

На правах рукописи



ГРИШИНА Мария Александровна

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АЗАГЕТЕРОЦИКЛОВ: АНАЛИЗ
РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ**

02.00.03 – Органическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург
2003

Работа выполнена в вузовско-академической лаборатории теоретических проблем органической химии ЧелГУ – ИОС УрО РАН

Научные руководители Кандидат химических наук, доцент
Потемкин В.А.

Кандидат химических наук, с.н.с.
Русинов Г.Л.

Официальные оппоненты доктор химических наук, профессор
Дьячков П.Н.

доктор химических наук, профессор
Салютин В.И.

Ведущая организация Институт физиологически активных веществ РАН,
г. Черноголовка

Защита состоится 15 декабря 2003 г. на заседании диссертационного совета Д 212.285.08 в Уральском государственном техническом университете, по адресу: ул. Мира 28, третий учебный корпус УГТУ, аудитория Х-420.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уральского государственного технического университета.

Ваш отзыв в одном экземпляре, заверенный гербовой печатью, просим направлять по адресу: 620002, Екатеринбург К-2, Уральский государственный технический университет, ученому секретарю совета института, тел. (3432)75-45-74.

Автореферат разослан «13» ноября 2003 г.

Ученый секретарь специализированного совета, с.н.с.,
кандидат химических наук,



Т.А. Поспелова

2003-A
18274

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Исследование путей синтеза соединений является важнейшей задачей органической химии. Однако выбор условий проведения реакции, того или иного реагента зачастую подбираются интуитивно и не всегда оптимальны. Поэтому для предсказания наилучших путей синтеза новых соединений необходимо развитие и создание новых подходов к оценке реакционной способности соединений с учетом реальных условий проведения синтеза (растворителя, среды, катализатора и т.д.). Важным направлением является синтез новых перспективных лекарственных средств, что требует теоретического изучения механизмов биологического действия соединений, выявления факторов, влияющих на этот процесс, создания и развития алгоритмов для анализа и прогноза биологической активности. Особый интерес вызывает теоретическое исследование реакционной способности и биологической активности азиновых гетероциклов, поскольку многие из них являются аналогами природных пуриновых оснований, что обеспечивает высокую биологическую активность значительного ряда данных соединений.

Цель работы. Развитие теоретических методов анализа и прогноза реакционной способности и биологической активности азотсодержащих гетероциклических соединений с учетом конформационного, таутомерного и протолитического состояния, а также возможности ассоциации.

Научная новизна. Разработаны алгоритмы для комплексного анализа реакционной способности в зависимости от конформационного и таутомерного состояния вещества, а также условий проведения синтеза (влияние катализатора, растворителя, протолитических свойств среды и т.д.). Это позволило определить и уточнить закономерности протекания реакций азиновых гетероциклов.

Разработан 3D-QSAR алгоритм BiS, позволяющий производить молекулярный докинг, оценку взаимодействий в системе "рецептор-лиганд" и количественный прогноз биологической активности с учетом конформационного и таутомерного состояния соединений. На основе данного алгоритма предложен новый метод направленного молекулярного дизайна перспективных лекарственных средств.

Практическая значимость работы. Результаты исследований могут быть использованы для прогноза путей направленного синтеза новых азотсодержащих гетероциклов с заданной биологической активностью.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 7 статей в центральной печати, 3 статьи в региональной печати, 17 тезисов докладов, представленных на международных и российских конференциях.



Апробация. Основные положения диссертации доложены на Молодежных научных школах по органической химии (Екатеринбург, 1999, 2000, 2002), 13th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (Germany, Dusseldorf, 2000), 2-ой и 3-й Всероссийских конференциях “Молекулярное моделирование” (Москва, 2001, 2003), XIV Семинаре по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул (Плещ, 2001), 33rd crystallographic course “From Genes to Drugs via Crystallography” (Italy, Erice, 2002), конференциях “Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины” (Москва, 2002, 2003), IX Российском национальном конгрессе “Человек и лекарство”(Москва, 2002), X и XI Симпозиумах по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул (Казань, 1999; Саратов, 2002), Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (Germany, Berlin, 2002), DPhg- Doktorandentagung (Germany, Dusseldorf, 2003), Fock School on computational and quantum chemistry (Novgorod, 2003), III Национальной кристаллохимической конференции (Черноголовка, 2003), IX International Seminar on Inclusion Compounds (ISIC-9) (Novosibirsk, 2003).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа общим объемом 223 страницы состоит из введения, четырех глав, выводов, списка используемой литературы, включающего 239 наименований. Диссертация содержит 35 таблиц, 81 рисунок, 7 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава посвящена критическому рассмотрению методов теоретического исследования реакционной способности соединений. Для оценки электрофильных и нуклеофильных свойств соединений, а также прогноза направлений атак используются методы квантовой химии. При этом очевидно, что на реакционную способность вещества оказывает влияние состав реакционной смеси (растворитель, катализатор, реагент, среда и т.д.). Учет влияния растворителя в рамках квантовых методов производится с использованием континуумного и полуконтинуумного подходов (модель Кирквуда-Онзагера, модель континуальной поляризуемости (PCM), методы точечных диполей и зарядов и т.д.). Однако применение данных моделей ограничено необходимостью включения ряда эмпирических параметров как растворителя, так и реагентов (диэлектрическая проницаемость, плотность, параметры потенциала ван-дер-ваальсовых взаимодействий и т.д.). Рассмотрение реакционной способности молекул производится, как правило, в конформациях, соответствующих глобальному минимуму полной энергии. Однако не вполне

очевидно, что данная конформация определяет свойства и реакционную способность соединения. Таким образом, важной задачей является развитие методов, а также созданис новых подходов, позволяющих оценивать влияние взаимодействий в реальной реакционной смеси с учетом конформационных и таутомерных состояний.

Для оценки биологической активности соединений используются различные варианты установления функциональных взаимосвязей структурных характеристик с активностью (регрессионные, полиномиальные, PLS-методы и др.), различные варианты классификации с использованием кластер-анализа, нейронных сетей, методов распознавания. Одной из наиболее известных систем является алгоритм PASS. Важным направлением исследований является создание и использование 3D QSAR методов (HASL, PARM, CoMFA), молекулярного докинга (AutoDock, FlexX), позволяющих оценивать взаимодействия в системе “рецептор-лиганд” или “модельный рецептор - лиганд”. Однако ряд методов не учитывает конформационную подвижность как рецептора, так и лекарственного средства, а также динамику их взаимодействия. Многие алгоритмы требуют априорного предположения ориентации молекулы в полости рецептора. Поэтому важным является создание комбинированного подхода, позволяющего решать данные проблемы.

Вторая глава посвящена описанию новых методов теоретического исследования реакционной способности. В п.п. 2.1 предложен алгоритм Mesh для определения структур ассоциатов молекул. Подход является модификацией методов Монте-Карло, позволяющей существенно снизить время расчетов за счет использования генетических алгоритмов оптимизации при поиске структуры, отвечающей минимуму потенциальной энергии. Для построения ассоциата двух молекул в алгоритме Mesh определяется расположение и ориентация второй молекулы относительно первой. Строение ассоциата задается в сферических координатах. Оптимизация по угловым ориентационным параметрам производится для ассоциата любой сложности в рамках генетических алгоритмов с последующей оптимизацией линейных параметров. Для каждого ассоциата i вычисляется доля (p_i) в веществе среди всех прочих структур:

$$p_i = \frac{\exp(-E_i / kT)}{\sum_{i=1}^M \exp(-E_i / kT)} \quad (1)$$

E_i – потенциальная энергия i -ой структуры.

Для проверки алгоритма использована выборка из 137 соединений различных классов (карбоновые кислоты, спирты, амины, алканы и т.д.). Примеры полученных

структур ассоциатов приведены на Рис.1. Показано, что расчетные энергии образования парных ассоциатов коррелируют с экспериментальными энтальпиями испарения (коэффициент корреляции $R=0.856$).

