

Р. Б. Винницька¹, О. Т. Девіняк³, А. В. Лозинський², С. М. Голота²,
Г. О. Деркач¹, Я. І. Деяк³, Р. В. Куцик¹, Р. Б. Лесик²

¹ Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2. E-mail: vunnutskaya@gmail.com

² Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

³ ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна

Фармакофорна модель для скринінгу протистафілокової активності серед тiazолідинон-споріднених структур

Мета. Розробити фармакофорну модель, придатну для скринінгу протистафілокової активності серед похідних тiazолідинону, тiопірано[2,3-*d*]tiazолу, тiazоло[4,5-*b*]піридину.

Результати та їх обговорення. Найкраща фармакофорна модель у серії розроблених має планарну структуру і складається з ароматичного кільця (або циклу з π-зв'язками), гідрофобної області, проєкції донора водневого зв'язку та двох проєкцій акцептора водневого зв'язку. Її точність класифікації становить 72,4%. Лінія діаметра моделі утворена проєкцією донора та проєкцією акцептора водневого зв'язку, а її довжина дорівнює 8,05 Å. Під час аналізу узгоджених з фармакофорною моделлю конформацій активних сполук виявлено два різні способи просторового розміщення активних молекул, за яких повною мірою виконуються умови фармакофорної моделі.

Експериментальна частина. Протистафілокову активність визначали методом дифузії в агар щодо резистентного до метициліну штаму *Staphylococcus aureus* (MRSA) й оцінювали шляхом вимірювання діаметра зони інгібування мікробного зростання. Планшети інкубували протягом 24 год за 37 °С. Сполуки з діаметром затримки розмноження мікроорганізмів понад 7,5 мм вважали активними. Комп'ютерне оброблення результатів мікробіологічного експерименту та моделювання ймовірного фармакофора виконували в програмному середовищі MOE версії 2007.09. Геометрію сполук оптимізували методом молекулярної механіки з використанням силового поля MMFF94x. Точність класифікації використовували як основний критерій оцінювання якості фармакофорної моделі.

Висновки. Розроблену фармакофорну модель можна використовувати для віртуального скринінгу протистафілокової активності споріднених із навчальною вибіркою сполук. Під час застосування цієї моделі до бази даних протестованих нами сполук з'ясували, що фактор збагачення складає EF = 2,05.

Ключові слова: хемоінформатика; 4-тiazолідинони; фармакофорне моделювання; антибактеріальна активність

R. B. Vinnitska¹, O. T. Devinyak³, A. V. Lozynskyi², S. M. Holota², H. O. Derkach¹,
Ya. I. Deyak³, R. V. Kutsyk¹, R. B. Lesyk²

¹ Ivano-Frankivsk Medical University, Ukraine

² Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

³ Uzhhorod National University, Ukraine

The Pharmacophore Model for the Antistaphylococcal Activity Screening Among Thiazolidinone-Related Structures

Aim. To develop a pharmacophore model suitable for the antistaphylococcal activity screening among thiazolidinone, thiopyrano[2,3-*d*]thiazole and thiazolo[4,5-*b*]pyridine derivatives.

Results and discussion. The best pharmacophore model in the series of models developed has a planar structure and consists of an aromatic ring (or cycle with π-bonds), a hydrophobic region, a projection of a hydrogen bond donor and two projections of a hydrogen bond acceptor. Its classification accuracy is 72.4%. The diameter line of the model is formed by the projection of the hydrogen bond donor and the projection of the hydrogen bond acceptor, and its length is 8.05 Å. The analysis of conformations of active compounds consistent with the pharmacophore mode revealed two different ways of spatial arrangement of active molecules, in which the conditions of the pharmacophore model are fully met.

Experimental part. The antistaphylococcal activity was determined by the agar diffusion method against methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* (MRSA) and evaluated by measuring the diameter of the microbial growth inhibition zone. The plates were incubated for 24 h at 37 °C. Compounds with the growth inhibition diameter of more than 7.5 mm were considered to be active. Computer processing of the results of the microbiological experiment and modeling of the probable pharmacophore were performed in the MOE software environment version 2007.09. The geometry of the compounds was optimized by molecular mechanics using the MMFF94x force field. Accuracy of classification was used as the main quality criterion of the pharmacophore model.

