

**УДК 547.655.6**

## **СИНТЕЗ НОВИХ АМІНОФОСФОНОВИХ ПОХІДНИХ ХІНОНІВ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ**

*Курка М., Миколів О., Болібрux X., Журахівська Л., Ковальчук О., Губицька І.,  
Болібрux Л., Марінцова Н., Новіков В.*

*Національний університет „Львівська політехніка”, Львів, Україна  
E-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua*

В роботі описано синтез нових фосфоровмісних похідних 1,4-нафтохінону, наведено результати віртуального комп'ютерного скринінгу за програмою PASS та молекулярного докінгу. За результатами віртуального скринінгу синтезованих сполук встановлено, що їм притаманні наступні види біологічної активності: антиоксидантна, антигіпоксична, протиішемічна, протитуберкульозна, бактерицидна, протипухлинна, цитотоксична, фунгіцидна, антисклерозна, антиангінальна та інші. Результати молекулярного докінгу базуються на співставленні афінностей стандартного ліганду та досліджуваних сполук, синтезованих у роботі, до різноманітних біомішеней.  
**Ключевые слова:** амінофосфонові кислоти, 1,4-нафтохінон, скринінг, докінг.

### **ВСТУП**

Амінофосфонати займають важливе місце у біологічних процесах живих організмів та конструюванні нових біорегуляторів. Протягом вже більше тридцяти років використовується вискоєфективний біодеградабельний гербіцид «Glyphosate» (N-фосфометилгліцин). Серед амінофосфонатів знайдені також лікарські препарати, які використовуються для лікування остеопорозу, хвороби Паджета, деяких видів пухлин. Вони виявляють виразну антипаразитарну активність і можуть бути імуномодуляторами [1, 2]. Добре відома їх комплексоутворювальна здатність, що також визначає особливості біологічної активності та використовується з технологічною метою, наприклад для екстракції металів і очистки водних стоків [3].

Перспективним для синтезу нових біологічно активних сполук є введення фосфонових фрагментів в молекули хінонів, які мають високу антиоксидантну, цитолітичну та цитостатичну активність. Препарати на основі похідних 1,4-нафтохінону ефективно застосовують при лікуванні розладів функцій головного мозку (церебрального інфаркту, крововиливу головного мозку, атеросклерозу) [4-8]. Метою даного дослідження було введення фосфонових фрагментів у молекули хінонів та вивчення біологічної активності нових синтезованих сполук, що має, безперечно, значний теоретичний і практичний інтерес.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

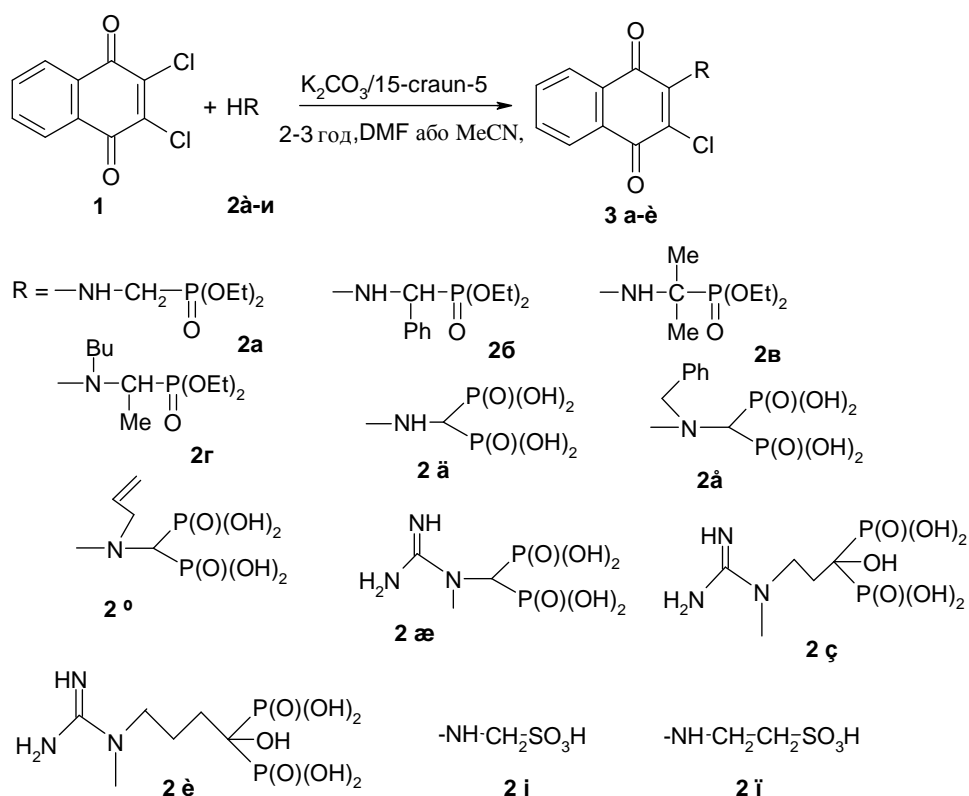
Для реалізації поставленого завдання ми взяли ряд амінобісфосфонових кислот (2 а-и) і провели їх взаємодію з 2,3-дихлоро-1,4-нафтохіноном (схема 1).

