УДК 616.831-005.4-08.039.71:615.27

5-ІЛІДЕН-2-ТІОКСО-4-ТІАЗОЛІДОН-3-СУКЦИНАТНІ КИСЛОТИ ТА ЇХ ПОХІДНІ: СИНТЕЗ, ПРОТИРАКОВА АКТИВНІСТЬ, QSAR-АНАЛІЗ

Д.В.Камінський, О.М.Роман, Д.В.Атаманюк, Р.Б.Лесик

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69. E-mail: dr_r_lesyk@org.lviv.net

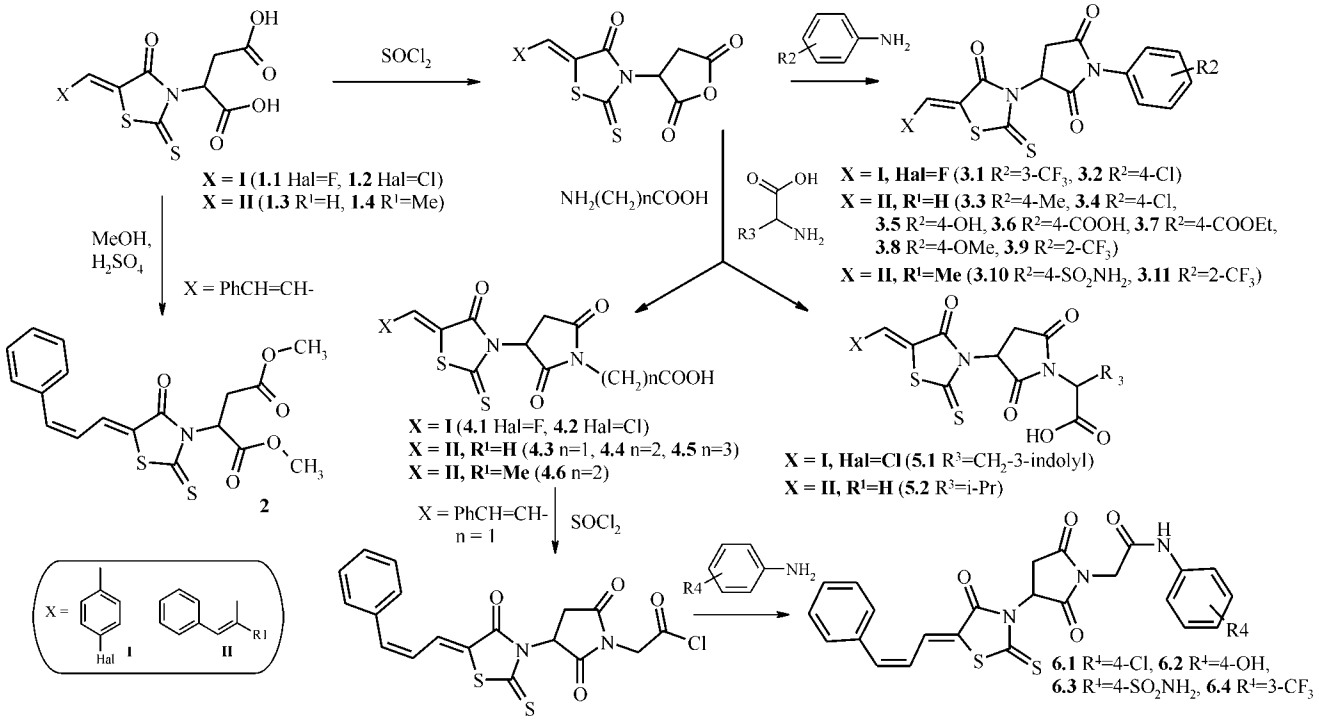
Ключові слова: похідні роданіну; протиракова активність; QSAR-аналіз; докінг

Запропоновані методи синтезу та перетворень циклічних імідів 5-іліденроданін-3-сукцинатних кислот. Встановлено високий протираковий потенціал одержаних сполук, окреслені шляхи оптимізації структури та запропоновано імовірний механізм їх дії (зв'язування з комплексом Bcl-X_L-BH3) на основі QSAR-аналізу та молекулярного докінгу активних сполук до деяких відомих протиракових біомішеней.

5-YLIDENE-2-THIOXO-4-THIAZOLIDONE-3-SUCCINIC ACIDS AND THEIR DERIVATIVES: SYNTHESIS, ANTICANCER ACTIVITY, QSAR-ANALYSIS
D.V.Kaminsky, A.M.Roman, D.V.Atamanyuk, R.B.Lesyk
Synthesis and transformations methods of 5-ylidenerhodanine-3-succinic acids cyclic imides are worked out. High anticancer potential of obtained substances is established, structure optimization pathways and probable activity mechanism (binding with protein complex Bcl-X_L-BH3) are proposed based on QSAR-analysis and molecular docking of active substances to some known anticancer targets.

5-ИЛИДЕН-2-ТИОКСО-4-ТИАЗОЛИДОН-3-СУКЦИНАТНЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ: СИНТЕЗ, ПРОТИВОРАКОВАЯ АКТИВНОСТЬ, QSAR-АНАЛИЗ
Д.В.Каминский, А.М.Роман, Д.В.Атаманюк, Р.Б.Лесик
Предложены методы синтеза и превращений циклических имидов 5-илиденроданин-3-сукцинатных кислот. Установлено высокий противораковый потенциал полученных соединений, очерчены пути оптимизации структуры и предложен вероятный механизм их действия (связывание с комплексом Bcl-X_L-BH3) на основе QSAR-анализа и молекулярного докинга активных соединений к некоторым известным противораковым биомишеням.