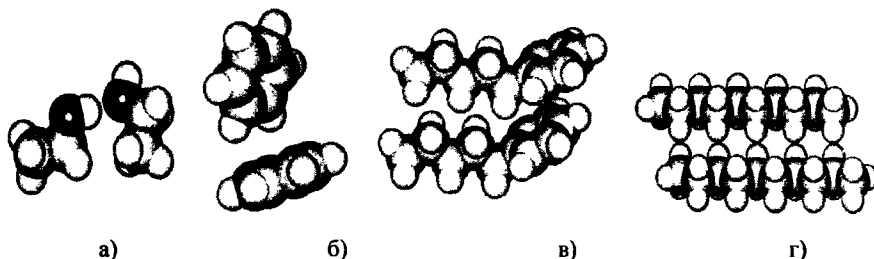


Рис. 1. Ассоциаты, полученные в алгоритме Mech: а) водородносвязанные димеры, наблюдаемые для карбоновых кислот, спиртов, аминов; б) и в) ассоциаты ароматических соединений с параллельным и ортогональным расположением плоскостей ароматических колец; г) ассоциаты *n*-алканов с параллельным расположением углеводородных цепей.

В п.п. 2.2 предложен метод ProK для прогноза кислотно-основных свойств соединений. Для описания величин pK_A и pK_B моделируется взаимодействие молекулы с совокупностью пробных зарядов (протонов и противоионов) на поверхности молекулы в рамках модели MERA (Потемкин В.А., Барташевич Е.В., Белик А.В., Журн. физ. химии, 1998, 72, 650 - 656). Энергия взаимодействия с каждым ионом (E_i), включающая кулоновскую и ван-дер-ваальсову составляющие, определяется по формуле:

$$E_i = \sum_{j=1}^N \left(-2U_{ij} \left(\frac{R_{ij}^c}{R_{ij}} \right)^6 + U_{ij} \left(\frac{R_{ij}^r}{R_{ij}} \right)^{12} + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 R_{ij}} \right) \quad (2)$$

N - число атомов молекулы, q_j - заряд атома j , R_{ij} - расстояние от точки i до атома j . Глубина минимума потенциальной энергии (U_{ij}) и равновесное расстояние контакта в потенциале Леннард-Джонса (R_{ij}^c) определяются в модели MERA

Полная энергия взаимодействия молекулы с совокупностью пробных зарядов равна:

$$E = \frac{\sum E_i \exp(-E_i / kT)}{\sum \exp(-E_i / kT)} \quad (3)$$

На примере выборки, включающей около 300 органических соединений разных классов (амины, спирты, аминокислоты, гетероциклические соединения и т.д.), показано, что pK_B коррелирует с величиной E ($R=0.873$).

В п.п.2.3 предложен алгоритм MultiGen, позволяющий рассматривать соединения во всем множестве конформаций. Алгоритм осуществляет поиск конформеров вдоль каждой моды гессиана в прямом и обратном направлениях в заданном энергетическом интервале. Вероятность обнаружения i -го конформера (p_i) определяется по формуле (1), в которой E_i – энергия i -го конформера. Свойство (A) вещества определяется как суперпозиция свойств конформеров (A_i):

$$A = \sum_{i=1}^K A_i \cdot p_i \quad (4)$$

Для проверки алгоритма произведено сопоставление расчетных свойств веществ с экспериментальными. Для выборки из 137 молекул (углеводороды, спирты, амины, кетоны, карбоновые кислоты, эфиры) показана корреляция экспериментальной и расчетной плотности ($R=0.9978$). То есть, учет конформационного многообразия позволяет значительно улучшить качество моделирования свойств соединений.

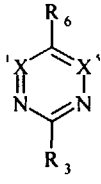
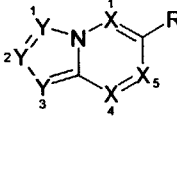
Таким образом, показано, что разработанные алгоритмы Mech, ProK, MultiGen позволяют оценивать значительный комплекс физико-химических свойств соединений и могут быть использованы для рассмотрения характеристик азагетероциклов.

Третья глава посвящена комплексному анализу реакционной способности азагетероциклов, содержащих 1 - 4 атома азота в кольце, а также их аннелированных производных с использованием как квантовохимических методов, так и методов, предложенных в данной работе. Рассмотрено более 200 соединений. Для оценки электрофильных свойств азинов произведены расчеты *ab initio* (STO-3G и MP2/6-31G(d,p)¹). Качество оценки электрофильных свойств азинов проверено при сопоставлении энергий НСМО с потенциалами восстановления (f), определенными в ацетонитриле, для выборки 35 соединений (схема 1). Обнаружено, что f линейно взаимосвязан с энергией НСМО ($R = 0.92$). Распределение электронной плотности коррелирует ($R=0.95$) с хим. сдвигами в ЯМР ¹³С.

Качество прогноза нуклеофильных свойств соединений, среди которых присутствуют важнейшие нуклеофилы (амины, спирты, С-нуклеофилы), проверено при сопоставлении потенциалов ионизации с энергиями ВЗМО, рассчитанными *ab initio* (STO-3G и MP2/6-31G(d,p)). Для выборки 130 соединений найдено, что потенциал ионизации коррелирует с энергией ВЗМО ($R = 0.87$).

Таким образом, энергии НСМО и ВЗМО адекватно описывают электрофильные

¹ Расчеты выполнены на кластере СКИФ Союзного Государства России и Белоруссии

	$X_1, X_5 = \text{CH}, \text{N}$ $R_3 = \text{N}_3, 4,5\text{-дикарбометокси-}1,2,3\text{-триазол-}1\text{-ил}, \text{SMc}, \text{NH}_2, \text{ДМП}^1, 4\text{-Cl-ДМП}, 4\text{-Br-ДМП}, \text{Ph}$ $R_6 = \text{NO}_2, \text{ДМП}, 4\text{-Cl-ДМП}, 4\text{-Br-ДМП}, \text{Ph}, \text{NH}_2, \text{NH-N=CH-Ph}, \text{H}$
	$X_1, X_4, X_5 = \text{CH}, \text{N}$ $R_6 = \text{NO}_2, \text{H}, \text{Br}, \text{Cl}, \text{морфолинил-}1, \text{ДМП}, 4\text{-Cl-ДМП}, 4\text{-Br-ДМП}$ $Y_1 = \text{N}, \text{CH}, \text{C-CH}_3, \text{C-Ph}, \text{C-SCH}_3$ $Y_2 = \text{N}, \text{CH}, \text{C-Ph}, \text{C-SCH}_3, \text{C-CF}_3$ $Y_3 = \text{N}, \text{CH}, \text{C-COOEt}$
Производные триазинона	8-Н-1,2,4-триазоло-[4,3- <i>b</i>]-1,2,4-триазин-7-он 2-Н-3-фенил-1,2,4-триазин-5-он 2-Н-3-этилмеркапто-1,2,4-триазин-5-он

и нуклеофильные свойства рассмотренных реагентов, и в случае орбитально контролируемых реакций распределение данных орбиталей должно выделять потенциальные реакционные центры соединений. Рассмотрение реакций азинов с нуклеофилами показало, что реакционными центрами действительно во многих случаях являются атомы с наибольшим распределением НСМО (для азинов выделены на схемах 2-7) и ВЗМО.

Рассмотрение энергий НСМО азинов показало, что с увеличением числа атомов азота в азиновом кольце происходит понижение энергии НСМО азинов, а значит усиление электрофильных свойств в ряду пиридины < диазины < триазины < тетразины. Значительное понижение энергии НСМО происходит при анелировании и введении таких электроноакцепторных заместителей, как нитро и циано-группы. Повышение реакционной способности гетероциклов возможно при протонировании или образовании четвертичной соли, приводящих к понижению энергии НСМО.

Для оценки влияния протонирования на реакционную способность азинов произведено рассмотрение потенциала (f_{H^+}), определенного в кислой среде (система ацетонитрил-трифторуксусная кислота) для 35 азинов (на схеме 1). Обнаружено, что f_{H^+} не коррелирует с энергией НСМО как молекулярных, так и протонированных форм соединений (Рис.2а). Причина отклонений заключается в различной степени протонирования азинов, которая определяется их основными свойствами. Учет величины pK_B азинов в рамках алгоритма ProK в совокупности с энергией НСМО

¹ ДМП – 3,5-диметилпиразол-1-ил

Схема 2.

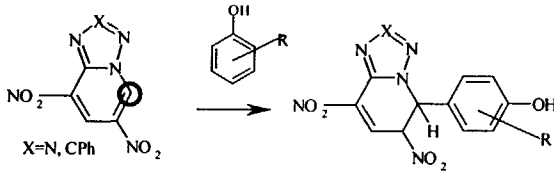


Схема 3.

