

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СТРУКТУРНЫХ ФАКТОРОВ НА ОСТРУЮ ТОКСИЧНОСТЬ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

О. В. Тиньков, П. Г. Полищук, А. Г. Артеменко, Л. Н. Огнichenко, В. Е. Кузьмин

THE ANALYSIS OF STRUCTURAL FACTORS INFLUENCE ON THE ACUTE TOXICITY OF ORGANIC ACIDS AND THEIR DERIVATIVES

O. V. Tinkov, P. G. Polishchuk, A. G. Artemenko, L. N. Ognichenko, V. E. Kuz'min

Исследование выполнено в Приднестровском государственном университете им. Т.Г. Шевченко.

На сегодняшний день загрязнение окружающей среды является глобальной проблемой. Основным фактором загрязнения нашей планеты являются химические соединения.

Цель исследования состоит в анализе зависимости между структурой и острой токсичностью органических кислот и их производных. Исследовано влияние молекулярной структуры органических кислот на острую токсичность при помощи 2D симплексного представления молекулярной структуры и метода Partial Least Squares. Были получены адекватные QSAR (Количественное соотношение структура-свойство) модели. На основе полученных моделей выявлены структурные фрагменты, повышающие токсичность. Кроме этого, относительное влияние некоторых физико-химических факторов на изменение острой токсичности было оценено на основе QSAR-моделей.

Nowadays the pollution of the environment is a global problem. The main factor of pollution is different chemical compounds.

The aim of the study is to determine the interdependence between the chemical structure and the acute toxicity of organic acids. The investigation of influence of the molecular structure of organic acids on their acute toxicity has been carried out by 2D simplex representation of molecular structure with the help of the method of Partial Least Squares. The quite satisfactory QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) models have been obtained. On the basis of the obtained models the structural fragments raising toxicity are revealed. In addition relative influence of some physical-chemical factors on variation of acute toxicity has been estimated on the base of QSAR models.

Ключевые слова: острая токсичность, органические кислоты и их производные, моделирование.

Keywords: acute toxicity, organic acids and their derivatives, modeling.

Введение

В связи с современными требованиями экологической безопасности перед учёными различных специальностей – химиками, биологами, фармакологами стоит задача разработки биологически активных препаратов, обладающих, наряду с эффективным целевым действием, минимальной опасностью для человека и окружающей среды. Реализация европейского технического регламента «Регистрация, оценка и санкционирование химикатов (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals – REACH) предусматривает в 2009 – 2018 гг. тестирование токсичности около 30000 химических веществ. Уже сейчас к исключению из оборота представлено около 9 тыс. веществ [4].

Одним из важнейших классов органических соединений являются органические кислоты. Они используются почти во всех видах химических производств. Так, органические кислоты применяются при производстве пластмасс, в текстильной, бумажной, металлургической, фармацевтической, пищевой и косметической отраслях промышленности. Органические кислоты содержатся также в духах, гербицидах, красках, в смазке и моющих средствах.

Создание новых препаратов требует значительных финансовых и временных затрат, проведения множества экспериментов по оценке биологических свойств. Подавляющее большинство синтезированных тестируемых соединений не проявляют активности или их токсичность исключает возможность практического применения. Решение проблемы возможно, если до стадии синтеза будут выявлены молекулярные фрагменты, оказывающие влияние на проявление активности и токсичности. Поэтому актуальными являются ис-

следования на основе методов QSAR (Количественное соотношение структура – свойства).

В связи с этими задачами данной работы являются:

1. Построение математических моделей прогноза острой токсичности при различных способах введения органических кислот;
2. Исследование влияния структурных фрагментов на острую токсичность органических кислот.

