

УДК 615.2

## Компьютерный анализ спектра биологической активности новых производных бетулоновой кислоты

Д. С. БАЕВ, И. В. СОРОКИНА, Т. Г. ТОЛСТИКОВА

Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: sorokina@nioch.nsc.ru

### Аннотация

С помощью программы PASS выполнен анализ связи “структура – активность” новых производных бетулоновой кислоты, среди которых обнаружены агенты с потенциально высокой противоопухолевой, гепатопротекторной и противовоспалительной активностью. Осуществлен анализ возможных механизмов действия новых производных бетулоновой кислоты.

**Ключевые слова:** производные бетулоновой кислоты, связь “структура – активность”, программа PASS

### ВВЕДЕНИЕ

В связи с интенсивным развитием современной комбинаторной химии определенную трудность представляет выбор кандидатов для скрининга лекарственных агентов из огромного количества потенциально высокоактивных молекул. Широко применяемые в настоящее время методы оценки основных видов биологической активности *in vitro* (macromolecular targets) не позволяют охватить весь массив синтезируемых соединений. Кроме того, они не всегда обеспечивают достоверность данных о механизме действия, токсичности, фармакокинетике, фармакодинамике и метаболизме новых агентов. Как следствие, при таком подходе возрастает вероятность неверного отбора базовых структур (lead compounds), используемых для последующего синтеза библиотек производных. Кроме того, за рамками научного интереса ос-

таются соединения с потенциально высокой, но не попавшей в фокус скрининга активностью.

Быстрый, эффективный и малозатратный скрининг новых агентов можно проводить с помощью компьютерного прогноза спектра биологической активности (structure – activity relationships analysis, SAR). С его помощью можно получать большой массив данных о потенциальной биологической активности, токсичности, механизме действия и метаболизме химических соединений, а также проводить отбор потенциальных высокоактивных агентов на ранней стадии исследования, что способствует оптимизации синтеза новых производных на основе установленной связи “структура – активность” [1–3].

В последнее время большой интерес вызывают работы, посвященные изучению соединений с широким спектром биологического действия, синтезированных на основе природных тритерпеновых платформ – олеаноловой **I**, урсоловой **II** и бетулиновой **III** кислот [4] (схема 1).

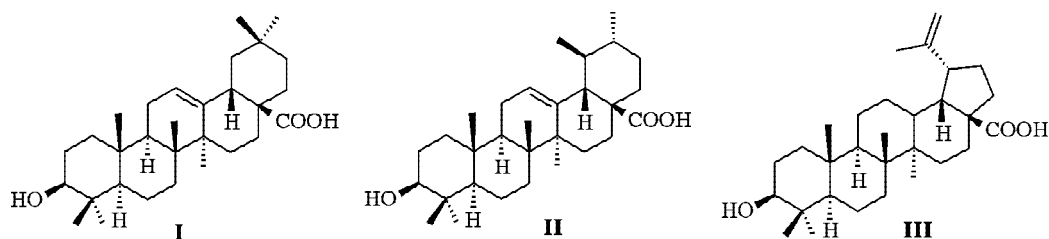
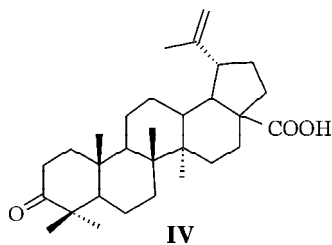


Схема 1.

У этих тритерпеноидов обнаружена антиоксидантная, противоопухолевая, противовоспалительная, противовирусная и цитопротекторная активность, установлены механизмы действия и биологические мишени: белки-регуляторы отдельных сигнальных путей, факторы транскрипции [5–9]. Благодаря многообразию биологических эффектов и наличию многих молекулярных мишеней эти соединения можно рассматривать в качестве основы для создания политаргетных препаратов. В настоящее время на этапе клинических испытаний в качестве противоопухолевых препаратов находятся бетулиновая кислота и ряд ее производных. По нашим данным, другой тритерпеноид – бетулоновая кислота **IV** – также может рассматриваться как базовое соединение для получения потенциальных политаргетных агентов.