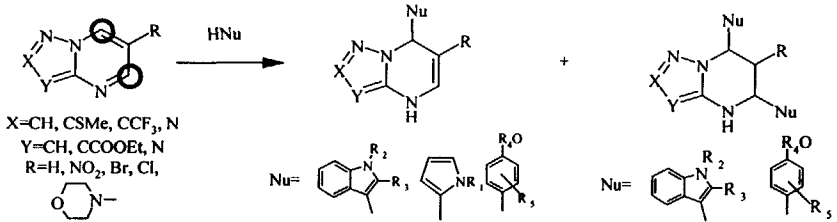


Схема 4.

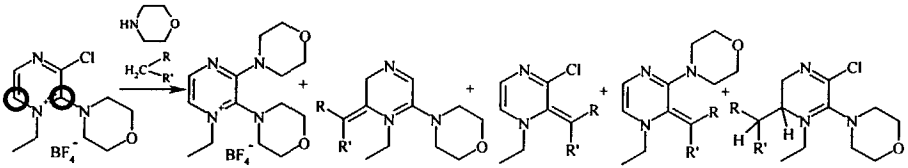


Схема 5.

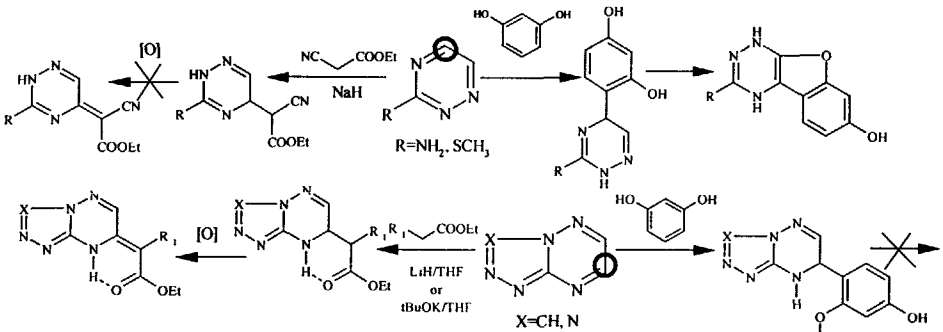
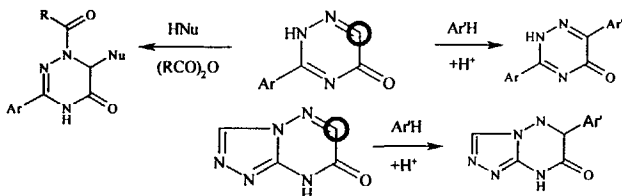
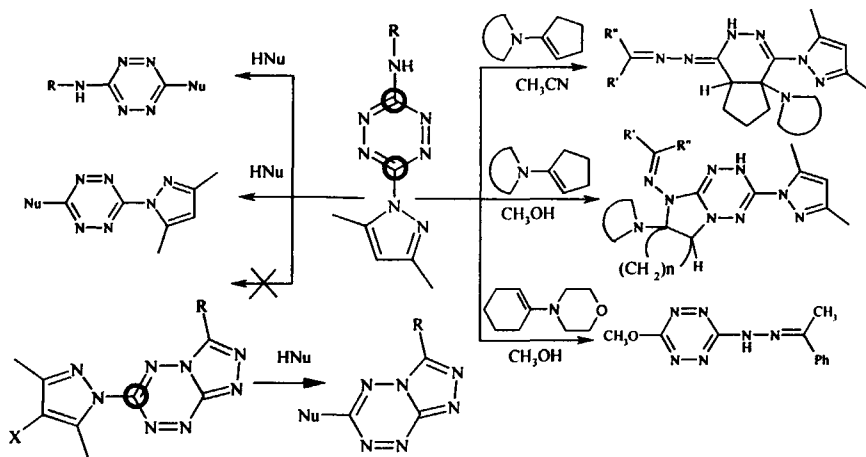


Схема 6.





позволяет сделать оценку величины потенциала f_{H^+} (Рис.26), а, следовательно, и реакционной способности соединений в кислой среде.

При рассмотрении реакций следует учитывать, что протонированию в кислой среде подвергается и нуклеофил. При этом происходит понижение энергии ВЗМО, а значит - ослабление нуклеофильных свойств. Очевидно, что активация кислотой является эффективной в случае большей основности азина, нежели основность нуклеофила. В ином случае может быть использована активация нуклеофила за счет проведения реакции в основной среде. Возможность учета кислотно-основных свойств азина и нуклеофила, предложенная в данной работе, позволяет определить эффективность кислотной или основной активации в процессе взаимодействия.

Таким образом, использование квантово-химических методов при учете кислотно-основных свойств реагентов по предложенному алгоритму ProK позволяет оценить влияние среды на электрофильные и нуклеофильные свойства азидов и нуклеофилов, производить оценку возможности протекания процессов в различных средах и прогнозировать эффективный способ активации. Произведен анализ реакционной способности отдельных классов гетероциклических систем с 1-4 атомами азота в кольце.

Рассмотрение реакционной способности производных пиридина показало, что вследствие низких электрофильных свойств протекание реакций пиридинов требует активации. Расчетные значения потенциала восстановления в кислой среде показывают малую эффективность активации большинства производных пиридина в

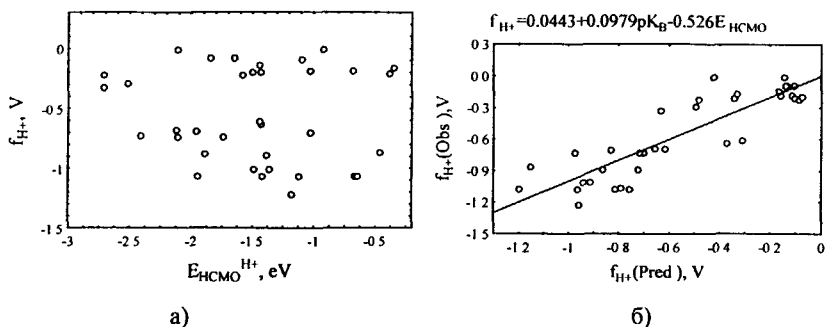
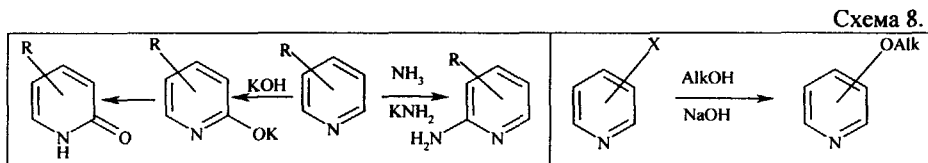


Рис.2. Зависимость потенциала восстановления в кислой среде E_{H^+} от: а) энергии НСМО ($E_{НСМО}$) протонированных форм азинов, б) энергии НСМО ($E_{НСМО}$) и pK_B азинов.

кислой среде. Более эффективной для реакций пиридинов с нуклеофилами является активация нуклеофила основанием. Действительно, многие реакции нуклеофильного замещения пиридинов протекают в основных средах (схема 8). Активация путем образования четвертичной аммониевой соли приводит к понижению энергии НСМО вплоть до отрицательных значений, и скорость реакции замещения хлора в хлорпиридинах на этоксигруппу максимальна для четвертичных солей (выделены на Рис.3а). Энергия и распределение НСМО на реакционном центре хорошо коррелируют с константой скорости процесса ($R=0.91$).



Расчетные характеристики показывают, что для диазинов в зависимости от характера заместителя и нуклеофила эффективными могут быть оба способа активации. В кислых средах возможно протекание реакций с С-нуклеофилами (индолами, фенолами, эфирами фенолов), нуклеофильные свойства которых мало изменяются при добавлении кислоты, зато в этом случае обеспечивается активация диазина. Действительно, реакции диазинов с С-нуклеофилами протекают в кислых средах, как показано на схеме 9 на примере производных пиримидина. В основных средах протекание реакций диазинов характерно со спиртами, алифатическими аминами (Схема10). Однако квантово-химические расчеты характеристик реагентов с учетом влияния кислотно-основных свойств в рамках алгоритма ProК показывают, что конкуренция в основных свойствах нуклеофила и азина может приводить к

понижению скорости реакции их взаимодействия. Обнаружено, что константа скорости реакции нуклеофильного замещения хлора на метокси-группу ряда хлорпроизводных пиридина и диазинов (Схема10) понижается с усилением основных свойств азидов и понижением электрофильности (Рис.3б).

Схема 9.