Материалы и методы

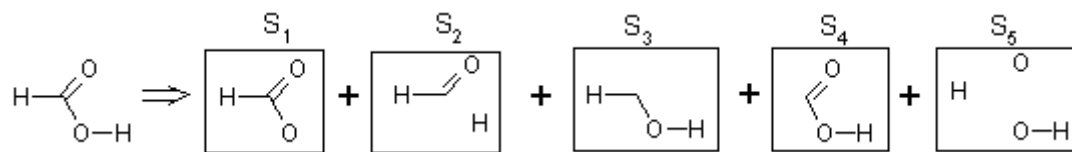
Информация по острой токсичности и химической структуре органических кислот и их производных для построения математических моделей была получена обработкой электронной системы управления базами данных «Toxic v.1.1.5» [9, с. 112 – 118]. В выборки изучаемых соединений входят органические кислоты, их производные, в том числе амиды и нитрилы органических кислот, производные карбаминовой кислоты, мочевины, тиомочевины и др.

Степень токсичности вещества характеризуется величиной токсической дозы – количеством вещества (отнесенным, как правило, к единице массы животного или человека), вызывающим определенный токсический эффект. Чем меньше токсическая доза, тем выше токсичность. Различают среднесмертельные дозы (LD_{50}), абсолютно смертельные (LD_{90-100}), минимально смертельные (LD_{0-10}), среднееффективные (ED_{50}) – вызывающие определенные токсические эффекты, пороговые (PD_{50} , PD_{50}) и др. Цифры в индексе – вероятность в % появления определенного токсического эффекта – смерти, порогового действия и др. В данной работе использовали величину LD_{50} , которая статистически более достоверна по сравнению с другими [3].

Для описания молекулярной структуры были использованы 2D симплексные дескрипторы, расчет ко-

торых реализован в программе «TheorChem» [5, с. 22 – 26]. В рамках симплексного представления молекулярной структуры молекула рассматривается как система различных симплексов – четырехатомных молекуляр-

ных фрагментов фиксированной структуры. Дескриптором в этом случае служит количество симплексов одного вида в соединении:



На 2D уровне атомы (вершины симплекса) дифференцируют не только по природе, «метке» атома, но и с учетом различных физико-химических свойств – парциального заряда на атоме, его липофильности, рефракции, способности выступать донором или акцептором водорода при образовании водородной связи.

В качестве статистического метода получения QSAR-моделей был выбран метод частичных наименьших квадратов (PLS-Partial Least Squares) [13, с. 111 – 125].

Адекватные QSAR-модели, использующиеся для предсказания активности еще не исследованных молекул, должны иметь высокие статистические характеристики. Однако хороший набор статистических характеристик еще не означает, что модель будет обладать высокой предсказывающей способностью. Для оценки такой способности используется метод формирования внешней тестовой выборки (test set – ts). В ходе этой

процедуры часть молекул (20 %) исключается из процесса построения модели, оставшиеся молекулы формируют обучающую выборку (work set – ws). После построения модель используется для прогноза активности соединений тестовой выборки.

Для оценки устойчивости получаемых моделей использовали процедуру скользящего контроля, в ходе которой каждое соединение исключается из выборки и для него предсказывается значение активности.

Подробное описание используемых QSAR-методов приведено в соответствующей литературе [11, с. 127 – 176; 12, с. 2481 – 2488].

Результаты и обсуждение

В ходе исследования был получен ряд адекватных QSAR-моделей при внутрибрюшинном способе введения органических кислот (таблица).

Таблица

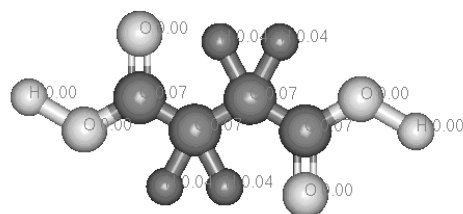
Статистические характеристики QSAR-моделей по острой токсичности

№	Организм	Кол-во молекул в выборке(ws/ts)	Кол-во латентных переменных	R^2	Q^2	R^2_{test}	S_{ws}	S_{cv}	S_{ts}
1	крысы	68(55/13)	3	0,840	0,743	0,762	0,395	0,504	0,447
2	мыши	88(71/17)	3	0,922	0,744	0,684	0,267	0,488	0,489

