

В. П. Рыженко, А. А. Рыжов, И. Ф. Беленичев, С. В. Левич

Комплексный подход к разработке и созданию компьютерной программы виртуального скрининга антиоксидантной активности

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: антиоксидантная активность, виртуальный скрининг, квантово-химические дескрипторы, ловушки NO, компьютерная программа

Патогенез большинства распространенных заболеваний человека (в том числе патологии сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей, злокачественные новообразования) имеет достаточно четко очерченную свободнорадикальную фазу. Поэтому в последние годы резко возрос интерес ученых к таким понятиям, как антиоксиданты, антиоксидантное действие лекарств, лекарства-антиоксиданты. Установление закономерностей связи между химической структурой соединений и их специфической активностью в отношении активных форм кислорода и азота является актуальной задачей в процессе поиска и создания антиоксидантов. В последнее время с прояснением роли NO в патогенезе мозговых инсультов, хронической сердечной недостаточности, гипертонической болезни, а также в молекулярно-биохимических механизмах инициирования апоптоза, эндотелиальной дисфункции ставится вопрос о высокоселективном поиске скавенджеров этого радикала [1].

Поиск количественных соотношений структура-свойство основан на применении целого ряда молекулярных дескрипторов, основными из которых являются: фрагментные дескрипторы [2], топологические индексы [3], физико-химические дескрипторы [4], квантово-химические дескрипторы [5], дескрипторы молекулярных полей (метод CoMFA [6]), константы заместителей [7], фармакофорные дескрипторы [8]. Исследованиями последних 35 лет, проведенными в ЗГМУ и НФАУ, была выявлена высо-

кая антигипоксическая, антиоксидантная, кардиопротекторная, антиангинальная и противоишемическая активности в ряду производных ксантина [1]. Таким образом, использование в качестве объектов исследования этих производных и результатов их изучения в разработке и создании программы виртуального скрининга антиоксидантной активности (АОА) является актуальным и перспективным.

Цель исследования – на основании комплексного математико-теоретического подхода и результатов фармакологических исследований в ряду производных ксантина разработать программу виртуального скрининга АОА.

Материалы и методы. Квантово-химические расчеты. В процессе исследования проведены квантово-химические расчеты дескрипторов HOMO Energy (высшая занятая молекулярная орбиталь) и LUMO Energy (низшая вакантная молекулярная орбиталь) с помощью программного комплекса WinMorac (v. 7.2). Оптимизация структуры достигалась использованием полуэмпирического метода AM1 со следующими параметрами: Calculation = Single Point, Wave Function = Closed Shell (RHF).

Были проведены квантово-химические расчеты следующих энергетических дескрипторов молекулярных орбиталей [9]:

- высшая занятая молекулярная орбиталь (ВЗМО) – E (HOMO);
- низшая вакантная молекулярная орбиталь (НВМО) – E (LUMO);

Далее были рассчитаны необходимые показатели:

- абсолютной жесткость молекулы (η):

$$\eta = [E(\text{LUMO}) - E(\text{HOMO})]/2 \quad (1);$$

– абсолютная электрическая негативность молекулы (χ):

$$\chi = -[E(\text{LUMO}) + E(\text{HOMO})]/2 \quad (2);$$

– индекс реактивности (ω):

$$\omega = \chi^2 / 2\eta \quad (3).$$

Метод оценки АОА соединений in vitro по ингибированию NO·-радикала [10]. Принцип метода. Фотоиндукция нитропрусида натрия сопровождается образованием NO·-радикала, о чем судят по скорости окисления аскорбата, измеряя оптическую плотность пробы при 265 нм.

Проведение исследования. Экстемпорально готовили 0,08 % раствор аскорбиновой кислоты и 0,6 % раствор нитропрусида натрия.

К 2 мл раствора натрия нитропрусида добавляли 1 мл аскорбиновой кислоты и 0,5–1 мл исследуемых веществ в концентрациях 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} моль/л. В качестве референс-препарата был использован N-ацетилцистеин (НАС), проявляющий свойства скавенджера NO [1]. После перемешивания реакцию запускали иммерсией от источника света 300 Вт с $\lambda = 425$ нм в течение 30 мин. АОА оценивали по сохранению концентрации аскорбиновой кислоты, которую определяли при $\lambda = 265$ нм на спектрофотометре Libra S32PC (Great Britain).

