

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ ГИДРАЗОНОВ 3,4-ДИГИДРОПИРИМИДИН-2-ОНОВ

Матвейков В.А., Гордунов Г.А., Минеева И.В.

Матвейков В.А.

Студент 2 курса специальности 7-07-0531-01 Фундаментальная химия
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
vasilymatveikov@yandex.ru

Гордунов Г.А.

Магистрант 1 курса специальности 7-06-0531-01 Химия
УО «Белорусский государственный университет», стажер м.н.с.
Сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
grigory.gordunov@yandex.by

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии химического факультета УО «Белорусский государственный университет»,
Заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье при помощи модуля PassOnline был осуществлен комплексный прогноз *in silico* цитотоксической активности гидразонов 3,4-дигидропириимидин-2-онов на большом количестве линий раковых клеток, а также на основе 3D структур полученных соединений на сервисе PerMM была проведена теоретическая оценка их проницаемости через липидные мембраны посредством пассивной диффузии. В ходе исследования *in vitro* авторами было установлено, что данные соединения не проявляют антибактериальной активности в отношении *E. coli*.

Ключевые слова: гидразоны 3,4-дигидропириимидин-2-онов; мультикомпонентная реакция; расчеты *in silico*

IN SILICO STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW HYDRAZONES OF 3,4-DIHYDROPYRIMIDIN-2-ONES

Matveykov V.A.

2nd-year Student, Specialty 7-07-0531-01 Fundamental Chemistry
Educational Institution "Belarusian State University",
Minsk, Belarus
vasilymatveikov@yandex.ru;

Gordunov G.A.

1st-year Master's Student, Specialty 7-06-0531-01 Chemistry
Educational Institution "Belarusian State University",
Trainee Junior Researcher,
Sector of Fine Organic Synthesis, Research Institute for Physical Chemical Problems
of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
grigory.gordunov@yandex.by;

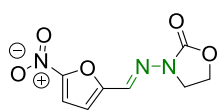
Mineyeva I.V.

Doctor of Chemical Sciences, Professor,
Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry,
Educational Institution "Belarusian State University",
Head of the Sector of Fine Organic Synthesis,
Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru;

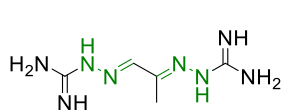
In this article, a comprehensive *in silico* prediction of the cytotoxic activity of hydrazones derived from 3,4-dihydropyrimidin-2-ones was performed using the *PasOnline* module across a large panel of cancer cell lines. Additionally, based on the 3D structures of the obtained compounds, a theoretical assessment of their permeability through lipid membranes via passive diffusion was carried out using the *PerMM* web service. In the course of *in vitro* studies, the authors established that these compounds do not exhibit antibacterial activity against *E. coli*.

Key words: 3,4-dihydropyrimidin-2-one hydrazones; multicomponent reaction; *in silico* calculations.

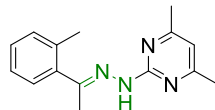
Несмотря на то, что известно довольно много соединений, включающих гидразоновый фрагмент, их биологическая активность описана слабо. Ряд гидразонов прошел клинические испытания и применяется в медицинской практике (рис. 1.).



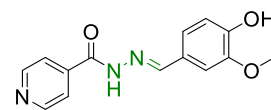
фуразолидон
(кишечный антисептик)



митогуазон
(противораковый препарат)



феримзон
(противогрибковая активность)



фтивазид
(противотуберкулезное средство)

Рис. 1. Описанные лекарственные препараты на основе гидразонового фрагмента с установленной биологической активностью

Наиболее известные препараты, такие как фуразолидон, митогуазон и феримзон (рис 1.), находят применение в качестве противомикробных, противораковых и противогрибковых средств [9]. Кроме того, гидразоны изоникотиновой кислоты (например, фтивазид) используются в терапии туберкулеза.

Подобные соединения характеризуются широким спектром биологической активности [1-10], из которого преимущественно можно выделить антибактериальную, противогрибковую и противотуберкулезную. Так, бензилиденное производное гидразона 3,4-дигидропиримидин-2-она **1** показало себя в качестве перспективного безопасного средства контроля вирусной инфекции растений против заражения вирусом табачной мозаики [6]. Ранее нами уже была описана общая биологическая активность предварительно синтезированных структурно схожих аналогов **2а-д**, **3а-в** и **4а-в**. Исследование дало начало дальнейшей работе по изучению свойств новых производных оснований Шиффа.