Встановлений останнім часом факт протипухлинної активності 4-тіазолідонів [1] став стимулом для пошуку сполук з антинеопластичними властивостями серед зазначених гетероциклів, високий потенціал яких обумовлений впливом на різні ланки метаболізму при канцерогенезі та відкриттям антиракових ефектів для речовин з відомою фармакологічною дією (антиоксидантною, протизапальною, імуномодулюючою) [2, 3]. Перспективними об'єктами для досліджень наведеного плану є похідні 4-азолідон-3-алканкарбонових кислот, для яких відомі два основних напрямки створення лікоподібних молекул. Перший стосується високоактивних "малих молекул" з встановленим афінітетом до рецепторних та ферментативних комплексів (циклінзалежні кінази, сімейство каспаз, тирозинфосфатази), а також впливом на білок-білкову взаємодію сигнальних молекул (p53, Bcl тощо). Зокрема, виявлено інгібуючий вплив 5-заміщених 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-алканкарбонових кислот (похідні роданіну) на білок-білкову взаємодію сімейства Bcl-2 і Bax протеїнів і їх рецепторних доменів [4, 5] та модуляцію p53 залежних шляхів апоптичних і неопластичних перетвореннь [6]. Зазначені протеїни (як правило білки відповідних протоонкогенів) є пептидами, активність яких пов'язана з регуляцією клітинного циклу, апоптозу, контролем за цілісністю геному та проникністю мітохондріальних і ядерних мембран [7]. Встановлено інгібуючий вплив 5-заміщених роданін-3-арил(алкіларил)карбонових кислот на активність JSP-1 [8] (низькомолекулярного ензиму атипових подвійно-специфічних фосфатаз), ферменту, пов'язаного з процесами росту, проліферації і клітин-клітинної адгезії, тобто найяскравіших змін у канцерогенезі. Другим напрямом досліджень є синтез сполук, здатних впливати на кисневий гомеостаз ракових клітин, модулювати регуляторні впливи вільнорадикальних реакцій, участь яких в патогенезі ракових захворювань є доведеною [9]. Згідно з даними [2] встановлено модулюючий вплив 5-іліденродані-



Схема

нів на проліферацію та апоптичну загибель ракових клітин, який пов'язують з дією на перебіг кисень-залежних процесів, метаболізм NO та із антиоксидантними та імуномодулюючими властивостями. Так, похідні тіазолідин-4-карбонової кислоти, збільшуючи пул вільних SH-груп, модифікують цикл глутатіона при пригніченні росту карциноми Ерліха [10]. Відома властивість 4-тіазолідонів проявляти протизапальну та антиоксидантну дію інгібуванням ЦОГ-2 знаходить розвиток у пошуку протипухлинних агентів, враховуючи пригнічення сполуками надмірної активності ферменту та перерозподіл синтезу простагландинів при деяких ракових захворюваннях [11].

Наведена робота є фрагментом систематичних досліджень з пошуку нових біологічно активних сполук серед похідних 4-тіазолідону, а її метою є структурна модифікація 5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатних кислот як потенційних протиракових агентів (схема). Як "структурні блоки" обрані гетероциклічні кислоти 1.1-1.4 [12, 13], на основі яких синтезовано естер 2 та циклічні іміди 3.1-3.11, 4.1-4.6, 5.1-5.2. Останні одержані на основі циклічних ангідридів, які взаємодіяли з відповідними ароматичними амінами та амінокислотами [14]. Ариламіди 6.1-6.4 синтезовані з використанням хлорангідриду (5-феніліпропеніліден-2-тіоксо-4-тіазолідиніл-2,5-піролідиндіон)оцтової кислоти [15].

Структура синтезованих сполук підтверджена методом спектроскопії ПМР, на основі якої встановлено існування похідних 5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатних кислот у вигляді суміші енантіомерів у співвідношенні 1:2, що пояснюється використанням D,L-аспарагінової кислоти як вихідної речовини.

Вивчення протиракової активності сполук проводилось у декілька етапів у Національному інституті раку США (NCI, Bethesda, Meryland, USA) [16, 17, 18]. На I етапі вивчали вплив сполук у концентрації 10^{-4} М на ріст ракових клітин ліній MCF7 (рак молочної залози), NCI-H460 (рак легень), SF-268 (рак ЦНС) (табл. 1). Виділено ряд активних речовин (3.4-3.7, 3.10, 4.1, 4.3-4.6, 5.2), особливо відносно лінії NCI-H460, мітотична активність клітин якої на фоні сполук коливалась від 2 до 27%. Слід відмітити сильний цитостатичний ефект 1-(4-гідроксифеніл)-3-(5-фенілпропеніліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-іл]-2,5-піролідиндіону (3.5) на лінію раку ЦНС, причому для інших сполук він або не проявляється, або значно менше виражений. У площині кореляції "структура-активність" практично всі активні сполуки містять в положенні 5 залишок коричного чи α-метилкоричного альдегідів, вплив яких на протираковий потенціал, правдоподібно, є вирішальним. Модифікація сукцинатного фрагменту до 2,5-піролідиндіонового приводить до зростання протипухлинного ефекту незалежно від природи імідного радикалу. Згідно з критеріями NCI на другий етап тестування відібрані сполуки, на фоні яких мітотична активність принаймні для однієї лінії ракових клітин не перевищує 33%. На цьому етапі проведено грунтовний in vitro скринінг, який полягав у тестуванні речовин у мінімум 5 концентраціях при 10-кратному розведенні на 60 лініях людських ракових клітин, серед яких лінії лейкемії, недрібноклітинного раку легень, раку товстої