АОА вычисляли по формуле:

$$\text{АОА} = \frac{D_k - D_o}{D_k} \cdot 100 \% \quad (4),$$

где D_k – оптическая плотность проб до внесения веществ;

D_o – оптическая плотность опытной пробы.

Для исследования в качестве перспективных объектов оценки антиоксидантной активности по ингибированию NO всего было отобрано 122 соединения, производные ксантинил-7-ацетатных и ксантинил-8-тиоацетатных кислот и 3-R-гидроксиметилксантинов, синтезированных на кафедре биологической химии Запорожского государственного медицинского университета (заведующая – доктор химических наук, профессор Е. В. Александрова).

Результаты исследования антиоксидантной активности обработаны с при-

менением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Отдельные статистические процедуры и алгоритмы реализованы в виде специально написанных макросов в соответствующих программах. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Использование методов квантовой химии для выявления закономерностей структура-активность позволяет на более глубоком уровне описать природу активных фрагментов молекул исследуемых соединений. Кроме того, использование результатов квантово-химических расчетов в отличие от полуэмпирических (физико-химических методов) позволяет проводить исследования для более репрезентативного ряда потенциальных лекарственных средств.

Однако следует отметить, что большое количество молекулярных дескрипторов требует значительного машинного времени для их расчета и специализированного программного обеспечения, которое в большинстве случаев имеет коммерческую, а не открытую основу.

Для упрощения процесса скрининга нами была предпринята попытка уменьшить количество молекулярных дескрипторов, необходимых для поиска потенциальных скавенджеров NO.

Среди всех элементов информации, которую можно получить из собственных векторов молекул, наиболее перспективными являются индексы реактивности Фукуи.

Органическая молекула имеет сложный энергетический спектр, описание особенностей электронного строения любых молекул можно сильно упростить, рассматривая не все, а только высшую занятую (ВЗМО или НОМО) и низшую вакантную молекулярные орбитали (НВМО или LUMO). Эти орбитали часто называют предельными, и именно они в первую очередь определяют реакционную способность молекулы.

Для выявления закономерностей связи структура-активность нами была



разработана схема электронно-топологического подхода (рис. 1).

Далее нами была осуществлена реализация электронно-топологического подхода, включающего следующие этапы работы:

- 1) исследование производных ксантина;
- 2) расчет квантово-химических характеристик молекул с помощью программного комплекса WinMOPAC (с использованием конформационного анализа). Создание базы данных по квантово-химическим параметрам;
- 3) исследование АОА по ингибированию NO \cdot ;
- 4) расчет корреляционной зависимости между квантово-химическими параметрами соединений и АОА по ингибированию NO \cdot ;
- 5) создание программы виртуального скрининга на основе алгоритма, учитывающего корреляционную зависимость квантово-химических параметров соединений и АОА по ингибированию NO \cdot . Рабочие базы с данными о показателях АОА и квантово-химических расчетов (HOMO, LUMO, η , χ , ω);
- 6) написание программы виртуального скрининга.

Для исследования нами была использована выборка данных исследований АОА и квантово-химических расчетов 11 соединений, производных ксантина (всего в опытах 122 соединения).

Были использованы результаты определения антиоксидантной активности *in vitro* исследуемых соединений [11] по ингибированию NO (табл. 1).

Исследования антиоксидантной активности *in vitro* продемонстрировали наличие свойств скавенджеров NO \cdot в ряду производных ксантина. В таблице 1 представлены результаты исследования АОА *in vitro* 11 соединений из 122. Как видно, АОА наибольшая при концентрации веществ 10 $^{-3}$ моль/л. NAC проявлял свойства скавенджера NO \cdot в концентрации 10 $^{-5}$ моль/л.

Проведены квантово-химические расчеты с использованием метода CNDO/2 [12] (табл. 2).

После проведенных расчетов и определения антиоксидантной активности исследуемых соединений на модели ингибирования NO \cdot -радикала, необходимо установить зависимость биологического действия веществ от их квантово-химических дескрипторов и определить функцию их зависимости [13].

