

УДК 615.033:661.741

КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОРОТКОЛАНЦЮЖКОВИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ПОПЕРЕДНИКІВ

Борисюк І.Ю., Лихота О.Б.

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,
borisyuk_kaynova@mail.ru

Ключові слова: Коротколанцюжкові жирні кислоти, комп'ютерне моделювання

Вступ

Коротколанцюжкові жирні кислоти (КЛЖК) - монокарбонові похідні кислот з довжиною ланцюга до 8 атомів вуглецю. Нерозгалужені КЛЖК – оцтова, пропіонова і масляна утворюються при анаеробному бродінні різноманітних вуглеводів, серед яких найбільше місце займають так звані некрохмальні полісахариди. Їх джерелами є вуглеводи, що негайно перетравлюються в кишечнику (харчові та дієтичні волокна), які розщеплюються відповідною мікрофлорою. КЛЖК, що мають розгалужену структуру, утворюються в наслідок метаболізму білків. Джерелом КЛЖК можуть бути також деякі ксенобіотики. Так в процесі метаболізму етанолу та ацетальдегіду може утворюватись деяка кількість оцтової кислоти, а при трансформації бутанолу – масляна кислота. В цих випадках спостерігається негативний вплив на деякі біокінетичні та фізіологічні процеси зазначених сполук. Отже можна припустити, що дія КЛЖК є концентраційно залежною і їх гіперпродукція, так як і нестача, негативно впливає на організм, звідси виникає необхідність прогнозування фізико-хімічних та біофармацевтичних властивостей, метаболізму та можливої токсичності КЛЖК та їх попередників з метою подальшого дослідження фармакокінетики в організмі експериментальних тварин.

Методи дослідження:

Розрахунки були проведені з використанням офіційної версії програми ADMET Predictor™ [1].

Фізико-хімічний та біофармацевтичний модуль ADMET Predictor™ освітлює наступні питання:

1) Кислотні та основні константи іонізації pK_a .

Використовується точна термодинамічна багатоосновна модель для декількох станів іонізації, що ґрунтується на атомних дескрипторах і нейронних мережах.

2) Ефективна проникність тонкої кишки у людей (P_{eff}), $cm/c \cdot 10^4$ [2].

Модель проникності Simulations Plus прогнозує ефективну проникність тощої кишки у людей (P_{eff}) базуючись на значеннях *in vivo* проникності визначених у людей та значеннях *in situ* проникності стінки у щурів (P_{app}). Значення *in situ* P_{app} для щурів були конвертовані у значення P_{eff} для людей, використовуючи регресійну залежність.

3) Ефективна проникність вздовж всього кишечника людей (P_{avg}), $cm/c \cdot 10^4$.

4) Проникність в культурі епітеліальних клітин нирок собак (S+MDCK), $cm/c \cdot 10^7$ [3].

5) Розчинність.

Розчинність у воді ($S+S_w$), мг/мл передбачає три моделі: одна, ґрунтується на розрахунках штучної нейронної мережі і дві моделі (Meylan-Howard), що відрізняються показниками точок плавлення [4].

- значення pH розраховане з природної розчинності та констант іонізації, використовуючи теорію хімічної рівноваги (S+pH);

- внутрішня розчинність розрахована з природної розчинності, природного рН та pK_a , використовуючи теорію хімічної рівноваги (S+IS), мг/мл;
 - фактор сольової розчинності (S+SF) (співвідношення сольової розчинності до кишкової розчинності; регресійні моделі, які використовують відповідні кишкові розчинності у якості дескрипторів);
 - розчинність з використанням специфічного рН (S+Sp), мг/мл (розраховується з факторів кишкової розчинності, сольової розчинності і констант іонізації, використовуючи теорію хімічної рівноваги).
- 6) Коефіцієнт розподілу октанол/вода ($\log P$).

Використовує дві моделі $\log P$ в ADMET Predictor™ - S+ $\log P$ та M $\log P$. Перша заснована на штучних нейронних мережах (ANNE), побудованих за моделями ADMET Modeler™. Майже з 13000 прикладів сполук обрано «StarList» іонно-коректних експериментальних значень $\log P$ [5]. Друга базується на даних опублікованих Moriguchi та ін. [6]. Вона збережена для порівняльних характеристик сполуки.