Реакція проходить за звичною схемою нуклеофільного заміщення аміногрупою атома хлору в 2,3-дихлоро-1,4-нафтохіноні **1** у середовищі DMF або MeCN у присутності прокаленого  $K_2CO_3$  і бензо-15-краун-5 протягом 2-3 годин при  $80^\circ C$  в еквімолярних кількостях реагуючих речовин.

У випадку вторинних амінобісфосфонових кислот **2 е, є** заміщення протікає в більш жорстких умовах (DMF,  $100^\circ C$ , 3 год.,  $K_2CO_3$ , бензо-15-краун-5) і з меншими виходами кінцевих продуктів, 56 і 63%, відповідно.

Будова синтезованих сполук підтверджена даними елементного аналізу та спектральними даними.

Схема 1



З метою визначення напрямків дослідження біологічної активності синтезованих сполук була застосована комп'ютерна програма PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), яка передбачає програмування біологічної дії на основі структурної будови речовин. Використання цієї програми дозволяє

передбачити та оцінити ймовірність сполуки проявляти певний вид біологічної активності [9].

Як показав результат віртуального скринінгу - синтезовані сполуки мають наступні види біологічної дії: антиоксидантну, антигіпоксичну, протишемичну, протитуберкульозну, бактерицидну, протипухлинну, цитотоксичну, фунгіцидну, антисклерозну, антиангінальну та інші.

Використання віртуального біологічного скринінгу активності одержаних сполук дозволило відібрати 5 нових синтезованих амінофосфонових похідних **3 в, г, д, ж, з** для яких визначили гостру токсичність. Гостру токсичність сполук досліджено на 165 білих нелінійних мишах масою 15–20 г з дотриманням методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру [10].

Характеризуючи результати гострої токсичності можна зазначити, що абсолютно всі похідні, згідно класифікації Сидорова [11], за величиною показника LD<sub>50</sub> належать, в основному, до низькотоксичних речовин, оскільки їх LD<sub>50</sub> знаходиться в межах 650–900 мг/кг.

Проведення докінгових досліджень та створення віртуальних бібліотек сполук, котрі, здебільшого, є структурними аналогами речовин з відомою активністю, є сучасним підходом до планування постановки синтезу. Результати молекулярного докінгу базуються на співставленні афінностей стандартного ліганду та досліджуваних синтезованих сполук до різноманітних біомішеней. Отримані дані дозволяють встановити структури-лідери та визначити «будівельні блоки» (скафолди) молекул для дизайну, як нових речовин, так і пошуку напрямків оптимізації хімічних структур з метою підвищення їх біологічної активності. Проаналізувавши ступінь спорідненості досліджуваної сполуки з біологічними мішенями, можна також зробити висновок про механізм реалізації фармакологічної дії [12].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів молекулярного докінгу наведеної вибірки речовин за скоринговою функцією Consensus для кристалографічних моделей 1YSI, 1SA1, 1FM6, EGFR (ErbB-1) та фрагменту ДНК d(CGTCACG) дозволив виділити з групи синтезованих похідних 1,4-нафтохінону сполуки **3 в, д** із високим рівнем афінитету до даних біомішеней.

Опираючись на отримані результати було встановлено, що сполука **3 в** показала найвищу спорідненість до біомішені рецептора епідермального фактору росту та було побудовано 3D-моделі зв'язування сполуки-лідера - окремо та у порівнянні із стандартним лігандом з активною зоною біомішені рецептора епідермального фактору росту (рис. 1).

