

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ СТРУКТУРА - ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ В РЯДУ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ.

Н.В. ЛУКОЯНОВ, О.А. РАЕВСКИЙ.

Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка.

В работе показано, что представленный массив соединений является структурно неоднородным и может быть разделен по крайней мере на два кластера как по признакам химического строения, так и по фармакологическим свойствам. При этом, в случае первого кластера, получено два регрессионных уравнения, описывающих зависимость противосудорожной активности от поляризуемости соединений и пространственного расположения электронодонорных центров в молекуле. Для соединений второго кластера установлена статистически значимая зависимость противосудорожной активности от параметров, характеризующих пространственное расположение гидрофобных участков, а также способность электронодонорных центров молекулы к кооперативному взаимодействию с органическими или неорганическими катионами.

Ключевые слова: противосудорожная активность, зависимость структура - активность, макроциклические соединения

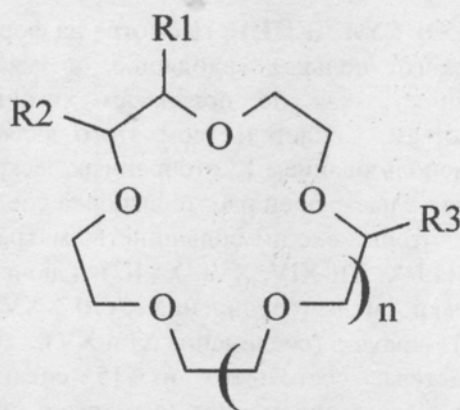
ВВЕДЕНИЕ. Известно, что макроциклические полиэфиры (краун-эфиры) обладают свойствами катионных переносчиков, что было продемонстрировано на различных мембранных системах, включая жидкостные мембраны [1], бислойные липидные [2] и клеточные [3] мембраны. Ионофорный механизм действия краун-эфиров и природных макроциклических антибиотиков лежит в основе их антибактериальной активности, проявляющейся также и в высокой, неспецифической цитотоксичности [4,5]. С другой стороны, имеются сведения о том, что многие краун-эфиры не только не оказывают ионофорных эффектов, но и способны потенциал-зависимо подавлять кальциевую [6], калиевую [7, 8] и натриевую [9] проводимость клеточных мембран. Многие краун-эфиры проявляют и необычные для ионофоров фармакологические свойства, включая антиаритмическое [10] и антиишемическое [11] действие, отрицательный инотропный эффект на мышечные ткани [12, 13], кардиопротекторную [14] и противораковую [6] активность. К сожалению, имеется исключительно мало публикаций о действии краун-эфиров на функции нервной системы. В одной из ранних токсикологических работ отмечалось, что хроническое введение 18-краун-6 крысам, мышам или кроликам вызывает возбуждение центральной нервной системы, выраженное в повышении агрессивности, гиперактивности, треморе и деградации некоторых рефлексов [14]. Имеются сведения о ноотропной активности краун-эфиров [15].

Мы ранее сообщали, что полиэфиры, обладающие высокой комплексообразующей и ионофорной способностью, вызывают у животных признаки возбуждения нервной системы,

в то время как слабоактивные комплексоны, имеющие, как правило, меньший размер цикла, проявляют седативную и противосудорожную активность [16, 17, 18].

Указанные выше данные свидетельствуют о том, что многие биологические и мембранные эффекты краун-эфиров не могут быть объяснены в рамках ионофорной теории и являются следствием реализации иных биофизических или биохимических механизмов. В то же время, остается неясным, является ли способность краун-эфиров кооперативно взаимодействовать с органическими и неорганическими катионами, основным условием реализации их фармакологических, в частности, противосудорожных свойств. В связи с вышеизложенным, в настоящей работе проведено дальнейшее исследование влияния структурных особенностей макроциклических полиэфиров на их противосудорожную активность с целью выявления основных фармакофорных фрагментов и составляющих их атомов в молекулах активных соединений.

