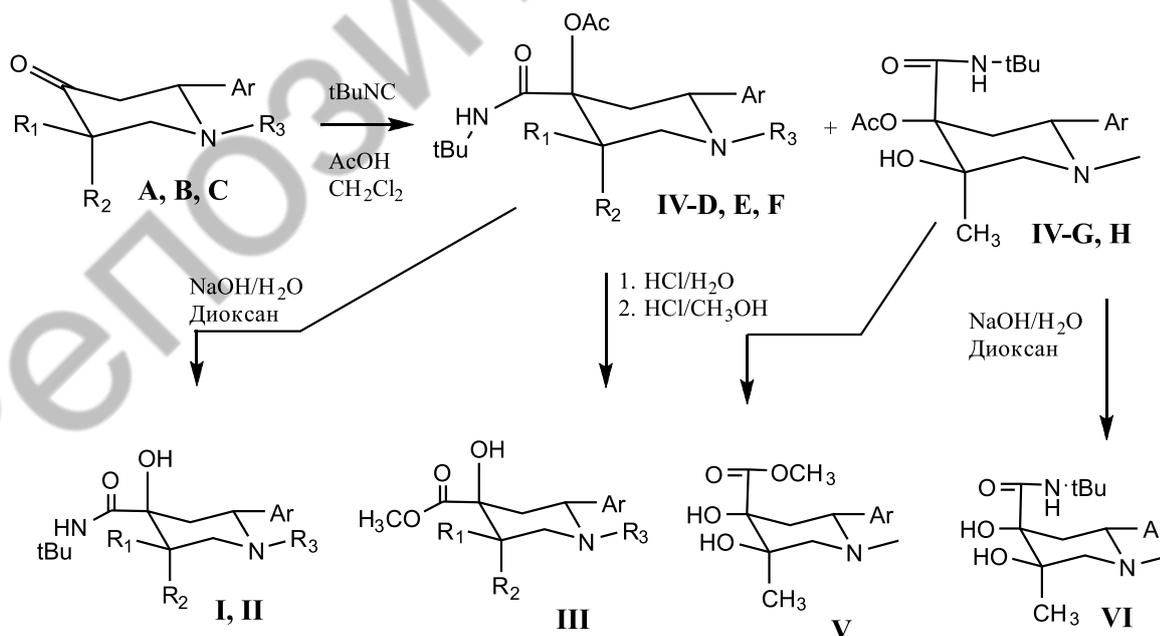


Рисунок 2 — Схема синтеза производных α -гидроксикарбоновых кислот: $\text{R}_1 = \text{OH}$, R_2 , $\text{R}_3 = \text{CH}_3$: А, D, G, VI; $\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_3$, $\text{R}_3 = \text{Bn}$: В, E, H, V, III, II; $\text{R}_1 = \text{CH}_3$, $\text{R}_2 = \text{OH}$, $\text{R}_3 = \text{Bn}$: С, F, I, V

Так, при взаимодействии пиперидинов **A**, **B** с изонитрилом и уксусной кислотой в дихлорметане образуется смесь амидов **D**, **G** и **E**, **H** соответственно с преобладанием продукта экваториальной атаки реагентом карбонильной группы (75/25) с общим выходом 90 %. В случае пиперидинона **C** удалось выделить только продукт с экваториальной ориентацией амидной группы **F** с выходом 92 %. Следует отметить, что при кипячении в толуоле амидов **D**, **E** с *cis*-расположением ацетокси- и гидроксильной групп происходит миграция ацильного остатка на вицинальную ОН с образованием изомерных амидов. При гидролизе ацетатов щелочным воднодиоксидным раствором образуются диастереомерные дигидроксиамиды **I**, **II**, **VI** с выходом 92–95 %. При гидролизе ацилированных амидов **E**, **F**, **H** в концентрированной соляной кислоте с последующей этерификацией метиловым спиртом образуются соответствующие сложный эфир **III**, **V** с общим выходом 86–93 %.

Идентификация полученных в индивидуальном состоянии соединений **I–V**, **D–H** проведена на основании данных ИК, ЯМР ^{13}C и ^1H спектроскопии. Так, в спектрах ЯМР ^1H указанных соединений сигналы протонов у C_5 и C_6 наблюдаются в виде трех квадруплетов, а у C_2 в виде двух дублетов или неразрешенной АВ системы с константами, указывающими на кресловидную конформацию пиперидинового цикла. Интересно отметить, что согласно спектрам ЯМР ^1H при переходе от дейтерометанола к дейтерохлороформу меняется конформация пиперидинового цикла гидроксиамида **VI** (рисунок 3).