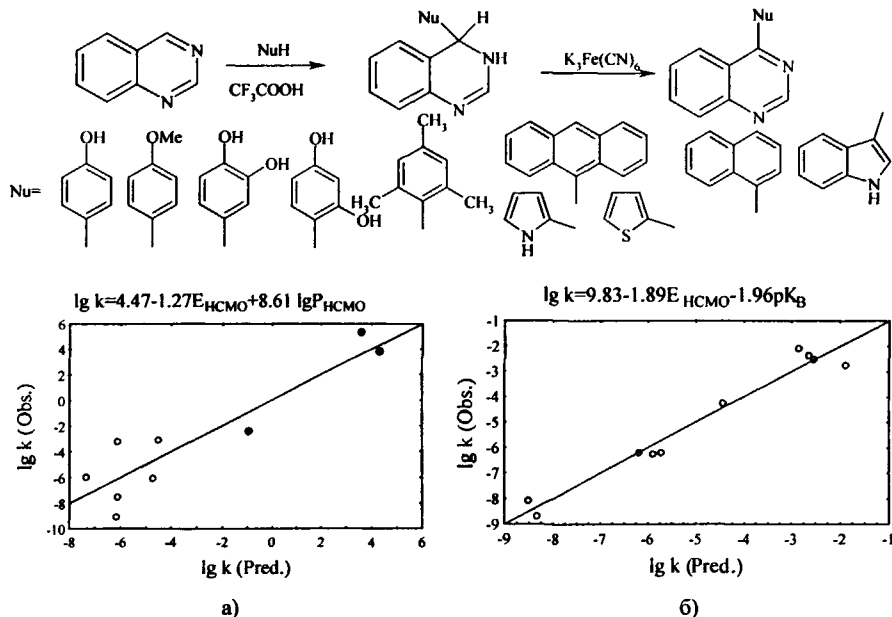
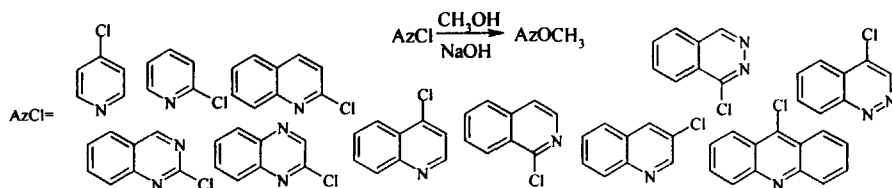


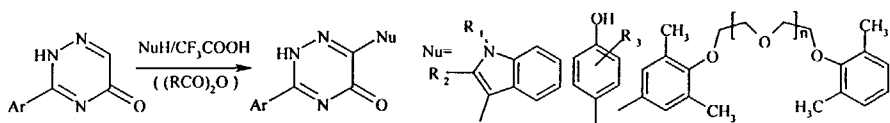
Рис.3. Расчетные и экспериментальные константы скоростей реакции замещения хлора: а) на этоксигруппу производных пиридина, б) на метоксигруппу производных пиридина и диазинов (Схема10)

Схема 10.



При рассмотрении производных триазина, для которых характерны более выраженные электрофильные свойства, чем для пиридинов и диазинов, в особую группу стоит выделить производные триазинона. Для данных соединений расчетные значения pK_A показывают возможность диссоциации по кислотному типу, поэтому

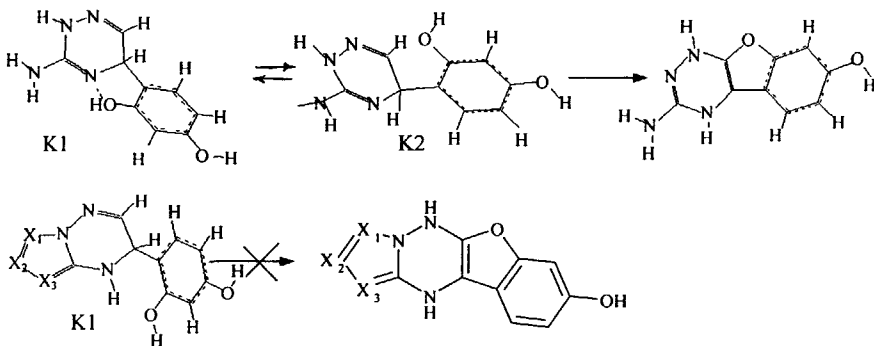
их реакции с нуклеофилами протекают, как правило, в кислых средах (CF_3COOH) или в присутствии ангидридов кислот ($\text{CF}_3\text{COOH} / (\text{RCO})_2\text{O}$):



Для остальных производных триазина и тетразина характерны достаточно низкие энергии НСМО, что предполагает высокую электрофильность данных соединений. Поэтому ряд реакций с ними не требует активации и протекает в нейтральных средах. Вследствие низкой энергии НСМО протекание реакций может лимитироваться не орбитальными характеристиками, а рядом других причин: конформационное состояние, стерические препятствия, строение комплекса “реагент-субстрат” и т.д.

Анализ таутомерного и конформационного состояния аддуктов реакции производных триазина с резорцином, выполненный в рамках алгоритма MultiGen, показывает, что более выгодными являются формы K1 аддуктов с внутримолекулярной водородной связью. Для неаннелированных аддуктов имеется возможность образования формы K2, удобной для внутримолекулярной циклизации. Более того, в данной форме происходит резкое возрастание энергии ВЗМО системы, что вызывает нуклеофильную атаку атома кислорода на реакционный центр (С6). Низкое значение энергии ВЗМО аннелированных аддуктов в любой конформации не дает возможности протекания аналогичного процесса.

Показано, что реакционная способность тетразинов во многом определяется способностью к ассоциации. Обнаружено, что направление, региоселективность и возможность протекания реакций в данном ряду зависят от структур ассоциатов



тетразинов с реагентом и растворителем. Моделирование комплексов тетразинов с реагентами в рамках алгоритма Mech показало возможность образования как водородносвязанных комплексов, так и π -комплексов (Рис.4), многие из которых зарегистрированы экспериментально (Рис.4в).

В случае первичных и вторичных аминов характерно образование водородносвязанных комплексов, что способствует замещению ДМП-группы. Для сенаминов и ряда других диенофилов характерно образование π -комплекса, что способствует протеканию реакции Карбони-Линдсея (Схема 7). В случае возможности образования нескольких близких по энергии комплексов реакция может протекать по нескольким направлениям. Тогда региоселективность процесса

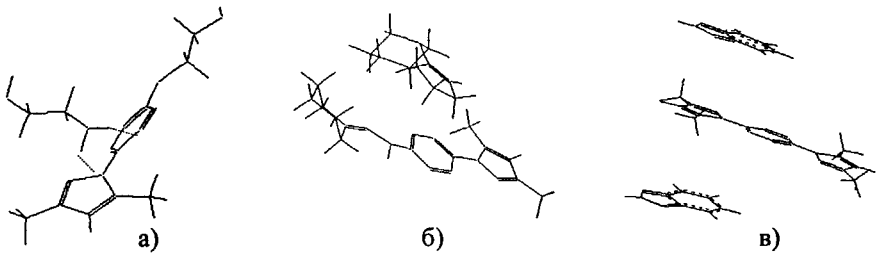
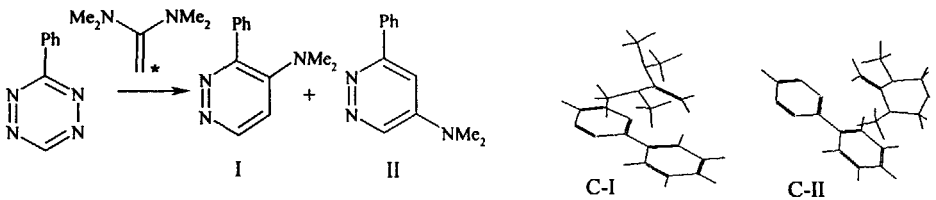


Рис.4. Структуры комплексов производных тетразина с аминами: а) водородносвязанный комплекс; б) и в) π -комплексы.

определяется как стабилизацией комплексов в данном растворителе, так и распределением орбиталей, которое также может изменяться под влиянием растворителя, что показано на примере реакции, приведенной на схеме 11. Соотношения продуктов I и II в зависимости от растворителя приведены в Таблице 1.

Схема 11.



Моделирование комплексов “субстрат-реагент” и “реагент-растворитель”, проведенное в рамках алгоритма Mech с учетом влияния растворителя, показало, что выход продукта I увеличивается с увеличением избытка спиновой плотности на

реакционном центре C^* сольватированного снанина (*ab initio* UHF STO-3G) и с понижением энергии стабилизации комплекса C-I, приводящего к образованию продукта I (Рис.5а).

Таблица 1.