- 7) Коефіцієнт розподілу октанол/вода, $\log D$ (тобто, оцінка коефіцієнта розподілу октанол-вода при певному рН).

Коефіцієнт розподілу октанол/вода визначається співставленням аналітичних концентрацій у октанолі і водній фазі, відповідно [7], так як включає всі протоновані стани даної сполуки і не залежить від рН. Отже, модель $\log D$ набагато складніше, ніж $\log P$. Повний рН профіль може бути отриманий від рН-залежного розподілу протонованих станів у двох розчинниках. Дана S+ $\log D$ модель є унікальною тому що всі дифузійні фактори які залежать від структури, розраховуються за допомогою штучної нейронної мережі (ANNE) з використанням молекулярних дескрипторів. Наша pK_a модель прогнозує не-

обхідні pK_a для розрахунку іонізованих фракцій і S+ $\log P$ забезпечує значення $\log P$. Таким чином, структурно-залежна S+ $\log D$ модель значно перевершує попередні версії з постійними дифузійними факторами.

- 8) Молекулярний коефіцієнт дифузії у воді (D), $\text{cm}^2/\text{s} \cdot 10^5$.

Програма використовує підхід Hayduk-Laudie [8] для оцінки коефіцієнтів дифузії розведених у воді неелектролітів: $D = 13,26h^{-1,4}V^{-0,589}$. В цьому випадку h - в'язкість води (cP) при 37 °C, V - молярний об'єм розчинення при нормальній температурі кипіння ($\text{cm}^3/\text{г} \cdot \text{моль}$), D - бінарний коефіцієнт дифузії при нескінченному розведенні ($\text{cm}^2/\text{s} \cdot 10^5$).

- 9) Якісна оцінка проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр (S+BBB) – класифікує сполуки на два класи (які мають високу або низьку проникність).

- 10) Процентний вміст лікарських засобів, що знаходяться у вільному стані в плазмі крові людини, це 2D модель (S+PrUnbnd), %. Ця модель є штучною нейронною мережею, яка пройшла навчання з використанням експериментальних даних для 331 препарату і була перевірена на наборі, що складався з 55 ліків, які не застосовувалися в процесі навчання.

- 11) Об'єм розподілу у людей (S+ V_d), л/кг прогнозується логарифмічною моделлю з 2D и 3D версіями, заснованими на моделі штучної нейронної мережі, які пройшли навчання, використовуючи експериментальні дані 740 добре вивчених препаратів. Модель була протестована на 111 препаратах, які не застосовувалися в процесі навчання.

Модуль метаболізму ADMET Predictor™ розраховує:

- 1) Кінетичні константи Міхаєлеса-Ментена для реакції гідроксилування,

що каталізуються ферментами цитохрому P450 (K_m), $\mu\text{моль}$: 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 (п'ять моделей).

- 2) Кінетичні константи максимальної швидкості метаболізму Міхаелеса-Ментена для реакції гідроксилування, що каталізуються ферментами цитохрому P450 (V_{max}), $\text{пмоль/хвилину/пмоль ферменту}$: 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 (п'ять моделей).
- 3) Кишковий кліренс (CL_{int}), $\text{мл/хвилину/мг мікросомальних протеїнів розрахований з метаболічної активності п'яти ферментів цитохрому P450}$: 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 (п'ять моделей).
- 4) Загальні інгібіруючі властивості відносно чотирьох ферментів цитохрому P450: 1A2, 2C9, 2D6, 3A4 (чотири моделі).
- 5) Специфічні інгібіруючі властивості відносно 3A4-залежного метаболізму для мідазоламу та тестостерону (дві моделі).
- 6) Специфічні константи інгібування відносно 3A4-залежного метаболізму для мідазоламу та тестостерону (k_i), $\mu\text{моль}$ (дві моделі).

Модуль ADMET Predictor™ токсичність включає такі положення:

- 1) Токсичність рецепторів естрогену (дві моделі – якісна TOX_ER_Filter, і якщо, токсична – кількісне визначення співвідношення $\text{TOX_ER IC}_{50(\text{естроген})}/\text{IC}_{50(\text{сполука})}$) [9 - 11].
- 2) Якісна оцінка максимальної терапевтичної дози, що рекомендована, для перорального використання (MRTD), мг/кг/сутки [12].
- 3) Канцерогенність у щурів TD_{50} (TOX_BRM_Rat), мг/кг/сутки - пероральна доза речовини необхідна для утворення пухлин у 50 % популяції щурів після дії впродовж стандартного часу життя.
- 4) Канцерогенність у мишей TD_{50} (TOX_BRM_Mouse), мг/кг/сутки – аналогічним чином розрахована

доза для мишей.

- 5) Якісна оцінка мутагенності (TOX_MUT) в 10 штаммах бактерії Сальмонели.
- 6) Спорідненість до hERG-K⁺ (калієвого каналу) і можлива кардіотоксичність (TOX_hERG), моль/л .

Результати та їх обговорення

Результати моделювання з використанням комп'ютерної програми ADMET Predictor™ фізико-хімічних та біофармацевтичних властивостей для п'яти перших представників гомологічного ряду спиртів, альдегідів та кислот по структурній формулі представлено в таблицях 1, 2, 3.

Розчинність є одним з головних факторів, які потрібно враховувати при будь-яких фармакокінетичних дослідженнях. Кількісними показниками розчинності є pKa , $\log P$ та $\log D$.

Фізичні властивості спиртів пов'язані з високою полярністю їх гідроксильних груп, що визначає поверхневий характер всієї молекули. Як результат цього є значне взаємне при тяжіння між молекулами, що робить молекули спирту більш асоційованими за рахунок взаємодії позитивного атома водню однієї гідроксильної групи з іншою, яка несе негативний заряд кисню.

Відмічена висока розчинність спиртів у воді (наприклад, метанол та етанол змішується з водою в різних співвідношеннях) та відповідні показники коефіцієнтів розподілу октанол/вода $\log P$ і $\log D$ (табл. 1), що свідчить про високу гідрофільність сполук, особливо трьох перших представників гомологічного ряду, в той час як представники вищих спиртів гідрофобні [13]. Спирти, що мають низьку молекулярну масу добре розчинні у воді, що досягається за рахунок утворення водневих зв'язків з молекулами води, яка є дуже асоційованою. В метанолі гідроксильна група складає майже половину маси молекули і тому він змішується з водою у будь-яких співвідношеннях. Із збільшенням

розміру вуглеводного ланцюжка в спирті внесок гідроксильної групи в молекулярну масу прогресивно зменшується і відповідно зменшується і їх розчинність, але це стосується спиртів, що мають більш ніж п'ять атомів вуглецю (пентанол).

Згідно нашим розрахункам альдегіди не тільки розчинні у воді та мають найвищі показники коефіцієнтів розподілу октанол/вода $\log P$ і $\log D$ (табл. 2), відносно відповідних показників для аліфатичних спиртів та кислот.

Зв'язок вуглець – кисень за рахунок подвійного зв'язку у альдегідів є більш сильним, що і збільшує їх реакційну здатність. Це досягається електро-негативністю вуглецю та кисню, що сприяє більш значну внеску резонансних біполярних форм, де кисень має негативний, а вуглець – позитивний заряди. Звідси, полярність найбільшого зв'язку робить більш легше приєднання до води.

Представники карбонових кислот (табл. 3) також добре розчинні у воді,

але зі збільшенням молекулярної маси розчинність падає [14]. Кислоти утворюють не більш міцні водневі зв'язки, ніж спирти, внаслідок ще більшої поляризації зв'язку O-H, як за рахунок утворення карбоксильного диполю, так і сигма зв'язку.

Відмічено значно високий коефіцієнт дифузії (D) для трьох класів сполук, хоча проявляється залежність між збільшенням вуглеводного радикалу та зменшенням коефіцієнту дифузії.