Таблиця 1

Протипухлинна активність синтезованих сполук

Сполука	Мітотична активність на 3 лініях раку, %			Результати in vitro скринінгу на 60 лініях раку				
				Середні значення[1]			Найбільш чутливі лінії[2,3] клітин (lgGI$_{50}$/ lgTGI)	Кількість активних ліній (а/з[4], %)
	NCI-H460	MCF7	SF-268	lgGI$_{50}$	lgTGI	lgLC$_{50}$		
1.1	150	142	107	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
2	83	106	96	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.1	88	95	86	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.2	100	102	95	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.3	94	89	109	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.4	2	16	52	-4,83	-4,51	-4,34	ColC: HCT-116 (-5,79/-5,15)	49/49, 100%
3.5	3	10	4	-4,96	-4,48	-4,32	M: SK-MEL-5 (<-8,30/-5,17)	49/49, 100%
3.6	24	91	81	-4,54	-4,31	-4,30	nscLC: EKVX (-5,46/-4,57)	53/53, 100%
3.7	23	98	112	-4,60	-4,36	-4,31	RC: 786-0 (-5,11/-4,80)	44/44, 100%
3.8	65	106	118	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.9	68	85	105	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
3.10	3	8	42	-4,66	-4,26	-4,07	nscLC: NCI-H522 (-5,55/>-4,00)	49/49, 100%
3.11	90	102	77	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
4.1	26	100	106	-4,36	-4,05	-4,01	CNSC: SF-295 (-4,88/-4,48)	45/53, 84,9%
4.2	119	102	109	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
4.3	27	77	73	-4,41	-4,04	-4,00	L: CCRF-CEM (-5,39/>-4,00)	44/54, 81,5%
4.4	18	78	80	-4,42	-4,31	-4,30	M: LOX IMVI (-4,90/-4,47)	52/52, 100%
4.5	23	42	76	-4,55	-4,13	-4,02	nscLC: EKVX (-5,32/>-4,00)	48/50, 96%
4.6	12	65	55	-4,55	-4,16	-4,03	nscLC: NCI-H522 (-6,30/>-4,00)	46/48, 95,8%
5.1	89	75	102	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
5.2	4	17	39	-4,88	-4,50	-4,33	BC: BT (-5,24/-4,88)	49/49, 100%
6.1	47	91	114	сполука не вивчалась на II етапі досліджень				
6.3	сполука не вивчалась			-4,74	-4,28	-4,03	PC: PC-3 (-5,29/-4,56)	56/57, 98,2%

[1]Середні значення дозозалежних параметрів на 60 лініях раку;
[2]Лінії, характерні найвищою чутливістю до сполуки із всіх тетованих;
[3]ColC - рак товстої кишки (colon cancer), M - меланома (melanoma), nscLC - недрібноклітинний рак легень (non-small cell lung cancer), RC - рак нирок (renal cancer), CNSC - рак ЦНС (CNS cancer), L - лейкемія (leukemia), BC - рак молочної залози (breast cancer), PC - рак простати (prostate cancer);
[4]Співвідношення активних ліній (lgGI$_{50}$<-4,00) до загальної кількості тестованих.

кишки, раку ЦНС, меланоми, раку яєчників, нирок, простати та молочної залози. У результаті експерименту одержані три дозозалежні параметри: 1) пригнічення росту на 50% клітин лінії (growth inhibition of 50% — GI$_{50}$) — концентрація речовини, при якій інгібування росту становить 50% у порівнянні з ростом контрольних клітин протягом інкубування сполуки; 2) концентрацію лікарського засобу, що створює повне пригнічення росту (total growth inhibition — TGI); 3) LC$_{50}$ — концентрація речовини, що дає 50% зменшення забарвлення сульфородаміну Б після експозиції речовиною відносно початкового стану. Зазначений параметр показує зменшення утвореної сітки клітин з сульфородаміном Б після витримування їх з досліджуваною речовиною. Якщо логарифмічні значення параметрів (lgGI$_{50}$, lgTGI та lgLC$_{50}$) становлять менше -4,00, сполуки трактуються як активні (табл. 1). При аналізі результатів II етапу досліджень встановлено, що найбільш чутливими до впливу сполук є клітини раку легень. Так для сполук 4.5, 4.6, 3.10 та 5.2 значення lgGI$_{50}$ для лінії NCI-H522 складає -5,32, -6,30, -5,55 та -5,01 відповідно, а вплив на інші 8 тестованих ліній раку легень значно нижчий. Сполуки 3.6 та 4.4 при високому цитостатичному профілі на всі лінії раку легень проявили максимальний ефект стосовно EKVX (lgGI$_{50}$ -5,46 та -4,83 відповідно) і NCI-H23 (lgGI$_{50}$ -4,95 для 4.4). Найвищу активність щодо клітин лейкемії проявили сполуки 3.4, 3.6, 4.3. Похідні 3.4 та 3.6 характеризуються цитотоксичним ефектом на всі лінії лейкемії (lgGI$_{50}$ знаходиться в межах від -4,75 до -4,32 при lgTGI -4,39 ÷ -4,23). Для сполуки 4.3 максимальні значення lgGI$_{50}$ складали -5,39 (HL-60(TB), -5,04 (K-562), -5,33 (MOLT-4). Суттєву активність відносно раку товстої кишки виявили сполуки 3.4, 3.5, 3.7 та 5.2. Максимальні показники активності на лінії HCT-

Таблиця 2

Молекулярні дескриптори, які використовувалися в QSAR аналізі

Код дескриптора	Дескриптор	Література
GS	GlideScore - значення докінгової функції з програми Glide	[19
EM	E-model - значення докінгової функції з програми Glide	[19
SG	Shapegauss - значення докінгової функції з програми Fred	[21]
CG	ChemGauss - значення докінгової функції з програми Fred	[21]
PLP	PLP (Piecewise Linear Potential) - значення докінгової функції з програми Fred	[21]
CS	ChemScore (включає взаємодію між ліпофільними атомами, донорами та акцепторами водневих зв'язків, акцепторами водневих зв'язків та металами) - значення докінгової функції з програми Fred	[21]
ZB	Zapbind (об'єднує складову контакту поверхні та електростатичні взаємодії, що обраховуються з використанням наближення для розчинника Пуассона-Больцмана) - значення докінгової функції з програми Fred	[21]
MW	Молекулярна маса	
LogP	Логарифм коефіцієнта розподілу октанол-вода (обчислений за алгоритмом ClogP)	[22]
TPSA	Топологічна полярна площа поверхні молекули, обчислена пакетом Jchem (ChemAxon), використовуючи алгоритм П. Ертла	[23]
HOMO and LUMO	Енергії найвищої зайнятої та найнижчої незайнятої молекулярних орбіталей (HF/6-31G*)	[24]
μ	Дипольний момент молекули (HF/6-31G*)	[24]
q_{min} and q_{max}	Найменший та найбільший часткові заряди на атомах (CHELP алгоритм, HF/6-31G*)	[24]