Соотношения выходов продуктов I и II, энергии стабилизации комплекса C-I и значения спиновой плотности на атоме C^* снанина реакции, приведенной на схеме 11

Растворитель	I:II	$E_{\text{solv}}(C-I)$	Spin_{C^*}
н-Гексан	78:22	-13.16	1.190
Толуол	41:59	-13.28	1.191
Тетрагидрофуран	20:80	-14.01	1.1909
Метилацетат	14:86	-13.79	0.0002
Ацетон	7:93	-14.93	0.8236
Пиридин	4:96	-14.11	0.0007
Дихлорметан	3:97	-17.74	1.1898
Ацетонитрил	3:97	-16.90	0.7784

π -Комплексы, как правило, менее стабильны по сравнению с водородносвязанными комплексами, поэтому их образование определяется стабилизацией сольватным окружением. Так, константа скорости реакции, приведенной на Схеме 12, увеличивается с уменьшением энергии стабилизации π -комплекса "тетразин-реагент" сольватным окружением и понижением энергии НСМО β орбитали триплетного состояния тетразина (*ab initio* UHF STO-3G) (Рис.5б).

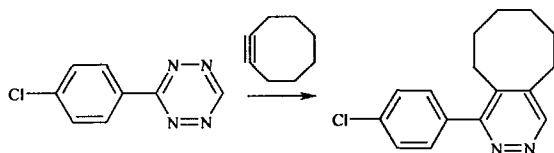
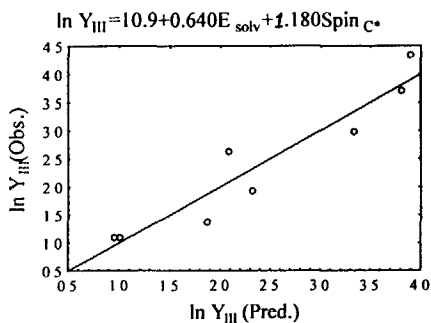
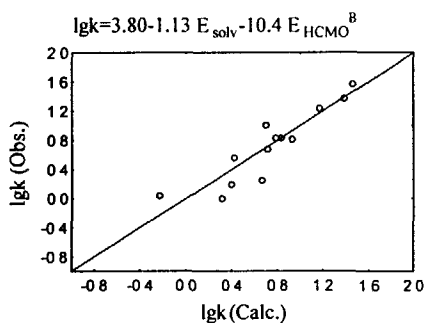


Схема 12.



а)



б)

Рис.5. Влияние растворителя: а) на соотношение выходов продуктов I и II (Схема 11); б) на скорость реакций Карбони-Линдсея (Схема 12).

Процессы образования комплексов “тетразин-реагент” и “тетразин-растворитель” в ряде случаев могут быть конкурирующими, что может приводить как к изменению реакционных центров в тетразине, так и протеканию реакции с растворителем. Протекание реакций тетразинов с енаминами в метаноле по направлению [3+2]-циклоприсоединения (Схема 7) объясняется возможностью взаимодействия енамина в метаноле с иминной формой тетразина. Данная форма является менее выгодной по сравнению с аминной, однако в протонном растворителе происходит стабилизация иминной формы за счет образования водородносвязанного комплекса с метанолом. Образование еще более прочного ассоциата с растворителем приводит к протеканию реакции с ним (например, замещение ДМП-группы на метоксигруппу), что показано на схеме 7.

Таким образом, проведен теоретический анализ реакционной способности азагетероциклов с использованием комбинации квантовохимических методов и методов, предложенных в данной работе. Выделены факторы, определяющие протекание реакций, что позволяет давать рекомендации к синтезу новых соединений, в том числе, перспективных лекарственных средств на основе рассмотренных гетероциклов. С целью направленного синтеза перспективных структур необходимо изучение механизмов действия известных препаратов. Для теоретического исследования биологической активности предложен алгоритм BiS.

В четвертой главе рассматривается новый 3D-QSAR алгоритм BiS для анализа биологической активности соединений. В основе алгоритма лежит предположение о комплементарности поля биологически активных соединений полю рецептора, на котором они осуществляют действие. Для определения поля молекул в алгоритме BiS используются потенциалы кулоновских и ван-дер-ваальсовых взаимодействий, наводимые на точку i поверхности молекулы. Кулоновский потенциал определяется из известного уравнения (5). Потенциал ван-дер-ваальсовых взаимодействий рассчитывается по аналогии с кулоновским по уравнению (6).

$$\varphi_i^q = \sum_{j=1}^N \frac{q_j}{R_{ij}} a \quad (5) \quad \varphi_i^{vdw} = -2 \sum_{j=1}^N U_j \frac{2^3 r_j^3}{R_{ij}^6} \quad (6)$$

r_j – ван-дер-ваальсов радиус атома j , определяемый в модели MERA, a – коэффициент пересчета в СИ.

Определение потенциалов поля производится для первой из молекул выборки. Из потенциалов рассчитываются характеристики псевдо-атома (пробной сферы) с центром в точке i (заряд q_i и радиус r_i), который обеспечивает максимальную

комплементарность рассматриваемой молекуле в данной точке поля:

$$q_i = -\frac{\varphi_i^q}{\sum_{j=1}^N \frac{k}{R_{ij}}}; \quad r_i = \sqrt[3]{\frac{\varphi_i^{VDW}}{-2^3 \sum_{j=1}^N \frac{2U_j r_j^3}{R_{ij}^6}}}$$

Набор пробных сфер является псевдо-атомной моделью рецептора.

В поле модельного рецептора производится оптимизация ориентации второй молекулы выборки до достижения максимума совокупной вероятности контакта (P) ее атомов со всеми точками модельного рецептора:

$$P = 1 - \prod_{i=1}^M (1 - p_i), \text{ где } p_i = \exp\left(-\frac{E_i}{RT}\right), E_i \text{ рассчитывается по соотношению (2).}$$

В найденной ориентации уточняются потенциалы поля рецептора путем добавки потенциалов второй молекулы ($\varphi_i^{q'}$ и $\varphi_i^{VDW'}$)

$\varphi_i^q = \varphi_i^q + \varphi_i^{q'}$; $\varphi_i^{VDW} = \varphi_i^{VDW} + \varphi_i^{VDW'}$ (φ_i^q и $\varphi_i^{VDW'}$ рассчитываются по формулам (5,6)).

Аналогичная процедура осуществляется для последующих молекул выборки. По окончании ориентации строится зависимость величины биологической активности соединения от энергий и сил взаимодействий модельного рецептора с молекулой.

В рамках алгоритма BiS произведен анализ 28 видов биологической активности соединений. Определено строение комплексов “модельный рецептор – лиганд”, найдены уравнения, позволяющие с высокой точностью описать величину активности соединений. Для каждого вида активности выделены фармакофорные части молекул, определяющие процесс биологического действия соединений.

Установление ориентации молекул в полости модельного рецептора по алгоритму BiS позволяет определить ориентацию молекул в реальном рецепторе. Данный подход проверен на выборках ДНК и ДНК/РНК-антиметаболитов, ингибиторов риновируса HRV14, термолизина, эластазы и киназ. Обнаружено, что расчетная ориентация хорошо согласуется с данными PCA и ее точность существенно превосходит имеющиеся аналоги, что на примере ингибиторов термолизина показано в таблице 2 (названия молекул соответствуют Protein Data Bank). При этом псевдо-атомы модельного рецептора соответствуют активным центрам реального рецептора, что показано на Рис.6 на примере ДНК-антиметаболитов.

Найдены уравнения зависимости биологической активности от параметров взаимодействия в реальном рецепторе. Активность ДНК-антиметаболитов ($pGI_{50\%}$) зависит от энергии стабилизации комплексов “молекула лекарственного средства - ДНК” водным окружением (E_{aq}) согласно уравнению $pGI_{50\%} = 2.26 - 0.073E_{aq}$.

Среднеквадратичные отклонения истинных и предсказанных координат атомов молекул (σ), максимальное смещение координат атомов (Δr_{MAX}), а также углы между главными осями вращения экспериментально определенной ориентации и предсказанной ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$) для ингибиторов термолитина (стандартом является **5tmn**).