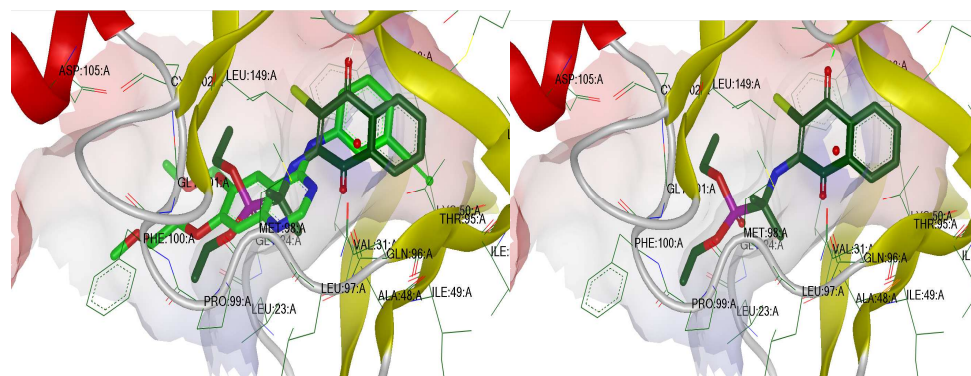


Рис. 1. 3D-моделі зв'язування сполуки-лідера **3 в** (зліва) та у порівнянні із стандартним лігандом (справа) з активною зоною біомішені (рецептор епідермального фактору росту EGFR (ErbB-1))

Дані дослідження афінності синтезованих сполук до біомішені BCL-X<sub>L</sub>, PPAR $\gamma$ , тубуліну та фрагменту ДНК d(CGTACG) не показали значних результатів. Структури синтезованих у роботі сполук характеризувалися низькою спорідненістю до даних біомішені і можливість реалізації протиракової активності цим шляхом є малоімовірною.

У результаті докінгу одержано ряд значень скорингових функцій, які оцінюють якість та енергію зв'язування досліджуваних структур з молекулою біомішені. Слід відзначити, що найнижчі (найкращі) значення скорингових функцій одержані для фрагмента молекули рецептора епідермального фактору росту, який обрали ключовим об'єктом дослідження. Встановлено можливість імітування сполукою **3 в** взаємодію відомого типового ліганду Ерлотинібу до біомішені EGFR (ErbB-1). Необхідно відзначити, що саме поєднання в одній молекулі хіноїдної і ароматичної системи сполуки **3 в** відтворює гідрофобну взаємодію етиніланілідного фрагменту ліганду з гідрофобними амінокислотними залишками Phe:108:A, Lys:50:A, Val:31:A у ланцюзі рецептора епідермального фактору росту. Також імовірний гідрофобний тип взаємодії метокси-фрагментів досліджуваної структури **3 в** з гідрофобними залишками амінокислот Phe:100:A, Pro:99:A, Met:44:A, Leu:149:A, Gly:101:A, що відповідає зв'язуванню диметоксиметанових фрагментів молекули стандартного інгібітора Ерлотинібу. Крім того, прогнозується утворення водневого зв'язку між атомом оксигену хіноїдного циклу сполуки **3 в** з карбоксильним гідроксилом фрагменту амінокислоти Gly:101:A. На рис. 1 наведено найвигіднішу доковану позицію сполуки **3 в**, суміщену з молекулою ліганду для порівняння особливостей утворення зв'язків у активному центрі рецептора епідермального фактору росту EGFR (ErbB-1).

Спорідненість досліджуваних сполук з молекулою біомішені (рецептор епідермального фактору росту EGFR (ErbB-1)) свідчить на користь механізму реалізації протиракової активності шляхом інгібування тирозинкіназ для синтезованих похідних 1,4- нафтохінону.

## ВИСНОВКИ

1. Синтезовано нові фосфорорвмісні похідні 1,4-нафтохінону, серед яких знайдено речовини з високою біологічною активністю широкого спектру дії.
2. Експериментально встановлено, що досліджувані сполуки належать, в основному, до низькотоксичних речовин, оскільки їх LD<sub>50</sub> знаходиться в межах 650–900 мг/кг.
3. Завдяки віртуальному комп'ютерному скринінгу (програма PASS) і молекулярному докінгу спрогнозовано високу ймовірність синтезованих сполук виявляти антиоксидантну, бактерицидну, фунгіцидну, протипухлинну, цитотоксичну дії. Показано високу спорідненість хінонів до рецепторів епідермального фактору росту EGFR.