Так, CDCl_3 сигнал метильной группы сдвигается в область более сильного поля, что характерно для пиперидинов с аксиально ориентированной 3-ОН группой, а КССВ атома водорода у C_6 и вицинальных атомов водорода у C_5 свидетельствуют о их *gauche*-расположении, что возможно в конформации ванны (или твист).

Стабилизация конформера **B** может быть объяснена выводом объемной N-трет-бутиламидной группировки из заслонения при переходе в экваториальное положение, а также возможностью образования прочной ВВС между протоном аксиальной ОН и электронной парой атома азота цикла. По-видимому, эти два фактора компенсируют повышение конформационной энергии при переходе цикла в менее стабильную конформацию. Можно предположить, что в дейтерометаноле электронная пара атома азота блокирована за счет межмолекулярного взаимодействия с протонами гидроксильных групп растворителя и фактор стабилизации конформера **B** за счет образования прочной ВВС между ОН и электронной парой пиперидинового цикла становится несущественным.

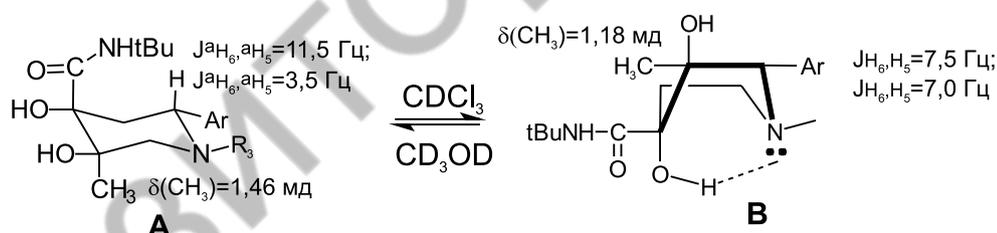


Рисунок 3 –Изменение конформации пиперидинового цикла

ИК спектры разбавленных растворов амидов и эфиров характеризуются наличием полос колебаний амидной, ацетильной и сложноэфирной карбонильных групп при 1660–1690, 1720–1740 и 1730–1740 cm^{-1} соответственно. Спектральные характеристики сложных эфиров идентичны продуктам, полученным при гидролизе и этерификации соответствующих дигидроксиизонитрилов из предыдущих исследований.

Изучение зависимости активности от строения замещенных гидроксиизонипекотиновых кислот и их аналогов. Для выбора модели драг-дизайна было проведено сравнение противотуберкулезной активности *in silico* синтезированных веществ, проверенных ранее на биологическую активность на штаммах бактерий *in vitro* в TAACF, Southern Research Institute. Для анализа *in silico* в программе *Docking Server* производных изонипекотиновой кислоты (лиганды) из банка данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот *Protein Data Bank* (PDB) были выбраны субстраты рецепторов. Выбор конкретных белков-ферментов, катализирующих реакцию синтеза миколовых кислот, основан на механизме действия одного из эффективных специфических лекарственных средств против туберкулеза изониазида. Известно, что изониазид ингибирует синтез миколовых кислот в клеточной стенке *Mycobacterium tuberculosis*. Для анализа результатов докинга были выбраны свободная энергия связывания лиганда и рецептора и константа ингибирования.

Анализ данных таблицы показывает корреляцию результатов исследования активности на штаммах бактерий и *in silico* (таблица 1). 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.

Так, более активными являются производные с трет-бутиламидной, затем сложноэфирными группами (что видно из сравнения активности 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).

Таблица 1 — Зависимость структура-активность против *Mycobacterium tuberculosis*

№	Структура	<i>in vitro</i>	<i>in silico</i>	
		% ингибирования	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		65	-10,43 ккал/моль	22,46 nM
II		23	-8,14 ккал/моль	1,07 uM
III		18	-8,88 ккал/моль	307,63 nM
IV		13	-6,34 ккал/моль	22,50 uM
V		12	-8,68 ккал/моль	433,06 nM
VI		0	-6,96 ккал/моль	7,90 uM

Среди всех проанализированных веществ выделяется лиганд 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 C₃ лиганда 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 VI).

Молекулярный дизайн полигидрокси *N*-трет-бутилкарбоксамидов на основе углеводов. Исходя из полученных результатов, мы предприняли попытку провести молекулярный дизайн веществ более простой структуры, которые будут обеспечивать подобное производным изонипекотиновых кислот связывание с рецептором. При выборе структур были учтены следующие особенности строения самого активного лиганда.

1. Возможность образования креслоподобной конформации (при этом лиганд не обязательно должен быть циклическим)
2. Наличие вицинальных ОН-групп, при этом их взаимное расположение соответствует треоконфигурации (для цикла аналогично транс-диаксиальному).
3. Наличие объемной и крайне гидрофобной трет-бутиламидной группы в геминальном положении (через две связи) к одной из гидроксильных групп.
4. Возможность беспроблемного синтеза указанных соединений из доступных природных веществ с указанным относительным расположением гидроксильных групп.

В качестве потенциальных природных веществ, которые содержат различные конфигурации гидроксильных групп и легко могут быть трансформированы в целевые структуры, были выбраны моносахариды: пентозы и гексозы, и в частности, ликсоза, рибоза, арабиноза, галактоза и их дезокси-аналоги.

Принципиальная схема конверсии углевода в производное для базы веществ молекулярного дизайна представлен на рисунке 3.

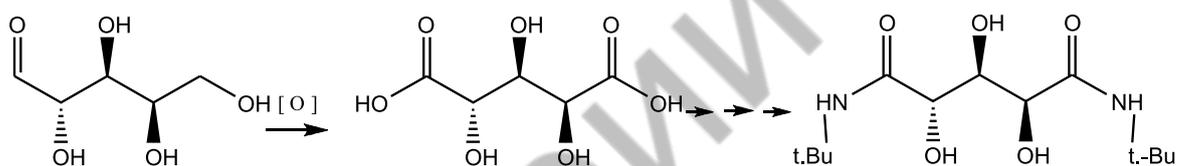


Рисунок 3 — Схема трансформации углевода в целевую структуру

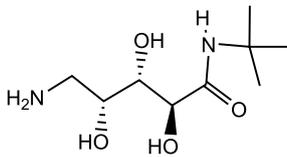
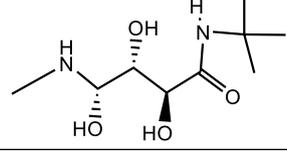
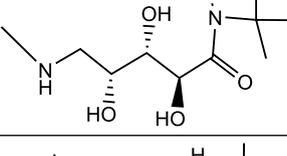
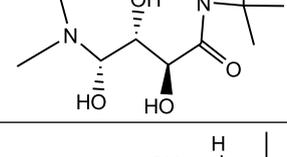
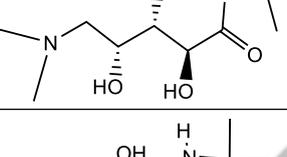
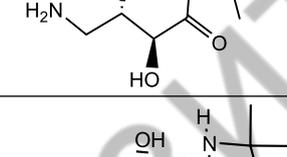
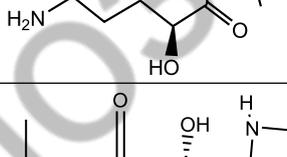
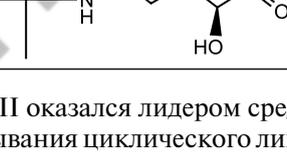
На схеме хорошо видно, что терминальная гидроксильная группа при C_5 или C_6 может быть легко окислена до соответствующей уроновой кислоты. Альдегидная группа (при C_1) также может быть окислена до кислотной или трансформирована до аминогруппы через имин ($C = NHR$). *D*-галактоза, *D*-ликсоза, *D*-рибоза и *D*-арабиноза являются доступными исходными веществами, содержат все возможные варианты относительной конфигурации гидроксильных групп и с учетом легкости трансформации до целевых структур являются хорошими потенциальными субстратами для синтеза веществ базы молекулярного дизайна.