Molecule	$\sigma, \text{Å}$	$\Delta r_{MAX}, \text{Å}$	$\alpha_1, ^\circ$	$\alpha_2, ^\circ$	$\alpha_3, ^\circ$	$\sigma^*, \text{Å}$	$\Delta r_{MAX}^*, \text{Å}$
1thl	0.87	1.93	2.2	1.8	1.8	0.83	1.43
1tmn	0.45	0.92	4.0	4.3	3.9	0.77	1.50
1tlp	0.80	1.71	6.0	4.4	6.6	0.54	0.75
5tln	1.26	2.25	7.7	2.5	7.6	7.33	11.14
4tmn	0.18	0.31	6.5	2.7	6.3	1.85	3.65
3tmn	0.94	1.66	5.0	5.0	3.2	0.79	1.19
5tmn	0.00	0.00	0.0	0.0	0.0	0.00	0.00
6tmn	0.01	0.02	0.1	0.1	0.1	0.12	0.16

Комплексное использование алгоритмов MultiGen и BiS позволяет производить мультиконформационный анализ биологической активности. На примере агонистов 5-HT_{1A} рецептора показано, что качество прогноза активности веществ с учетом конформационного состояния существенно превосходит результаты работ (*Guccione S. et al//J.Comput-Aided Mol. Design.-2000.-14.-p.647-657.*). Полученное уравнение имеет коэффициент корреляции 0.9958 по оценке “скользящий контроль”.

Важным результатом мультиконформационного рассмотрения является возможность определения высоко- и низкоактивных конформеров, установления

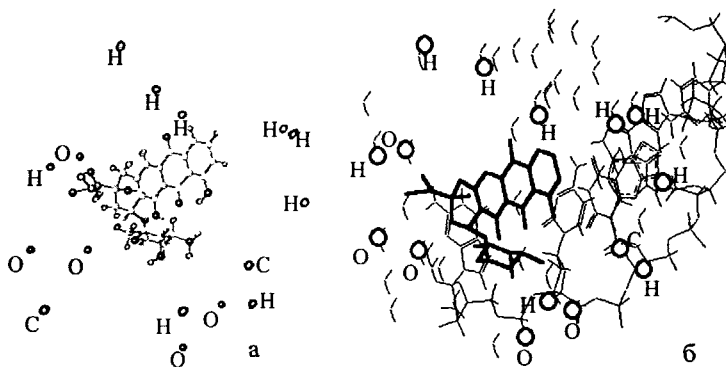


Рис. 6. Модельный рецептор (а) и активные центры фрагмента ДНК (выделены на рисунке б) на примере ДНК-антиметаболита **1d37**.

● атомы кислорода и азота. ○ атомы углерода, ○ атомы водорода

вклада каждого конформера в активность вещества в целом. На примере туберкулостатической активности подандов показано, что их биологическое действие определяет конформер с параллельным расположением ароматических систем, как это представлено на Рис.7. Такая геометрия молекул позволяет катионам металлов встраиваться в молекулярную полость, формируя с гетероатомами цепи (N, O, S и др.)

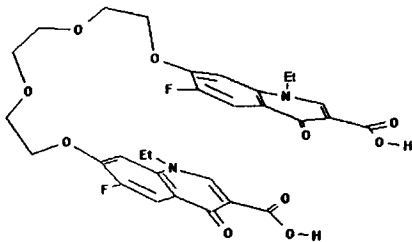


Рис. 7. Конформационное строение молекулы поданда.

донорно-акцепторные связи. Это согласуется с экспериментальными данными исследований структуры комплексных соединений подандов с катионами металлов. Данная особенность строения молекул подандов может играть важную роль при транспорте через липофильные каналы изнутриклеточного пространства бактерий

катионов меди и железа. Показано, что минимальная ингибирующая концентрации коррелирует с энергией взаимодействия в комплексе “рецептор-лиганд” ($R=0.973$).

Произведенный в рамках алгоритма ViS анализ биологической активности производных тетразина в отношении CDK4 показал их способность встраиваться в полость белка и хорошую взаимосвязь ($R=0.992$) ингибирующей концентрации (pIC) с параметрами взаимодействия в системе “рецептор-лиганд”. Кроме того, обнаружена зависимость активности от энергии НСМО данных соединений, что позволяет предположить, что механизм их биологического действия может включать стадию ковалентного связывания путем нуклеофильного замещения. При этом в комплексе с рецептором наблюдается отклонение ДМП-группы тетразина от плоскости тетразиновой системы, как это происходит в реакциях нуклеофильного замещения.

Анализ данных PCA комплексов циклин-зависимой киназы с известными лекарственными средствами показал, что активным центром рецептора в большинстве случаев является аминокислота лейцина 75, которая образует водородные связи с лекарственным средством (Рис.8). Для производных тетразина образование такого водородносвязанного комплекса действительно может приводить к реакции нуклеофильного замещения.

Анализ комплексов “модельный рецептор – лиганд”, полученных в рамках алгоритма ViS для антибактериальных средств ряда хинолона, показал, что высокоактивные соединения встраиваются в полость модельного рецептора хинолоновым атомом азота (Рис.9а). Конкурирующее влияние атома азота

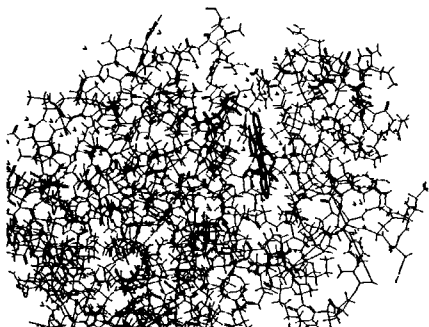


Рис.8. Ориентация молекулы лекарственного средства около остатка лейцина 75 циклин-зависимой киназы.

заместителя в положении 7 или стерически затрудняющий заместитель хинолонового азота приводит к невозможности встраивания молекулы в полость модельного рецептора и понижению активности (Рис 9б). Полученные закономерности дают возможность прогноза биологической активности новых соединений. Для направленного поиска перспективных

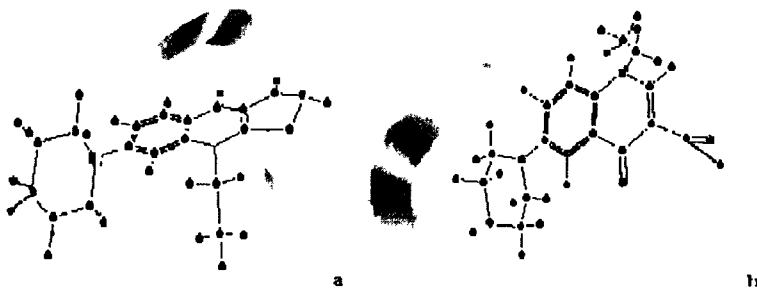


Рис. 9. Модельный комплекс производного хинолона с рецептором: а - для высокоактивных соединений; б - для низкоактивных соединений

лекарственных средств предложен алгоритм DesPot, осуществляющий генетическую вариацию топологических матриц смежности высокоактивных соединений с последующей оптимизацией геометрии полученных структур. Найденные структуры помещаются в полость модельного рецептора, полученного в рамках алгоритма BiS. Для них рассчитываются величины активностей. Для повышения надежности прогноза одновременно производится расчет биологической активности в рамках сеточных 3D QSAR методов, аналогичных известным алгоритмам HASL, PARM. Произведен прогноз новых перспективных лекарственных средств азинового ряда по 28 видам биологической активности.

Таким образом, использование предложенных в работе алгоритмов позволило количественно описать величины биологических активностей, определить строение

комплексов “рецептор – лиганд”, выделить факторы, ответственные за процесс биологического действия соединений, произвести прогноз новых перспективных лекарственных средств.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны методы Mech, ProK, MultiGen, позволяющие достоверно оценивать влияние среды, конформационного и таутомерного состояния, способности к ассоциации на реакционную способность органических соединений.
2. С использованием квантово-химических методов и методов, предложенных в данной работе, произведена оценка реакционной способности азотсодержащих гетероциклов и нуклеофилов.
 - установлены зависимости констант скоростей реакций производных пиридинов и диазинов от кислотно-основных свойств и орбитальных характеристик.
 - определена зависимость направления и возможности протекания реакций триазинов от конформационного, таутомерного состояния и орбитальных характеристик.
 - установлено влияние орбитальных характеристик и структур ассоциатов производных тетразина с реагентом и растворителем на региоселективность и скорость протекания процессов.
3. Предложен комбинированный 3D-QSAR алгоритм BiS, позволяющий производить количественную оценку биологической активности и молекулярный докинг соединений с учетом конформационной подвижности как молекул лекарственных средств, так и рецептора.
4. Произведен анализ биологического действия и прогноз перспективных лекарственных средств, включающих фрагменты азогетероциклов, по 28 видам биологической активности.

Основные содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Potemkin V.A., Bartashevich E.V., Grishina M.A., Guccione S. An Alternative Method for 3D-QSAR and the Alignment of Molecular Structures: BiS (Biological Substrate Search)// Rational Approaches to Drug Design. Proceedings of the 13th European Symp. on Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR 2000. Düsseldorf, Germany, 27 August-1 September, 2000.- Barcelona: Prous Science Publishers, 2001.- P. 349 – 353.
2. Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В., Чупахин О.Н. Исследование количественной взаимосвязи структура – антибактериальная активность производных хинолона// Хим.-фарм. журн.- 2002.- Т. 36.- № 1.- С. 22 – 25.

3. Барташевич Е.В., Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В. Метод мультиконформационного моделирования пространственной формы молекулы// Журн. структ. химии. –2002 - Т. 43.- № 6.- С. 1120 – 1127.
4. Гришина М.А., Барташевич Е.В., Потемкин В.А., Белик А.В. Генетический алгоритм для прогноза строения и свойств молекулярных агломератов в органических веществах// Журн.структ.химии.– 2002.- Т.43.- №6.- С. 1128 – 1133.
5. Потемкин В.А., Арсламбеков Р.М., Барташевич Е.В., Гришина М.А., Белик А.В., Перспикаче С., Гуччионе С. Мультиконформационный метод анализа биологической активности молекулярных структур// Журн. структ. химии.– 2002.- Т. 43.- № 6.- С. 1134 – 1138.
6. Mikuchina K., Potemkin V., Grishina M., Laufer S. 3D QSAR analysis and pharmacophore modelling of p38 MAP kinase inhibitors using BiS algorithm// Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.- 2002.- V. 335.- № 1.- P. C74.
7. Федорова О.В., Русинов Г.Л., Гришина М.А., Потемкин В.А., Овчинникова И.Г., Попова В.А., Жидовинова М.С., Чупахин О.Н. Синтез и исследование мембраноактивных противотуберкулезных препаратов/ В сб.: “Актуальные проблемы химии и технологии органических веществ. История, проблемы органического синтеза, перспективы” под ред. В.И. Салоутина, О.В. Федоровой.- Екатеринбург: УрО РАН, 2002.- С. 321 – 340.
8. Потемкин В.А., Гришина М.А., Федорова О.В., Русинов Г.Л., Овчинникова И.Г., Ишметова Р.И. Теоретическое исследование противотуберкулезной активности мембранотропных подандов// Хим.-фарм. журн.- 2003.- Т. 37.- № 9.- С. 24 – 28.
9. Потемкин В.А., Барташевич Е.В., Гришина М.А., Белик А.В., Зырянов Г.В., Русинов В.Л., Чупахин О.Н. Теоретическое исследование стереоспецифических процессов взаимодействия 3-фенил-1,2,4-триазин-5(4Н)-она с *l*-ментолом// Вестник Челябинского университета. Серия 4. Химия.- 2001.- N 1.- С. 64 - 72.
10. Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Теоретическое исследование реакций синтеза полициклических фторхинолонов// Вестник Челябинского университета. Серия 4. Химия.- 2001.- N 1.- С. 73 - 81.
11. Гладкощекова М.А., Потемкин В.А., Белик А.В. Теоретическая оценка антибактериального действия фторхинолонов// Молодежная научная школа по органической химии, Екатеринбург, 10-12 февраля 1999. Тез. Докл.- Екатеринбург, 1999.- С. 146.
12. Гришина М.А., Береснев Д.Г., Потемкин В.А., Белик А.В. Исследование реакций нуклеофильного присоединения фенолов к производным 1,2,4-триазина в

- растворах кислот// Молодежная научная школа по органической химии, Екатеринбург, 2-5 мая 2000.-Тез. Докл.- Екатеринбург, 2000.- С. 313.
13. Ициксон Н.А., Гришина М.А., Береснев Д.Г., Потемкин В.А. Взаимодействие азолоаннелированных 1,2,4-триазинов с СН-активными соединениями и квантово-химическое исследование окисления σ^H аддуктов// Молодежная научная школа по органической химии, Екатеринбург, 2-5 мая 2000.-Тез. Докл.-Екатеринбург, 2000.- С.314.
14. Potemkin V.A., Bartashevich E.V., Beccari A.R., Grishina M.A., Guccione S. An Alternative Method for 3D-QSAR and the Alignment of Molecular Structures: BiS (Biological Substrate Search)// 13th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships, Düsseldorf, Germany, 27 August-1 September, 2000.- Book of Abstracts.- Dusseldorf, 2000.- P. 110.
15. Гришина М.А., Потемкин В.А., Белик А.В. Новый метод прогноза направлений и энергий активации реакций в ангармоническом приближении// 2-я Всероссийская конф. “Молекулярное моделирование”, Москва, 24 – 26 апреля 2001. Тез. Докл.- Москва, 2001.- С. 63.
16. Потемкин В.А., Гришина М.А., Русинов Г.Л., Федорова О.В., Чупахин О.Н., Гуччионе С. Новый 3D-QSAR алгоритм BiS для моделирования ориентации и прилегания молекул к рецептору. Анализ противотуберкулезной активности подандов// 2-я Всероссийская конф. “Молекулярное моделирование”, Москва, 24– 26 апреля 2001. Тез.Докл.- Москва, 2001.- С.95.
17. Гришина М.А., Потемкин В.А., Барташевич Е.В., Ганебных И.Н. Теоретическое исследование реакций нуклеофильного замещения в 6-R-3-(3,5-диметилпиразол-1-ил)-S-тетразинах N-нуклеофилами// V Молодежная научная школа-конференция по органической химии, Екатеринбург, 22 – 26 апреля 2002. Тез. Докл.- Екатеринбург, 2002.- С. 146.
18. Ганебных И.Н., Гришина М.А., Ишметова Р.И. Теоретическое исследование реакций взаимодействия 3-гидразино-6-(3,5-диметилпиразол-1-ил)-1,2,4,5-тетразинов с енаминами// V Молодежная научная школа-конференция по органической химии, Екатеринбург, 22 – 26 апреля 2002. Тез. Докл.- Екатеринбург, 2002.- С. 130.
19. Погребной А.А., Рябинин В.Е., Барташевич Е.В., Гришина М.А. Прогноз возможности метаболизма веществ на изоформах цитохрома Р-450// Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины:

- Тез докл. Москва, 9-12 апреля 2002.- М.: Научный и учебный методический центр, 2002.- С. 40.
20. Гришина М.А., Потемкин В.А., Арсламбеков Р.М., Белик А.В. 3D QSAR метод мультиконформационного анализа биологической активности соединений// Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины: Тез докл. Москва, 9-12 апреля 2002.- М.: Научный и учебный методический центр, 2002.с.22-23.
21. Погребной А.А., Рябинин В.Е., Барташевич Е.В., Гришина М.А. Прогноз субстратной специфичности изоформ цитохрома Р-450// Человек и лекарство: Тез. докл. IX Российский национальный конгресс, Москва, 10-11 апреля 2002 г. - М.: Эхо, 2002. - С.678-679.
22. Grishina M.A., Potemkin V.A., Rusinov G.L., Bartashevich E.V., Guccione S., Perspicace S, Chupakhin O.N. Comparing a BiS (Biological Substrate Search) alignment of anticancer DNA and DNA/RNA antimetabolites into their active sites with .pdb co-crystals// "From Genes to Drugs via Crystallography", 33rd crystallographic course, Erice, Italy, 23 May – 2 June 2002.- Book of Abstracts.- Erice, 2002 - P. 48.
23. Гришина М.А., Потемкин В.А., Микушина К.М., Белик А.В. Мультиаутомерный анализ биологической активности в рамках алгоритма BiS// I Российская школа-конференция "Молекулярное моделирование в химии, биологии и медицине", Саратов, 18 – 20 сентября 2002.- Тез. докл.- Саратов, 2002.- С. 42 – 43.
24. Гришина М.А., Потемкин В.А., Русинов Г. Л., Слепухин П.А. Теоретическое исследование реакций нуклеофильного замещения солей 1-алкил-2-морфолил-3-хлорпиразиния С-нуклеофилами в присутствии оснований// 3-я Всероссийская конф. "Молекулярное моделирование", Москва, 15 – 17 апреля 2003. Тез. Докл.- Москва, 2003.- С. 59.
25. Потемкин В.А., Гришина М.А., Гуччионе С., Перспикаче С. Определение ориентации ДНК антиметаболитов в полости реального рецептора в рамках 3D QSAR метода BiS// 3-я Всероссийская конф. "Молекулярное моделирование", Москва, 15 – 17 апреля 2003. Тез. Докл.- Москва, 2003.- С. 100.
26. Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В. Моделирование комплексов "рецептор-лиганд" и сопоставление с данными рентгеноструктурного анализа// III Национальная кристаллохимическая конференция, Черноголовка, 19-23 мая 2003, Тез. Докл.- Черноголовка, 2003.-С.71-72.

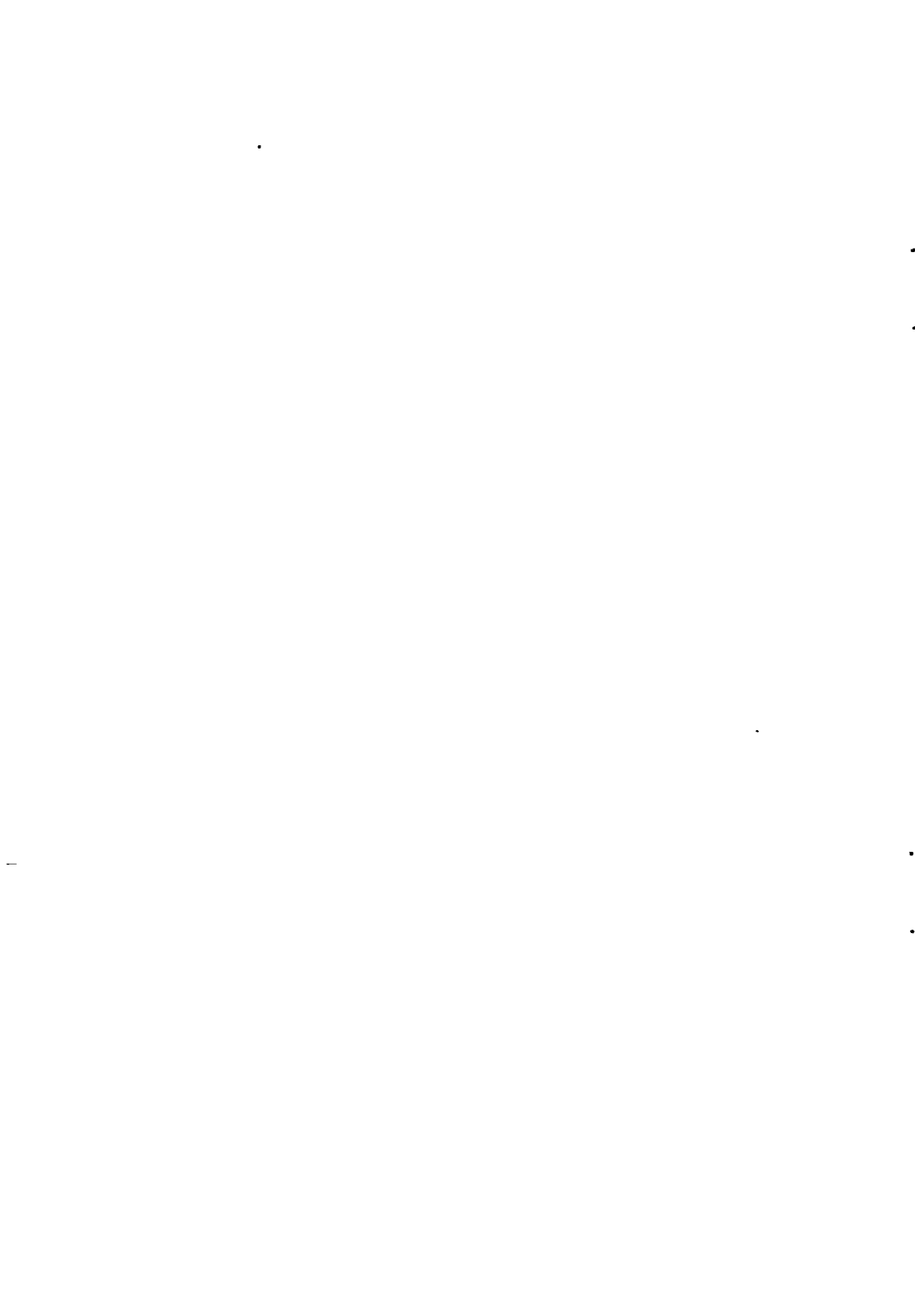
Подписано в печать 04.11.2003. Формат 60×84 1/16.

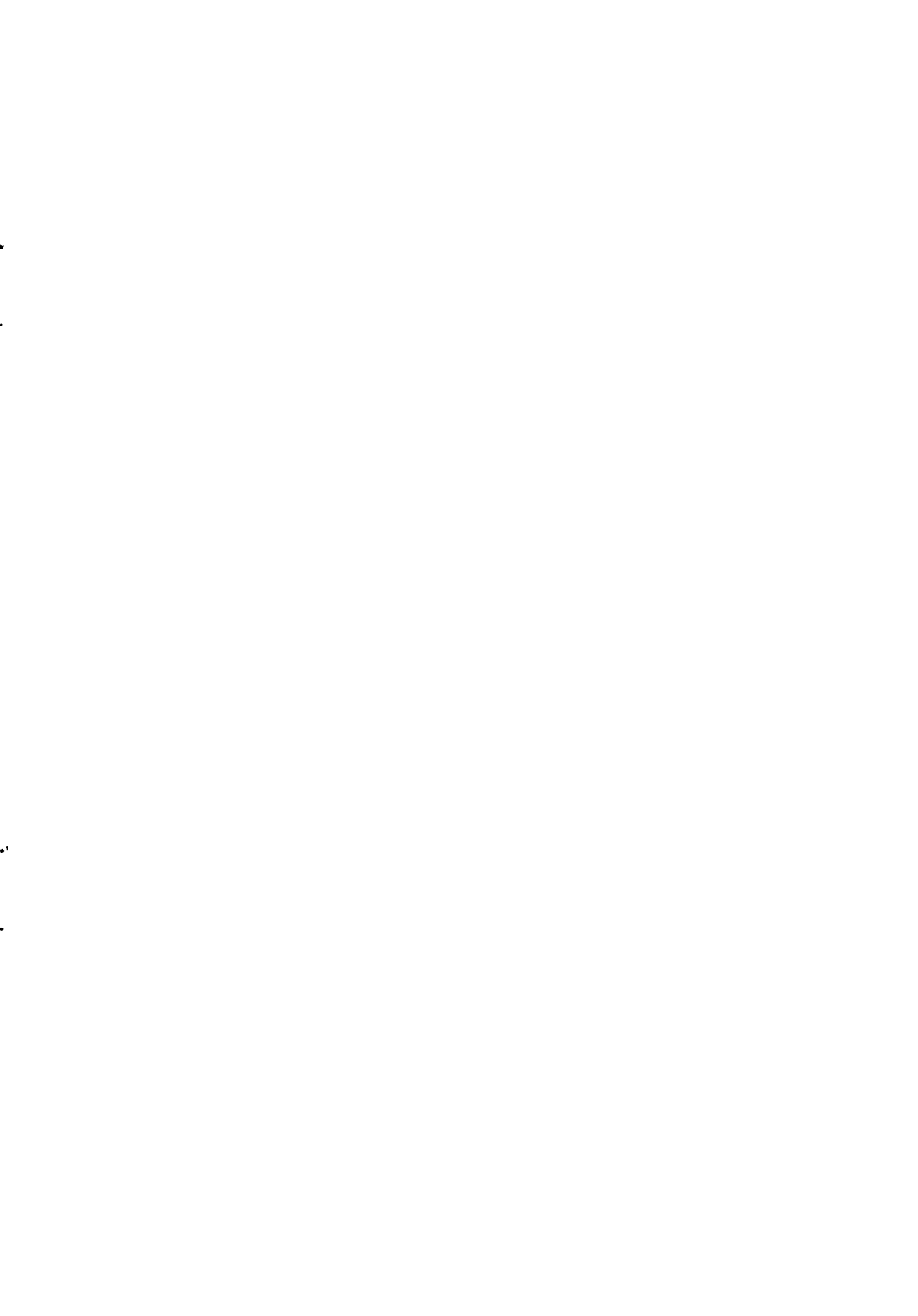
Усл. печ. л. 1.5. Тираж 120

Заказ № 33

Размножено с готового оригинал-макета в «Копи центре»

454000, г. Челябинск, пр. Ленина, 57-104.





2003-A

18274

№ 18274