## Список літератури

1. Palacios F. Synthesis of  $\beta$ -Aminophosphonates and -Phosphinates / F. Palacios, C. Alonso., J. M. de los Santos // Chem. Rev. – 2005. – Vol. 105, № 3, – P. 899–931.
2. Zhang S. Synthesis and Testing of Quinone-Based Bis (2,2-dimethyl-1-aziridinyl)-phosphinyl Carbamates as Rationation-Potentiating Antitumor Agents / S. Zhang, J. Earle, J. MacDiarmid, T. Bardos // J. Med. Chem.- 1988. – Vol. 31, № 6, – P. 1240–1244.
3. Кухар В. П. Хімія амінофосфонових кислот – нові напрямки. Пленарна доповідь на XXII Укр. конф. з орган хімії, Ужгород, 2010 р.
4. Картофлицкая А.П. Синтез некоторых аминокислотных производных 2-хлор-1,4-нафтохинона и их антигипоксическая и противоишемическая активности / А.П. Картофлицкая, Г.И. Степанюк, В.В. Юшкова, Н.Г. Маринцова, В.П. Новиков // Хим. фарм. журн. – 1997. – Т. 31, № 6. – С. 17–18.
5. А.с. 1774617 СССР, Производные 3-хлор-1,4-нафтохинона, обладающие бактерицидными и фунгицидными свойствами / А.П. Картофлицкая, В.Т. Колесников, В.Н. Солонин, Л.А. Кучеренко, А.А. Гузова, В.Т.Шелевий, М.К. Хмелюк, В.Л. Веляев (СССР). – 1983.
6. А.с. 1690339 СССР, N-(3-хлор-1,4-нафтохинонил-2)-2- D,L-аспарагиновая кислота, проявляющая кардиостимулирующие свойства / А.П. Картофлицкая, В.Т. Колесников, В.С. Зыбин, Н.М. Митрохин, Ю.В. Буров, Н.С. Диогенова, А.А. Гузова (СССР). – 1990.
7. Пат. 2032661 Российская Федерация, Дикалиевая соль N-(3-хлор-1,4-нафтохинонил-глутаминовой кислоты, проявляющая антигипоксическую редуцтажную, антиангинальную и противоишемическую активность / Картофлицкая А.П., Гузова В.Т., Розанова Ю.В., Марковский Л.Н.; С 007 С 211/59, Ф 61 К31/135. – 1995.
8. Пат. СССР 1822555. Морфолиновая соль (3-хлор-1,4-нафтохинонил-2)-глицина, проявляющая кардиостимулирующие и антигипоксические свойства / Колесников В.Т. , Митрохин Н.М., Сернов Л.Н., Диогенова Н.С., Гузова А.А., Шелевий Д.А. – 1993.
9. PASS (Prediction of Activiti Spectra for Substances) [електронний ресурс] / режим доступу до ресурсу: <http://www.ibmh.msk.su/PASS>
10. Стефанова О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. - К.: 2001. – 527 с.
11. Сидоров К.К. О классификации ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных веществ. - М.: Медицина. – 1973. – № 13. – С. 47–51.
12. Tanja Schulz-Gasch and Martin Stahl. Binding site characteristics in structure-based virtual screening: evaluation of current docking tools // Journal of Molecular Modeling. – 2002. – Vol. 9, № 1. – P.47–57.

Курка М.С. Синтез новых аминофосфоновых производных хинонов и изучение их биологической активности / М. Курка, О. Мыколив, Х. Болібрух, Л. Журахівська, О. Ковальчук, И. Губицька, Л. Болібрух, Н. Маринцова, В. Новіков // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С.281-287.

В работе описан синтез новых фосфорсодержащих производных 1,4 - нафтохинона, приведены результаты виртуального компьютерного скрининга по программе PASS и молекулярного докинга.

По результатам виртуального скрининга синтезированные соединения обладают следующими видами биологического действия: антиоксидантным, антигипоксическим, противоишемическим, противотуберкулезным, бактерицидным, противоопухолевым, цитотоксическим, фунгицидным, антисклерозным, антиангинальным и другими.

Результаты молекулярного докинга базируются на сопоставлении аффинности стандартного лиганда и исследуемых синтезированных в работе соединений к различным биомишеням.

**Ключевые слова:** аминофосфоновые кислоты, 1,4- нафтохинон, скрининг, докинг.

## **SYNTHESIS OF NEW AMINOPHOSPHONIC QUINONE DERIVATIVES AND STUDY OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY**

*Kurka M., Mykoliv O., Bolibrukh Kh., Zhurakhivska L., Kovalchuk O., Hubytska I.,  
Bolibrukh L., Marintsova N., Novikov V.*

*National University "Lviv Politechnic", Lviv, Ukraine*

*E-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua*

In the recent work new phosphorus-containing 1,4-naphthoquinone derivatives were synthesized by the reaction, which passed through the usual scheme of nucleophilic substitution of the chlorine atom of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone **1** by amino group in the medium of DMF or MeCN in the presence of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and benzo-15-crown-5 for 2–3 hours at 80 °C in equimolar amounts of reactants.