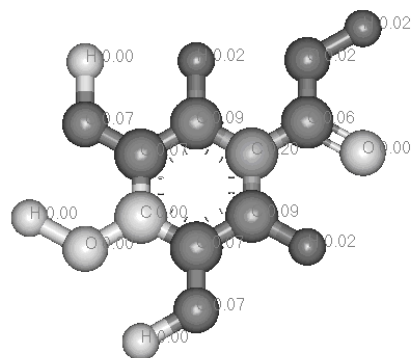
Где R^2 – коэффициент детерминации, Q^2 – коэффициент детерминации, вычисленный в рамках процедуры скользящего контроля, R^2_{test} – коэффициент детерминации для внешней тестовой выборки, S_{ws} – стандартная ошибка предсказания для рабочей выборки, S_{cv} – стандартная ошибка, вычисленная в рамках процедуры скользящего контроля, S_{ts} – стандартная ошибка предсказания для внешней тестовой выборки.

В программном комплексе «TheorChem» на основе полученных математических моделей существует воз-

можность цветового кодирования атомов, положительно или отрицательно влияющих на изучаемое свойство, что позволяет достаточно наглядно представить полученные результаты и визуально определить группы атомов, ответственные за проявление активности. В качестве примера на рис. 1 представлены соединения, для которых при внутрибрюшинном способе введения для мышей наиболее темные фрагменты способствуют понижению токсичности.



Бутандиеноновая кислота



3,4,5-триоксибензойная кислота

Рис. 1. Пример описания фрагментов, кодированных цветом

Обобщая указанную выше информацию по полученным моделям, можно выделить фрагменты, определяющие проявление токсичности («токсофоры») и фрагменты, препятствующие проявлению токсичности («антитоксофоры») (рис. 2 и 3). В ходе проведенного анализа фрагменты были сгруппированы по структурным типам. Относительные вклады указанных фрагментов в исследуемую токсичность не приводятся, так как величины вкладов существенно зависят от положения в молекуле и структурного окружения. Приведенная информация позволяет проводить предварительную селекцию потенциально опасных соединений.

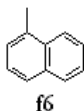
Моногалогенметильные фрагменты:



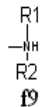
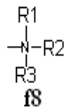
Углеводородные фрагменты:



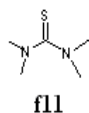
Ароматические фрагменты:



АМИНЫ:



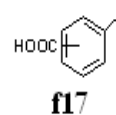
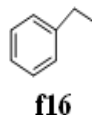
Фрагменты, содержащие гетероатомы:



Углеводородные фрагменты:



Ароматические фрагменты:



АМИНЫ:



Фрагменты, содержащие гетероатомы:

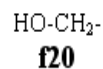
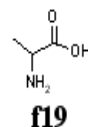


Рис. 3. Структурные фрагменты, понижающие острую токсичность при внутрибрюшинном введении для крыс и мышей. f-порядковый номер фрагмента

Полученные результаты, а именно – высокий вклад в острую токсичность моногалогенметильных фрагментов (f1, f2, f3), согласуются с данными [1], согласно которым монофторуксусная кислота и ее производные крайне токсичны. Ди- и трифторуксусные кислоты имеют более низкий уровень токсичности, чем монофторуксусная кислота. Биологический механизм, при отравлениях монофторуксусной кислотой включает в себя “смертельный синтез” фторлимонной кислоты, которая, в свою очередь, блокирует цикл трикарбоновой кислоты, подавляя фермент аконитазу. Потеря энергии в результате остановки цикла Кребса сопровождается клеточной дисфункцией и смертью. Токсичность монофторуксусной кислоты и ее производных может быть связана с раздражающим эффектом, сила которого частично зависит от диссоциации кислоты.

