

В. М. Дианов<sup>1</sup>, Е. К. Алехин<sup>1</sup>, Л. А. Тюрина<sup>2</sup>, Е. Л. Александрова<sup>1</sup>

## КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ СВЯЗИ “СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ” ПРОИЗВОДНЫХ ТИАЗОЛО[3,2-а]БЕНЗИМИДАЗОЛА С ИММУНОАКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ

<sup>1</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Россия, Уфа; e-mail: dianov@inbox.ru

<sup>2</sup> Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста, Россия, Уфа

Выполнен компьютерный анализ связи структура — активность и целенаправленное конструирование эффективных иммуномодуляторов в ряду производных тиазоло[3,2-а]бензимидазола. Сформирована математическая модель распознавания и прогноза иммуноактивных свойств конденсированных азолов (распознавание обучения 80 – 100 %). Выполнена генерация потенциально активных структур и прогноз их активности. Данные теории и эксперимента согласуются, испытанные производные тиазоло[3,2-а]бензимидазола проявили прогнозируемую активность.

**Ключевые слова:** компьютерная система SARD; связь “структура — активность”; тиазолобензимидазолы; иммуномодулирующая активность.

Среди природных и синтетических иммуномодуляторов большой интерес представляют производные азолов [1]. Несмотря на заметный успех в синтезе конденсированных азолов — тиазолобензимидазолов с иммуномодулирующими свойствами [2 – 4], поиск новых высокоэффективных и безопасных иммуномодуляторов остается актуальным.

Для целенаправленного синтеза соединений с определенными свойствами, наряду с традиционными методами, в настоящее время все чаще используются информационные технологии. Сведения, необходимые для исследования связи “структура — иммуномодулирующая активность” и поиска новых активных соединений, получены из различных баз данных, результатов анализа литературных источников и собственных экспериментальных исследований. На основе этих исходных данных нами создан компьютерный банк данных, включающий молекулярный граф (матрицу смежности) химического соединения, позволяющий визуализировать структурную формулу вещества и данные о его иммуномодулирующем действии. Для формирования оптимальной модели распознавания ак-

тивности по В-лимфоцитам проведено 15 серий полных расчетов по системе SARD [5] с организацией процедуры выборочного скользящего контроля, с варьированием управляющих порогов и критериев, оказывающих влияние на формирование признаков решающего набора (РН) и распознавание соединений обучения.

В рабочем варианте общее число фрагментарных признаков — 743: исходных — 76, агрегированных, состоящих из 2 и 3 исходных дескрипторов соответственно — 206 и 461; после сокращения по порогам — 28, 29 и 42. На основе сокращенного множества фрагментарных признаков сгенерировано 15320 структурных логических признаков (дизъюнкций и конъюнкций). Сформированные математические модели достоверны. Распознавание активных соединений из массива обучения по 2 алгоритмам (геометрии и голосованию) составляет 100 и 84 % соответственно. Неактивных соединений распознаётся 92 % по геометрии и 91 % по голосованию.

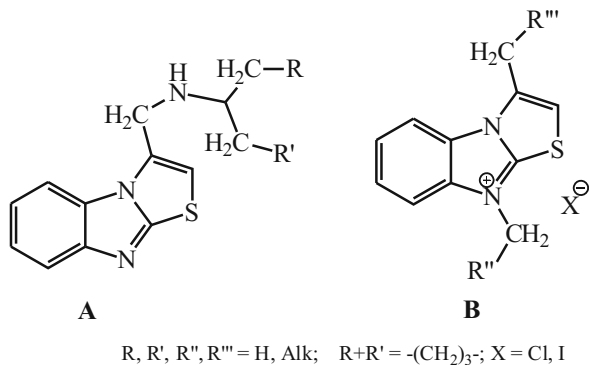
Приведенные результаты показывают, что уровень распознавания на обучении достаточный, и данное

Таблица 1

### Признаки РН в модели распознавания иммуномодулирующей активности

№ п/п	Содержание признака	Информативность
1	$[C_{Nap} - C_{ap} - (N=C)] \vee [C_{Nap} - C_{ap} - N] \wedge [CH_3 - N - (C=C)]$	0,715
2	$[C_{ap} - C_{ap} - N] \vee [C_{ap} - (N=C) - NH] \vee [CH_3 - N - (C=C)]$	0,715
3	$[C_{ap} - (N=C) - S] \vee [C_{Nap} - C_{ap} - N] \vee [CH_3 - N - (C=C)]$	0,648
4	$[CH - N - (N=C)] \vee [(N=C) - S - (C=C)] \vee [C_{ap} - (N=C) - NH]$	0,638
5	$[NH - (C=C) - (C=O)] \vee [C_{ap} - C_{ap} - (C=C)] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (C=C)]$	- 0,743
6	$[C_{ap} - C_{ap} - (C=C)] \vee [CH - C_{ap} - C_{Nap}] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (C=C)]$	- 0,743
7	$[CH_3 - N - CH_3] \vee [NH - (C=C) - (C=O)] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (C=C)]$	- 0,718
8	$[CH - C_{ap} - C_{Nap}] \vee [C_{Nap} - C_{ap} - (C=C)] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (C=C)]$	- 0,693
9	$[CH_{2_{reg}} - O - (C=O)] \vee [NH - (C=C) - (C=O)] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (C=C)]$	- 0,658
10	$[C_{ap} - C_{ap} - NH] \vee [CH_3 - N - CH_3] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (N=C)]$	- 0,601
11	$C_{Nap} - C_{ap} - NH] \vee [CH_3 - N - CH_3] \vee [CH_{2_{reg}} - N - (N=C)]$	- 0,601

∨ — знак дизъюнктивного сочетания фрагментов “или”.



Структуры соединений, совпадающие с расчетным эталоном.

правило может быть использовано для последующего прогнозирования иммуноактивных свойств как простых азолов, так и многоядерных структур.

Распознавание соединений по разным моделям прогноза для Т-клеток составляет 80 – 92 %, то есть модели достоверны. В рабочем варианте модель включает 22 признака, распознавание соединений классов А (активных) и В (не активных) по геометрии 94 и 82 %, по голосованию — 88 и 82 %. Все признаки РН представляют собой дизъюнкции.

На основании результатов распознавания соединений обучения с помощью полученной математической

Таблица 2

**Обоснования выбора заменяемых элементов структур по результатам оценки по теории игр**

Очередность замены, номер, код и тип фрагмента	Максимальная и минимальная информативность фрагмента на каждом уровне агрегирования (максимум и минимум)			второго и третьего уровня первого взаимодействия			
				максимум из максимумов / минимум из минимумов		вне зависимости от уровня	
6	1	7	Car<	0,105	0,239\0,036	0,239\– 0,130	0,239\– 0,130
9	2	5	CHar	0,047	0,121\0,036	0,376\0,036	0,376\0,036
10	3	7	Car<	0,105	0,209\0,121	0,376\0,167	0,376\0,105
8	4	14	>N	– 0,211	0,209\– 0,388	0,376\– 0,130	0,376\– 0,388
6	5	15	Nar	0,036	0,036\0,036	0,239\– 0,130	0,239\– 0,130
5	6	16	NH	– 0,056	0,188\0,167	0,188\0,167	0,188\0,056
7	7	1	CH <sub>3</sub>	– 0,018	0,239\0,167	0,239\0,167	0,239\– 0,018
1	8	3	CH <sub>2</sub>	– 0,213	0,167\– 0,388	0,167\0,115	0,167\– 0,388
2	9	3	CH <sub>2</sub>	– 0,213	0,167\0,115	0,167\0,115	0,167\– 0,213
3	10	26	OH	– 0,075	0,167\0,167	0,167\0,167	0,167\– 0,075
3	11	42	CH	– 0,018	– 0,075\– 0,075	0,167\0,167	0,167\– 0,075
4	12	116	cycle	0,167	0,167\0,167	0,167\0,167	0,167\0,167

Таблица 3

**Острая токсичность производных тиазоло[3,2-а]бензимидазола при внутрибрюшинном введении**

Соединение	Острая токсичность (ЛД <sub>50</sub> ), мг/кг	
	мыши <sup>а</sup>	крысы <sup>б</sup>
<p style="text-align: center;">I</p>	140,4 (126,6 – 155,6)	145,0
<p style="text-align: center;">II</p>	266,0 (236,4 – 299,2)	250,0
<p style="text-align: center;">III</p>	187,0 (174,0 – 201,0)	180,0
Левамизол	43,0 (39,3 – 47,1)	47,0

<sup>а</sup> Метод Литчфилда и Уилкоксона; <sup>б</sup> метод Ван-ден-Вердена.

модели выявлены структуры и установлен приоритет соединений, целенаправленная химическая модификация которых наиболее вероятно может привести к соединениям с необходимой активностью. При установлении учтены следующие параметры: расстояние до структуры эталонов группы активных и неактивных соединений обучения; расстояние до гипотетически идеальной структуры, представляет обобщенный образ активных соединений; значение индексов активности; экспертные оценки синтетических стадий.

Расстояние определяли на основе евклидовой метрики в пространстве признаков РН. В зависимости от расстояния до структурных эталонов группы активных соединений (в евклидовой метрике, в пространстве признаков РН) структуры этого класса распределились в 11 рангов (табл. 1). Наиболее близки к гипотетическому структурному эталону (практически совпадают с ним, так как расстояние до эталона равно нулю) соединения, имеющие конденсированную трициклическую систему, содержащую шестичленный карбоцикл и 2 пятичленных азольных цикла: имидазольный и тиазольный с одной ненасыщенной С=C связью (структуры А и В, рисунок).

Для каждого соединения из массива обучения определены относительные количественные вклады элементов строения в иммуномодулирующую активность (табл. 2).

На основе этих оценок определена очередность замены фрагментов базовых структур для их модификации и конструирования на их основе структур новых потенциально активных соединений.

Из анализа фрагментов, рассчитанных для 25 активных соединений, как заменяемых на первом, втором и третьем местах, следует, что среди фрагментов, имеющих первую очередность замены, составляют: 38 % — водород, связанный с гетероатомом; 17 % — CH<sub>3</sub> группа; 13 % — CH<sub>2</sub> группа, связанная с гетероатомом, атом хлора; группа СН и атом углерода ароматической системы, бензольное кольцо — по 8 %. Для второго места распределение следующее: по 13 % — группа CH<sub>2</sub> при гетероцикле, группы СН-ар., С-ар., N=C; по

Таблица 4  
Влияние производных тиазоло[3,2-а]бензимидазола на трансплантационный иммунитет

Соединение	n	Доза, мг/кг	Средняя продолжительность жизни трансплантанта, сут
I	9	14,0	6,6 ± 0,6
II	7	26,0	5,7 ± 0,3
III	9	9,0	8,3 ± 0,6 *
Контроль	17	—	6,2 ± 0,2

\* Разница достоверна по отношению к контролю при  $p < 0,05$ .

8 % — N-het., атом йода, группа CH<sub>3</sub>, бицикл, трицикл. Для третьего места группа N-het занимает 17 %; по 13 % — группы CH<sub>3</sub>, NH, по 8 % — атомы N<sup>+</sup>, O, C-ар. Остальные элементы структуры встречаются по 2–4 %.

Следовательно, наиболее благоприятной заменой чаще всего является модификация заместителей, связанных с гетероатомом в радикале, и гетероциклической системы. Однако наиболее интересной является модификация самих циклических систем, так как в этом случае происходит обращение к новым классам соединений.

Анализ распознавания, расстояний до гипотетического эталона и наиболее вероятных элементов модификации структур указывает на тенденцию более вероятного проявления активности при наличии в составе циклических систем ароматического шестичленного цикла.

Таким образом, в результате проведенного исследования сформирована математическая модель распознавания и прогноза иммуноактивных свойств конденсированных азолов (распознавание обучения 90–100 %). Выполнена генерация потенциально активных структур и прогноз их активности.

Некоторые соединения, сконструированные системой SARD, нами синтезированы и испытаны на прогнозируемую активность. Эксперимент показал в целом удовлетворительное соответствие результатов

Таблица 5  
Влияние производных тиазоло[3,2-а]бензимидазола на формирование контактной гиперчувствительности к ДНФБ

Соединение	n	Доза, мг/кг	Интенсивность реакции, % к нормоиммунному контролю
На фоне сенсibilизации иммуногенной (нормоиммунной) дозой ДНФБ			
I	5	7,0	24,6 ± 8,4 <sup>a</sup>
II	5	13,0	30,2 ± 14,3 <sup>a</sup>
III	5	4,5	39,0 ± 9,2 <sup>a</sup>
На фоне сенсibilизации гипериммунной дозой ДНФБ			
I	8	7,0	37,5 ± 5,4 <sup>b</sup>
II	10	13,0	40,0 ± 7,2 <sup>b</sup>
III	9	4,5	23,3 ± 5,1
Нормоиммунный контроль	6	—	100,0 ± 9,0
Гипериммунный контроль	11	—	17,0 ± 5,2 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Разница достоверна по отношению к нормоиммунному контролю при  $p < 0,05$ .

<sup>b</sup> разница достоверна по отношению к гипериммунному контролю при  $p < 0,05$ .

расчетным данным, большинство тестируемых соединений проявили прогнозируемую активность. Синтезированные соединения I – III при внутрибрюшинном введении мышам и крысам имеют сравнительно низкую токсичность (табл. 3).

Влияние на выживаемость кожного аллотрансплантата отмечалось у соединения III (табл. 4), которое существенно увеличивало продолжительность жизни трансплантата.

На фоне сенсибилизации животных иммуногенной дозой 2,4-динитрофторбензола (ДНФБ) все изучаемые соединения подавляли развитие контактной гиперчувствительности. Однако в условиях сенсибилизации животных гипериммунной дозой ДНФБ, приводящей, как известно, к индукции гаптенспецифичных Т-супрессоров, соединения I – III препятствовали формированию толерантности (табл. 5).

#### Экспериментальная фармакологическая часть

Острую токсичность ( $LD_{50}$ ) исследуемых соединений (табл. 3) определяли методами Литчфильда — Уилкоксона, Миллера и Тейтнера [6].

Влияние тиазолбензимидазолов на выживаемость кожного аллотрансплантата проводили на белых беспородных мышках обоего пола массой 16 – 18 г, линии C57BL/6, CBA, BALB/C. Аллотрансплантацию кожного лоскута осуществляли в системе гистонесовместимого донора (мышь линии C57BL/6) и реципиента (мышь линии CBA). Соединения вводили в мышцу в

эквивалентных дозах, равных  $1/10 LD_{50}$  с 1-го по 7-й день ежедневно (день пересадки — день “0”) (табл. 4).

Контактную гиперчувствительность к ДНФБ оценивали на мышках линии BALB/C методом [7] при сенсибилизации животных после иммуногенной (25 мкл 0,5 % раствора ДНФБ) и гипериммуногенной (150 мкл 0,5 % раствора ДНФБ) дозами антигена. Разрешающую дозу (20 мкл 0,2 % раствора ДНФБ) наносили на дорсальную поверхность ушей спустя 4 сут после сенсибилизации, результат оценивали через 24 ч по приросту толщины ушей. Соединения вводили внутрибрюшинно в дозе  $1/20 LD_{50}$  со дня иммунизации по 4-й день (табл. 5).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. С. В. Сибиряк, Ю. В. Строкин, Р. Ф. Садыков и др., *Хим.-фарм. журн.*, **24**(11), 19 – 24 (1990); *Pharm. Chem. J.*, **24**(11), 789 – 796 (1990).
2. R. L. Finichel, S. K. Dheer, N. H. Grant, et al., *J. Immunopharmacol.*, **5**(4), 333 – 340 (1983).
3. R. L. Finichel, H. L. Altum, P. A. Schrech, et al., *J. Immunopharmacol.*, **2**(4), 491 – 508 (1980).
4. S. Gilman, R. Carlson, J. Chang, A. Lewis, *Agents Action.*, **17**(1), 53 – 59 (1985).
5. Л. А. Тюрина, О. В. Тюрина, А. М. Колбин, *Методы и результаты дизайна и прогноза биологически активных веществ*, Гилем, Уфа (2007), сс. 25 – 30.
6. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Медгиз, Ленинград (1963), сс. 81 – 106.
7. P. Phauphak, J. W. Moorhead, H. N. Claman. *J. Immunol.*, **112**(1), 115 – 123 (1974).

Поступила 22.12.15

#### COMPUTER ANALYSIS OF THE STRUCTURE – ACTIVITY RELATIONSHIP IN IMMUNOACTIVE DERIVATIVES OF THIAZOLO[3,2-A]BENZIMIDAZOLES

V. M. Dianov<sup>1</sup>, E. K. Alekhin<sup>1</sup>, L. A. Tyurina<sup>2</sup>, and E. L. Aleksandrova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Bashkortostan, 450008 Russia

<sup>2</sup> Scientific Research Technological Institute of Herbicides and Growth Regulators, Ufa, Bashkortostan, 450029 Russia

\* e-mail: dianov@inbox.ru

Computer analysis of the structure – activity relationship (SAR) and purposeful design of effective immunomodulators were performed for a number of derivatives of thiazolo[3,2-*a*]-benzimidazole. A mathematical model for recognition and prediction of immunoactive properties of condensed azoles is formulated for determining training within 90 – 100%. Potentially active structures were generated and their activity forecast was made. Theoretical predictions and experimental results were consistent, and the tested thiazolo[3,2-*a*]benzimidazole derivatives showed the anticipated level of activity.

**Keywords:** computer system SARD; structure – activity relationship; thiazolobenzimidazoles; immunomodulatory activity.