МЕТОДИКА. В работе исследовано 25 новых макроциклических производных: моно- ди- и трициклопентил-12-краун-4 (соединения I-III), бензо-12-краун-4 (IV) и его производные с заместителями в бензольном кольце Br (V), NH₂ (VI), ацетил (VII), бензоил (VIII), фенилацетил (IX), m-оксиметил-бензоил (X), m-нитро-бензоил (XI) и третбутил (XII), бензоил (XIII), фенилацетил (XIV) и m-нитробензоил (XV) производные бензо-15-краун-5, дибензо18-краун-6 (XVI), дибензо-24-краун-8 (XVII), и ряд фосфорных производных 11-краун-4 (соединения XVIII, XIX) и бензо-11-краун-4 (XX-XXV) с алкильными и арильными заместителями при фосфоре. Общая структурная формула соединений приведена ниже (R = алкил, арил; n = 0 - 8):



Противосудорожные свойства полиэфиров оценивали в опытах на белых беспородных мышах, используя метод максимального электрошока (МЭШ). Подробное описание методики тестирования опубликовано ранее [16]. Активность соединений представляли в виде $\log(1/ED_{50})$, где ED_{50} - среднеэффективная противосудорожная доза, выраженная в молях на кг веса животного.

Все расчеты, связанные с определением пространственного строения соединений, их физико-химических свойств и зарядов на атомах, были выполнены с использованием методов молекулярной механики и квантовой химии (программный комплекс HyperChem-ChemPlus, версия 4.0, HyperCube Inc., Waterloo, Канада). Значения электронодонорных факторов рассчитаны с помощью программы HVBOT [19]. Данные о структуре соединений и свойствах атомов были представлены в виде спектров межатомных расстояний, отражающих пространственное расположение электронодонорных и акцепторных центров и заряженных атомов в молекуле. При этом в качестве дескрипторов использовали

соответствующие значения функций с интервалом 0.1 Å. Отдельно были рассчитаны значения функций для расстояний между положительно заряженными центрами, отрицательно заряженными центрами, между атомами, заряженными положительно и отрицательно, между донорами электронов, между акцепторами электронов и между донорами и акцепторами электронов. Для учета молекулярных свойств соединений были рассчитаны такие дескрипторы как logP, мольный объем, поляризуемость и другие. Методы расчета дескрипторов на основе использования спектров межатомных расстояний опубликованы ранее [20]. Всего для каждого соединения было рассчитано около 2000 дескрипторов, из которых было отобрано 17 не коррелирующих между собой переменных (коэффициент корреляции менее 0.7), включая квантово-химические параметры НОМО и НОМО-LUMO, параметры энергии гидратации, гидрофобности и поляризуемости молекулы, суммарное значение электронодонорных факторов в молекуле, значения функции распределения положительных зарядов в молекуле, расположенных на расстоянии 7.2 и 7.8 Å, значение функции распределения положительных и отрицательных зарядов в молекуле, расположенных на расстоянии 8.0 Å, значение функции распределения отрицательных зарядов в молекуле, расположенных на расстоянии 7.6 Å, значения функции распределения электронодонорных центров, расположенных на расстоянии 2.2, 3.1, 3.4, 3.6, 4.8, 5.0 и 8.0 Å. Полученный массив был подвергнут стандартным процедурам кластерного и регрессионного анализа с целью выявления корреляций между структурными дескрипторами и противосудорожной активностью. Расчет и отбор дескрипторов, построение спектров межатомных расстояний и статистический анализ проводили с помощью программного комплекса MOLTRA, разработанного в ИФАВ РАН [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Несмотря на формальное структурное сходство (наличие макроциклического кольца), входящие в массив соединения проявляют существенную неоднородность как по признакам химического строения, так и по фармакологическим свойствам. Свидетельством этого являются результаты кластерного анализа, выполненного с использованием 17 отобранных дескрипторов. Проведенный анализ показал, что представленная в настоящей работе выборка соединений может быть разделена на два кластера, в один из которых входит большинство макроциклов с размером полости 12 и более атомов (соединения I-X, XII-XIV, XVI, XVII, исключения - соединения XI, XV), а во второй - все 11-членные макроциклы (соединения XVIII-XXV) и нитробензоил-производные бензо-12-краун-4 и бензо-15-краун-5 (соединения XI и XV).