Conclusions. The pharmacophore model developed can be used for virtual screening of the antistaphylococcal activity for the compounds similar to the training sample. When applying it to the in-home database of compounds the enrichment factor is EF = 2.05.

Key words: chemoinformatics; 4-thiazolidinones; pharmacophore modeling; antibacterial activity

4-Тіазолідинони та споріднені гетероциклічні сполуки є відомою групою біологічно активних сполук, що характеризуються фармакологічною різноманітністю і мають потенціал для спрямованого дизайну «лікоподібних молекул» [1, 2]. У ранніх роботах з тематики 4-тіазолідинонів як біологічно активних сполук досить часто зустрічаються дані про протимікробну дію, яку науковці переважно обґрунтовували спільними структурними фрагментами (тіазолідинове кільце) з пеніцилінами [3, 4]. Сучасні дослідження дещо змінили цей погляд. Так, недавно виявлено, що 4-тіазолідинони й особливо їх 5-ен-похідні є високоселективними інгібіторами UDP-MurNAc/L-Ala лігази [5] і впливають на процес формування бактерійної стінки грам-позитивних метицилін-резистентних штамів *Staphylococcus aureus* (MRSA). Представники зазначеного класу гетероциклів також пригнічують два останні етапи біосинтезу пептидоглікану – основного компонента клітинної стінки мікроорганізмів, що спричиняє лізис бактерій, які діляться. Похідні 5-гетериліден-2,4-тіазолідиндіонів є конкурентними інгібіторами рекомбінантних бактеріальних ариламін-*N*-ацетилтрансфераз (NATS), що особливо важливо для пошуку інноваційних антимікобактеріальних агентів [6]. Високу здатність інгібувати UDP-галактопіранозо-мутази (UGM) виявлено серед 4-тіазолідинон-3-алканкарбонових кислот та 2-іміно-4-тіазолідинонів. UGM – фермент, який має суттєве значення для життєздатності мікобактерій і не зустрічається у людей, що робить його важливою терапевтичною мішенню [7, 8].

З огляду на наведені вище аргументи, з метою пошуку потенційних «сполук-хітів» як об'єктів для наступної структурної модифікації проведено скринінг протимікробної активності 59 сполук, похідних 4-тіазолідинонів [9] та споріднених гетероциклів на їх основі (тіопірано[2,3-*d*]тіазолів [10], тіазоло[4,5-*b*]піридинів [11]). Ця кількість експериментальних даних дозволяє застосувати методи комп'ютерної хімії для отримання попередніх гіпотез про механізми протимікробної активності, структурні вимоги до активних сполук, а також розробити моделі для подальшого віртуального скринінгу. Раніше віртуальний скринінг дозволив виявити широкий клас похідних роданіну, здатних інгібувати зростання мікроорганізмів через механізм блокування ферменту пептиддеформілази [12]. QSAR-моделювання протимікробної активності сполук 4-тіазолідинонового ряду є поширеним методом *in silico* оброблення експериментальних даних, однак результати огляду [13] припускають, що зі збільшенням розміру навчальної вибірки точність таких моделей поступово зни-

жується. З іншого боку, розробка фармакофорних моделей як альтернативний метод у парадигмі ліганд-орієнтованого підходу дозволяє досягти прийнятної точності навіть у разі великих вибірок [14]. Тому отримані нами експериментальні дані лягли в основу дизайну фармакофорної моделі потенційних протимікробних агентів для тіазолідинон-споріднених гетероциклічних похідних.

Матеріали та методи

Антимікробну активність синтезованих сполук вивчали за допомогою методу дифузії в агар [9, 10] щодо резистентного до метициліну штаму *Staphylococcus aureus* (MRSA) й оцінювали шляхом вимірювання діаметра зони інгібування мікробного зростання. Планшети інкубували протягом 24 год за 37°C. Кожен дослід проводили тричі, відповідний результат розраховували як середнє арифметичне. Дослідження виконували на штамі мікроорганізму, виділеного від амбулаторного пацієнта в бактеріологічній лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету.