В результате экспериментального исследования биологической активности производных бетулоновой кислоты, синтезированных в Новосибирском институте органической химии СО РАН, установлено, что ее амиды проявляют противовоспалительную, антиоксидантную, гепатопротекторную и противоопухолевую активность и обладают корректорным действием в условиях высокотоксичной цитостатической полихимиотерапии [10–16].

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В последнее время в Институте органической химии УНЦ РАН был выполнен синтез ряда новых производных бетулоновой кислоты с различными заместителями в положениях 2, 3, 20 и 28 тритерпеновой структуры (табл. 1). Целью работы был поиск эффективных корректоров химиотерапевтических препаратов среди данных соединений. В задачу исследования входило выявление с помощью компьютерного прогнозирования перспектив-

ных агентов с противоопухолевой, противовоспалительной и гепатопротекторной активностью, изучение этих свойств в экспериментах на животных, а также сравнение выявленных свойств с ранее обнаруженными свойствами бетулоновой кислоты, ее метилового эфира и амидов.

Прогнозирование спектра биологической активности производных бетулоновой кислоты выполняли с помощью программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, 2007, V. Poroikov, D. Filimonov *et al.*). Спектр биологической активности определяется как совокупность фармакологических эффектов, биохимических механизмов действия и видов специфической токсичности, которые химический агент может проявить при взаимодействии с биологическими объектами [13, 14].

Для выполнения прогноза по программе PASS использовали структурные формулы соединений в стандарте MDL molecular file, созданные в редакторе ISIS Draw 2.4 и Chem Draw Ultra 9.0. Для каждого производного оценивали параметр drug-likeness в интервале 0–1 как вероятность полного соответствия профиля активности известному лекарственному препарату. Термин drug-likeness отражает общую биологическую активность молекулы, определяемую на основе анализа различных свойств ее молекулярной структуры (гидрофобность, распределение электронной плотности, особенности водородных связей, размеры молекулы и ее гибкость, присутствие в составе молекулы различных фармакоформных группировок). Эти свойства влияют на поведение молекулы в организме, определяя ее биодоступность, транспортные свойства, сродство с белками, реакционную способность, токсичность, метаболическую стабильность и многие другие параметры [1].

Для оценки потенциальных корректорных свойств новых производных бетулоновой кислоты при выполнении SAR-анализа учитывали, прежде всего, наличие у соединений противоопухолевой, противовоспалительной и гепатопротекторной активности. Вероятность наличия каждого вида активности ( $P_a$ ) оценивали в интервале значений 0.4–1 и сравнивали с вероятностью drug-likeness для оценки вклада отдельных видов в общую потенциальную фармакологическую активность