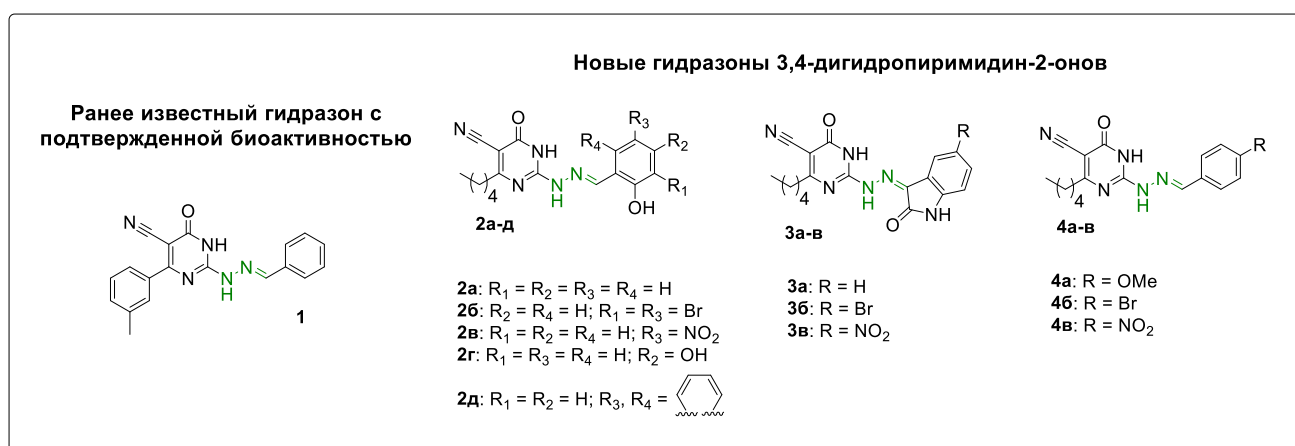


Рис. 2. Описанные лекарственные препараты на основе гидразонового фрагмента с установленной биологической активностью

Потенциальная биологическая активность полученных нами гидразонов 3,4-дигидропиримидин-2-онов **2а-д**, **3а-в**, **4а-в** была оценена методами *in silico* в программах PassOnline (прогнозирование линий раковых клеток) (таблица 1) PerMM (энергии связывания и коэффициенты проницаемости через мембраны) (таблица 2) и ALOGPS 2.1 (липо- и гидрофильность соединений) (таблица 3). Результаты расчетов приведены ниже.

Таблица 1

Результаты прогноза *in silico* цитотоксической активности

Вещество	R _a ¹	R ₁ ²	Клеточная линия	Полное название клеточной линии	Ткань	Тип опухоли
----------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------	---------------------------------	-------	-------------

2а	0.41 5	0.03 2	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.39 9	0.02 9	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2б	0.46 3	0.06 2	MCF7	Карцинома молочной железы	Молочная железа	Карцинома
	0.33 6	0.05 5	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2в	0.43 0	0.05 4	YAPC	Карцинома поджелудочной железы	Поджелудочная железа	Карцинома
	0.34 4	0.04 9	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
2г	0.41 4	0.03 2	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.38 5	0.03 4	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2д	0.44 3	0.02 7	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.32 6	0.06 3	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
3а	0.51 4	0.00 5	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.38 8	0.02 6	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
3б	0.49 3	0.00 7	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.39 6	0.02 4	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
3в	0.45 7	0.011	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.39 2	0.02 5	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
4а	0.411	0.03 3	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.32 9	0.06 0	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
4б	0.33 0	0.05 3	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.23 1	0.03 9	Jurkat	Т-клетки острого лейкоза	Кровь	Лейкоз
4в	0.43 6	0.04 6	YAPC	Карцинома поджелудочной железы	Поджелудочная железа	Карцинома
	0.34 2	0.05 0	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома

Примечание: 1 – вероятность быть активным;
2 – вероятность быть неактивным.