Для первого кластера, состоящего из 15 соединений, было получено два корреляционных уравнения следующего вида (см. также рис. 1А и табл. 1): поверхности возбудимых мембран, модулируя таким образом их физические свойства (поверхностный заряд, вязкость и т. п.). В оба уравнения вошли также параметры, отражающие электронодонорные свойства центров, расположенных на расстоянии 3.1 - 3.4 Å. Очевидно, что данные дескрипторы имеют прямое отношение к атомам кислорода этиленгликолевых фрагментов макроциклического кольца и характеризуют их способность к взаимодействию с катионами (см. рис. 3А). Последнее, в свою очередь, свидетельствует о том, что противосудорожные эффекты краун-эфиров в существенной степени зависят от их комплексообразующих свойств. Наконец, параметр CHNN7.6, представленный в уравнении (2) с отрицательным знаком, показывает, что наличие отрицательно заряженных центров, расположенных на расстоянии 7.6 Å, приводит к дополнительным, нежелательным для проявления противосудорожных свойств, взаимодействиям (существенно для дибензо-18-краун-6 и дибензо-24-краун-8, см. табл. 1).

Аналогичные уравнения получены нами и для второго кластера, состоящего из 10 соединений:

$$\log(1/ED_{50}) = 2.3(\pm 0.23) + 0.13(\pm 0.03) * \text{SUMCA} + 1.58(\pm 0.23) * \text{CHPP7.2} \quad (3)$$

$$N = 10 \quad R = 0.95 \quad SD = 0.13 \quad F = 30.6 \quad SDEP = 0.16$$

$$\log(1/ED_{50}) = 3.01(\pm 0.18) + 1.66(\pm 0.01) * CHPP7.2 + 0.07(\pm 0.02) * CA3.4 \quad (4)$$

$$N = 10 \quad R = 0.98 \quad SD = 0.08 \quad F = 84.8 \quad SDEP = 0.1,$$

где SUMCA - сумма значений электронодонорных факторов в молекуле, CHPP7.2 - значение функции распределения положительных зарядов, расположенных на расстоянии 7.2 Å. Значения дескрипторов, вошедших в регрессионные уравнения (3) и (4), представлены в таблице 2.

Таблица 1. Значения вошедших в регрессионные уравнения дескрипторов и параметра противосудорожной активности для соединений первого кластера. A_{calc} - противосудорожная активность, рассчитанная по уравнению (2); A_{exp} - соответствующие экспериментальные значения.

Соединение	POL	CHNN7.6	CA3.1	CA3.4	A_{calc}	A_{exp}
I	21.96	0.002	6.82	9.02	3.41	3.39
II	26.69	0.074	9.84	11	3.5	3.6
III	31.42	0.12	8.45	2.86	3.51	3.45
IV	23.22	0.0023	5.11	7.76	3.4	3.36
V	25.84	0.0023	5.05	7.78	3.57	3.61
VI	24.57	0.059	4.92	7.76	3.2	3.53
VII	26.97	0.054	5.3	8.1	3.39	3.05
VIII	34.8	0.086	5.48	7.91	3.74	3.76
IX	36.63	0.09	3.77	11.6	3.74	3.99
X	37.27	0.099	5.53	7.78	3.82	3.61
XII	30.56	0.072	5.24	7.97	3.52	3.42
XIII	39.11	0.14	14.6	13.1	4.2	4.08
XIV	40.94	0.083	14.3	13.2	4.6	4.71
XVI	37.82	0.13	3.15	1.54	3.61	3.59
XVII	46.44	0.25	12.3	6.3	4	4.05

$$\log(1/ED_{50}) = 1.98(\pm 0.29) + 0.038(\pm 0.0078) * POL + 0.059(\pm 0.018) * CA3.4 \quad (1)$$

$$N = 15 \quad R = 0.87 \quad SD = 0.21 \quad F = 17.8 \quad SDEP = 0.24$$

$$\log(1/ED_{50}) = 1.68(\pm 0.54) + 0.063(\pm 0.067) * POL - 5.03(\pm 0.06) * CHNN7.6 + 0.051(\pm 0.056) * CA3.1 \quad (2)$$