ТАБЛИЦА 1

Шифры, названия и формулы производных бетулоновой кислоты

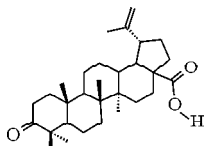
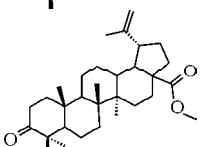
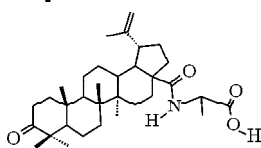
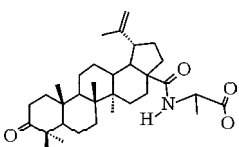
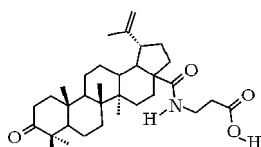
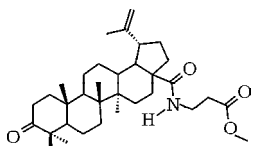
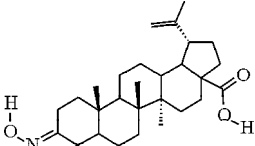
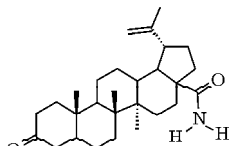
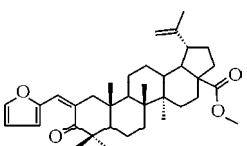
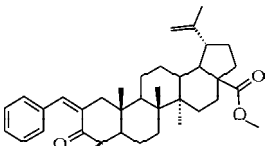
Соединение	Химическое название	Формула
1	Бетулоновая кислота	
2	Метилловый эфир бетулоновой кислоты	
3	2-[3-оксо-20(29)-лупен-28-оиламино]-пропионовая кислота	
4	Метилловый эфир 2-[3-оксо-20(29)-лупен-28-оиламино]-пропионовой кислоты	
5	3-[3-оксо-20(29)-лупен-28-оиламино]-пропионовая кислота	
6	Метилловый эфир 3-[3-оксо-20(29)-лупен-28-оиламино]-пропионовой кислоты	
7	3-оксим бетулоновой кислоты	
8	3-оксо-17b-карбамоил-28-норлуп-20(29)-ен	
9	Метилловый эфир 2-фурфурилиден-бетулоновой кислоты	
10	Метилловый эфир 2-бензилиден-бетулоновой кислоты	

ТАБЛИЦА 1 (Окончание)

Соединение	Химическое название	Формула
11	2-фурфурилиден-бетулоновая кислота	
12	3-оксо-17b-(N-децилуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен	
13	Метилловый эфир 3-семикарбазон-бетулоновой кислоты	
14	Никотинат 3-оксима бетулоновой кислоты	
15	Метилловый эфир 3, 20-диоксимино-29-норлуп-28-овой кислоты	
16	3-оксо-28-(O'-метил-L-изолейцино)-карбонил-28-луп-20(29)-ен	
17	3-оксо-28-(N-карбонил-O'-метил-L-метионин)-луп-20(29)-ен	
18	3-оксо-28-(4, 4'-диаминодифенилсульфон)-карбонил-луп-20(29)-ен	
19	3-оксо-28-(N-метилпиперазин)-карбонил-луп-20(29)-ен	
20	N-метилпиперазид оксима бетулоновой кислоты	

агента. Кроме того, для каждого из агентов проводили скрининг возможных молекулярных мишеней.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Значения вероятности drug-likeness представлены на рис. 1.

Прогноз, выполненный с использованием программы PASS, подтверждает высокую потенциальную фармакологическую активность соединений **1–6**, ранее изученных нами. Новые производные бетулоновой кислоты также являются потенциально высокоактивными агентами: значения вероятности drug-likeness находятся в пределах 0.79–0.99. Максимальные значения вероятности зафиксированы для 17b-карбамоильного производного **8**, никотината 3-оксима бетулоновой кислоты **14**, производного бетулоновой кислоты с остатком *L*-изолейцина в 28 положении **16** и 28-N-метилпиперазинового производного **19**. При этом величина вероятности drug-likeness производного **19** практически совпадает с таковой для бетулоновой кислоты **1** (0.988 и 0.99 соответственно).

Потенциальный противоопухолевый эффект (Antineoplastic) оценивался в сравнении

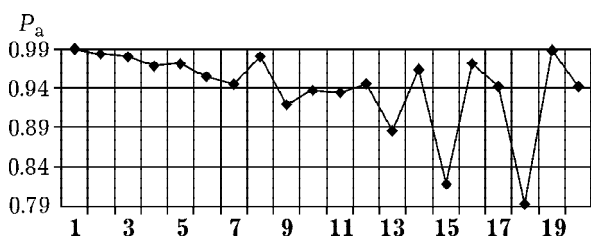


Рис. 1. Значения вероятности drug-likeness для производных бетулоновой кислоты.