Згідно нашим розрахункам (див. табл. 1, 2, 3), достатньо висока ефективна проникність тонкого кишечника людей P_{eff} дозволяє припустити, що всмоктування спиртів, альдегідів та кислот відбувається шляхом пасивної дифузії. P_{eff} для альдегідів найвища порівняно із спиртами та кислотами, окрім того спостерігається збільшення цього показника в гомологічному ряді. Так як розрахована ефективна проникність вздовж всього кишечника людей P_{avg} збільшується у всіх випадках, то це доводить наявність «вікна всмоктування», можливість транзиту сполуки вздовж кишечника та наявність специфічного переносника.

Таблиця 1

Фізико-хімічні та біофармацевтичні параметри спиртів, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метанол	Етанол	Пропанол	Буганол	Пентанол
pK_a	-	-	-	-	-
$P_{\text{eff}}, \text{см/с} \cdot 10^4$	1,21	1,3	1,06	0,91	0,82
$P_{\text{avg}}, \text{см/с} \cdot 10^4$	7,39	7,73	8,32	8,88	9,51
$S+MDCK, \text{см/с} \cdot 10^7$	291,44	403,7	447,08	465,76	473,55
$S+S_w, \text{мг/мл}$	702	330	142	82,2	28,8
$S+pH$	7	7	7	7	7
$S+IS, \text{мг/мл}$	702	330	142	82,2	28,8
$S+SF$	0,383	0,736	1,40	2,18	4,44
$S+Sp, \text{мг/мл}$	702	330	142	82,2	28,8
$S+\log P$	-0,72	-0,36	0,22	0,74	1,29
$M \log P$	-0,81	-0,17	0,35	0,8	1,21
$S+\log D$	-0,72	-0,36	0,22	0,74	1,29
$D, \text{см}^2/\text{с} \cdot 10^5$	2,46	1,94	1,63	1,43	1,29
$S+BBB$	високе	високе	високе	високе	високе
$S+PrUnbnd, \%$	98,75	94,88	88,02	79,65	73,52
$S+V_d, \text{л/кг}$	0,48	0,6	0,74	0,82	0,92

специфічного переносника.

Для прогнозу процентного вмісту сполук, що знаходяться в плазмі крові у вільному стані використовували 2D модель ($S+PrUnbnd$). Найбільше з протеїнами плазми крові зв'язуються кислоти (див. табл. 3), із збільшенням вуглеводного ланцюжка цей показник зменшується, що також спостерігається і для спиртів (табл. 1), і для

Фізико-хімічні та біофармацевтичні параметри альдегідів, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метаналь	Етаналь	Пропаналь	Бутаналь	Пентаналь
pK_a	-	-	-	-	-
P_{eff} , $cm/c \cdot 10^4$	1,77	1,89	1,94	2,01	1,95
P_{avg} , $cm/c \cdot 10^4$	8,26	7,97	8,25	8,72	9,27
$S+MDCK$, $cm/c \cdot 10^7$	348,26	440,94	484,26	502,67	510,12
$S+S_w$, мг/мл	203	244	106	55,6	20,0
$S+pH$	7	7	7	7	7
$S+IS$, мг/мл	203	244	106	55,6	20,0
$S+SF$	0,762	0,854	1,63	2,7	5,43
$S+Sp$, мг/мл	203	244	106	55,6	20,0
$S+\log P$	-0,16	-0,12	0,16	0,59	1,08
$M \log P$	-0,96	-0,32	0,2	0,65	1,06
$S+\log D$	-0,16	-0,12	0,16	0,59	1,08
D , $cm^2/c \cdot 10^5$	3,12	2,25	1,82	1,56	1,38
$S+BBB$	високе	високе	високе	високе	високе
$S+PrUnbnd$, %	100	99,27	89,54	80,98	71,63
$S+V_d$, л/кг	0,73	0,73	0,89	1,09	1,2

альдегідів (табл. 2). Окрім того, найбільший розрахований об'єм розподілу ($S+V_d$) у людей відмічено для представників альдегідів, в гомологічному ряді цей показник збільшується, для кислот – рівень практично стаціонарний. Високе проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр ($S+BBB$) притаманне всім сполукам, що досліджувались.

Визначені кінетичні параметри на моделях метаболізму ізоформ CYP-450 людини для спиртів, альдегідів та кислот представлені в таблицях 4 – 6.

Згідно проведеному моделюванню спиртів ADMET Predictor™ (табл. 4), вра-

ховуючі розраховані показники, найбільший афінітет до ізоформи CYP1A2 проявляє етанол (334 μ моль), а найменший – пропанол (8770 μ моль). Також відмічено, що пентанол має найбільшу спорідненість до ізоформ CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, а найменшу до цих ізоформ має метанол. Для ізоформи CYP2C19 метанол має найвищий афінітет, а пентанол – найменший. Окрім того, найбільш активну участь при метаболізмі спиртів приймає фермент CYP2C19, так як має найвищі значення V_{max} для всіх представлених гомологів. Найбільший внутрішній кліренс для етанолу спостерігається при ізоформі CYP1A2, для інших представників – при участі ізоформи CYP2D6.

По результатам моделювання (табл. 5), альдегіди проявляють такий же самий афінітет до ізоформи CYP1A2 (однакова картина), що і їх попередники спирти, тобто найбільший афінітет має

етаналь, а найменший – пропаналь, однак значення K_m менші, отже спостерігається більша спорідненість ферменту до відповідних субстратів. Можливо це пов'язано з заміною гідроксильної групи на альдегідну. Далі картина дещо змінюється, так метаналь має найбільший афінітет до ізоформ CYP2C9 та

Фізико-хімічні та біофармацевтичні параметри кислот, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метанова кислота	Етанова кислота	Пропанова кислота	Буганова кислота	Пентанова кислота
pK_a	3,86	4	4,33	4,63	4,79
P_{eff} , $cm/c \cdot 10^4$	1,6	1,47	1,44	1,4	1,28
P_{avg} , $cm/c \cdot 10^4$	5,4	5,49	5,86	6,25	6,66
$S+MDCK$, $cm/c \cdot 10^7$	30,15	39,94	52,84	64,55	74,1
$S+S_w$, мг/мл	442	249	254	107	33,3
$S+pH$	1,44	1,69	1,9	2,27	2,64
$S+IS$, мг/мл	441	248	253	107	33
$S+SF$	0,621	1,01	1,13	2,07	4,47
$S+Sp$, мг/мл	274	252	287	222	148
$S+\log P$	-0,37	-0,24	0,28	0,79	1,3
$M \log P$	-1,43	-0,79	-0,27	0,18	0,59
$S+\log D$	-3,37	-3,19	-2,52	-1,83	-1,2
D , $cm^2/c \cdot 10^5$	2,74	2,08	1,72	1,49	1,33
$S+BBB$	високе	високе	високе	високе	високе
$S+PrUnbnd$, %	62,21	57,71	41,5	26,72	18,49
$S+V_d$, л/кг	0,21	0,21	0,22	0,21	0,2

Таблиця 3

Таблиця 6 модії (в тому числі

Аналіз показників ферментативних реакцій окислення кислот деякими ізоформами CYP-450

Параметр	Ізоформи	Метанова	Етанова	Пропанова	Бутанова	Пентанова
K _m , μмоль	CYP 1A2	142	146	1720	1450	903
	CYP 2C9	1,55·10 ⁵	8,74·10 ⁴	5,84·10 ⁴	2,85·10 ⁴	1,30·10 ⁴
	CYP 2C19	941	1890	2370	1830	2650
	CYP 2D6	4,71·10 ¹¹	9,03·10 ⁹	2,25·10 ⁸	8,39·10 ⁶	5,19·10 ⁵
	CYP 3A4	9210	3460	3550	1410	1040
V _{max} , п.моль / хв / п.моль ферменту	CYP 1A2	28,3	54,2	41,5	5,18	6,47
	CYP 2C9	0,462	0,563	0,884	1,45	2,24
	CYP 2C19	122	87,9	75	68,1	62,5
	CYP 2D6	0,0103	0,0102	0,0208	0,123	0,196
	CYP 3A4	0,425	1,20	6,12	17,7	30,6
CL _{int} , μл / хв / мг мікро-сомальних протеїнів	CYP 1A2	10,379	19,239	1,256	0,186	0,373
	CYP 2C9	0	0	0,001	0,004	0,013
	CYP 2C19	1,809	0,651	0,443	0,52	0,33
	CYP 2D6	0	0	0	0	0
	CYP 3A4	0,005	0,038	0,191	1,388	3,284

відсутній.