$N = 15 \quad R = 0.91 \quad SD = 0.19 \quad F = 16.5 \quad SDEP = 0.22$, где POL - поляризуемость молекулы;

Как следует из приведенных выше уравнений, противосудорожная активность соединений, включенных во второй кластер, может быть статистически достоверно описана с использованием только двух переменных (см. также рис. 2А и табл. 2). При этом, параметры SUMCA и CA3.4, как и в случае первого кластера, отражают электронодонорные свойства атомов кислорода макроциклического кольца, то есть их способность к кооперативному взаимодействию с органическими или неорганическими катионами (рис. 3В). Кроме этих переменных, регрессионные уравнения (3) и (4) включают параметр CHPP7.2, зависящий от наличия в молекуле положительно заряженных атомов, расположенных друг от друга на расстоянии 7.2 Å. Подробный анализ трехмерного строения соединений XI, XV, XVIII-XXV показывает, что в качестве таких центров, несущих частичный положительный заряд, могут выступать только атомы водорода алкильных и арильных фрагментов, расположенных с разных сторон от макроциклической полости. Иными словами, одним из основных фармакофорных признаков соединений данного ряда является наличие в молекуле по крайней мере двух фрагментов, способных к взаимодействию с гидрофобными участками

биологической мишени. Полученные результаты показывают также, что эти участки должны находиться на расстоянии около 7 Å друг от друга.

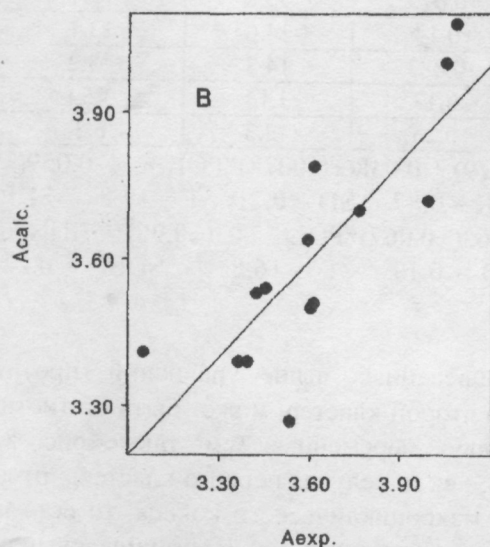
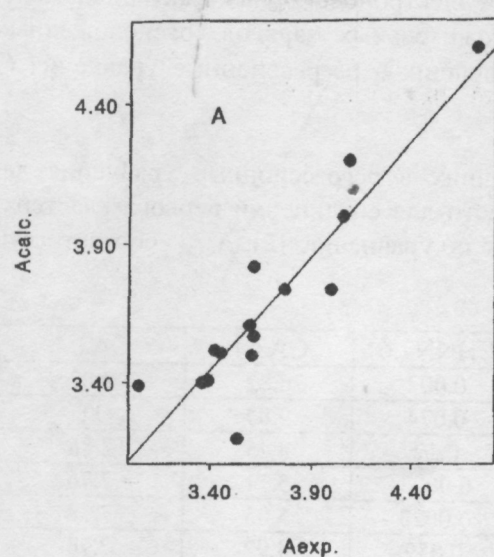


Рисунок 1.