Таблица 2

Значения теоретически рассчитанной свободной энергии связывания и коэффициентов проницаемости для различных мембран при pH = 7,4 и T = 37 °C

Номер соединения	Свободная энергия связывания, ккал/моль	Логарифм коэффициента проницаемости (logP)		
		BLM ¹	BBB ²	Caco-2 ³
2а	-5.20	-4.58	-4.51	-4.65
2б	-5.43	-4.93	-4.63	-4.74
2в	-4.60	-6.21	-5.08	-5.07
2г	-3.42	-7.17	-5.42	-5.31
2д	-5.43	-3.44	-4.11	-4.36
3а	-4.94	-5.81	-4.94	-4.97
3б	-5.15	-6.08	-5.04	-5.04
3в	-4.58	-7.20	-5.43	-5.32
4а	-4.28	-3.73	-4.21	-4.44
4б	-5.88	-2.39	-3.74	-4.09
4в	-5.53	-3.05	-3.97	-4.26
Глюкоза (контроль)	-1,82	-10,44	-6,58	-6,15
Холестерин (контроль)	-9,69	6,03	-0,77	-1,94

Примечания: 1 – вероятность быть активным; 2 – вероятность быть неактивным 1 – черная липидная мембрана; 2 – гематоэнцефалический барьер; 3 – мембрана клеточной линии аденокарциномы толстой кишки.

Таблица 3

Значения logP и lgS для соединений 2а-д, 3а-в, 4а-в

Номер соединения	logP ¹	lgS ²
2а	2.81	-3.80
2б	4.42	-4.59
2в	2.89	-4.12
2г	2.47	-3.57
2д	3.87	-4.44
3а	2.58	-3.63
3б	3.31	-4.21
3в	2.67	-3.93
4а	3.13	-4.14
4б	3.75	-4.60
4в	3.18	-4.26

Примечания: 1 — логарифм коэффициента распределения в системе октанол-вода; 2 — логарифм коэффициента растворимости вещества в воде.

Наиболее высокие показатели прогнозируемой активности зафиксированы для соединений 3а-в в отношении клеточных линий колоректального рака. Все три соединения демонстрируют также умеренную активность в отношении клеток аденокарциномы толстой кишки.

Для гидразонов 2а-д и 4а-в наиболее вероятной мишенью является линия немелкоклеточной карциномы легкого NCI-H460. Максимальное значение

получено для соединения **2б**, которое также характеризуется сопоставимой активностью в отношении карциномы молочной железы MCF7. Соединения **2в** и **4в** выделяются прогнозируемой активностью в отношении карциномы поджелудочной железы (линия YAPC). Наименьший показатель P_a среди всех исследованных объектов отмечен для гидразона **4б** в отношении T-клеточной линии острого лейкоза Jurkat.

Таким образом, анализ данных PassOnline позволяет выделить три приоритетных направления потенциального цитотоксического действия синтезированных гидразонов: немелкоклеточная карцинома легкого (**2а-д** и **4а-в**), колоректальный рак (**3а-в**) и карцинома поджелудочной железы (**2в**, **4в**). Высокая воспроизводимость предсказаний для структурно родственных соединений свидетельствует в пользу целесообразности экспериментальной проверки полученных прогнозов *in vitro*.

Согласно данным, представленным в таблицах 2 и 3, величины логарифмов коэффициентов проницаемости, рассчитанные для трех различных мембранных моделей, находятся в области довольно низких значений. В число исследованных мембран входила одна искусственная система (черная липидная мембрана, BLM) и две природные – гематоэнцефалический барьер (BBB) и линия клеток Caco-2, широко применяемая для оценки кишечной абсорбции. Полученный результат указывает на то, что пассивная диффузия исследуемых соединений через липидный бислой затруднена и не является основным путем их проникновения в цитоплазму. Вместе с тем сам по себе низкий расчетный коэффициент проницаемости не может служить доказательством полного отсутствия трансмембранного переноса. Изучаемые объекты, по-видимому, сохраняют способность достигать внутриклеточных мишеней, однако реализация этой способности с большей вероятностью будет опосредована механизмами активного транспорта с участием специфических переносчиков либо эндоцитоза. Альтернативным объяснением может служить предположение о преимущественной локализации фармакологического эффекта данных веществ во внеклеточном пространстве или на поверхности клеточной мембраны без необходимости проникновения внутрь клетки.