Інгібує активність ксенобіотиків відносно CYP450 є дуже важливим фактором при вивченні токсичності сполук, що вивчаються, та при прогнозуванні процесів впливу сполук одну на одну.

Програма ADMET Predictor™ використовує моделі для ізоформ CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 та два субстрати мікросом печінки людини CYP3A4 з використанням мідазоламу, як субстрату та рекомбінантним CYP3A4 з тестостероном в якості субстрату.

Програмою ADMET Predictor™ прогнозована можливість інгібування спиртів (табл. 7) ізоформою CYP2C9. Так як показник k_i практично є концентрацією конкуруючого ліганду, який з'єднано з половиною доступних рецепторів у рівноважному стані системи, тоді чим нижче даний показник – тим більшим є його спорідненість до рецептору. Відмітимо, що k_i характеризує силу взає-

ну, де показано гальмівний вплив мідазоламу, а потім розраховано їх константи. Низьке значення k_i для тестостерону свідчить о його більшій спорідненості до рецептору.

Розраховані дані для альдегідів (табл. 8) показують, що приведені ізоформи цитохрому (CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) не проявляють інгібуєчих властивостей для сполук, що досліджуються, окрім метаналу реакцію якого інгібує CYP2C9. Однак, прогнозовані специфічні властивості відносно 3A4-залежного метаболізму для мідазоламу та тестостерону демонструють гальмівний вплив мідазоламу та тестостерону на трьох перших гомологів (метаналь, етаналь, пропаналь). Треба відмітити лінійне зростання значень k_i як для мідазоламу, так і для тестостерону, окрім того для останнього характерна більша спорідненість до рецептору.

Аналогічно спиртам, згідно розрахункам (табл. 9)

Таблиця 7 для кислот власти-

Розраховані показники інгібуєчої активності основних ізоформ цитохрому P450 для спиртів

Параметр	Ізоформи	Метанол	Етанол	Пропанол	Бутанол	Пентанол
Загальні інгібуєчі властивості	CYP 1A2	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 2C9	інгіб.	інгіб.	інгіб.	інгіб.	інгіб.
	CYP 2D6	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 3A4	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
Специфічні інгібуєчі властивості CYP 3A4	мідазолам	інгіб.	інгіб.	інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	тестостерон	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
k _i , μмоль	мідазолам	21,242	26,744	35,897	47,652	61,328
	тестостерон	1,001	1,268	3,508	11,875	13,549

ва можливість інгібування ізоформою CYP2C9 всіх перших чотирьох гомологів, окрім пентанової кислоти. Специфічні власти-

Розраховані показники інгібуючої активності основних ізоформ цитохрому P450 для альдегідів

Параметр	Ізоформи	Метаналь	Етаналь	Пропаналь	Бутаналь	Пентаналь
Загальні інгібуючі властивості	CYP 1A2	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 2C9	інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 2D6	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 3A4	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
Специфічні інгібуючі властивості CYP 3A4	мідазолам	інгіб.	інгіб.	інгіб.	інгіб.	не інгіб.
	тестостерон	інгіб.	інгіб.	інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
K _i , μмоль	мідазолам	4,629	4,828	4,98	5,074	5,157
	тестостерон	1,381	1,755	1,816	3,365	14,181

Таблиця 8 комендацій стосовно вихідної безпечної стартової дози, дозового режиму для людини, а також параметрів моніторингу специфічних проявів токсичності при проведенні клінічних досліджень. Крім того, вивчаються види токсичності, які з точки зору етики не проводяться на людях: канцерогенність, мутагенність, тератологія та репродуктивна токсичність, ефекти передозування.