Антиоксидантная активность *in vitro* тестируемых соединений по ингибированию NO[•]-радикала (n = 10)

Соединение	10 ⁻³ моль/л		10 ⁻⁵ моль/л		10 ⁻⁷ моль/л	
	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %
1	1,514 ± 0,066*	56,57	1,115 ± 0,040*	15,30	1,532 ± 0,057*	58,43
2	1,564 ± 0,054*	61,73	1,233 ± 0,084*	27,50	1,585 ± 0,081*	63,91
3	1,525 ± 0,055*	57,70	1,323 ± 0,059*	36,81	1,357 ± 0,079*	40,33
4	1,540 ± 0,074*	59,25	1,133 ± 0,089	17,16	1,464 ± 0,08*	51,39
Контроль	0,967 ± 0,054					
5	1,603 ± 0,089*	82,16	1,408 ± 0,079*	60,00	1,385 ± 0,051*	57,38
6	1,562 ± 0,082*	77,50	1,506 ± 0,091*	71,13	1,356 ± 0,107*	54,09
7	1,439 ± 0,077*	63,52	1,376 ± 0,076*	56,36	1,371 ± 0,074*	55,79
8	1,532 ± 0,065*	74,09	1,383 ± 0,067*	57,16	1,396 ± 0,083*	58,63
Контроль	0,880 ± 0,024					
9	1,532 ± 0,055*	58,43	1,072 ± 0,084	10,86	1,565 ± 0,088*	61,84
10	1,445 ± 0,123*	49,43	0,987 ± 0,094	2,07	1,5440 ± 0,093*	59,67
Контроль	0,967 ± 0,054					
11	1,417 ± 0,056*	61,02	1,515 ± 0,074*	72,16	1,369 ± 0,045*	55,57
Контроль	0,880 ± 0,024					
N-ацетилцистеин	0,901 ± 0,092	2,46	1,042 ± 0,027*	18,47	0,981 ± 0,074	11,53
Контроль	0,880 ± 0,024					

Примечание. Здесь и в табл. 4: *p < 0,05 по сравнению с контролем, контроль – пробы без внесения исследуемых соединений или референс-препарата.

Для этого необходимо найти уравнение регрессии, то есть, нахождение зависимости между значениями одной случайной величины и соответствующими им средними значениями другой случайной величины, а также определить тесноту исследуемой корреляционной зависимости, в частности, тесноту корреляционной зависимости АОА от квантово-химического показателя по степени рас-

сеивания его значений вокруг линии регрессии. Нахождение дескриптора с наименьшим рассеиванием позволит выбрать его в качестве основного для реализации программного обеспечения.

В ходе анализа результатов исследования было установлено, что АОА изучаемых соединений находится в зависимости от реактивного индекса (рис. 2).

Квантово-химические расчеты тестируемых соединений

Соединение	E (LUMO), eV	E (HOMO), eV	ω , eV
1	-0,662058	-8,85597	-2,7640
2	-0,621876	-9,09988	-2,7869
3	-0,664048	8,88114	-2,7719
4	-0,617553	-9,10999	-2,7855
5	0,175988	8,35553	-1,9605
6	-0,166582	-8,11534	-2,1572
7	-0,825065	-8,38973	-2,8062
8	-0,683878	-8,14727	-2,6123
9	-0,551883	-8,55349	-2,5903
10	-0,848165	-8,85555	-2,9398
11	-0,738576	-8,81243	-2,8246

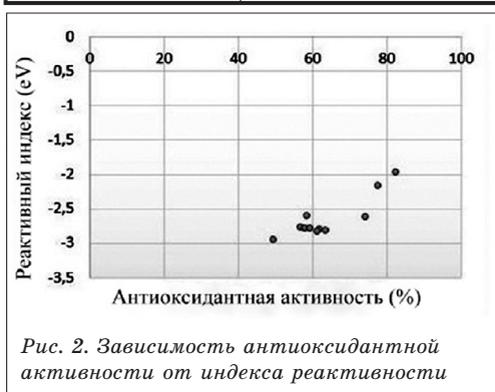


Рис. 2. Зависимость антиоксидантной активности от индекса реактивности

Далее на основании полученных данных был предложен алгоритм программы виртуального скрининга [14]:

- 1) входные данные: показатели НОМО и LUMO;
- 2) рассчитываемые данные: абсолютная жесткость молекулы, абсолютная электрическая отрицательность, реактивный индекс (на основании проведенных выше расчетов);
- 3) данные, внесенные в базу данных (122 соединения): реактивный индекс, АОА, коэффициент корреляции, определяемый по формуле:

$$K_1 = \text{АОА}_1 / \omega_1 \quad (5),$$

и общий коэффициент корреляции:

$$K = (K_1 + K_2 + K_3 \dots + K_n) / n \quad (6);$$

- 4) определение прогнозируемой антиоксидантной активности из показателей коэффициента корреляции и реактивного индекса (рассчитанного из входных данных).

В результате использования данного алгоритма возможно создание программы для виртуального скрининга скавенджеров NO в ряду азаетероциклов, которая в результате своей работы будет определять прогнозируемую АОА соединений в процентах. В качестве входных данных будут использоваться показатели НОМО и LUMO.

Таким образом, для создания программного обеспечения с целью скрининга потенциальных скавенджеров NO нами были выбраны квантово-химические дескрипторы. При этом, исходя из химической природы и реакционной способности активных форм азота, особое внимание следует уделить следующим показателям:

- энергиям высшей занятой и низшей вакантной молекулярных орбиталей, а также индексу реактивности Фукуи.
- Важным аспектом является архитектура программного обеспечения, а также платформа для его использования.

За последнее время интернет превратился из однообразных статических страниц в мощный инструмент интерактивности и общения с конечными пользователями. В связи с этим веб-приложения в настоящее время приобрели небывалую популярность, потому что они предлагают массу важных преимуществ, которые отсутствуют в стандартных десктопных приложениях, а именно:

- установка веб-приложений значительно дешевле и намного проще.

Благодаря использованию именно веб-приложений предприятия и компании могут снизить расходы на содержание ИТ отделов, которые отвечают за установку программного обеспечения и его сопровождение. В этом случае для использования программы необходим только компьютер с браузером и соединение с интернетом или корпоративной сети;

- обновление веб-приложений дешевле и намного проще. Всегда большое значение имеет стоимость обслуживания программного обеспечения. Его обновление очень похоже на его установку, поэтому преимущества, которые были упомянуты, имеют место и в данной ситуации;
- веб-приложения более универсальны и практичны для конечного пользователя. Достаточно установить веб-приложение на сервер, работающий под любой современной операционной системой, и пользователи смогут пользоваться им через интернет на любом компьютере или мобильном устройстве;
- веб-приложения облегчают организацию хранения данных. Если есть необходимость обращаться к одним и тем же данным из разных мест, то гораздо проще организовать их хранение в одном месте, вместо того чтобы разбрасывать их по разным базам данных. Благодаря этому отпадает необходимость синхронизации и повышается степень их защищенности.

Исходя из вышесказанного, актуальным, по нашему мнению, является реализация программного обеспечения для скрининга потенциальных скавенджеров NO в виде веб-приложения. Веб-приложение было решено создавать на языке программирования Python. Язык Python является высокоуровневым и имеет ряд преимуществ, среди которых можно выделить: динамическую типизацию, поддержку модульности, встроенную

поддержку Unicode, поддержку объектно-ориентированного программирования, интеграцию с C/C++, понятный и лаконичный синтаксис, кроссплатформенность. Используются следующие программные средства: фреймворк Django, интегрированная среда разработки PyCharm, база данных SQLite, сервер Apache, облачный сервер DigitalOcean. Данные об антиоксидантной активности и данные квантово-химических расчетов (реактивный индекс) вносятся через административную панель. При добавлении или изменении этих данных рассчитывается коэффициент корреляции, который используется в дальнейших расчетах. Были добавлены и сохранены данные всех 122 исследуемых соединений. После ввода данных (НОМО, LUMO) нового соединения и последующих программных расчетов получаем результат в виде прогнозируемой антиоксидантной активности соединения в процентах и дополнительные данные о показателях абсолютной жесткости молекулы, абсолютной электрической негативности молекулы и реактивного индекса этого соединения.