Для ідентифікації можливих фармакофорів, відповідальних за прояв протимікробної активності досліджуваних сполук щодо *S. aureus* (MRSA), використовували спеціальну процедуру фармакофорного пошуку, імплементовану в програмі MOE версії 2007.09 [15]. Для цього створено базу даних речовин з наявними як позитивними, так і негативними результатами мікробіологічного тестування. Тривимірну геометрію сполук обчислювали методом молекулярної механіки з використанням силового поля MMFF94x. Оптимізацію геометрії здійснювали до досягнення градієнтом RMS значення 0,001. Наступним кроком була генерація бази конформерів методом стохастичного пошуку. Конформери з внутрішньою енергією, що більш ніж на 7 ккал/моль перевищувала внутрішню енергію оптимальної структури, видаляли як енергетично невигідні. У конформерах маркували позиції фармакофорно значущих компонентів – ароматичних кілець, π-зв'язків, гідрофобних груп, донорів і акцепторів водневого зв'язку та їх відповідних просторових проєкцій. У подальшому комп'ютерний алгоритм підбирав таку комбінацію з фармакофорно значущих компонентів, присутність якої якомога точніше розділяла б активні щодо пригнічення зростання MRSA та неактивні сполуки. Крім точності моделі, розраховували також показник ступеня перекриття активних молекул. Що вище значення ступеня перекриття, то більша ймовірність спільного механізму дії сполук, що виявляють антибактеріальну активність. Відповідно до результатів попередніх мікробіологічних дослі-

джені, активною вважали ту сполуку, під час випробування якої діаметр зони інгібування зростання становив понад 7,5 мм.

Результати та їх обговорення

Для побудови фармакофорної моделі використовували дані біологічної активності 59 сполук на основі 4-тіазолідинового та споріднених скаффолдів. У цій базі, відповідно до вище описаного критерію активності, 47 речовин позначено як неактивні, 12 – як активні. Структури активних речовин та діаметри зони пригнічення зростання MRSA наведено в табл. 1.

У процесі моделювання виділено три кращі за точністю класифікації фармакофорні моделі

(табл. 2). Найкраща фармакофорна модель (Модель 1) містить 5 фармакофорних центрів і характеризується показником точності класифікації 72,4%. Це значення не є достатньо високим для застосування фармакофорної моделі як самостійного інструменту для спрямованої ідентифікації активних сполук, однак модель має потенціал для застосування як засіб віртуального скринінгу хімічних баз даних. При цьому фактор збагачення розробленої моделі становить $EF = 2,05$.

Ступінь взаємного перекриття активних сполук є помірним і наразі не дає можливості висувати аргументи на користь одного спільного чи кількох відмінних механізмів дії тих сполук, що виявили істотний антибактеріальний ефект *in vitro*.

Таблиця 1

Тіазолідинон-споріднені похідні, відібрані для побудови фармакофорної моделі

Код	Структурна формула	Діаметр зони пригнічення росту <i>S. aureus</i> (MRSA), мм	
Les-5737	R = 4-EtS-SO ₂ -C ₆ H ₄	16,11 ± 0,86	
Les-4625	R = HOCH ₂ CH ₂	20,73 ± 1,11	
Les-4837	R = піримідин-2-іл	11,85 ± 0,43	
Les-4626		24,30 ± 1,49	
	R ¹	R ²	
Les-5522	Br	4-OMe	18,15 ± 1,11
Les-5514	Br	3,4-ди-OMe	10,20 ± 0,82
Les-5525	Cl	4-Br	13,25 ± 0,99
Les-5527	Cl	4-Cl	9,67 ± 0,35
Les-5516	Me	4-Br	10,02 ± 0,42
Les-5528	Br	4-Cl	9,50 ± 0,58
Les-5515	Br	4-Br	11,42 ± 1,31
Les-5637		8,16 ± 0,65	

Таблиця 2

Характеристики розроблених фармакофорних моделей протимікробної дії щодо лабораторного штаму MRSA

№	Кількість фармакофорних центрів	Перелік фармакофорних центрів	Ступінь взаємного перекриття активних сполук	Точність класифікації, %
1	5	<ul style="list-style-type: none"> ароматичне кільце (або цикл з π-зв'язками); гідрофобна область; проекція донора водневого зв'язку; дві проекції акцептора водневого зв'язку 	6,69	72,4
2	4	<ul style="list-style-type: none"> дві проекції донора водневого зв'язку; дві проекції акцептора водневого зв'язку 	5,97	63,8
3	4	<ul style="list-style-type: none"> ароматичне кільце (або цикл з π-зв'язками); проекція донора водневого зв'язку; дві проекції акцептора водневого зв'язку 	6,68	58,6

Фармакофорні центри, з яких складається *Модель 1*, представлені одним ароматичним кільцем (або циклом з π-зв'язками), однією гідрофобною областю, однією проекцією донора водневого зв'язку та двома проекціями акцептора водневого зв'язку. Просторово гідрофобна область частково перетинається з позицією ароматичного ядра (рис. 1), по один бік яких лежать дві проекції акцепторів водневого зв'язку, а по інший – проекція донора водневого зв'язку. Діаметр фармакофора (найбільша відстань між двома фармакофорними центрами) становить 8,05 Å, лінію діаметра утворюють проекція донора та проекція акцептора водневого зв'язку. Також варто зауважити, що всі фармакофорні центри розташовані практично в одній площині.

Аналізуючи узгодженість однієї з активних щодо інгібування зростання MRSA сполук – Les-5514

(діаметр зони затримки зростання – $10,20 \pm 0,82$ мм) з фармакофорною моделлю, виявили одразу два різні способи конформаційного узгодження цієї речовини з фармакофором (рис. 2). Відповідно до першого варіанта гідрофобна область та ароматичне ядро представлені одним і тим же фенільним фрагментом, сполученим із тіопірано[2,3-*d*]-тіазольним фрагментом, як потенційні акцептори атомів гідрогену для утворення водневого зв'язку постають віцинальні метоксильні групи, тоді як ОН карбоксильної групи на протилежному кінці молекули є донором гідрогену для водневого зв'язку. Згідно з другим варіантом гідрофобна область представлена тіопірановим циклом, ароматичне ядро – конденсованим із попереднім циклом тіазолідиноновим ядром (це допускається алгоритмом, оскільки в цьому ядрі наявний подвійний зв'язок, спроможний брати участь у π-π

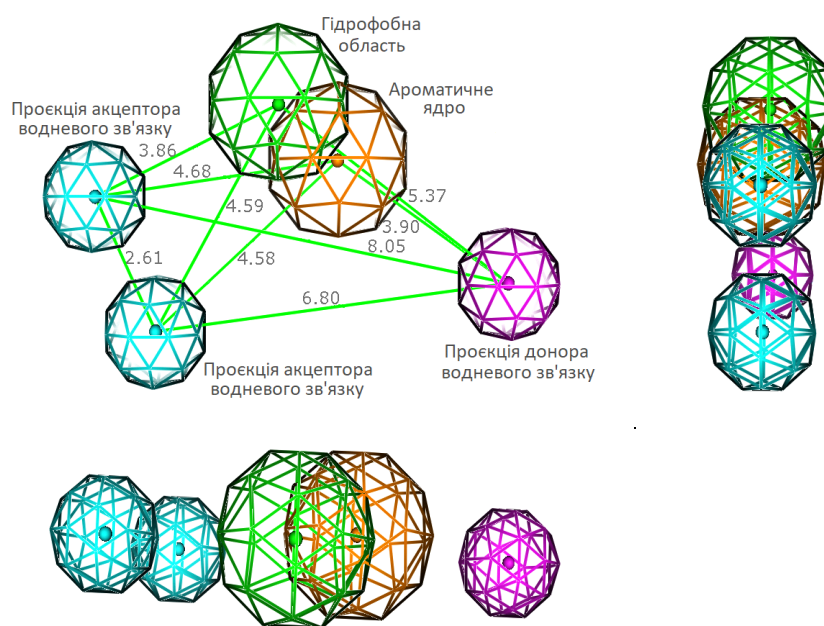


Рис. 1. Просторове розміщення фармакофорної *Модель 1* у трьох проекціях. Числами позначено відстань між фармакофорними центрами у Å

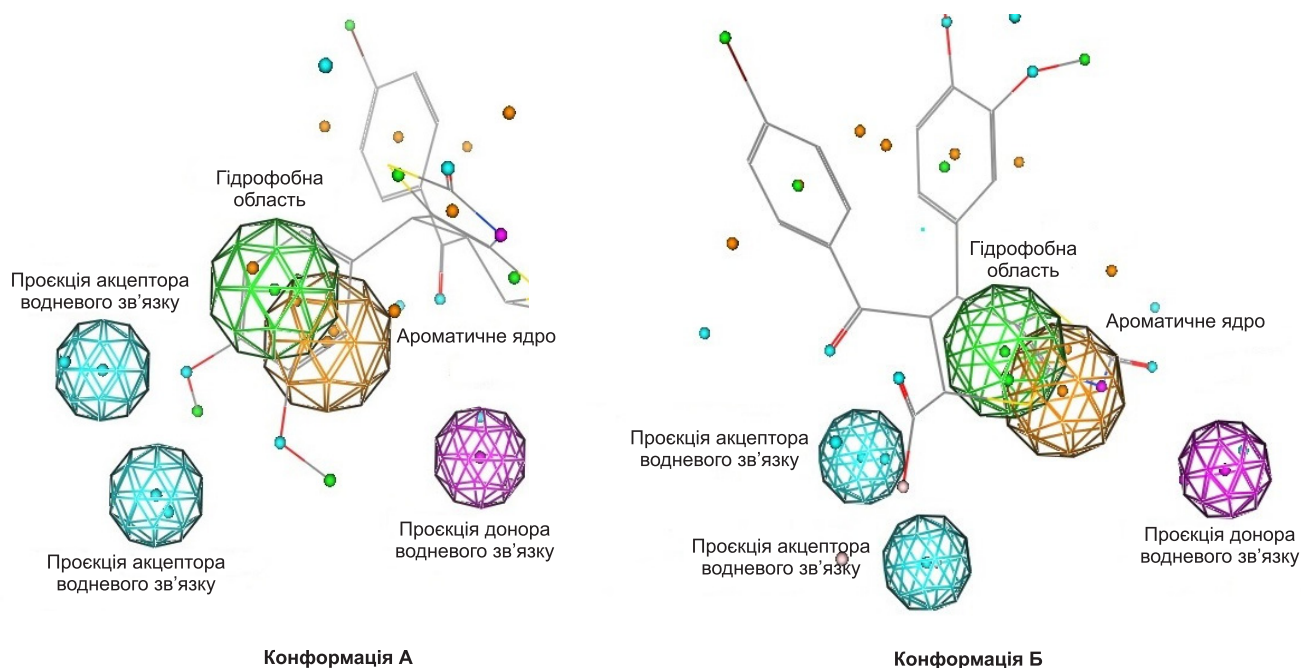


Рис. 2. Сполука-лідер Les-5514 в узгоджених з фармакофорною моделлю конформаціях. Конформація А – RMSD = 0,803Å, конформація Б – RMSD = 0.906 Å

взаємодії з комплементарними фрагментами біомішені); карбоксильна та оксо-група посідають позиції акцепторів водневого зв'язку, а донором водневого зв'язку в цьому випадку є NH фрагмент тiazолідинового ядра.

Висновки

Запропоновано фармакофорну модель для про-яву протистафілокової активності 4-тіазолідінонів і споріднених гетероциклів, яка складається з ароматичного кільця (або циклу з π-зв'язками), гідрофобної області, проекції донора вод-

невого зв'язку та двох проекцій акцептора водневого зв'язку. Цю модель можна застосовувати для скринінгу протимікробної активності серед подібних структур із фактором збагачення EF = 2,05. Попри досі не відомий механізм, через який реалізують свою протимікробну дію досліджені нами сполуки-хіти, зв'язування з потенційною біомішенню може відбуватися через три водневі зв'язки – у двох з них активна речовина акцептує електрондефіцитний атом гідрогену, а в одному постає в ролі донора гідрогену.

Конфлікт інтересів: відсутній.

References

1. Lesyk, R. Drug design: 4-thiazolidinones applications. Part 1. Synthetic routes to the drug-like molecules. *Journal of Medical Science* **2020**, *89* (2), e406. <https://doi.org/10.20883/medical.406>.
2. Lesyk, R. Drug design: 4-thiazolidinones applications. Part 2. Pharmacological profiles. *Journal of Medical Science* **2020**, *89* (2), e407. <https://doi.org/10.20883/medical.e407>.
3. Brown, F. C. 4-Thiazolidinones. *Chem. Rev.* **1961**, *61* (5), 463–521. <https://doi.org/10.1021/cr60213a002>.
4. Singh, S. P.; Parmar, S. S.; Raman, K.; Stenberg, V. I. Chemistry and biological activity of thiazolidinones. *Chem. Rev.* **1981**, *81* (2), 175–203. <https://doi.org/10.1021/cr00042a003>.
5. Sim, M. M.; Ng, S. B.; Buss, A. D.; Crasta, S. C.; Goh, K. L.; Lee, S. K. Benzylidene Rhodanines as Novel Inhibitors of UDP-N-Acetylmuramate/L-Alanine Ligase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12* (4), 697–699. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)00832-0](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)00832-0).
6. Brooke, E. W.; Davies, S. G.; Mulvaney, A. W.; Okada, M.; Pompeo, F.; Sim, E.; Vickers, R. J.; Westwood, I. M. Synthesis and in vitro evaluation of novel small molecule inhibitors of bacterial arylamine N-acetyltransferases (NATs). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13* (15), 2527–2530. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(03\)00484-0](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(03)00484-0).
7. Carlson, E. E.; May, J. F.; Kiessling, L. L. Chemical Probes of UDP-Galactopyranose Mutase. *Chem. Biol.* **2006**, *13* (8), 825–837. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.06.007>.
8. Soltero-Higgin, M.; Carlson, E. E.; Phillips, J. H.; Kiessling, L. L. Identification of Inhibitors for UDP-Galactopyranose Mutase. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (34), 10532–10533. <https://doi.org/10.1021/ja048017v>.
9. Holota, S. M.; Derkach, G. O.; Zasidko, V. V.; Trokhymchuk, V. V.; Furdychko, L. O.; Demchuk, I. L.; Semenciv, G. M.; Soronovych, I. I.; Kutsyk, R. V.; Lesyk, R. B. Antimicrobial activity of some 5-aminomethylene-2-thioxo-4-thiazolidinones. *Biopolym. Cell* **2019**, *35* (5), 371–380. <http://doi.org/10.7124/bc.000A0E>.
10. Lozynskiy, A.; Zasidko, V.; Atamanyuk, D.; Kaminsky, D.; Derkach, H.; Karpenko, O.; Ogurtsov, V.; Kutsyk, R.; Lesyk, R. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activities of novel thiopyrano[2,3-d]thiazoles based on aroylacrylic acids. *Mol. Divers.* **2017**, *21* (2), 427–436. <https://doi.org/10.1007/s11030-017-9737-8>.

11. Lozynskiy, A.; Zimenkovsky, B.; Radko, L.; Stypula-Trebas, S.; Roman, O.; Gzella, A. K.; Lesyk, R. Synthesis and cytotoxicity of new thiazolo[4,5-*b*]pyridine-2(3*H*)-one derivatives based on α,β -unsaturated ketones and α -ketoacids. *Chem. Pap.* **2018**, *72* (3), 669–681. <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0318-1>.
12. Howard, M. H.; Cenizal, T.; Gutteridge, S.; Hanna, W. S.; Tao, Y.; Totrov, M.; Wittenbach, V. A.; Zheng, Y.-j. A Novel Class of Inhibitors of Peptide Deformylase Discovered through High-Throughput Screening and Virtual Ligand Screening. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (27), 6669–6672. <https://doi.org/10.1021/jm049222o>.
13. Devinyak, O.; Zimenkovsky, B.; Lesyk, R. Biologically Active 4-Thiazolidinones: A Review of QSAR Studies and QSAR Modeling of Antitumor Activity. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, *12* (24), 2763–2784. <https://doi.org/10.2174/1568026611212240006>.
14. Zimenkovsky, B. S.; Devinyak, O. T.; Lesyk, R. B. Modeling of a possible pharmacophore group for 4-thiazolidinones with the anticancer activity. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry* **2012**, *10* (4), 76–82.
15. MOE, 2007.09 (Molecular Operating Environment software); Chemical Computing Group Inc. <http://www.chemcomp.com>.

Received: 27. 09. 2020

Revised: 23. 10. 2020

Accepted: 03. 11. 2020

Роботу виконано згідно з планом проблеми «Фармація» МОЗ України як фрагмент комплексних науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за темою «Синтез та перетворення нових фізіологічно активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- та нітрогеновмісних гетероциклічних систем, з використанням методів *in silico* моделювання, вивчення фізикохімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу» (№ державної реєстрації 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16; період досліджень: 2016–2020 роки).