116 становили $lgGI_{50}$ -5,79 (3.4), -4,91 (3.5), -5,09 (3.7) та -4,99 (5.1). Стосовно впливу на лінії раку молочної залози варто відмітити 3.4-3.6, активність яких перевищувала інші сполуки, а максимальний ефект спостерігався стосовно ліній SF-268 ($lgGI_{50}$ -4,89, -5,05 та -5,01 відповідно), SF-295 ($lgGI_{50}$ -5,05 (3.4) та -4,98 (3.5) та SF-539 ($lgGI_{50}$ -5,10 (3.4) та -5,05 (3.5). Пригнічення мітотичного поділу клітин меланоми найбільш виражене для сполук 3.4, 3.5, та 5.2. Значення $lgGI_{50}$ для 3.4 коливаються в межах -4,39÷-5,07 та -4,68÷-5,12 для 5.2, а максимальне пригнічення відмічене для лінії UACC-62 при $lgGI_{50}$ -5,12, (5.2), $lgGI_{50}$ -5,07 (3.5). Окремо слід розглянути сполуку 3.5, ефект якої стосовно лінії SK-MEL-5 ($lgGI_{50}$ -8,30 та lgTGI -5,17) перевищує усі аналізовані показники. Стосовно раку яєчників селективність дії сполук спостерігалась лише на лінії OVCAR-8, значення $lgGI_{50}$ складали -5,27, -5,04, -4,82, -4,62 для арилімідів 5-фенілпропеніліденроданін-3-сукцинатної кислоти (сполуки 3.4-3.7 відповідно) та -5,14 для 5.2. Крім того, сполуки 3.4 та 5.2 суттєво впливали на лінію OVCAR-3 ($lgGI_{50}$ -5,12 та -5,08 відповідно). Клітини раку нирок були чутливі до сполук 3.4, 3.5, 3.7, 4.5 та 5.2. Пригнічення росту лінії 786-O характеризувалось такими параметрами — $lgGI_{50}$ -5,07 та -5,11 для сполук 3.5 та 3.7 відповідно, сполука 5.2 впливала на лінії SN12C ($lgGI_{50}$ -5,14) та UO-31 ($lgGI_{50}$ -5,06), а 3.5 — лише на SN12C ($lgGI_{50}$ -5,02). При вивченні впливу на рак простати використано дві лінії клітин, причому максимальний ефект констатовано для 3.4 ($lgGI_{50}$ -4,91 та -5,11 для PC-3 та DU-145 відповідно). Серед ліній раку молочної залози найбільш чутливою виявилась MDA-MB-231/ATCC, особливо для сполук 3.5 ($lgGI_{50}$ -5,04), 3.7 ($lgGI_{50}$ -5,02) та 5.2 ($lgGI_{50}$ -5,16). Сполука 3.5 також помітно інгібувала ріст клітин MCF-7 ($lgGI_{50}$ -5,14).

Для встановлення імовірного механізму протиракової активності було проведено гнучкий докінг синтезованих сполук до ділянок можливого зв'язування макромолекулпотенційних біомішеней протиракової активності, до яких характерні афінітетом ліганди з близькою до 4-тіазолідонів структурою. Докінг проведено паралельно на 2 програмних пакетах: Glide [19, 20] та Fred [21], що використовують різні скорингові функції (функції оцінки зв'язування ліганду та біомішені). Тривимірна структура відповідних стереоізомерів досліджуваних речовин була оптимізована молекулярно-механічним силовим полем MMFF. Для кращого моделювання електростатичної взаємодії (ніж у MMFF) часткові заряди на атомах були обраховані за методом CHELP (виходячи з електростатичного потенціалу молекули) на рівні теорії HF/6-31G* для кожної сполуки (програма Gaussian 03) [24]. Отримані часткові заряди були присвоєні атомам, а структура сполук була повторно оптимізована силовим полем MMFF. Для докінгу з PDB були обрані мішені з наступними кодами: PPARγ-рецептор — коди 1FM6 та 1NYX; Bcl-X_L — BH3 білковий комплекс — 1BXL; тубулін — 1SA1. Тубулін був обраний однією з мішеней для докінгу, виходячи з відносно високих індексів подібності Танімото до ліганду тубуліну подофілотоксину. Для докінгу файли були одержані з PDB (www.rcsb.org/pdb) та підготовані за допомогою пакету Macromodel і відповідних утиліт pprep and impref. У результаті докінгу було одержано ряд значень скорингових функцій, які оцінюють якість

Таблиця 3

Одержані QSAR моделі протиракової активності

Змінна Y (тип раку / лінія чи група ліній клітин)	Рівняння регресії	Кількість змінних	N	r^2	S	F-val.	Q^2
$lgGI_{50}$ N-S CLC / NCI-H460)	Y = -0,228*LogP - 0,032* EM (1SA1)	2	13	0,95	0,08	95	0,92
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / HOP-92)	Y = -0,636*q_{max} + 0,006 *ZB (1SA1)	2	13	0,95	0,20	95	0,91
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / NCI-H322M)	Y = -0,507*LogP -18,598 *LUMO -0,046*ZB(1FM6)	3	10	0,96	0,05	48	0,91
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / NCI-H23)	Y = -0,382*LogP +8,606* HOMO -0,004*SG(1FM6)	3	10	0,97	0,06	65	0,94
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / NCI-H23)	Y = -0,245*LogP +9,502 *HOMO -0,112*GS(1FM6)	3	10	0,94	0,07	47	0,81
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / NCI-H460)	Y = -0,234*LogP +10,892 *LUMO -0,004*CG(1BXL)	3	13	0,93	0,07	40	0,86
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / NCI-H460)	Y = -0,289*LogP +5,244 *HOMO -0,004*SG(1BXL)	3	13	0,91	0,08	30	0,81
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / A549/ATCC)	Y = -0,131*LogP +0,006* TPSA +0,061*ZB(1BXL)	3	13	0,94	0,08	47	0,91
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / A549/ATCC)	Y = -0,003*MW +0,012* TPSA +0,052*ZB(1BXL)	3	13	0,93	0,09	40	0,86
$lgGI_{50}$ (N-S CLC / HOP-92)	Y = -0,106*LogP -0,01* TPSA +0,008*ZB(1SA1)	3	13	0,95	0,22	57	0,91
$lgGI_{50}$ (Colon Cancer/KM12)	Y = 13,996*LUMO -0,014* PLP (1NYX) +0,047*CS(1NYX)	3	13	0,93	0,07	40	0,84
$lgGI_{50}$ (Breast Cancer / BT-549)	Y = -0,628*LogP -29,483* LUMO -0,055*ZB(1FM6)	3	13	0,90	0,11	27	0,83
$lgGI_{50}$ (Breast Cancer / MCF7)	Y = 45,422*LUMO - 0,169*μ **0,042*ZB(1FM6)**	3	11	0,95	0,07	44	0,87
$lgGI_{50}$ (OC / OVCAR-4)	Y = 0,03*TPSA -0,13*μ +0,072*EM(1NYX)	3	10	0,96	0,06	48	0,90
$lgGI_{50}$ (OC / SK-OV-3)	Y = 0,012*MW -0,159*LogP + 0,01*CG(1SA1)	3	10	0,95	0,07	38	0,86
$lgGI_{50}$ (OC / середнє значення)	Y = -0,185*LogP+0,064*ZB (1BXL) -0,004*SG(1BXL)	3	13	0,93	0,07	40	0,86
$lgGI_{50}$ (OC / середнє значення)	Y = -0,393*LogP -23,257* LUMO -0,037* CS(1FM6)	3	13	0,93	0,07	40	0,86
$lgGI_{50}$ (Melanoma / SK-MEL-28)	Y = -0,353*LogP -16,209* LUMO -0,179*GS(1BXL)	3	12	0,95	0,07	51	0,89
$lgGI_{50}$ (Melanoma / SK-MEL-28)	Y = -0,407*LogP -13,418* LUMO -0,021*PLP(1FM6)	3	12	0,95	0,07	51	0,89
$lgGI_{50}$ (Melanoma / SK-MEL-28)	Y = -0,285*LogP +0,004* q_{max} -0,012*PLP(1FM6)	3	12	0,91	0,09	27	0,87