Корреляция местоположений функциональных групп циклического лиганда I и его фармакологической активности позволили предложить фармакофор: Трет-бутиламидная группа — углеродная цепь с гидроксигруппами у стереогенных центров определенной конфигурации. На основе фармакофора были предложены структуры ациклических лигандов для молекулярный докинга. Результаты исследования взаимодействия лигандов с рецептором представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Зависимость структура-активность веществ *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		-10,43 ккал/моль	22,46 nM
АII		-5,46 ккал/моль	98,71 uM

Окончание табл. 2

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
AIII		-6,96 ккал/моль	7,86 μ M
AIV		-5,59 ккал/моль	79,34 μ M
AV		-6,07 ккал/моль	35,76 μ M
AVI		-6,21 ккал/моль	27,88 μ M
AVII		-7,55 ккал/моль	2,92 μ M
AVIII		-6,22 ккал/моль	27,40 μ M
AIX		-5,24 ккал/моль	143,78 μ M
AX		-5,16 ккал/моль	164,37 μ M

Лиганд AVII оказался лидером среди ациклических аналогов. Нами было проведено сравнение структуры связывания циклического лиганда I и ациклического лиганда AVII аминокислотами белка-рецептора (таблицы 3 и 4).

У обоих лигандов образуются водородные связи между карбоксильной группой GLU199 белка-рецептора и атомом азота третичной аминогруппы каждого лиганда со свободной энергией связывания -0,8474 и -0,6109 ккал/моль для лигандов I и AVII соответственно. Водородные связи с ALA119 лиганда I и GLY200 лиганда AVII образуются посредством NH аминокислоты и аналогичных по расположению гидроксильных групп лигандов и их свободная энергия составляет -0,4037 и -0,4638 ккал/моль соответственно (рисунок 4). Полярные взаимодействия лигандов осуществляются с GLU120 и проходят по обеим гидроксильным группам лиганда I и лиганда AVII и составляют -1,0659 и -1,1216 ккал/моль соответственно.

Таблица 3 — Связи лиганда I с аминокислотами белка-рецептора

Водородные	Полярные	Гидрофобные
GLU199 (-0,8474)	GLU120 (-1,0659)	PRO206 (-1,6846)
ALA119 (-0,4037)		PRO201 (-0,9636)
		LEU116 (-0,9235)
		PHE239 (-0,8592)
		ILE347 (-0,5076)
		PHE210 (-0,4891)
		VAL83 (-0,088)

Таблица 4 — Связи лиганда AVII с аминокислотами белка-рецептора

Водородные	Полярные	Гидрофобные
GLU199 (-0,6109)	GLU120 (-1,1216)	PRO201 (-0,6739)
GLY200 (-0,4638)		PRO206 (-0,497)
		ALA119 (-0,4946)
		ILE347 (-0,3652)
		GLU203 (-0,5827)
		VAL83 (-0,2864)

Схожие гидрофобные взаимодействия с PRO201 и PRO206 осуществляются с трет-бутиламидной группировкой. Также встречаются подобные гидрофобные взаимодействия лигандов с ILE347 и VAL83. У лиганда AVII имеется взаимодействие с ALA119, с которым также имеются водородные связи лиганда I.

Для циклического и ациклического лигандов коррелируют 7 типов взаимодействия: GLU199, GLU120, ALA119, PRO201, PRO206, ILE347, VAL83.

Схожесть взаимодействий позволила выявить структурную модель: трет-бутиламидная группа — углеродная цепь с гидроксильными группами — третичная аминогруппа. Вицинальные гидроксильные группы формируют эритро-конфигурацию, что позволяет синтезировать вещества подобной структуры из сахаров с арабино- (глюко-; альтро; идо-) конфигурациями для альдегидной «головы» углевода и лико- (галакто-; гуло-; тало-) конфигурациями для первичногидроксильного «хвоста» углевода.