График линейной зависимости между экспериментальными (A_{exp}) и расчетными (A_{calc}) значениями противосудорожной активности для соединений первого кластера. Значения противосудорожной активности рассчитывались с помощью уравнения (2) для всех 15-ти соединений, вошедших в первый кластер (А) и для 14-ти соединений, оставшихся после удаления соединения XIV (В).

В связи с тем, что значение противосудорожной активности соединения XIV существенно выше, чем у других веществ, вошедших в первый кластер (рис 1А, табл. 1), возникает вопрос, не вносит ли данное обстоятельство элемент случайности в полученные результаты.

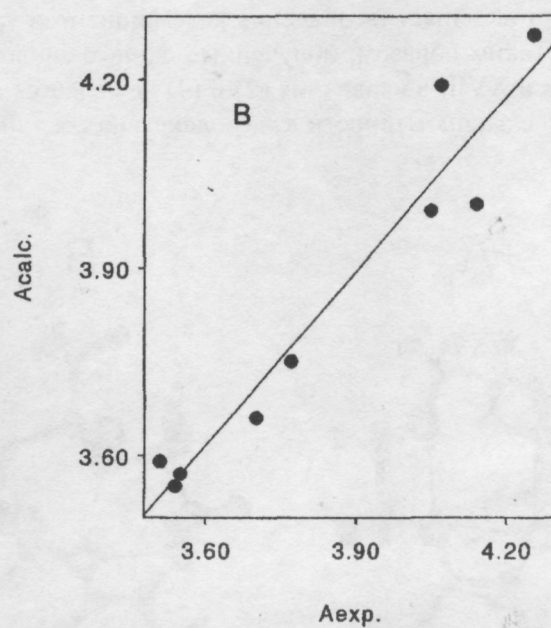
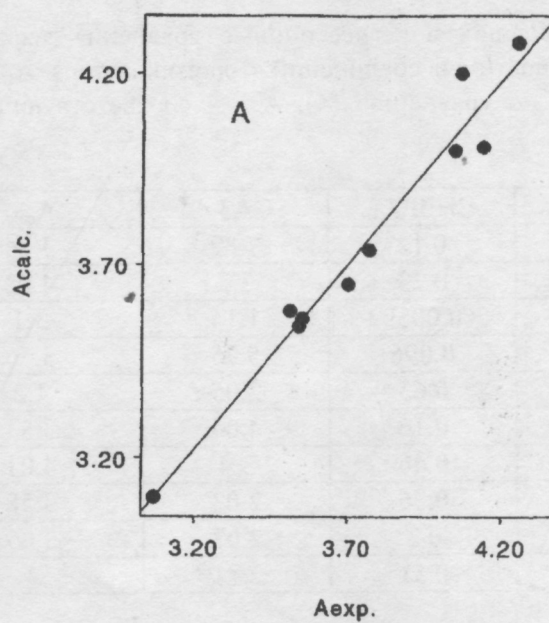


Рисунок 2.

График линейной зависимости между экспериментальными (A_{exp}) и расчетными (A_{calc}) значениями противосудорожной активности для соединений второго кластера. Значения противосудорожной активности рассчитывались с помощью уравнения (4) для всех 10-ти соединений, вошедших во второй кластер (A) и для 9-ти соединений, оставшихся после удаления соединения XVIII (B).

Таблица 2. Значения вошедших в регрессионные уравнения дескрипторов и параметра противосудорожной активности для соединений второго кластера. $A_{calc.}$ - противосудорожная активность, рассчитанная по уравнению (4); $A_{exp.}$ - соответствующие экспериментальные значения.

Соединение	SUMCA	CHPP7.2	CA3.4	$A_{calc.}$	$A_{exp.}$
XI	9.44	0.12	7.82	3.74	3.77
XV	11.26	0.23	13.23	4.28	4.25
XVIII	6.78	0.0059	1.14	3.1	3.07
XIX	7.53	0.096	5.75	3.56	3.55
XX	6.09	0.63	2.05	4.2	4.07
XXI	6.09	0.16	4.04	3.54	3.54
XXII	8.59	0.46	3.4	4.01	4.14
XXIII	6.61	0.26	2.03	3.58	3.51
XXIV	8.08	0.3	2.07	3.65	3.7
XXV	6.09	0.51	2.11	4	4.05

В случае второго кластера, активность одного из соединений (XVIII), наоборот, значительно ниже, чем у основной группы веществ (рис 2А, табл. 2). Исключение данного соединения из расчетов приводит к незначительному (до 0.96) снижению коэффициента корреляции уравнения (4) и не оказывает никакого влияния на значения SD и SDEP. Кроме того, уменьшение размеров обоих кластеров за счет исключения соединений XIV и XVIII, соответственно, практически не влияет на значения коэффициентов уравнений (2) и (4) (см. Также рис. 1В и рис. 2В). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что включение соединений XIV и XVIII в уравнения (2) и (4) не является случайным и отражает реальные физико-химические закономерности взаимодействия соединений данного класса с биологической мишенью.

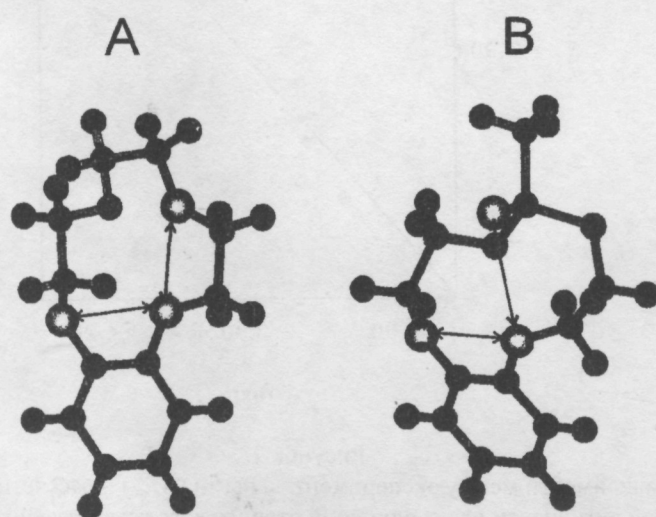


Рисунок 3.

Пространственное строение соединений IV (А) и XX (В), отражающее типичное расположение электронодонорных центров в молекулах соединений первого и второго кластеров, соответственно. Стрелками указаны атомы кислорода, расположенные друг от друга на расстоянии 3.1 -3.4 Å.