Соединения нафталина, т. е. содержащие фрагмент f6, относятся к веществам, вызывающим первичный

Рис. 2. Структурные фрагменты, повышающие острую токсичность при внутрибрюшинном введении для крыс и мышей. f-порядковый номер фрагмента

или внутрисосудистый гемолиз, основным проявлением которого является разрушение эритроцитов. Конкретный механизм их действия заключается в первичной блокаде сульфгидрильных групп белков в мембранах эритроцитов. В результате происходят информационные изменения белковых структур мембраны, нарушаются их связи с липидами, вплоть до разрыва. В итоге повреждается оболочка эритроцитов. Как правило, наряду с блокадой SH-групп мембраны блокируются SH-группы молекулы гемоглобина и снижается уровень восстановленного глутатиона, который играет важную роль в поддержании стабильно состояния структуры мембраны эритроцитов [6].

Помимо этого, согласно полученным результатам, наличие циано-группы (f10) в органических кислотах также способствует проявлению токсичности, что связано с ингибирующим действием данных соединений на цепь дыхательных ферментов [7, с. 181 – 187].

Полученные результаты анализа влияния структурных фрагментов на острую токсичность кислот при внутривенном введении кислот для крыс и мышей указывают на высокую токсичность производных тиомочевина, содержащих фрагмент f11. Производные тиомочевина в фармакологии принято относить к анти-тиреоидным средствам. Данные средства ингибируют тиропероксидазу и таким образом препятствуют йодированию тирозиновых остатков тироглобулина и нарушают синтез трийодтиронина (Т3) и тироксин (Т4). Помимо этого, некоторые из производных тиомочевина нарушают превращение Т4 в Т3 на периферии [8]. Нарушение синтеза гормонов Т4 и Т3 приводит к серьезнейшим токсическим эффектам, так как данные гормоны регулируют значительную часть биохимических процессов в организме [10, с. 461 – 462].

На основании проведенного анализа вкладов фрагментов в острую токсичность при моделировании новых соединений, следует избегать присутствия остатков карбаминовой кислоты (фрагмент f12). Наличие карба-

миновой группы в соединениях инициирует проявление антихолинэстеразной активности [6].

В течение многих лет считалось, что карбаматы вызывают обратимое ингибирование холинэстеразы. В дальнейшем было показано, что вещества этого типа реагируют с холинэстеразой подобно фосфорорганическим соединениям — в две стадии с установлением ковалентной связи [2, с. 140].

Также результаты проведенного анализа позволяют предположить, что для органических кислот соединения, содержащие вторичные и третичные амины, более токсичны, чем соединения, содержащие первичные амины, при этом соединения, содержащие пропильную группу, токсичнее по сравнению с соединениями, содержащими изопропильную группу.

Заключение

Проведенные исследования позволили:

- получить ряд адекватных QSAR-моделей на основе 2D-симплексных дескрипторов с привлечением статистического метода обработки информации Partial Least Squares. Данные модели в целом обладают приемлемыми статистическими показателями и предсказывающей способностью;

- на основе полученных QSAR-моделей определить фрагменты, повышающие и понижающие токсичность, что может быть полезным при проведении молекулярного дизайна новых соединений с невысокой степенью токсичности. Для некоторых молекулярных фрагментов, повышающих токсичность, рассмотрены возможные механизмы токсического патогенеза.

Данная работа не претендует на исчерпывающее раскрытие вопроса, было бы целесообразно ее продолжение в направлении расширения выборок изучаемых соединений для построения QSAR моделей с целью выявления важнейших токсифоров.