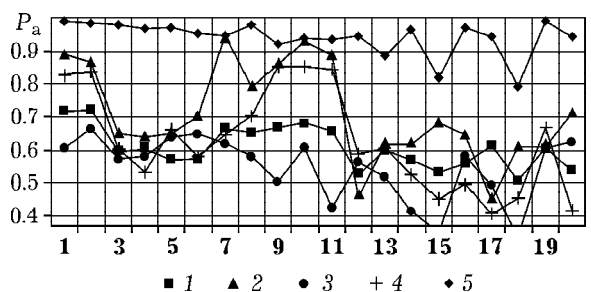


Рис. 2. Значения  $P_a$  для противоопухолевой (1), проапоптотической (2), иммуносупрессорной (3) и онкопротективной (4) активности производных бетулоновой кислоты в сравнении с вероятностью drug-likeness (5).

с вероятностью drug-likeness и возможными механизмами противоопухолевого действия – проапоптотической активностью (Apoptosis agonist), иммуносупрессорным действием (Immunosuppressant) и способностью снижать вероятность развития опухоли (Chemopreventive) – для оценки вклада каждого механизма в общую противоопухолевую активность новых производных. На рис. 2 представлены результаты прогнозирования противоопухолевой активности производных бетулоновой кислоты.

На основании данных прогноза можно сделать вывод о высокой корреляции всех параметров противоопухолевой активности амидов бетулоновой кислоты. Это свидетельствует о комплексном воздействии данных соединений на процессы инициации и роста опухолей, что, в принципе, соответствует экспериментальным данным. Совпадение значений вероятностей проапоптотической активности и drug-likeness у оксима бетулоновой кислоты **7** по положению 3 и метилового эфира 2-бензилиден-бетулоновой кислоты **10** свидетельствует о решающем вкладе апоптоз-стимулирующих свойств в потенциальный механизм действия этих производных. Для метилового эфира 2-фурфурилиден-бетулоновой кислоты **9** и метилового эфира 3-семикарбазон-бетулоновой кислоты **13** хорошо соотносятся значения вероятности проапоптотической и онкопротективной активностей. 28-N-метилпиперазиновое производное **19**, по-видимому, обладает комплексным механизмом противоопухолевого действия.

На основе данных прогноза спектра биологической активности производных бетулоновой кислоты предсказаны потенциальные мишени в механизмах противоопухолевого действия соединений. На рис. 3 приведены определенные с использованием PASS значения  $P_a$  некоторых механизмов противоопухолевого действия, характерных для производных бетулоновой кислоты: ингибирование фосфатазы (Phosphatase inhibitor), ингибирование фосфолипазы C и агонизм с интерлейкинами (Interleukine agonist).

Полученные данные свидетельствуют о том, что основным молекулярным механизмом противоопухолевого действия у 2-фурфурилиден-бетулоновой кислоты **11** и ее метилового эфира **9** является процесс ингиби-

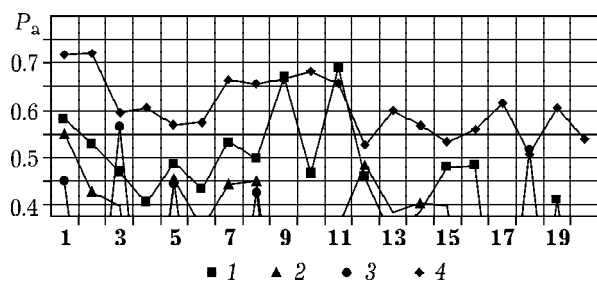


Рис. 3. Значения  $P_a$  ингибирования фосфатаз (1), фосфолипазы С (2), агонизма с интерлейкином (3) и прямой противоопухолевой активности производных бетулоновой кислоты (4).

рования фосфатаз. Агонизм с интерлейкином может играть существенную роль в механизме потенциального противоопухолевого действия  $\alpha$ -аланинамидного производного бетулоновой кислоты **3** и 4,4'-диаминодифенилсульфонового производного бетулоновой кислоты **18** по положению 28. Ингибирование фосфолипазы С может определять противоопухолевое действие производного с N-децилуреидным фрагментом в 17b-положении **12**.

Данные прогнозирования противовоспалительной активности (Antiinflammatory) (рис. 4) свидетельствуют о высокой потенциальной противовоспалительной активности всех производных бетулоновой кислоты. Для бетулоновой кислоты и ее амидов наличие противовоспалительного действия подтверждено экспериментальным путем.

Результаты прогнозирования гепатопротекторной (Hepatoprotectant) активности производных бетулоновой кислоты (рис. 5) соответствуют экспериментально подтвержденному наличию гепатопротекторного эффекта у бетулоновой кислоты **1**, ее эфира **2** и амидов **4-6**. Высокая вероятность наличия гепатопротекторного действия показана для всех новых производных бетулоновой кислоты, за исключением соединений **18** и **20**.

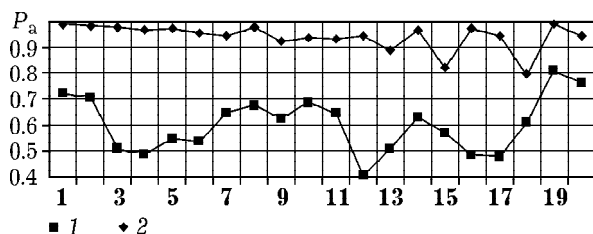


Рис. 4. Значения  $P_a$  для противовоспалительной активности производных бетулоновой кислоты (1) в сравнении с вероятностью drug-likeness (2).

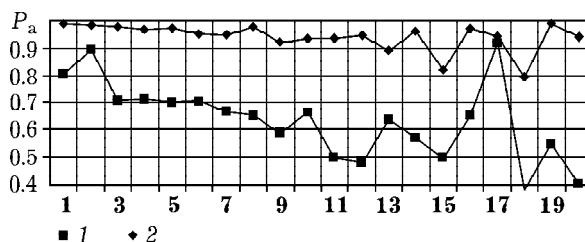


Рис. 5. Значения  $P_a$  для гепатопротекторной активности производных бетулоновой кислоты (1) в сравнении с вероятностью drug-likeness (2).

текторного действия показана для всех новых производных бетулоновой кислоты, за исключением соединений **18** и **20**.

Потенциальные механизмы гепатопротекторного эффекта производных бетулоновой кислоты показаны на рис. 6 и включают в себя стимуляцию трансфераз (Transferase stimulant), ингибирование оксидоредуктаз (Oxidoreductase inhibitor) и билирубин-оксидазы (Bilirubin ox. Inhibitor).

Данные прогноза указывают на существенный вклад ингибирования билирубин-оксидазы в потенциальный гепатопротекторный эффект всех производных бетулоновой кислоты. Стимуляция трансфераз особенно хорошо коррелирует с гепатопротекторной активностью для бетулоновой кислоты **1**, ее  $\alpha$ -аланинамидного производного **3**,  $\beta$ -аланинамида метилового эфира бетулоновой кислоты **6**, для нового производного с N-децилуреидным фрагментом в 17b-положении **12** и 3,20-диоксиминового производного **15**. Ингибирование оксидоредуктаз не вносит существенного вклада в механизм гепатопротекции для этих соединений.

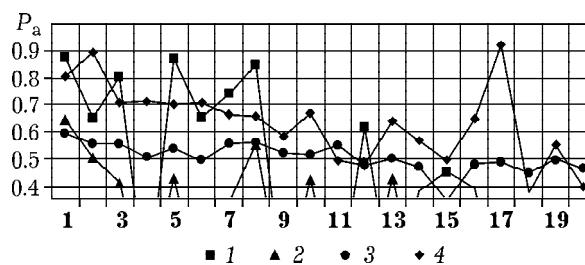


Рис. 6. Значения  $P_a$  для стимуляции трансфераз (1), ингибирования оксидоредуктаз (2) и билирубин-оксидазы (3), гепатопротекторной активности производных бетулоновой кислоты (4).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате проведенного исследования для производных бетулоновой кислоты показана высокая корреляция данных фармакологической активности, полученных в экспериментах на животных и предсказанных с помощью компьютерного прогнозирования по программе PASS. Данные компьютерного анализа подтвердили политаргетный характер синтезированных соединений и позволили предложить возможные молекулярные мишени. Подтверждается высокая значимость положений 28 и 3 тритерпеновой структуры бетулоновой кислоты для модификаций с целью получения новых высокоэффективных агентов. Результаты SAR-анализа широкого ряда производных бетулоновой кислоты позволяют выделить группу высокоперспективных агентов-корректоров патологических процессов, которые в настоящее время проходят углубленные фармакологические исследования в Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН.

Работа выполнена при финансовой поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 93 ("Развитие исследований в области медицинской химии и фармакологии как научной основы разработки отечественных лекарственных препаратов").

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- 1 Sadym A. V., Lagunin A. A., Filimonov D. A., Poroikov V. V. // *Chim.-Pharm. J.* 2002. No. 36. P. 21.
- 2 Vivek Vyas, Anurekha Jain, Avijeet Jain, Arun Gupta // *Sci. Pharm.* 2008. No. 76. P. 333.
- 3 Nogrady T., Weaver D. F. *Medicinal Chemistry: a Molecular and Biochemical Approach*. 3rd ed. Oxford: Univers. press, 2005.
- 4 Sporn M. B., Liby K., Yore M. M. // *Drug Dev. Res.* 2007. No. 68. P. 174.
- 5 Liby K. T., Yore M. M., Sporn M. B. // *Nature Rev. Cancer.* 2007. No. 7. P. 357.
- 6 Cichewicz R. H., Kouzi S. A. // *Med. Res. Rev.* 2004. No. 2. P. 90.
- 7 Tan Y., Yu R., Pezzuto J. M. // *Clin. Cancer Res.* 2003. No. 9. P. 2866.
- 8 Adnyana I. K., Tezuka Y., Banskota A. H. // *Biol. Pharm. Bull.* 2000. No. 23. P. 1328.
- 9 Cichewicz R. H., Kouzi S. A. // *Med. Res. Rev.* 2004. No. 24. P. 90.
- 10 Толстикова Т. Г., Сорокина И. В., Воевода Т. В., Чернов С. В., Шульц Э. Э., Толстиков Г. А. // *Докл. РАН.* 2001. Т. 376, № 2. С. 271.
- 11 Сорокина И. В., Толстикова Т. Г., Жукова Н. А., Петренко Н. И., Шульц Э. Э., Узенкова Н. В., Грек О. Р., Позднякова С. В., Толстиков Г. А. // *Докл. РАН.* 2004. Т. 399, № 2. С. 274.
- 12 Позднякова С. В., Грек О. Р., Сорокина И. В., Толстикова Т. Г., Жукова Н. А. // *Журн. эксперим. клин. мед.* 2005. № 4. С. 59.
- 13 Жукова Н. А., Семенов Д. Е., Сорокина И. В., Толстикова Т. Г., Позднякова С. В., Грек О. Р. // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 2005. Т. 140, № 9. С. 348.
- 14 Толстикова Т. Г., Сорокина И. В., Толстиков Г. А., Флехтер О. Б. // *Биоорганическая химия.* 2006. Т. 1, № 32. С. 42.
- 15 Сорокина И. В., Жукова Н. А., Толстикова Т. Г., Грек О. Р., Попова Н. А., Каледин В. И., Николин В. П. // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* 2006. № 1. С. 29.
- 16 Сорокина И. В., Толстикова Т. Г., Жукова Н. А., Шульц Э. Э., Петренко Н. И., Узенкова Н. В., Попова Н. А. // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2006. № 1. С. 69.