Results of computer virtual screening (program PASS) showed that among synthesized compounds were detected substances with a broad-spectrum of biological activity, namely, antioxidant, anti-hypoxic, anti-ischemic, antituberculosis, antibacterial, antitumor, cytotoxic, fungicidal, antisclerotic, antianginal, etc.

For five new synthesized aminophosphonic derivatives determination of acute toxicity was conducted, which was examined on 165 white nonlinear mice weighing 15–20 g in compliance with guidelines of the State Pharmacological Center [10].

Describing the results of acute toxicity may be noted that absolutely all derivatives, according to the classification of Sidorov [11], due to the value of the index LD<sub>50</sub> belong mainly to low toxic substances, as their LD<sub>50</sub> is in the range of 650–900 mg/kg.

Analysis of molecular docking results of showed samples by scoring function Consensus for crystallographic models 1YSI, 1SA1, 1FM6, EGFR (ErbB-1) and the DNA fragment d(CGTAACG) allowed to select from a group of synthesized derivatives of 1,4-naphthoquinone compound **3 в,д** with a high level of affinity to these biotargets.

Based on the obtained results, it was found that the compound **3 в** showed the highest affinity to biotargets of the epidermal growth factor receptor and was built 3D-model

binding of compound-leader – separately and comparing with standard ligands with an biotarget active zone of epidermal growth factor receptor.

**Keywords:** aminophosphonic acids, 1,4-naphthoquinone, screening, docking.

#### References

1. Palacios F. Synthesis of  $\beta$ -Aminophosphonates and  $\beta$ -Phosphinates / F. Palacios, C. Alonso., J. M. de los Santos, Chem. Rev., **105**, **3**, 899 (2005).
2. Zhang S., Earle J., MacDiarmid J., Bardos T. Synthesis and Testing of Quinone-Based Bis (2,2-dimethyl-1-aziridinyl)-phosphinyl Carbamates as Radiation-Potentiating Antitumor Agents, J. Med. Chem., **31**, **6**, 1240 (1988).
3. Kukhar V.P. Chemistry of aminophosphonic acids - new directions. Plenary lecture at the XXII Ukr. conf. of organic chemistry, Uzhgorod, (2010).
4. Kartoflytskaya A.P., Stepanyuk G.I., Yushkova V.V., Marintsova N.G., Novikov V.P. Synthesis of some aminoacid derivatives of 2-chloro-1,4-naphthoquinone and its anti-hypoxic and antiischemic activities, Chem. Pharmaceutical Journal, **31**, **6**, 17 (1997).
5. A.s. 1774617 (USSR). The 3-chloro-1,4-naphthoquinone having the bactericidal and fungicidal activities, Kartoflitskaya A.P., Kolesnikov V.T., Solonin V.N., Kucherenko L.A., Guzova A.A., Shelevyi V.T., Khmelyuk M.K., Velyaev V.L. (1983).
6. A.s. 1690339 N-(3-chloro-1,4-naphthoquinone-2)-2-D,L-aspartic acid, showing cardiostimulating properties, Kartoflitskaya A.P., Kolesnikov V.T., Zybin V.S., Mitrokhin N.M., Burov Y.V., Diogenova N.S., Guzova A.A. (1990).
7. Pat. 2032661 Ros. Feder. Dipotassium salt of N-(3-chloro-1,4-naphthoquinonil)-glutamic acid, showing antihypoxic reductase, antianginal and antiischemic activities, Kartoflitskaya A.P., Guzova V.T., Rozanova Y.V., Markowski L.N. C 007 C 211/59, F 61 K31/135, (1995).
8. Pat. USSR 1,822,555. Morpholino salt (3-chloro-1,4-naphthoquinone-2)-glycine, manifesting N.S. cardiostimulating and antihypoxic properties, Kolesnikov V.T., Mitrokhin N.M., Sernov L.N., Diogenova, Guzova A.A., Shelevyi D.A., (1993).
9. PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), electronic resource, mode of access to the resource: <http://www.ibmh.msk.su/PASS>.
10. Stefanov O.V. Preclinical studies of drugs. Guidelines, 527 (2001).
11. Sidorov K.K. Classification of poisons by parenteral ways of application, Toxicology of new industrial materials, **13**, 47 (1973).
12. Tanja Schulz-Gasch and Martin Stahl, Binding site characteristics in structure-based virtual screening: evaluation of current docking tools, Journal of Molecular Modeling, **9**, **1**, 47, (2002).

*Поступила в редакцію 22.11.2013 з.*