Литература

1. Безопасный труд в мире: Энциклопедия международной организации труда. [Электронная версия русского издания энциклопедии]. – Режим доступа: <http://www.safework.ru/world/encyclopaedia/> (дата обращения: 29.02.2012).
2. Голиков, С. И. Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества / С. И. Голиков, В. И. Розенгард. – Л.: Медицина, 1964.
3. Елизарова, О. Н. Пособие по токсикологии для лаборантов / О. Н. Елизарова, Л. В. Жидкова, Т. А. Кочеткова. – М.: Медицина, 1974. – 14 с.
4. Кирлан, С. А. Моделирование и прогноз свойств биологически активных гетероциклических соединений на основе связи «структура-активность-токсичность»: автореф. дис. ... д-ра хим. наук / С. А. Кирлан. – Уфа, 2011. – 48 с.
5. Кузьмин, В. Е. Иерархическая система моделей QSAR (1D–4D) на базе симплексного представления молекулярной структуры / В. Е. Кузьмин, А. Г. Артеменко, В. А. Челомбитко и др. // Связь "структура-активность" биологически активных веществ: тр. науч. сем. – Гурзуф, 2002.
6. Курляндский, Б. А. Общая токсикология / Б. А. Курляндский, В. А. Филлов. – М.: Медицина, 2002. – 608 с.
7. Куценко, С. А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита / С. А. Куценко. – СПб: ФОЛИАНТ, 2004.
8. Майский, В. В. Фармакология: учебное пособие. В 2-х ч. Часть 2 / В. В. Майский. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 49 с.
9. Тиньков, О. В. Электронная база данных по токсичности органических веществ «Toxic v.1.1.4» / О. В. Тиньков, Л. Н. Огниченко, В. Е. Кузьмин // Сборник докладов международной конференции «Бассейн реки Днестр: «Экологические проблемы и управление трансграничными природными ресурсами». – Тирасполь, 2011.
10. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. – М.: Флинта, 1999.
11. Kuz'min, V. E. Virtual screening and molecular design based on hierarchical QSAR technology / V. E. Kuz'min, A. G. Artemenko, E. N. Muratov and // Recent Advances in QSAR Studies. Eds. T. Puzyn, J. Leszczynski, M.T.D. Cronin. – London: Springer, 2010.

12. Polishchuk, P. G. Application of Random Forest Approach to QSAR Prediction of Aquatic Toxicity / P. G. Polishchuk, E. N. Muratov, A. G. Artemenko // J. Chem. Inf. Model. – 2009. – Vol. 49.
13. Rännar, S. A PLS Kernel Algorithm for Data Sets with Many Variables and Fewer objects. Part 1: Theory and Algorithm // Journal of Chemometrics / S. Rannar, F. Lindgren, P. Geladi, S. Wold. – 1994. – Vol. 8.

Информация об авторах:

Тиньков Олег Викторович – аспирант кафедры химии и МПХ, Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко, (80373)(777) 45829, tinkov84@mail.ru.

Tin'kov Oleg Viktotovich – post-graduate student at the Department of Chemistry and Methods of Teaching Chemistry of Pridnestrovian State University.

Полищук Павел Геннадьевич – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории теоретической химии, Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, (8380)48-7662044, pavel_polishchuk@ukr.net.

Polishchuk Pavel Gennadievich – Candidate of Chemistry, researcher at the Laboratory for Theoretical Chemistry of the A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Артемченко Анатолий Григорьевич – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории теоретической химии Физико-химического института им. А. В. Богатского НАН, Украина, (380)-48-7662044, artanat@ukr.net.

Artemenko Anatoly Grigorievich – Candidate of Chemistry, researcher at the Laboratory for Theoretical Chemistry of the A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Огниченко Людмила Николаевна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории теоретической химии, Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, +(380)-48-7662044, ogni@ukr.net.

Ognichenko Lyudmila Nikolaevna – Candidate of Chemistry, researcher at the Laboratory for Theoretical Chemistry of the A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Кузьмин Виктор Евгеньевич – доктор химических наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, +(380)-48-7662044, victor@farlep.net.

Kuzmin Victor Evgenievich – Doctor of Chemistry, Deputy Director for Science at the A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine.