

## ВИКОРИСТАННЯ ІНСТРУМЕНТІВ *IN SILICO* ДЛЯ ПЕРВИННОГО СКРИНІНГУ І ПРОГНОЗУ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РЯДУ НОВИХ ПОХІДНИХ ТЕОФІЛІНУ

Людмила Мосула, Сергій Яловчук, Вікторія  
Мосула, Дмитро Коробко

Тернопільський національний медичний  
університет імені І. Я. Горбачевського

**Вступ.** Створення нових ефективних ліків – тривалий та клопіткий процес. Розробка лікарського препарату від синтезу діючої речовини до етапу виведення його на фармацевтичний ринок займає 10-15 років і потребує значних коштів (до 1,5 млрд \$). Доклінічні дослідження малих молекул методами *in vitro* та *in vivo*, а також визначення безпеки їх використання є дорогавартісними і трудомісткими процесами [1, 2]. Тому, натепер вченими доведена доцільність використання *in silico* методів скринінгу перед одержанням цільових сполук [1, 3]. Розроблені хемоінформатиками ефективні комп'ютерні моделі дозволяють з високою вірогідністю передбачати відповідні властивості молекул. Ці методи є надзвичайно важливими на початкових етапах створення лікарських засобів (ЛЗ) і значно заощаджують дослідникам час та кошти на відбір найбільш перспективних речовин із досліджуваних рядів для їх подальшого синтезу.

Цікавим об'єктом досліджень у хімічному та фармакологічному відношенні виступає теофілін (1,3-диметилксантин) [4–6]. Він є потужним інгібітором регуляції каталітичної активності лужної фосфатази [6], використовується у медичній практиці для лікування астми, хронічного обструктивного захворювання легень та апное у новонароджених. Теофілін має низький коефіцієнт розподілу в системі октанол – вода та помірно розчиняється у воді,

завичай його використовують у формі капсул або таблеток. Метаболізм 1,3-диметилксантину значною мірою проходить у печінці, лише невелика частина виводиться з сечею [5]. Серед похідних теофіліну наявні діуретики, кардіостимулятори, релаксанти гладкої мускулатури, бронходилататори, стимулятори ЦНС і стабілізатори мастоцитів [6]. Також ідентифіковані сполуки з експериментально доведеною протизапальною [7], протипухлинною [8], імуномодулюючою діями [4]. Механізм дії похідних 1,3-диметилксантину обумовлений їх активністю як інгібіторів фосфодіестерази та неселективних антагоністів рецепторів аденозину [5].

Молекула теофіліну може піддаватися структурній оптимізації завдяки доступним для заміщення положень N<sup>7</sup> і C<sup>8</sup> [6]. Відомо, що 7,8-дизаміщені похідні теофіліну мають досить високий потенціал біологічної дії, що підтверджено дослідженнями вчених різних країн [9, 10]. Для пошуку фармакологічно активних речовин (ФАР) ми обрали 7-*R*-8-гідразинопохідні теофіліну, оскільки відомо, що функціональні похідні гідразину широко використовуються у медичній практиці як засоби для фармакотерапії депресії, інфекційних захворювань, гіпертонічної хвороби, цукрового діабету тощо [11, 12].

**Мета дослідження** – первинний скринінг та оцінка потенційної фармакологічної активності модельних молекул із використанням віртуальних комп'ютерних програм.

### Матеріали та методи

Спираючись на відомий фармакологічний потенціал теофіліну та дані щодо біологічної активності його 7-*R*-8-гідразинопохідних, нами здійснено віртуальний дизайн 12 оригінальних молекул шляхом введення алкільних замісників (метил-, етил-, *n*-пропіл-, *n*-бутил-, *i*-бутил-, *n*-аміл-, *i*-аміл-, *n*-гексил-, *n*-гептил-, *n*-октил-, *n*-ноніл-, *n*-децил-) у 7 положення 4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1*H*-пурин-8-іл)гідразиніліден)гептандіової кислоти.

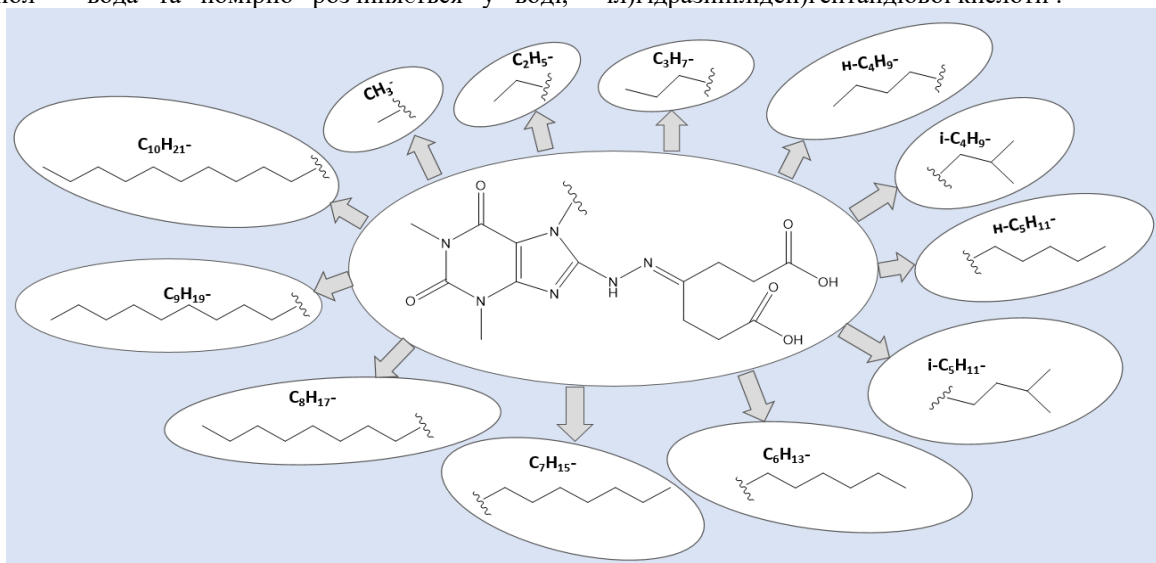


Рис. 1. Віртуальний дизайн 7-алкільзаміщених похідних 4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1*H*-пурин-8-іл)гідразиніліден)гептандіової кислоти

Методи дослідження – вільнодоступні веб-інструменти SwissADME та SuperPred 3.0 для відбору потенційних кандидатів у ЛЗ. Для прогнозування ADME властивостей молекул використовували програму SwissADME [13], а для визначення їх ймовірної фармакологічної дії – програму SuperPred 3.0 [14].

Веб-сервер SwissADME є альтернативою експериментальному дизайну. На цій платформі проводиться прогнозування ADME (абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення) властивостей біоактивних сполук з метою встановлення їх цінності для медичної хімії та схожості з уже існуючими ліками. Значення розрахованих фізико-хімічних показників та фармакокінетичних параметрів є надзвичайно важливими для правильного вибору лікарської форми, шляху введення і дози ЛЗ.

Швидку оцінку пероральної біодоступності молекул на цій платформі можна здійснити за допомогою радарів біодоступності, що є зручним на початковому етапі розробки інноваційних ліків. Радарні графіки молекул показують їх подібність до перорально доступних ЛЗ. На них відображається шість фізико-хімічних характеристик: LIPO (ліпофільність), SIZE (розмір), POLAR (полярність), INSOLU (розчинність), INSATU (насиченість) і FLEX (гнучкість). Оптимальний діапазон кожної властивості зображений у вигляді рожевої області, в яку повинна повністю потрапляти радіолокаційна діаграма молекули.

Для визначення ліпофільності молекули платформа SwissADME надає доступ до п'яти безкоштовних моделей: XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT та iLOGP. Середнє значення з цих методів представлено у вигляді консенсусної оцінки ліпофільності (Consensus Log  $P_{o/w}$ ).

Розчинність у воді та приналежність сполуки до певного класу розчинності (шкала Log S) визначається за допомогою трьох окремих топологічних підходів: ESOL, Ali, SILICOS-IT.

Фармакокінетичні властивості відображаються на графічній моделі BOILED-Egg, яка відображає залежність полярності молекули від її ліпофільності. Ця модель дозволяє інтуїтивно оцінити здатність досліджуваної сполуки до пасивної абсорбції в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) або проникнення її через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ). Якщо молекула знаходиться на білому фоні – це свідчить про високу ймовірність її пасивної абсорбції у ШКТ, а якщо на жовтому – значить проникає у мозок. Ці дві області не є взаємовиключними, а зовнішня сіра область позначає молекули, для яких прогнозується низьке поглинання у ШКТ та обмежений доступ до мозку. Крім того, індикація на графіку точок червоного кольору вказує на те, що сполука не є субстратом Р-глікопротеїну (PGP-), а точок синього кольору – на те, що молекула активно виводиться за допомогою Р-глікопротеїну (PGP+). Субстрат PGP є ключовим для оцінки активного виведення сполуки або її метаболітів через біологічні мембрани. Він захищає ЦНС від

ксенобіотиків і надмірно експресується у пухлинні клітини.

Відомо, що близько 50–90 % молекул є субстратами п'яти основних ізоформ цитохрому P-450: CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 і CYP3A4. Метаболізм тестованих сполук можна передбачити, виходячи із результатів прогнозування щодо ймовірності їх бути субстратом чи інгібітором ізоформ цитохрому P-450. Інгібування речовинами цих ферментів може призвести до взаємодії ЛЗ між собою, накопичення їх або метаболітів в організмі, а також викликати небажані побічні дії чи токсичність.

Коефіцієнт Log  $K_p$  корелює із розміром молекули та ліпофільністю, вказує на її здатність проникати через шкіру. Чим більше негативне значення Log  $K_p$  (у см/с), тим менш проникною через шкіру є дана сполука. Прогнозування «лікоподібності» (drug-like properties) [15] молекул базується на використанні різноманітних фільтрів, що походять від аналізів великих фармацевтичних компаній та базуються на правилах із різноманітними діапазонами властивостей: Lipinski (Pfizer), Ghose (Amgen), Veber (GSK), Egan (Pharmacia), Muegge (Bayer). Не менш важливим є етап перевірки хімічних речовин на придатність для цілей медичної хімії. Використання програмою двох структурних фільтрів (PAINS і Brenk) дає можливість відсіювати з віртуальних хімічних бібліотек сполуки з характеристиками, які несумісні з пристойним профілем фармакокінетики. Встановлення подібності молекул до сполук-лідерів (Leadlikeness) та оцінка їх синтетичної доступності (SA) окреслює подальші кроки науковців у створенні ліків [15]. На початкових етапах створення ліків також доцільно проводити первинний біологічний скринінг речовин *in silico* методами, адже експериментальні дослідження, здебільшого, є витратними і довготривалими. Однією з віртуальних програм, що використовує різні обчислювані методи для прогнозування потенційної активності хімічної сполуки в організмі, є вдосконалена версія SuperPred 3.0. Вона, на відміну від попередньої, базується на моделях машинного навчання, а не на загальній структурній схожості. Цей он-лайн-інструмент прогнозує приналежність досліджуваних речовин до певних АТС-класів, відповідно до класифікації ЛЗ BOO3, а також найбільш ймовірні їх взаємодії з молекулярними біомішенями. На сьогоднішній день це єдиний вільнодоступний веб-сервер, який пропонує прогнозування кодів АТС, на відміну від подібних, які наразі недоступні, або не відображають результат, або використовують стикувальний підхід. Хоча моделі, використані в останній версії SuperPred, були оптимізовані лише для прогнозування 4-го рівня, ця програма демонструє високі результати і при прогнозуванні 1-го рівня із точністю передбачення 80,5 %. Передбачати приналежність сполуки до певного АТС-класу можна, навіть у випадках, коли невеликі фрагменти молекул, такі як функціональні групи, відповідають за терапевтичний вплив або метаболічні процеси [16]. Взагалі, існує дві

можливості використання сервера: для пошуку нових мішеней для лігандів і, навпаки, для пошуку нових лігандів для медико-біологічних мішеней [17]. З моменту виникнення першої версії програми на веб-сервері значно зросла кількість відомостей про взаємодії сполук із мішенями (від 7000 до 66500). Для зростання якості прогнозування мішеней в оновленій версії програми було використано нові методології, до яких належать оцінка 3D подібності структури, наявності функціональних груп, узгодженість фізико-хімічних властивостей тощо. Крім того, за допомогою віртуального прогнозу дослідник може визначити нові біологічні ефекти та механізми дії для відомих ЛЗ [18, 19]. Для визначення мішеней он-лайн ресурсом використовується база даних ChEMBL, а значення зв'язування стосуються організму «Homo sapiens». Якщо структурна подібність достатня, то біологічний ефект молекули є добре передбачуваним і веб-сервер робить прогноз щодо області можливих медичних показань. Результати прогнозування подаються у формі величини ймовірності зв'язування з потенційною мішенню (білками, рецепторами, ензимами клітин тощо) від 0 до 100 %, окрім того, зазначається відсоток точності моделі прогнозування [16].

За результатами прогнозування можна оцінити наскільки перспективними є сполуки як потенційні ЛЗ і відібрати «хіти» для подальшого синтезу та експериментального підтвердження їх біологічної дії.

### Результати та обговорення

Ми визначили доцільність використання *in silico* методів (SwissADME і SuperPred 3.0) для первинного скринінгу модельних сполук та встановили їх потенціал як перспективних ФАР.

Для досліджуваного ряду похідних проведено *in silico* прогнозування ключових параметрів та здійснено порівняльний аналіз із віртуально розрахованими показниками теофіліну та базової структури (4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)гідразиніліден)гептандіової кислоти).

Виходячи з відомої фармакологічної дії фармакофору теофіліну, ми встановили перспективність ряду 4-(2-(7-алкіл-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)гідразиніліден)гептандіових кислот як потенційних кандидатів у ліки та розраховали фізико-хімічні, фармакокінетичні показники, коефіцієнти ліпофільності, розчинності у воді, а за допомогою фільтрів лікоподібності визначили їх подібність до існуючих ЛЗ та придатність для медичної хімії.

Швидку оцінку пероральної біодоступності сполук отримали з радарних графіків молекул. Радарні графіки усіх тестованих 7-алкілзаміщених похідних виходять за межі рожевої області на осі POLAR, а більшість з них, окрім сполук 1 та 2, – ще й на осі FLEX, що свідчить про завищені показники топологічної площі полярної поверхні (TPSA) і кількості ротаційних зв'язків (N-RB) відповідно. TPSA усіх 7-алкілзаміщених похідних 4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-

іл)гідразиніліден)гептандіової кислоти становить 160,81 Å<sup>2</sup>, що є вищим показником, ніж у теофіліну, проте меншим, ніж у базової сполуки. Від значення TPSA молекули залежить абсорбція ЛЗ, включаючи всмоктування в ШКТ, біодоступність і проникнення через ГЕБ. Значення N-RB похідних із видовженим алкілним замісником перевищує 9, що не є характерно для теофіліну та базової сполуки, показники яких 0 та 8 відповідно. N-RB є основною топологічною величиною, яка кількісно визначає гнучкість молекули і вказує на міру засвоєваності ЛЗ в організмі через пероральний прийом. Найкращими фізико-хімічними показниками з дослідженого ряду сполук характеризуються похідні 1 і 2 (рис. 2), а для решти слід досліджувати інші шляхи введення. Пероральна біодоступність сполук також залежить від інших показників молекули: молярної маси (MW), кількості акцепторів та донорів водневих зв'язків (N-HBA і N-HBD), молярної рефракції (MR), кількості важких атомів (N-HA) й ароматичних важких атомів (N-AHA), а також Log P<sub>o/w</sub> та Log S.

Кожна молекула здатна бути донором та акцептором водневих зв'язків, кількість яких відповідає заданим критеріям. Показники MR для більшості сполук знаходяться в прийнятному діапазоні, крім похідних з довшим алкілним замісником (*n*-октил-, *n*-ноніл-, *n*-децил-). Загальною позитивною ознакою усіх речовин є значення фактора насиченості F-Csp<sup>3</sup>, що вказує на частку атомів Карбону в sp<sup>3</sup> гібридизації та входить у допустимий інтервал значень.

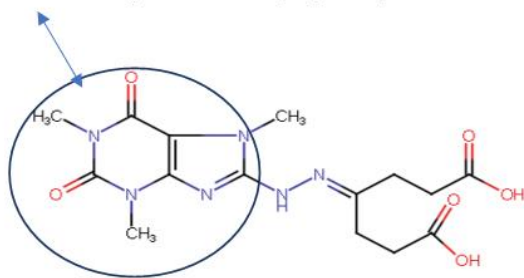
Для модельних сполук прогнозується невисока ліпофільність про що свідчить значення Consensus Log P<sub>o/w</sub>. Порівняння значень коефіцієнта Log P<sub>o/w</sub> в ряду теофілін – базова сполука – досліджуваних речовин показало, що введення алкільного замісника з поступовим його видовженням позитивно вплинуло на значення ліпофільності. Оптимальними гідрофільно-ліпофільними властивостями володіють більшість аналізованих речовин, Log P<sub>o/w</sub> яких становить від 0 до 3. Вони характеризуються середньою проникністю крізь біологічні мембрани, для них властивий хороший баланс між розчинністю у воді та проникністю через клітинні мембрани. Коефіцієнт Log P<sub>o/w</sub> тісно пов'язаний із Log S. Сполуки з Log P<sub>o/w</sub> < 0 мають виражені гідрофільні властивості, але характеризуються поганою проникністю через біологічні мембрани. Показник Log S визначає ефективність абсорбції речовини та її розподілу в організмі людини. За шкалою розчинності, згідно ESOL методу, похідні є легко розчинні (сполуки 1–3) або розчинні (сполуки 4–11) і лише сполука 12 – помірно розчинна у воді. Це свідчить про те, що при збільшенні кількості Карбонів у алкільному заміснику досліджуваних речовин спостерігається лінійне зменшення їх розчинності у воді.

Вагомим індикатором потенціалу сполуки, як кандидата у ЛЗ, є дотримання правил лікоподібності. Відповідність речовин визначеним вимогам передбачає для них вищу вірогідність позитивних ADME властивостей.

## Сполука 1

Фармакофор,

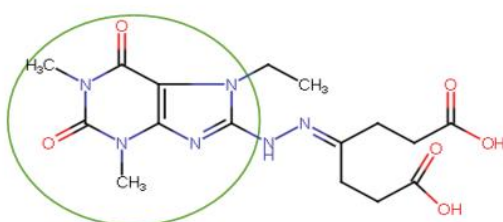
важливий для вияву активності в ряду сполук



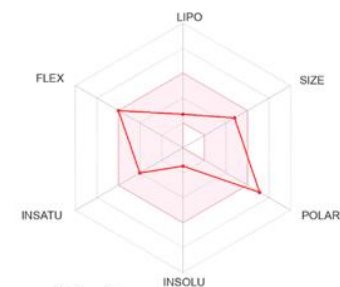
4-(2-(1,3,7-триметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразиніліден)гептандіонова кислота



## Сполука 2



4-(2-(7-етил-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразиніліден)гептандіонова кислота



### Рис. 2. Структурні формули та радарні графіки молекул з найкращим ADME профілем

Щодо лікоподібності наших модельних сполук, то як свідчать результати прогнозу (табл. 1), усі похідні успішно долають фільтр Lipinski, а більшість із них (сполуки 2–9), – ще й фільтр Ghose. Сполуки 1, 10–12 мають одне або три порушення правил Ghose через невідповідність таких критеріїв:  $\text{Log } P_{o/w} < -0.4$  (за методом WLOGP),  $\text{MR} > 130 \text{ cm}^3/\text{моль}$ ,  $\text{MW} > 480 \text{ г/моль}$ ,  $\text{atoms} > 70$ . На жаль, прогнозована пероральна біодоступність досліджених речовин невисока і становить 11 %, що спровоковано не проходженням ними деяких фільтрів лікоподібності (Veber, Egan, Muegge) через порушення допустимих діапазонів TPSA і N-RB.

Для розуміння ADME поведінки молекул в середині організму ми визначили деякі фармакокінетичні показники: абсорбцію у ШКТ, проникнення через ГЕБ, коефіцієнт проникності шкіри  $\text{Log } K_p$ . Окрім того, встановили приналежність досліджуваних похідних до PGP субстратів чи інгібіторів цитохромів P-450.

Низька абсорбція досліджуваних сполук у ШКТ і не проходження їх через ГЕБ зумовлена значеннями двох фізико-хімічних показників, а саме WLOGP і TPSA. Більшість тестованих речовин є субстратами P-глікопротеїну, що свідчить про їх активне виведення з організму. Сполуки 1–3, як і теofilin та базова сполука, не є PGP субстратами.

Коефіцієнт  $\text{Log } K_p$  наших сполук коливається в межах  $-6,99$  до  $-9,37 \text{ см/с}$ , що свідчить про їх невисоку проникність у шкіру.

Метаболізм сполук можна передбачити, виходячи з результатів прогнозування щодо ймовірності їх бути субстратом чи інгібітором ізоформ цитохрому P-450. Як свідчать результати, жодне похідне не є інгібітором таких ізоформ цитохрому P-450, як CYP2C9 та CYP2D6, більшість речовин не інгібує CYP2C19 і половина з них – CYP3A4. Похідне з метильним замісником, як і теofilin та базова сполука, не інгібує жодної ізоформи цитохрому P-450, а сполуки 2–5 інгібують лише одну ізоформу CYP1A2. Взагалі, інгібування сполуками певних ізоформ цитохрому P-450 негативно впливає на процеси їх виведення.

Цінність модельних сполук для цілей медичної хімії дозволяють встановити спеціальні фільтри. Якщо молекула не проходить даний фільтр, то віртуальна програма зразу видає сповіщення. Згідно фільтру PAINS у структурах досліджуваних речовин не було виявлено фрагментів, які могли б давати хибні позитивні біологічні результати, а за методом Brenk було ідентифіковано один небажаний фрагмент молекули –  $\text{мін}_1$  (C=N), що не є критично, оскільки він характерний для усіх основ Шиффа і зустрічається у ФАР.

Згідно SuperPred-прогнозування, усі 12 сполук досліджуваного ряду володіють широким спектром дії з високими значеннями ймовірності зв'язування з мішенями при значній точності прогнозування (близько 100 %). Здатність зв'язуватися з багатьма мішенями характерна для усіх модельних речовин. У цьому дослідженні були відібрані лише мішені, для

яких вірогідність зв'язування зі сполукою та точність прогнозування моделі становила не менше 90 % та 80 %, відповідно. До уваги взяті мішені Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit, Cathepsin D, MAP kinase ERK2, Hypoxia-inducible factor 1 alpha, DNA topoisomerase 1 (рис. 3). Дані, наведені на рис. 3, свідчать, що спільною прогнозованою мішенню для усіх досліджуваних речовин є Cathepsin D. Прогнозується висока ймовірність їх зв'язування з біомішенню у межах 95,74–98,38 %, що перевищує відповідні значення для теофіліну (86,98 %) і базової сполуки (95,72 %). Більшість молекул (сполуки 4, 6–12) характеризуються ймовірністю понад 98 %, а найнижча вірогідність зв'язування прогнозується для сполуки 1 (95,74 %). Ще однією спільною мішенню для них є Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit з ймовірністю зв'язування в межах 96,12–97,34 %, що є більшою, ніж у теофіліну (93,6 %), але дещо меншою, ніж для базової сполуки (97,71 %). Третя найвірогідніша мішень із бажаними високими відсотками зв'язування та точністю прогнозування у досліджуваних речовин відрізняється. Так, для сполук 2–5 і 7–12 такою мішенню є MAP kinase ERK2, для сполуки 1 – Hypoxia-inducible factor 1 alpha, а для сполуки 6 – DNA topoisomerase 1. У кожному випадку зазначена мішень характеризується високим показником ймовірності зв'язування (> 90 %)

та точністю прогнозування моделі понад 80 %. Отже, ймовірність зв'язування MAP kinase ERK2 зі сполуками 2–5 і 7–12 коливається в межах 96,33–99,79 % із точністю прогнозування 83,82 %, Hypoxia-inducible factor 1 alpha зі сполукою 1 – 94,35 % та 85,14 %, а DNA topoisomerase 1 з сполукою 6 – 93,72 % та 97,00 % відповідно. Зазначені прогнозовані мішені відіграють важливу роль у регуляції відповідних процесів в організмі людини. Згідно АТС класифікації ЛЗ BOO3, для усіх похідних досліджуваного ряду, включаючи базову сполуку, властивий такий же код, як і для теофіліну – R03DA (Ксантини, системні при обструктивних захворюваннях дихальних шляхів) з відсотком ймовірності, що коливається в межах 81,20–92,61 %, інші ж коди різняться. Так, код C01EB (Інші звичайні кардіологічні препарати), що характерний для базової сполуки, згідно прогнозів, не властивий жодній досліджуваній речовині. Крім того, базову сполуку відносять до похідних пурину, периферичних вазодилаторів (АТС-код C04AD). Цей же код прогнозується для більшості аналізованих об'єктів (сполуки 4, 6–12) з ймовірністю 1,19–7,41 %.

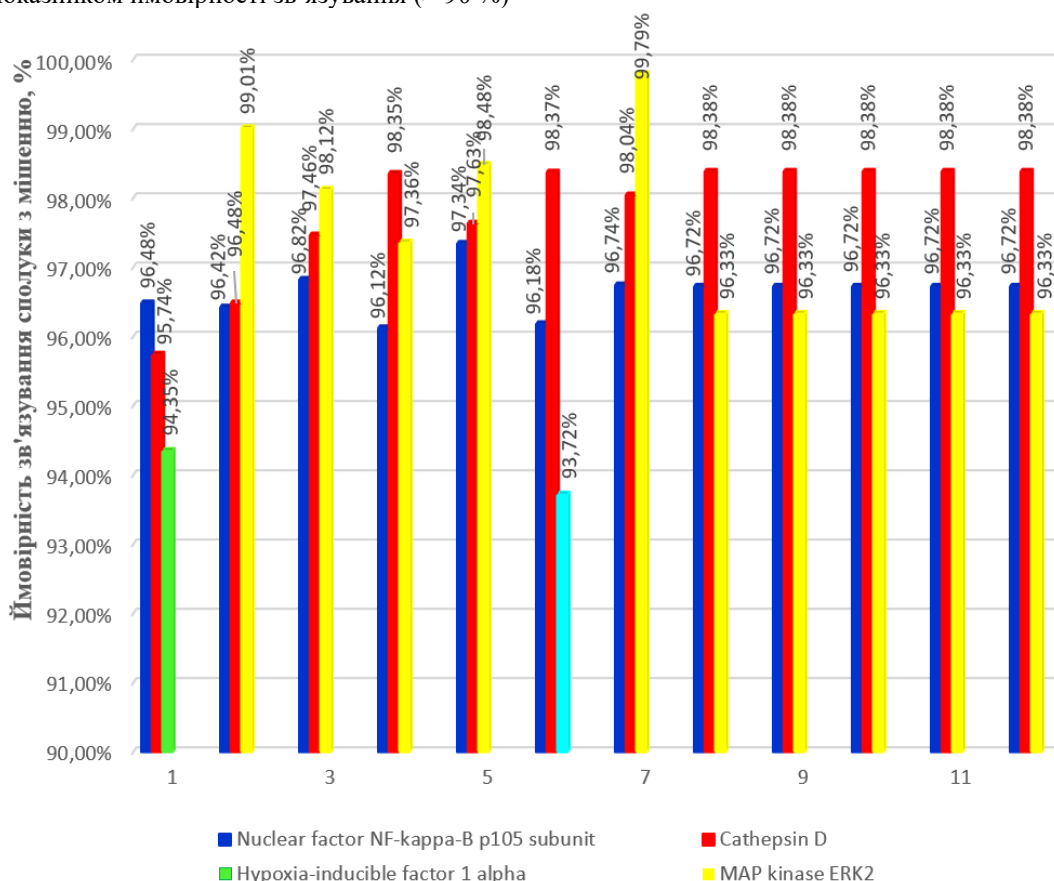


Рис. 3. Найвища ймовірність зв'язування сполук 1–12 з мішенями (у %)

Неочікуваним для нас виявилось те, що віртуальною програмою не було знайдено подібності похідних з коротким алкільним радикалом у 7

положенні базового гетероциклу (сполуки 1–3), а також похідного з *i*-бутильним радикалом (сполука 5) до зареєстрованих ЛЗ з C04AD кодом. Сполукам 1–3

прогнозується приналежність лише до одного коду R03DA, а сполуці 5 – до двох кодів R03DA і M01AE (Похідні пропіонової кислоти, протизапальні та протиревматичні засоби). Саме введення розгалуженого радикалу в 7 положення молекули, очевидно, сприяло появі протизапальної та протиревматичної активності, адже код M01AE також властивий іншому похідному із розгалуженим замісником – сполуці 7, що містить *i*-амільний радикал. Цікавим виявився факт ймовірної приналежності сполуки 4 до групи ЛЗ з АТС-кодом N03AG (Похідні жирних кислот, протиепілептичні засоби). Критичним для появи такої активності слід рис. 4):

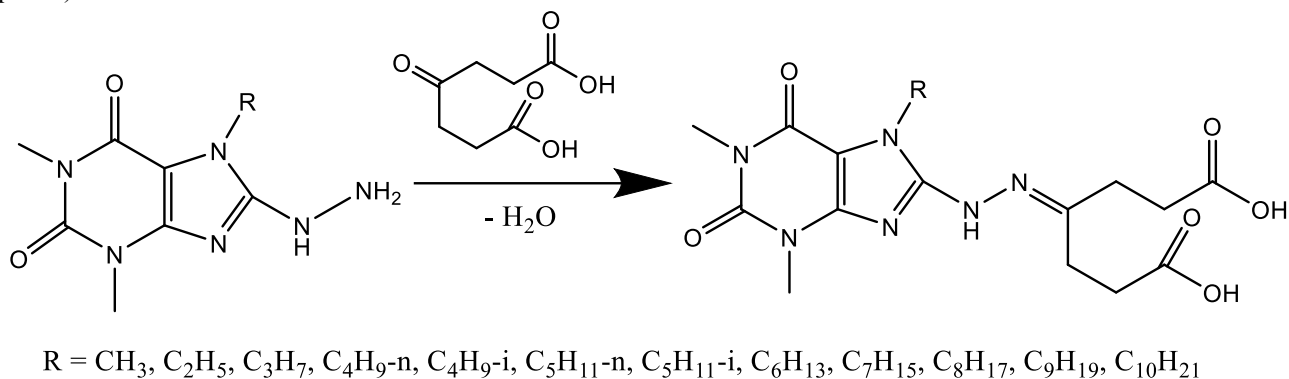


Рис. 4. Схема синтезу 4-(2-(7-алкіл-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразоно) гептандіових кислот

#### Висновки

1. ADME властивості та біологічна активність досліджуваних речовин напряму залежать від хімічної структури молекули. Виходячи з відомої структури фармакофору теофіліну, ми здійснили віртуальний дизайн та провели їх початковий скринінг.
2. За результатами віртуального скринінгу біологічної активності 4-(2-(7-алкіл-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразинілден)гептандіових кислот встановлені найбільш перспективні мішені (Cathepsin D і Nuclear factor NF-κappa-B p105 subunit) для зв'язування з прогнозованою ймовірністю 95,74–98,38 % і 96,12–97,34 % відповідно, та високою точністю моделей прогнозування (> 95 %), що у подальшому може полегшити молекулярне моделювання та біохімічне тестування.
3. Згідно ADME-прогнозів, усі *N*<sup>7</sup>-алкільні похідні 4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразинілден)гептандіової кислоти є потенційними ФАР і характеризуються задовільними значеннями критеріїв. Обмеження їх пероральної біодоступності викликане завищеними показниками *N*-RB та TPSA.
4. Встановлено деякі закономірності взаємозв'язку «структура – біологічна дія». Так, видовження алкільного замісника у 7 положенні базового гетероциклу суттєво не змінює фармакологічний потенціал речовин, але негативно впливає на їх ADME профіль і обмежує пероральну біодоступність сполук.

вважати наявність *n*-бутильного радикалу в 7 положенні. Згідно отриманих прогнозів, більшість аналізованих похідних (сполуки 4–12) є потенційними мультихітерами (potential multi-hitter).

Підсумовуючи результати проведених досліджень слід зазначити, що сполуки-лідера ідентифіковано не було. Однак, позитивним фактором є прогнозована відносна легкість синтезу сполук, про що свідчить розрахований показник SA, який коливається в межах від 3,46 до 4,52. Одержання 7-алкілзаміснених 4-(2-(1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурін-8-іл)гідразоно)гептандіових кислот можна здійснити за схемою (

Для показника *N*-RB ця залежність прямо пропорційно зростає, а TPSA усіх похідних залишається стабільно високим на рівні 160,81 Å<sup>2</sup>, що погіршує їх проникність у ШКТ. Прогнозована взаємодія з ферментами CYP-450 мінімальна, або відсутня, що є позитивною характеристикою молекул.

5. Найперспективнішими для подальших досліджень вважаємо сполуки 1 і 2, які містять метильний та етильний замісники у 7 положенні базового гетероциклу.

#### Перспективи подальших досліджень

Результати прогнозування підтвердили перспективність подальшого пошуку потенційних біологічно активних речовин поміж 7-*R*-8-гідразинопохідних теофіліну. Актуальною є структурна оптимізація похідних теофіліну для покращення їх ADME профілю. Обов'язковим, на нашу думку, є синтез ідентифікованих сполук із кращими властивостями та ґрунтовні *in vitro* та *in vivo* фармакологічні дослідження.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

#### Using *in silico* tools for primary screening and prediction of pharmacological activity of the range new theophylline derivatives

**Liudmila Mosula, Serhii Yalovchuk, Viktoriia Mosula, Dmytro Korobko**

**Introduction.** Pharmacotherapy of various diseases requires the use of new highly effective drugs. At the

initial stages of drug development, it is advisable to use *in silico* methods for their screening. This saves time and money in selecting the most promising compounds for synthesis and *in vitro* and *in vivo* pharmacological studies. It is known that 7,8-disubstituted theophylline derivatives have a high potential for biological action. We chose 7-R-8-hydrazine derivatives of theophylline for the search of drug-like substances, since it is known that functional hydrazine derivatives are widely used in medical practice as drugs for the pharmacotherapy of depression, infectious diseases, hypertension, diabetes, etc. **The aim of the work** was primary screening and evaluation of potential pharmacological activity of model molecules using virtual computer programs.

**Materials and methods.** The research materials are derivatives of 4-(2-(1,3-dimethyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)hydrazineylidene)heptanedioic acid with linear and branched alkyl substituents at the 7<sup>th</sup> position of the basic heterocycle (12 compounds): methyl-, ethyl-, *n*-propyl-, *n*-butyl-, *i*-butyl-, *n*-amyl-, *i*-amyl-, *n*-hexyl-, *n*-heptyl-, *n*-octyl-, *n*-nonyl-, *n*-decyl. Research methods – freely available web tools SwissADME and SuperPred 3.0 for screening pharmacologically inactive molecules and selecting potential drug candidates.

**Results and discussion.** The virtual design of compounds (7,8-disubstituted theophyllines) was substantiated and implemented, and their screening was carried out using selected *in silico* methods. Using SwissADME, the physicochemical and pharmacokinetic parameters of the molecules were determined, drug-likeness, potential for oral administration and prospects for medicinal chemistry were established. SuperPred 3.0 webserver made it possible to establish the possible belonging of the studied compounds to certain ATC-classes in accordance with the WHO classification of drugs and target prediction of compounds. The biotargets with the highest probability of binding (> 90 %) and model prediction accuracy (> 80 %) were taken into account. The common predicted targets for them are Cathepsin D i Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit. The probability of the binding of the compounds 1–12 with the first target is in the range of 95,74–98,38 %, and with the second – 96,12–96,72 %. The accuracy of target prediction models ranges from 96,09–98,95 %. The obtained results were compared with the results of the prediction for theophylline and basic structure – 4-(2-(1,3-dimethyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)hydrazineylidene)heptanedioic acid. The results of *in silico* studies indicate the drug-like nature of molecules for which a fairly easy synthesis is predicted. **Conclusions.** A virtual screening of the studied compounds was carried out and some relationships «structure – biological activity» were established. Further chemical modification of the structures should not involve the elongation of the alkyl substituent at position 7 of the basic heterocycle, because this does not significantly change their pharmacological potential, but negatively affects the ADME profile and limits oral bioavailability. The results of *in silico* prediction confirmed the prospects of further research for

biologically active compounds among 7,8-disubstituted theophyllines.

**Keywords:** 7-R-8-hydrazine theophyllines, *in silico* prediction, SuperPred 3.0, SwissADME, ADME properties, Cathepsin D, Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit, peripheral vasodilatory, obstructive airway diseases.

## References

1. Klenina OV, Chaban TI. Use of chemoinformatics and bioinformatics databases in the processes of computer-aided drug design (review). *Farmatsevychnyi Zhurnal*. 2023;78(6):61–82. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.23.05>. Ukrainian.
2. Chen Y, Kirchmair J. Cheminformatics in Natural Product-based Drug Discovery. *Mol Inform*. 2020;39(12):e2000171. DOI: 10.1002/minf.202000171.
3. Shaker B, Ahmad S, Lee J, Jung C, Na D. *In silico* methods and tools for drug discovery. *Comput Biol Med*. 2021;137:104851. DOI: 10.1016/j.compbimed.2021.104851.
4. Wainwright CL, Teixeira MM, Adelson DL, Braga FC, Buenz EJ, Campana PRV, Wolfender J-L. Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: an IUPHAR positional review. *Pharmacological Research*, 2022;177:106076. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106076>.
5. Cysewski P, Jeliński T, Cymerman P, Przybyłek M. Solvent Screening for Solubility Enhancement of Theophylline in Neat, Binary and Ternary NADES Solvents: New Measurements and Ensemble Machine Learning. *Int J Mol Sci*. 2021;22(14):7347. DOI: 10.3390/ijms22147347.
6. Singh N, Shreshtha AK, Thakur MS, Patra S. Xanthine scaffold: scope and potential in drug development. *Heliyon*. 2018;4(10):e00829. DOI: 10.1016/j.heliyon.2018. e00829.
7. Allen SC, Tiwari D. Theophylline as a systemic anti-inflammatory agent: the need for its revival as a possible adjunctive treatment for «inflammaging». *Biol Eng Med*. 2019;4(1):1–3. DOI: 10.15761/BEM.1000162.
8. Chang YL, Hsu YJ, Chen Y, Wang YW, Huang SM. Theophylline exhibits anti-cancer activity via suppressing SRSF3 in cervical and breast cancer cell lines. *Oncotarget*. 2017;8(60):101461–101474. DOI: 10.18632/oncotarget.21464.
9. Wójcik-Pszczola K, Szafarz M, Pocięcha K, Słoczyńska K, Piska K, Koczurkiewicz-Adamczyk P, Wyska E. *In silico* and *in vitro* ADME-Tox analysis and *in vivo* pharmacokinetic study of representative pan-PDE inhibitors from the group of 7,8-disubstituted derivatives of 1,3-dimethyl-7H-purine-2,6-dione. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2022;457:116318. DOI: 10.1016/j.taap.2022.116318.
10. Lee D, Lee S, Liu KH, Bae JS, Baek DJ, Lee T. Solid-Phase Synthesis of 1,3,7,8-Tetrasubstituted Xanthine Derivatives on Traceless Solid Support. *ACS Comb Sci*. 2016;18(1):70–74. DOI: 10.1021/acscmbosci.5b00148.

11. Korobko D. Synthesis of the row of new functional derivatives of 7-arylalkyl-8-hydrazine theophyllines. *ScienceRise*. 2016;3/4(20):39–45. DOI: 10.15587/2313-8416.2016.65209.
12. Constantin S, Lupascu FG, Apotrosoaei M, Vasincu IM, Lupascu D, Buron F, Routier S, Profire L. Synthesis and biological evaluation of the new 1,3-dimethylxanthine derivatives with thiazolidine-4-one scaffold. *Chemistry Central Journal*. 2017;11:2-13. DOI: 10.1186/s13065-017-0241-0.
13. SwissADME. Available from: <http://www.swissadme.ch/>.
14. SuperPred 3.0. Available from: <https://prediction.charite.de/index.php>.
15. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017;7:42717. DOI: 10.1038/srep42717.
16. Gallo K, Goede A, Preissner R, Gohlke BO. SuperPred 3.0: drug classification and target prediction-a machine learning approach. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(W1):W726-W731. DOI: 10.1093/nar/gkac297.
17. Dunkel M, Günther S, Ahmed J, Wittig B, Preissner R. SuperPred: drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(Web Server issue):W55-9. DOI: 10.1093/nar/gkn307.
18. Kopak NA. Searching of biological activity of S-esters 4-acetylamino-benzenethiosulfoacid using methods of chemoinformatics. *Chemistry, Technology and Application of Substances*. 2023;6(2):76-86. DOI: 10.23939/ctas2023.02.076.
19. Karpenko YV, Panasenko OI, Litun AP. Search for molecular descriptors and computer prediction of biological activity in a series of S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methylthiopyrimidines. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2024;17(1):5-9. DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.298027.