N-S CLC - Non-Small Cell Lung Cancer; OC - Ovarian Cancer; N – кількість сполук з навчальної вибірки, використана для побудови моделі; r – коефіцієнт кореляції; S – стандартне квадратичне відхилення; F-val. – ступінь достовірності; q – коефіцієнт перехресної валідації.

та енергію зв'язування лігандів з молекулою біомішені.

Одержання QSAR моделей

Метою QSAR дослідження було встановлення кореляції між протипухлинною цитотоксичністю та молекулярною структурою, властивостями і результатами докінгу через можливі мультиваріаційні лінійні моделі вигляду: активність = $\Sigma x_i a_i + b_i$, де x_i позначає молекулярний дескриптор. Як залежні показники активності були обрані значення $lgGI_{50}$ для кожної лінії клітин, середні значення наведеного параметра по кожному типу раку та середнє значення $lgGI_{50}$ по усіх тестованих лініях раку для досліджуваної сполуки. Моноваріаційний регресійний аналіз кореляції докінгових функцій з параметрами активності $lgGI_{50}$ давав незадовільні коефіцієнти кореляції r^2, (при цьому моделі включали переважно докінгові результати з PPARγ-рецептором та зв'язуючим сайтом білка Bcl-X_L). Тому був проведений пошук мультиваріаційних моделей, а для вдосконалення кореляції було вирішено включити у QSAR аналіз інші молекулярні дескриптори (табл. 2).

До навчальної вибірки віднесені сполуки 3.4-3.7, 3.10, 4.1, 4.3-4.6, 5.2 та дві активні сполуки з бази даних кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького: 5-(1Н-індол-3-ілметилен)-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатну кислоту ($lgGI_{50}$сер -4,07) та 4-оксифеніламід [3-(5-бензиліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-іл)-2,5-піролідиндіон-1-іл]оцтової кислоти ($lgGI_{50}$сер -4,56).

Для наведених сполук значення $lgGI_{50}$ істотно корелюють зі значеннями LogP та LUMO (r^2~0,5-0,9), середнє значення $lgGI_{50}$ по всіх тестованих лініях раку корелює з LogP при коефіцієнті кореляції r^r=0,75. У результаті QSAR аналізу одержано ряд моделей з двома та трьома змінними (табл. 3).

Порівняння докінгових функцій у модельному ряді вказує на найкращу кореляцію значень функцій Zapbind (програми Fred) та E-model (програма Glide). У встановлених моделях переважають значення LogP, LUMO, HOMO та рейтинги докінгу як до Bcl-X_L - BH3 білкового комплексу, PPARγ-рецептора, так і до білка тубуліну (табл. 3). Проте слід відзначити, що коли у моделі є присутня докінгова функція для Bcl-X_L-BH3 білкового комплексу, її частковий вклад у PLS модель є більш суттєвим, ніж у випадках докінгу до інших біомішеней. Таким чином, у результаті проведеного докінгу та QSAR аналізу висунуто гіпотезу, що найімовірнішим механізмом протиракової активності досліджуваного ряду сполук може бути зв'язування з білковим комплексом Bcl-X_L-BH3.

Експериментальна частина

Спектри ПМР знімались на приладі "Varian VXR-300", розчинник — DMSO-D_6, стандарт — тетраметилсилан. Температури плавлення речовин не виправлені. 5-Іліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатні кислоти 1.1.-1.4 синтезовані за відомим методом [25].

Диметиловий естер 5-фенілпропеніліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатної кислоти (2). У круглодонну колбу із зворотним холодильником поміщають 0,01 Моль сполуки 1.3 у 20 мл абсолютного етанолу і 3 мл концентрованої сульфатної кислоти. Реакційну суміш кип'ятять протягом 1 год і охолоджують. Утворений осад відфільтровують і перекристалізовують з бутанолу. Вихід — 80%, Т.пл. — 140-142°С. Знайдено, %: S — 16,45, N — 3,70. $C_{18}H_{17}NO_5S_2$. Вирахувано, %: S — 16,38, N — 3,58. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 2,86дд (J_{AB} = 16,4 Гц, J_{AX} = 5,8 Гц), 3,20-3,30м (2Н, CH_2), 3,64с, 3,69с (6Н, 2*CH_3), 5,95м (1Н, CH), 6,91дд (1Н, CH-<u>CH</u>=CH, J_{12}= 14,6 Гц, J_{23} = 10,9 Гц), 7,28д (1Н, Ph-<u>CH</u>), 7,51д (1Н, CH-CH=CH), 7,32-7,40м, 7,60м (5Н, C_6H_5).