В то же время анализ физико-химических параметров, определенных расчетным путем *in silico* и сведенных в таблицу 3, демонстрирует хорошее соответствие исследуемого ряда соединений эмпирическим критериям, известным как правила Липинского [11]. Согласно этим критериям, значения молекулярной массы (не превышающие 500), коэффициента распределения в системе октанол-вода ($\log P \leq 5$), числа доноров водородных связей ($NHD \leq 5$) и числа акцепторов водородных связей ($NHA \leq 10$) позволяют рассматривать данные соединения как обладающие потенциально благоприятными фармакокинетическими характеристиками. Единственным параметром, значения которого выходят за рамки оптимальных для классических пероральных лекарственных средств, является растворимость в водной среде. Расчетные величины данного показателя находятся в диапазоне 10^{-4} - 10^{-5} моль/л, что характеризует соединения как малорастворимые в воде, однако не исключает возможности их дальнейшего изучения в качестве биологически активных агентов.

Для оценки антибактериальных свойств полученных соединений **2а-д**, **3а-в** и **4а-в** выращивали культуру *Escherichia coli* на твердой агаризованной (1,5 масс. %) питательной среде Эшби. Вещества растворяли в диметилформамиде в концентрации 3 мг/мл, смачивали этими растворами диски из фильтровальной бумаги ($d = 6$ мм). Смоченные диски, в количестве 5 шт., выкладывали на засеянную кишечной палочкой питательную среду. Результаты фиксировали на 5-е сутки культивирования при температуре 22–23°C. Установлено, что ни одно из полученных соединений не оказывает заметного антибактериального действия на *E. coli*.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026-2030 гг.

Список литературы

1. Design, synthesis and 2D QSAR study of novel pyridine and quinolone hydrazone derivatives as potential antimicrobial and antitubercular agents / M. A. Abdelrahman, I. Salama, M. S. Goma, M. M. Elaasser, M. M. Abdel-Aziz, D. H. Soliman // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 138. – P. 698–714.
2. Antiproliferative and antioxidative effects of novel hydrazone derivatives bearing coumarin and chromene moiety / V. T. Angelova, N. G. Vassilev, B. Nikolova-Mladenova, J. Vitas, R. Malbasa, G. Momekov, M. Djukic, L. Saso // *Medicinal Chemistry Research*. – 2016. – Vol. 25, № 10. – P. 2082–2092.
3. Ulloora, S. Synthesis, anticonvulsant and anti-inflammatory studies of new 1,4-dihydropyridin-4-yl-phenoxyacetohydrazones / S. Ulloora, R. Shabaraya, R. Ranganathan, A. V. Adhikari // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2013. – Vol. 70. – P. 341–349.
4. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of chromone hydrazone derivatives as α -glucosidase inhibitors / G. Wang, M. Chen, J. Wang, Y. Peng, L. Li, Z. Xie, B. Deng, S. Chen, W. Li // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2017. – Vol. 27, № 13. – P. 2957–2961.
5. Synthesis and antimicrobial activity of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one derivatives containing a hydrazone moiety / H.-N. Peng, L.-M. Ye, M. Zhang, Y.-C. Yang, J. Zheng // *Heterocyclic Communications*. – 2018. – Vol. 24, № 1. – P. 25–31.
6. The curative activity of some arylidene dihydropyrimidine hydrazone against Tobacco mosaic virus infestation / A. Z. Omar, E. Hamdy, E. A. Hamed, E. Hafez, A. Abdelkhalek // *Journal of Saudi Chemical Society*. – 2022. – Vol. 26, № 4. – P. 101497.
7. Popiołek, Ł. Hydrazone–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010 / Ł. Popiołek // *Medicinal Chemistry Research*. – 2017. – Vol. 26, № 2. – P. 287–301.
8. Mahanty, S. N. Mini-Review of the Importance of Hydrazides and Their Derivatives–Synthesis and Biological Activity / S. N. Mahanty, A. Prasanna, D. R. Guduru, B. R. Thakur // *Engineering Proceedings*. – 2021. – Vol. 11, iss. 1. – P. 21.
9. *Antimicrobial Drugs // Synthesis of Essential Drugs*. – [Amsterdam]: Elsevier, 2006. – P. 499–523.
10. Hydrazone–Hydrazones as Potential Antitubercular Agents: An Overview of the Literature (1999–2023) / S. N. Mali, A. Pandey, U. Shah, R. D. Jawarkar, R. Somani // *SynOpen*. – 2024. – Vol. 08, iss. 03. – P. 173–184.
11. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2001. – Vol. 46, № 1-3. – P. 3–26.