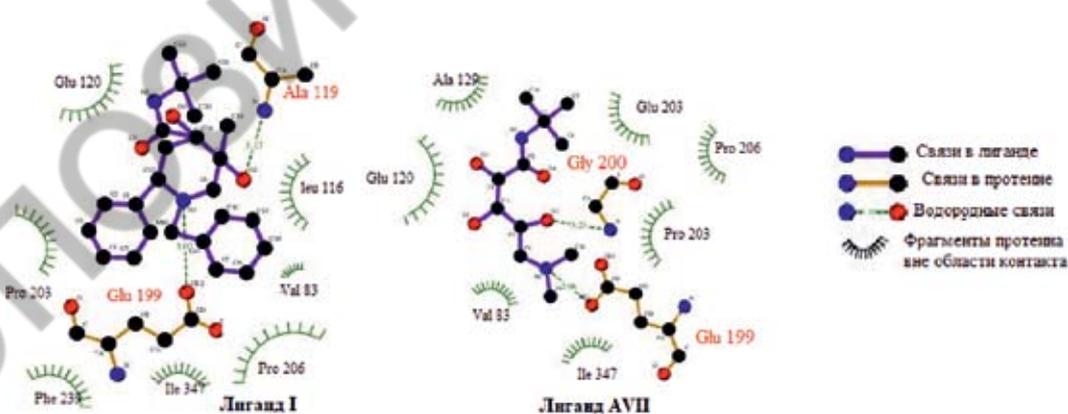


Рисунок 4 — Водородные связи лигандов Ia и AVII с аминокислотами белка-рецептора

Заключение. В результате исследования были синтезированы производные изоникотиновой кислоты. На основании сравнительного анализа зависимости биологической активности от строения *in vitro* и *in silico* предложена модель для молекулярного дизайна и докинга легкодоступных ациклических аналогов на основе моносахаридов. Особенности этой модели являются трет-бутиламидная группа; третичная аминогруппа; трехуглеродная цепь между трет-бутиламидной группой и третичной аминогруппой; концевые вицинальные гидроксильные группы с эритро-конфигурацией.

Літаратура

1. World Health Organization. Tuberculosis fact sheet, 2018. — Mode of access : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>. — Date of access : 18.09.2018.
2. Keshavjee, S. Moving Toward Tuberculosis Elimination: Critical Issues for Research in Diagnostics and Therapeutics for Tuberculosis Infection. / S. Keshavjee [et al.] // *Am.J.Resp.Crit.Care.Med.* — 2019. — Vol. 199, № 5. — P. 564–571.
3. Wu, M. L. NTM drug discovery: status, gaps and the way forward / M. L. Wu, D. B. Aziz, V. Dartois, T. Dick // *Drug Discovery Today.* — 2018. — Vol. 23, № 8. — P. 1502–1519.
4. Машковский, М. Д. Лекарственные средства. — М. : Новая Волна, 2010. — С. 855.
5. World Health Organization. Guidelines on the management of latent tuberculosis infection. — WHO/HTM/TB/2015.01. — Geneva: World Health Organization, 2015.
6. Leimane V., Riekstina V., Holtz T., et al. Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study / V. Leimane [et al.] // *Lancet.* — 2005. — Vol. 365(9456). — P. 318–326.
7. Li, K. Multitarget Drug Discovery for Tuberculosis and Other Infectious Diseases. / K. Li [et al.] // *J. Med. Chem.* 2014. — Vol. 57. — P. 3126–3139.
8. Lienhard, C. New Drugs for the Treatment of Tuberculosis: Needs, Challenges, Promise, and Prospects for the Future. / C. Lienhardt [et al.] // *JID* 2012.— Vol. 205, Suppl 2. — P. 241–249.
9. Worley, M. Bedaquiline: a novel antitubercular agent for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. / M. Worley, S. J. Estrada // *Pharmacotherapy.* — 2014. — Vol. 34, N 11. — P. 1187–1197.
10. Lee, Jia. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of SQ109, a new diamine-based antitubercular drug. / Lee Jia [et al.]. — *British Journal of Pharmacology.* — 2005. — Vol. 144. — P. 80–87.
11. Chang, B. Crystal Structures of Membrane Transporter MmpL3, an Anti-TB Drug Target. / B. Chang [et al.] // *Cell.* — 2019. — Vol. 176, № 3. — P. 636–648.
12. Kitchen, D. B. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications / D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, J. Bajorath // *Nature Reviews. Drug Discovery.* — 2004. — Vol. 3, № 11. — P. 935–949.
13. Docking Server / DockingServer, 2006. — Mode of access : <https://www.dockingserver.com/web>. — Date of access : 18.09.2018.
14. Bikadi, Z., Hazai, E. Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock J. Cheminf. — 2009. — Vol. 1, N 15.

Rational design of the model of acyclic analogues of hydroxyisonipecotic acids

Lakhvich T. T., Zushchuk P.U., Lakhvich A. T.

Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus

Synthesis of hydroxy isonipecotic acid derivatives and correlation between their structure and biological activity (both in in vitro and in silico) has been studied. Based on comparative analysis of results obtained the model for screening of cyclic and acyclic polyhydroxy substituted acid derivatives as potential TB pharmaceutical drugs has been proposed. The main structural and functional features of the compounds responsible for the efficiency of ligand-receptor binding have been established. A pharmacophore model has been proposed.

Keywords: acyclic analogues, derivatives of isonipecotic acid, docking; pharmacophore, structure-activity relationship.

Поступила 25.10.2019