Расчет основных статистических параметров уравнения (2) после исключения данного соединения показал, что уменьшение выборки приводит к некоторому снижению коэффициента корреляции (с 0.91 до 0.84), но не оказывает влияния на значения SD и SDEP.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Представленный в работе массив соединений является структурно неоднородным и может быть разделен по крайней мере на два кластера как по признакам химического строения, так и по фармакологическим свойствам.
2. В случае первого кластера, получено два регрессионных уравнения, описывающих зависимость противосудорожной активности от поляризуемости соединений и пространственного расположения электронодонорных центров в молекуле.
3. Для соединений второго кластера установлена зависимость противосудорожной активности от параметров, характеризующих пространственное расположение гидрофобных участков, а также способность электронодонорных центров молекулы к кооперативному взаимодействию с органическими или неорганическими катионами.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Ванкин Г.И., Лукоянов Н.В., Галенко Т.Г., Раевский О.А. (1988) Хим.-Фарм. Журн. **22**, 8, 962-965.
2. Гурбанов К.Г., Паперно А.А., Лукьяненко Н.Г., Басок С.С. (1993) Экспер. Клин. Фармакол. **56**, No 5, 18-21.
3. Карасева Т.Л., Цепенко З.Н., Головенко Н.И. и др. (1988) Вопр. Мед. Химии. **34**, No 3, 81-84.
4. Лукоянов Н.В., Ванкин Г.И., Булгак И.И. (1989) Хим.-Фарм. Журн. **23**, No. 2, 198-201.
5. Лукоянов Н.В., Ванкин Г.И., Сапегин А.М., Раевский О.А. (1990) Хим.-Фарм. Журн. **24**, No. 1, 48-51.
6. Лукьяненко Н.Г., Богатский А.В., Савенко Т.А. и др. (1985) Биофизика. **30**, No 3, 427-430.
7. Мирходжаев У.З., Болдырев В.А., Ташмухамедова А.К. и др. (1989) Биофизика, **34**, 235-240.
8. Шевчук В.Г., Плиска А.И., Бидзилиа (1990) В.А. Физиол. Журн. СССР, **76**, 1321-1324.
9. Arhem P., Frankenhaeuser B., Kristbjarnarson H. (1982) Acta. Physiol. Scand., **114**, 593-600.
10. Bethge E.W., Bohuslavizki K.H., Hansel W. et al. (1991). Gen. Physiol. Biophys., **10**, 225-244.
11. Brown G.R., Foubister A.J. (1983). J. Med. Chem., **26**, 590-592.
12. Gad S.C., Conroy W.J., McKelvey J.A., Turney K.A. (1978) Drug. Chem. Toxicol., **1**, 339-353.
13. Harris E.J., Zaba B., Truter M.R. et al. (1977) Arch. Biochem. Biophys., **182**, 311-320.
14. Kolbeck R.C., Hendry L.B., Bransome E.D., Speir W.A. (1984) Experientia, **40**, 727-731.
15. Kolbeck R.C., La Neave C., Aguirre A. et al. (1992) Pharmacol. Biochem. Behav., **42**, 645-650.
16. Kristbjarnarson H., Arhem P. (1985). Acta. Physiol. Scand., **123**, 261-268.
17. Lamb J.D., Izatt R.M., Garrick D.G. et al. (1981) J. Membr. Sci., **9**, 83-107.
18. McLaughlin S.G.A., Szabo G., Ciani S., Eisenman G. (1972) J. Membr. Biol., **9**, 3-36.
19. Raevsky O.A. In: Computer-Assisted Lead Finding and Optimization (1997). (Eds. Waterbemd H. et al.) -Verlag, Basel. 410-419.

20. *Raevsky O.A. In: Computer-Assisted Lead Finding and Optimization. Current Tools for Medicinal Chemistry* (1997). (Eds. Waterbemd H. et al.) -Wiley VCH. 369-378.
21. *Raevsky O., Dolmatova L., Grigor'ev V. et al. In: QSAR and Molecular Modelling: Concepts, Computational Tools and Biological Applications.* (1996) (Eds. Sanz F. et al.) - Prous, Barselona. 241-245.
22. *Urban F.J., Chappel L.R., Girard A.E. et al.* (1990) *J. Med. Chem.*, **33**, 765-771.

STRUCTURE - ANTICONVULSANT ACTIVITY STUDY IN A SERIES OF MACROCYCLIC COMPOUNDS.

N.V. LUKOYANOV, O.A.RAEVSKY

Institute of Physiologically Active Compounds, Russian Academy of Sciences,
Chernogolovka, Moscow region.

In the present study we have further examined the influence of some structure parameters of macrocyclic polyethers upon their anticonvulsant activity in order to determine basic pharmacophore fragments. The anticonvulsant activity was studied experimentally for 25 new macrocyclic compounds, and their structure, physico-chemical properties, electron donor factors and atom charges were calculated using programs HyperChem-ChemPlus and HYBOT. The data about atomic properties were presented as a set functions of inter-atomic distances (Program MOLTRA). The cluster analysis revealed that studied compounds represent two independent groups which differ from chemical and pharmacological viewpoints. For first group, we have found that anticonvulsant activity of macrocycles is determined by their polarizability and spatial orientation of electron donor atoms. For another cluster the correlation was found between activity and spatial orientation of two hydrophobic fragments and electron donor atoms as well.

Key words: anticonvulsant activity, quantitative structure - activity relationship, macrocyclic compounds.