Разработана и создана программа виртуального скрининга (<http://165.22.16.114/search/>) веществ с потенциальной АОА по ингибированию NO. Нами было признано целесообразным проверить валидность созданной программы путем тестирования вновь синтезированного соединения. С этой целью на кафедре биологической химии Запорожского государственного медицинского университета было синтезировано новое соединение – гидразид 1,3-диметил-8-бензиламиноксантирил 7-уксусной кислоты (шифр С-3).

Для соединения С-3 были рассчитаны квантово-химические параметры (табл. 3).

Далее был проведен виртуальный скрининг АОА по ингибированию NO соединения С-3 (рис. 3).

Таблица 3

Квантово-химические параметры соединения С-3

НОМО	LUMO	Абсолютная жесткость молекулы	Абсолютная электрическая негативность молекулы	Реактивный индекс
-8,69238	-0,426908	4,132773	4,559644	2,515326



Рис. 3. Результати роботи програми віртуального скринінга

Следующим этапом было изучение АОА тестируемого соединения в опытах *in vitro* для подтверждения прогноза и валидности компьютерной программы (табл. 4).

В результате проведенного эксперимента было установлено, что внесение в инкубационную среду соединения С-3 (10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} моль/л) привело к уменьшению концентрации NO, демонстрируя АОА в пределах 267,3 %, 63,6 %, 28,9 % соответственно. По силе действия С-3 превосходит NAC (табл. 4).

Таким образом, экспериментальные данные подтверждают прогноз разработанной компьютерной программы. Подтверждением валидности программы виртуального скрининга антиоксидантной активности являются и исследования соединения С-3 на модели внутричерепного кровоизлияния у белых беспородных крыс. Этими исследованиями показано, что С-3, выступая в роли сквенджерера NO, тормозит реакции

нитрозативного стресса в головном мозге экспериментальных животных и уменьшает их летальность [15].

Таким образом, разработанная на основе комплексного подхода (совокупности теоретических концепций, математических методов и правил, и реализующих их алгоритмов) новая компьютерная программа прогноза является высокоэффективным инструментом виртуального скрининга сквенджереров NO в ряду новых синтезированных структурно-сходных азаетекроциклов, что доказано вычислительным тестированием и подтверждено экспериментальными исследованиями.

Выводы

1. Впервые разработаны математико-теоретические основы комплексного подхода к созданию компьютерной программы виртуального скрининга сквенджереров NO в ряду ксантина.

Таблица 4

Антиоксидантная активность *in vitro* соединения С-3 по ингибированию NO[•]-радикала (n = 10)

Соединение	10 ⁻³ моль/л		10 ⁻⁵ моль/л		10 ⁻⁷ моль/л	
	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %	D _{265 нм}	Антиоксидантная активность, %
С-3	3,857 ± 0,015*	267,33	1,718 ± 0,004*	63,62	1,354 ± 0,004*	28,95
Контроль	1,050 ± 0,002					
N-ацетилцистеин	0,901 ± 0,092	2,46	1,042 ± 0,027*	18,47	0,981 ± 0,074	11,53
Контроль	0,880 ± 0,024					