Циклічні іміди 5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-сукцинатних кислот (3.1-3.11, 4.1-4.6, 5.1, 5.2). У круглодонну колбу із зворотним холодильником поміщають 0,01 Моль відповідної 5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-сукцинатної кислоти, 5 мл $SOCl_2$ і 15 мл безводного діоксану. Реакційну суміш кип'ятять протягом 1 год і охолоджують, продукт реакції осаджують гексаном. Утворений ангідрид відфільтровують і використовують для подальших перетворень без додаткового очищення.

Суміш 0,004 Моль відповідного ангідриду і 0,004 Моль відповідного ароматичного аміну або амінокислоти в 10 мл безводної оцтової кислоти кип'ятять протягом 3 год із зворотним холодильником. Продукт реакції відфільтровують після повного охолодження реакційної суміші. Перекристалізовують з відповідного розчинника.

Сполука 3.1. Вихід — 61%, Т.пл. — 157-158°С (AcOH). Знайдено, %: S — 13,40, N — 8,40. $C_{21}H_{12}F_4N_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 13,35, N — 8,53.

Сполука 3.2. Вихід — 75%, Т.пл. — 206-207°С (AcOH). Знайдено, %: S — 14,30, N — 6,20. $C_{20}H_{12}ClFN_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 14,35, N — 6,27.

Сполука 3.3. Вихід — 75%, Т.пл. — 205-207°С (AcOH). Знайдено, %: S — 14,90, N — 6,30. $C_{23}H_{18}N_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 14,76, N — 6,45. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 2,39с, 2,41с (3Н, CH_3), 3,00дд (J_{AB} = 16,8 Гц, J_{AX} = 6,0 Гц), 3,15-3,35м (2Н, CH_2), 5,90м, 6,25м (1Н, CH), 6,92-7,00м (1Н, CH=<u>CH</u>-CH), 7,17д, 7,18д, 7,24-7,32м, 7,32-7,42м, 7,54д, 7,60-7,66м (11Н, <u>C_6H_5CH</u>=CH=<u>CH</u>, 4-CH_3-<u>C_6H_4</u>).

Сполука 3.4. Вихід — 62%, Т.пл. — 225-227°С (толуол). Знайдено, %: S — 14,20, N — 6,10. $C_{22}H_{15}ClN_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 14,10, N — 6,16. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 3,02-3,38м (2Н, CH_2), 5,80м, 6,20м (1Н, CH), 7,00-7,10м, 7,25-7,50м, 7,50-7,57м, 7,63-7,70м (12Н, C_6H_5CH=CH=CH, 4-Cl-C_6H_4).

Сполука 3.5. Вихід — 32%, Т.пл. — 213-215°С (BuOH). Знайдено, %: S — 14,80, N — 6,30. $C_{22}H_{16}N_2O_4S_2$. Вирахувано, %: S — 14,69, N — 6,42. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 3,02дд (J_{AB} = 17,6 Гц, J_{AX} = 5,3 Гц), 3,13-3,35м (2Н, CH_2), 5,90м, 6,20м (1Н, CH), 6,80-6,90м, 7,00-7,10м, 7,30-7,43м, 7,55д, 7,63-7,70м (12Н, C_6H_5CH=CH=CH, 4-OH-<u>C_6H_4</u>), 9,57с, 9,60с (1Н, OH).

Сполука 3.6. Вихід — 32%, Т.пл. — 253-255°С (AcOH). Знайдено, %: S — 13,80, N — 6,20. $C_{23}H_{16}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 13,81, N — 6,03.

Сполука 3.7. Вихід — 30%, Т.пл. — 198-200°С (толуол). Знайдено, %: S — 12,80, N — 5,60. $C_{25}H_{20}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 13,02, N — 5,69.

Сполука 3.8. Вихід — 81%, Т.пл. — 211-212°С (толуол). Знайдено, %: S — 14,30, N — 6,10. $C_{23}H_{18}N_2O_4S_2$. Вирахувано, %: S — 14,23, N — 6,22. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 3,05дд (J_{AB} = 17,0 Гц, J_{AX} = 5,7 Гц), 3,14-3,35м (2Н, CH_2), 3,81с, 3,83с (3Н, OCH_3), 5,88м, 6,20м (1Н, CH), 7,00-7,22м, 7,36-7,44м, 7,56д, 7,64-7,70м (12Н, C_6H_5CH=CH=CH, 4-OCH_3-<u>C_6H_4</u>).

Сполука 3.9. Вихід — 82%, Т.пл. — 160-162°С (етилацетат-гексан). Знайдено, %: S — 13,25, N — 5,70. $C_{23}H_{15}F_3N_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 13,13, N — 5,73. Спектр ЯМР^{1}Н, δ, м.ч.: 3,00-3,35м (2Н, CH_2), 5,94м, 6,15м (1Н, CH), 7,00-7,10м (1Н,

CH=CH-CH=), 7,34-7,46м, 7,54д, 7,60-7,70м (11H, C_6H_5CH=CH=CH, 2-OCF_3-C_6H_4).

Сполука 3.10. Вихід — 80%, Т.пл. — >235°C (DMF-EtOH). Знайдено, %: S — 18,70, N — 8,00. $C_{23}H_{19}N_3O_5S_3$. Вирахувано, %: S — 18,73, N — 8,18.

Сполука 3.11. Вихід — 82%, Т.пл. — 227-229°C (DMF-EtOH). Знайдено, %: S — 12,60, N — 5,70. $C_{24}H_{17}F_3N_2O_3S_2$. Вирахувано, %: S — 12,76, N — 5,57.

Сполука 4.1. Вихід — 66%, Т.пл. — >250°C (AcOH). Знайдено, %: S — 16,10, N — 7,10. $C_{16}H_{11}FN_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 16,26, N — 7,10. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,11дд, 3,13-3,25м (2H, CH_2), 4,15дд (2H, NCH_2), 5,82м, 6,17м (1H, CH), 7,34т, 7,66-7,32м (4H, 4-F-C_6H_4), 7,81с, 7,92с (1H, CH=), 13,00шс (1H, COOH).

Сполука 4.2. Вихід — 27%, Т.пл. — >250°C (AcOH). Знайдено, %: S — 15,50, N — 6,90. $C_{16}H_{11}ClN_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 15,61, N — 6,82. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,00-3,25м (2H, CH_2), 4,14дд (2H, NCH_2), 5,83м, 6,16м (1H, CH), 7,57д, 7,64д, 7,65д (4H, 4-Cl-C_6H_4), 7,79с, 7,90с (1H, CH=), 13,01шс (1H, COOH).

Сполука 4.3. Вихід — 44%, Т.пл. — 254-255°C (BuOH). Знайдено, %: S — 15,70, N — 9,80. $C_{18}H_{14}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 15,93, N — 9,98.

Сполука 4.4. Вихід — 60%, Т.пл. — 215-218°C (BuOH). Знайдено, %: S — 15,20, N — 6,90. $C_{19}H_{16}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 15,40, N — 6,73. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 2,55м, 3,68м (4H, CH_2CH_2), 2,85дд (J_{AB}= 16,0 Гц, J_{AX} = 5,6 Гц), 3,01-3,15м (2H, CH_2), 5,71м, 6,05м (1H, CH), 6,97-7,08м (1H, CH-CH=CH), 7,34-7,40м, 7,52д, 7,62-7,71м (12H, C_6H_5CH-CH=CH), 12,30шс (1H, COOH).

Сполука 4.5. Вихід — 60%, Т.пл. — 215-218°C (BuOH). Знайдено, %: S — 15,10, N — 6,70 $C_{20}H_{18}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 14,90, N — 6,51. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 2,55м, 3,68м (4H, CH_2CH_2), 2,85дд (J_{AB}= 16,0 Гц, J_{AX} = 5,6 Гц), 3,01-3,15м (2H, CH_2), 5,71м, 6,05м (1H, CH), 6,97-7,08м (1H, CH-CH=CH), 7,34-7,40м, 7,52д, 7,62-7,71м (12H, C_6H_5CH-CH=CH), 12,30шс (1H, COOH).

Сполука 4.6. Вихід — 62%, Т.пл. — 172-174°C (BuOH). Знайдено, %: S — 14,70, N — 6,40. $C_{20}H_{18}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 14,90, N — 6,51. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 2,21с (3H, CH_3), 2,55м, 3,68м (4H, CH_2CH_2), 3,00-3,10м (2H, CH_2CH), 5,77м, 6,08м (1H, CH), 7,37-7,40м, 7,45-7,50м, 7,54с, 7,66с (7H, C_6H_5-CH=C(CH_3)-CH=), 12,47с (1H, COOH).

Сполука 5.1. Вихід — 60%, Т.пл. — >220°C (толуол). Знайдено, %: S — 11,90, N — 7,60. $C_{25}H_{18}ClN_3O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 11,88, N — 7,78. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,04-3,40м, 3,52м, 4,79м, 4,81м, 4,45м, 5,80м (6H, 2*$CHCH_2$), 6,98-7,10м, 7,20д, 7,32д, 7,48т, 7,85с (5H, C_6H_4, $CH_{індол}$), 7,56д, 7,63д (4H, 4-Cl-C_6H_4), 7,81с, 7,94с (1H, =CH), 10,76с (1H, NH), 13,00шс (1H, COOH).

Сполука 5.2. Вихід — 54%, Т.пл. — 243-245°C (толуол). Знайдено, %: S — 19,80, N — 6,00. $C_{22}H_{22}N_2O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 13,98, N — 6,11. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 0,94м (6H, 2*CH_3), 1,50-1,82м (2H, CH_2CH(CH_3)$_2$), 2,05м (1H, CH(CH_3)$_2$), 3,52м (6H, $(CH_2)_3$), 4,06м (1H, CHCOOH), 3,00-3,32м (2H, CH_2), 5,75м, 6,10м (1H, CH), 7,00-7,09м (1H, CH=CH=CH), 7,35-7,42м, 7,53д, 7,62-7,70м (12H, C_6H_5CH=CH=CH), 13,00шс (1H, COOH).

Аміди [3-(5-феніліпропеніліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-іл)-2,5- піролідиндіон-1-іл]оцтової кислоти (6.1-6.4). Суміш 0,022 Моль 4.3, 0,088 Моль тіонілхлориду та 20 мл толуолу нагрівають до розчинення, кип'ятять 20 хв. Після охолодження продукт осаджують гексаном. Осад відфільтровують, промивають гексаном, висушують.

До розчину 0,002 Моль одержаного хлорангідриду в 5 мл діоксану при інтенсивному перемішуванні додають розчин 0,002 Моль відповідного аміну та 0,002 Моль триетиламіну в 5 мл діоксану. Реакційну суміш нагрівають при 100°C протягом 10 хв. Після повного охолодження додають 30 мл води. Утворений осад відфільтровують та перекристалізовують з відповідного розчинника.

Сполука 6.1. Вихід — 81%, Т.пл. — >220°C (AcOH). Знайдено, %: S — 12,70, N — 8,00. $C_{24}H_{18}ClN_3O_4S_2$. Вирахувано, %: S — 12,52, N — 8,21. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,10дд (J_{AB} = 18,9 Гц, J_{AX} = 6,7 Гц), 3,20-3,40м (2H, CH_2), 4,48дд, 4,32дд (2H, NCH_2, J = 16,7 Гц), 5,81м, 6,18м (1H, CH), 7,06дд (1H, CH=CH-CH, J_{23} = 15,0 Гц, J_{12} = 11,7 Гц), 7,52д (1H, PhCH), 7,28-7,43м, 7,55-7,62м, 7,67-7,71м (10H, C_6H_5CH=CH=CH, 4-Cl-C_6H_4), 10,18с, 10,20с (1H, NH).

Сполука 6.2. Вихід — 78%, Т.пл. — >240°C (DMF-EtOH). Знайдено, %: S — 12,80, N — 8,30. $C_{24}H_{19}N_3O_5S_2$. Вирахувано, %: S — 12,99, N — 8,51. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,00дд (J_{AB} = 18,0 Гц, J_{AX} = 6,4 Гц), 3,15-3,28м (2H, CH_2), 4,22дд, 4,25дд (2H, NCH_2, J = 17,7 Гц), 5,80м, 6,19м (1H, CH), 6,80м, 6,85д, 7,25-7,40м, 7,50д, 7,60д (12H, C_6H_5CH=CH=CH, 4-OH-C_6H_4), 8,85с (1H, OH), 9,50с, 9,60с (1H, NH).

Сполука 6.3. Вихід — 85%, Т.пл. — >220°C (AcOH). Знайдено, %: S — 17,00, N — 10,00. $C_{24}H_{20}N_4O_6S_3$. Вирахувано, %: S — 17,28, N — 10,07. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 3,05дд (J_{AB} = 17,9 Гц, J_{AX} = 6,7 Гц), 3,18-3,31м (2H, CH_2), 4,30дд, 4,32дд (2H, NCH_2, J = 17,4 Гц), 5,85м, 6,20м (1H, CH), 6,85-7,05м, 7,30-7,45м, 7,50-7,65м, 7,70-7,80м (14H, C_6H_5CH=CH=CH, 4-SO_2NH_2-C_6H_4), 10,28с, 10,32с (1H, NH).

Сполука 6.4. Вихід — 90%, Т.пл. — 125-127°C (DMF-EtOH). Знайдено, %: S — 11,90, N — 7,90. $C_{25}H_{18}F_3N_3O_4S_2$. Вирахувано, %: S — 11,75, N — 7,70. Спектр ЯМР^{1}H, δ, м.ч.: 2,90-3,05м, 3,18-3,31м (2H, CH2), 4,26дд, 4,30дд (2H, NCH_2, J = 17,0 Гц), 5,85м, 6,20м (1H, CH), 6,85-6,96м, 7,25-7,65м, 7,75-7,85м, 7,90-8,00м (12H, C_6H_5CH=CH=CH, 3-CF_3-C_6H_4), 10,12с, 10,25с (1H, NH).

Висновки

1. Запропоновані методи синтезу циклічних імідів 5-іліденроданін-3-сукцинатних кислот, які

можуть бути використані як підходи до оптимізації структури біологічно активних сполук.

2. Встановлено протираковий потенціал синтезованих сполук та проведено обробку результатів кореляції "структура-активність" методами QSAR та молекулярного докінгу, що дозволило окреслити напрямки раціонального дизайну лікоподібних молекул та висунути гіпотезу про механізм антинеопластичної дії імідів 5-іліденроданін-3-сукцинатних кислот (зв'язування з комплексом Bcl-X_L-BH3).

Література

1. *Lesyk R., Zimenkovsky B. // Curr. Org. Chem. — 2004. — Vol.8, №16. — P. 1547-1578.*
2. *Kesel A.S., Sonnenbicher I., Polborn K. et al. // Bioorg. Med. Chem. — 1999. — №7. — P. 359-367.*
3. *Mei-Hsui Shih, Fang-Ying Ke // Bioorg. Med. Chem. — 2004. — №12. — P. 4633-4643.*
4. *Wen Jing Liu, Anca Bulgaru, Missak Haigentz et al. // Curr. Med. Chem. — 2003. — №3. — P. 217-223.*
5. *Degterev A., Lugovskoy A., Cardone M. et al. // Nature Cell Biology. — 2001. — №3. — P. 173-182.*
6. *Пат. США №US 20030119894 // C.A. — 2003. — Vol. 138. — 198590.*
7. *Коппин Б.П. // Биохимия. — 2000. — Т.65, вып.1. — С. 5-33.*
8. *Neil S. Cutshall, Christine O'Day, Marina Prerzhdo. // Bioorg. Med. Chem. Lett. — 2005. — №15. — P. 3374-3379.*
9. *Зенков Н.В., Ланкин Н.П., Меньшиков А.И. Окислительный стресс. — М.: МАИК, Наукаинтерпериодика, 2002. — 343 с.*
10. *Wlodek L., Wrobel M., Czubak J. // General Pharmacol.: The Vascular System. — 1996. — №27(8). — P. 1373-1376.*
11. *Ottana R., Carotti S., Maccari R. et al. // Bioorg. Med. Chem. — 2005. — №15. — P. 3930-3933.*
12. *Роман О.М., Лесик Р.Б., Нєктєгаєв І.О. // Фармац. журн. — 2002. — №5. — С. 47-51.*
13. *Зіменковський Б.С., Лесик Р.Б., Лук'янчук В.Д. та ін. // Фізіологічно активні речовини. — 2002. — №2. — С. 58-64.*
14. *Лесик Р.Б., Зіменковський Б.С., Камінський Д.В., Корабель І. // Зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. П.Л. Шупика. — 2003. — Вип. 12, кн. 2. — С. 805-811.*
15. *Роман О.М. Синтез, перетворення та властивості 3,5-дизаміщених 4-тіазолідонів: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. — Львів, 2003. — 20 с.*
16. *Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A. et al. // Cancer Res. — 1988. — №48. — C. 589-601.*
17. *Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. // Seminars in Oncology. — 1992. — Vol. 19, №6. — P. 622-638.*
18. *Boyd M.R., Paull K.D. // Drug Development Res. — 1995. — №34. — P. 91-109.*
19. *Maestro, Macromodel, Glide, Schrodinger L.L.C. — New York, 120 West 45th Street, NY 10036-4041, USA, 2003.*
20. *Friesner R.A., Banks J.L., Murphy R.B. et al. // J. Med. Chem. — 2004. — №47. — P. 1739-1749.*
21. *Omega, Fred, OpenEye Scientific Software, 3600 Cerrillos Rd., Suite 1107, Santa Fe, NM 87507, USA, 2005.*
22. *ChemDraw 6.0, CambridgeSoft Inc., 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140, USA., 2001.*
23. *JChem, ChemAxon, ChemAxon Ltd. Maramaros koz 3/a, Budapest, 1037, Hungary, 2005.*
24. *Gaussian 03, Gaussian, Inc., Carnegie Office Park, Building Six, Carnegie, PA 15106, USA, 2005.*
25. *Якубич В.Й., Федірко Я.М. // Фармац. журн. — 1982. — №5. — С. 58-60.*

Надійшла до редакції 27.12.2005 р.