2. Показано использование электронно-топологического подхода, который позволяет производить поиск молекулярных фрагментов-признаков активности.
 3. Приведены расчеты показателей энергии предельных орбиталей (НВМО, ВЗМО), показателей абсолютной жесткости молекулы, абсолютной электрической негативности молекулы и реактивного индекса.
 4. Рассчитана зависимость биологического действия веществ от их квантово-химических дескрипторов и определена функция их зависимости. Определена корреляционная зависимость АОО (по ингибированию NO) от квантово-химических показателей. Описаны подходы для реализации программного комплекса. Продемонстрирована целесообразность реализации программы в виде веб-приложения.
 5. Применение новой компьютерной программы для прогноза АОО позволило выявить у вновь синтезированного соединения – гидразида 8-бензиламинотеофиллинил-7-уксусной кислоты (С-3) свойства сквенджера NO, что подтверждено в опытах *in vitro*.
1. Нейропротекция и нейропластичность. И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная и др. Киев : Логос, 2015. 512 с.
 2. Zefirov N. S., Palyulin V. A. Fragmental approach in QSPR. *J Chem Inf Comput. Sci.* 2002. V. (5). P. 1112–22.
 3. Станкевич М. И., Станкевич И. В., Зефирова Н. С. Топологические индексы в органической химии. *Успехи химии.* 1988. Т. 57, № 3. С. 337–366.
 4. Раевский О. А. Дескрипторы молекулярной структуры в компьютерном дизайне биологически активных веществ. *Успехи химии.* 1999. Т. 68, № 6. С. 555–575.
 5. Karelson M., Lobanov V. S., Katritzky A. R. Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies. *Chem Rev.* 1996. V. 96 (3). P. 1027–1044.
 6. Cramer R. D., Patterson D. E., Bunce J. D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J Am Chem Soc.* 1988. V. 110 (18). P. 5959–67.
 7. Пальм В. А. Основы количественной теории органических реакций. 2-е изд., перераб. и доп. Ленинград : Химия, 1977. 360 с.
 8. Fuzzy tricentric pharmacophore fingerprints. 1. Topological fuzzy pharmacophore triplets and adapted molecular similarity scoring schemes. F. Bonachera, B. Parent, F. Barbosa et al. *J Chem Inf Model.* 2006. V. 46 (6). P. 2457–77.
 9. Estimation of Relationship between the Structure of Trihaloacetylazulene Derivatives Determined by a Semiempirical Molecular–Orbital Method (PM5) and their Cytotoxicity. M. Ishihara, H. Wakabayashi, N. Motohashi, H. Sakagami. *Anticancer Research.* 2010. V. 30. P. 837–842.
 10. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных лекарственных средств первичной и вторичной нейропротекции. И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. В. Бухтиярова и др. Методические рекомендации. Киев : ГП «ГЭЦ МЗ Украины», 2016. 80 с.
 11. Study of dependence of xanthine derivatives NO-scavenger properties from energy descriptors. V. P. Ryzhenko, O. A. Ryzhov, I. F. Belenichev, S. V. Levich. *Biological markers and guided therapy.* 2018. V. 5. P. 37–46.
 12. Analysis of influence of quantum chemical descriptors on NO-scavenger properties among xanthine derivatives. O. A. Ryzhov, V. P. Ryzhenko, S. V. Levich, I. F. Belenichev. *Biological markers and guided therapy.* 2017. V. 4. P. 39–48.
 13. Experimental and theoretical approaches to the creation of computer program for virtual screening of scavengers NO in a range of azaheterocycles. V. P. Ryzhenko, I. F. Belenichev, O. A. Ryzhov, S. V. Levich. *Medical Informatics and Engineering.* 2018. V. 3. P. 54–57.
 14. Development of software for prediction and virtual screening of antioxidant activity of new synthesized azaheterocyclic substances. V. P. Ryzhenko, I. F. Belenichev, I. B. Samura, O. A. Ryzhov. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology.* 2019. V. 8 (6). P. 1292–1296.
 15. Антиоксидантный механизм нейропротективного действия производного 3-метилксантина (соединения С-3) в условиях внутримозгового кровоизлияния. С. Г. Носач, И. Ф. Беленичев, Е. В. Александрова, С. В. Левич, В. П. Рыженко. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2016. № 1 (47). С. 31–38.

В. П. Рыженко, А. А. Рыжов, И. Ф. Беленичев, С. В. Левич

Комплексный подход к разработке и созданию компьютерной программы виртуального скрининга антиоксидантной активности

Патогенез многих распространенных заболеваний человека (в том числе патологии сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей, злокачественные новообразования) имеет достаточно четко очерченную свободнорадикальную фазу. Поэтому важной задачей современной фармакологии является поиск и создание высокоэффективных антиоксидантов. Для предварительной оценки антиоксидантной активности (АОА) разрабатываются информационные технологии и компьютерные программы виртуального скрининга. Поэтому разработка подходов к созданию компьютерных программ прогноза АОА, а именно сканенджеров NO, является перспективным и актуальным направлением современной фундаментальной медицины.

Цель исследования – на основании комплексного математико-теоретического подхода и результатов фармакологических исследований в ряду производных ксантина разработать высокоселективную программу виртуального скрининга АОА.

В качестве объекта исследования было отобрано 122 соединения, производные ксантинил-7-ацетатных и ксантинил-8-тиоацетатных кислот и 3-R-гидрокси-метилксантинов. Для этих соединений были проведены квантово-химические расчеты энергетических дескрипторов молекулярных орбиталей, а также проведено исследование антиоксидантной активности *in vitro* по ингибированию NO в системе фотоиндуцированного окисления нитропруссид натрия.

Проведен расчет корреляционной зависимости между квантово-химическими параметрами соединений и АОА по ингибированию NO.

Показано использование электронно-топологического подхода, который позволяет производить поиск молекулярных фрагментов-признаков активности. Были рассчитаны квантово-химические параметры исследуемых молекул с помощью метода CNDO/2. Рассчитаны показатели энергии предельных орбиталей (HВМО, ВЗМО), показатели абсолютной жесткости молекулы, абсолютной электрической негативности молекулы. На основании этих данных рассчитаны показатели реактивного индекса. Кроме того, рассчитана зависимость антиоксидантного действия (по ингибированию NO) веществ от их квантово-химических дескрипторов и определена функция их зависимости. Определена корреляционная зависимость АОА от квантово-химических показателей. Для создания программного обеспечения с целью скрининга потенциальных сканенджеров NO были выбраны квантово-химические дескрипторы. При этом, исходя из химической природы и реакционной способности активных форм азота, особое внимание следует уделить энергиям высшей занятой и низшей вакантной молекулярных орбиталей, а также индексу реактивности Фукуи.

Разработанная на основе комплексного подхода (совокупности теоретических концепций, математических методов и правил, и реализующих их алгоритмов) новая компьютерная программа прогноза является высокоэффективным инструментом виртуального скрининга сканенджеров NO в ряду вновь синтезированных структурно-сходных азазетекроциклов, что доказано вычислительным тестированием и подтверждено экспериментальными исследованиями. Так, применение новой компьютерной программы для прогноза АОА позволило выявить у вновь синтезированного соединения – гидразида 8-бензиламинотеофиллинил-7-уксусной кислоты (С-3) свойства сканенджера NO, что подтверждено в опытах *in vitro*.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, сканенджеры NO, виртуальный скрининг, компьютерная программа, квантово-химические дескрипторы

В. П. Рыженко, О. А. Рыжов, И. Ф. Беленичев, С. В. Левич

Комплексний підхід до розробки та створення комп'ютерної програми віртуального скринінгу антиоксидантної активності

Патогенез багатьох поширених захворювань людини (у тому числі патології серцево-судинної системи, дихальних шляхів, злоякісні новоутворення) має досить чітко окреслену вільнорадикальну фазу. Тому важливим завданням сучасної фармакології є пошук і створення вискоєфективних антиоксидантів. Для попередньої оцінки антиоксидантної активності (АОА) розробляються інформаційні технології та комп'ютерні програми віртуального скринінгу. Тому розробка підходів до створення комп'ютерних програм прогнозу АОА, а саме, сканенджерів NO, є перспективним і актуальним напрямом сучасної фундаментальної медицини.

Мета дослідження – на підставі комплексного математико-теоретичного підходу та результатів фармакологічних досліджень в ряду похідних ксантину розробити вискоєфективну програму віртуального скринінгу АОА.

Як об'єкт дослідження було відібрано 122 сполуки, похідні ксантинил-7-ацетатних і ксантинил-8-тиоацетатних кислот і 3-R-гидрокси-метилксантинів. Для цих сполук були проведені квантово-хімічні розрахунки енергетичних дескрипторів молекулярних орбіталей, а також проведено дослідження АОА *in vitro* за інгибуванням NO в системі фотоіндукованого окиснення нитропруссиду натрію.

Проведено розрахунок кореляційної залежності між квантово-хімічними параметрами сполук і АОА за інгибуванням NO. Показано використання електронно-топологічного підходу, який дозволяє здійснювати пошук молекулярних фрагментів – ознак активності. Були розраховані квантово-хімічні

параметри досліджуваних молекул за допомогою методу CNDO/2. Розраховані показники енергії граничних орбіталей (НВМО, ВЗМО), показники абсолютної жорсткості та абсолютної електричної негативності молекули. На підставі цих даних розраховані показники реактивного індексу. Розрахована залежність антиоксидантної дії (інгібування NO) речовин від їхніх квантово-хімічних дескрипторів і визначена функція їхньої залежності. Визначено кореляційну залежність AOA від квантово-хімічних показників. Для створення програмного забезпечення з метою скринінгу потенційних скавенджерів NO були обрані квантово-хімічні дескриптори. Причому, виходячи з хімічної природи та реакційної здатності активних форм азоту, особливу увагу слід приділити енергіям вищої зайнятої та нижчої вакантної молекулярних орбіталей, а також індексу реактивності Фукуї.

Розроблена на основі комплексного підходу (сукупності теоретичних концепцій, математичних методів і правил, й алгоритмів, що їх реалізують), нова комп'ютерна програма прогнозу є високоефективним інструментом віртуального скринінгу скавенджерів NO в ряду нових синтезованих структурно-східних азагетероциклів, що доведено обчислювальним тестуванням і підтверджено експериментальними дослідженнями. Так, застосування нової комп'ютерної програми для прогнозу AOA дозволило виявити в знов синтезованій сполуки – гідразиду 8-бензиламінотеофілін-7-оцтової кислоти (С-3) властивості скавенджера NO, що було підтверджено в досліді *in vitro*.

Ключові слова: антиоксидантна активність, скавенджери NO, віртуальний скринінг, комп'ютерна програма прогнозу, квантово-хімічні дескриптори

V. P. Ryzhenko, A. A. Ryzhov, I. F. Belenichev, S. V. Levich

Integrated approach to development and creation of computer program of virtual screening of antioxidant activity

The pathogenesis of the most common human diseases of the cardiovascular system, respiratory tract, malignant neoplasms is characterized by fairly well-defined free radical phase. Therefore, an important task of modern pharmacology is the search and creation of highly effective antioxidants. For preliminary antioxidant activity (AOA) assessment an information technology and computer programs for virtual screening are developing. So the development of approaches to the creation of computer programs for antioxidant activity prediction, namely NO scavengers, is a promising and actual direction of modern fundamental medicine.

The purpose of research – to develop a highly selective program for AOA virtual screening on the basis of complex mathematical and theoretical approaches and the results of pharmacological studies of a number of xanthine derivatives.

As the objects of the study were selected 122 derivatives of xanthinyl-7-acetate, xanthinyl-8-thioacetate acids and 3-R-hydroxymethylxanthines. For these compounds were performed quantum chemical calculations in particular the descriptors of energy molecular orbital, as well as AOA study *in vitro* by inhibition of NO radical under photo induced oxidation in sodium nitroprusside system. Subsequently the correlations between quantum-chemical parameters of the compounds and AOA (by NO radical inhibition) were calculated.

It has been shown how to apply the electronic topological approach that allows searching for molecular fragments – activity signs. There were calculated quantum-chemical parameters of the investigated molecules using the CNDO/2 method: the indicators of energy limiting orbitals (LUMO, HOMO), indicators of absolute hardness (rigidity), absolute electrical negativity of the molecule. From these data such indicator as reactivity index was calculated. The dependence of compound's AOA (by NO radical inhibition) on their quantum-chemical descriptors and their function were determined. For the creation of software for the screening of potential NO scavengers were selected quantum chemical descriptors. Based on the chemical nature and the reactivity of nitrogen active forms, particular attention should be paid to the energies of the highest occupied and lowest unoccupied molecular orbitals, and Fukui reactivity index. New computer program developed on the basis of an integrated approach (combination of theoretical concepts, mathematical methods, rules and their algorithms) is a highly effective tool for virtual NO scavengers screening in a series of newly synthesized structurally-similar azaheterocycles that proved by computing testing and confirmed by experimental studies. Thus, the use of a new computer program for AOA prediction allowed to reveal the newly synthesized compound – 8-benzylamino-theophyllinyl-7-acetic acid hydrazide (C-3) as NO scavenger.

Key words: antioxidant activity, NO scavengers, virtual screening, computer program, quantum-chemical descriptors

Надійшла: 21 грудня 2019 р.

Прийнята до друку: 12 лютого 2020 р.

Контактна особа: Риженко Віктор Павлович, асистент, кафедра медичної та фармацевтичної інформатики і новітніх технологій, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 63 36 52 811.
Електронна пошта: ryzhenko.victor@gmail.com