Розраховані показники інгібуючої активності основних ізоформ цитохрому P450 для кислот

Параметр	Ізоформи	Метанова	Етанова	Пропанова	Бутанова	Пентанова
Загальні інгібуючі властивості	CYP 1A2	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 2C9	інгіб.	інгіб.	інгіб.	інгіб.	не інгіб.
	CYP 2D6	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	CYP 3A4	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
Специфічні інгібуючі властивості CYP 3A4	мідазолам	інгіб.	інгіб.	інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
	тестостерон	інгіб.	інгіб.	не інгіб.	не інгіб.	не інгіб.
K _i , μмоль	мідазолам	47,725	68,356	90,014	109,757	127,866
	тестостерон	0,733	0,974	2,649	10,105	15,209

Таблиця 9

вості відносно 3A4-залежного метаболізму для мідазоламу та тестостерону демонструють гальмівний вплив мідазоламу (на метаналь, етаналь та пропаналь) та тестостерону (на метаналь, та етаналь). Як і в інших випадках, спостерігається збільшення значень K_i в гомологічному ряді із збільшенням молекулярної маси. Зареєстровані низькі значення K_i для тестостерону демонструють більшу спорідненість до рецептору.

Отже, для приведених сполук найбільший інгібуючий вплив має ізоформа CYP2C9, що найбільше відображено для спиртів та кислот. Дослідження специфічних властивостей відносно CYP3A4 метаболізму, показали наявність найбільшої спорідненості для мідазоламу у альдегідів, а для тестостерону – у кислот.

Токсикологічні випробування будь-якого характеру спрямовані на встановлення наявності потенційної токсичності та побічних проявів, виявлення потенційних мішеней токсичності, надання ре-

комп'ютерної програми ADMET Predictor™ було визначено деякі параметри токсичності (проведена якісна оцінка максимальної терапевтичної дози, встановлена канцерогенність у щурів та мишей, мутагенність для 10 штамів бактерій Сальмонели та можлива кардіотоксичність) для п'яти перших гомологів трьох різних класів сполук, що представлені в таблицях 10 – 12.

Як видно з отриманих результатів (табл. 10 - 12), розрахованих за допомогою ADMET Predictor™ у більшості випадків досліджені сполуки не є токсичними для 10 штамів бактерій Сальмонели, одноклітинних та багатоклітинних організмів (пуголовків). Винятком є метаналь (див. табл. 11), що не проявляє мутагенних властивостей, окрім штамів TA102 S. Typhimurium та WP2 uvr E. Coli. Оцінена максимальна терапевтична доза, що рекомендована для перорального використання (MRTD), може становити більш ніж 3,16 мг/кг/сутки для всіх сполук. Згідно розрахункам (табл. 10),

найменшу токсичну дію на організм щурів (TOX_BRM_Rat) серед спиртів оказує метанол та пентанол, а на організм мишей (TOX_BRM_Mouse) пентанол. Найбільш кардіотоксичним є метанол, найменш – пропанол. Серед альдегідів (табл. 11) найбільшу токсичну дію на організм щурів оказує етаналь, найменшу – перший гомолог (метаналь). Ета-

наль проявляє найменшу токсичність, тобто викликає розвиток пухлин у 50% мишей в найбільшій концентрації, що становить 367,92 мг/кг/сутки, а для пропаналу потрібна менша концентрація, яка відповідає 171,18 мг/кг/сутки. Найменшу кардіотоксичність серед альдегідів має метаналь, в той час як пропаналь проявляє найбільшу спорід-

Таблиця 10

Показники токсичності спиртів, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метанол	Етанол	Пропанол	Бутанол	Пентанол
TOX_ER_Filter	не токсичне				
TOX_ER	не визначено				
MRTD, мг/кг/сутки	більш, ніж 3,16				
TOX_BRM_Rat, мг/кг/сутки	139,08	130,17	129,31	133,94	138,15
TOX_BRM_Mouse, мг/кг/сутки	66,23	138,81	84,65	138,15	167,05
TOX_MUT	не мутагенний				
TOX_hERG, моль/л	2,79	3,96	4,66	4,05	4,3

Таблиця 11

Показники токсичності альдегідів, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метаналь	Етаналь	Пропаналь	Бутаналь	Пентаналь
TOX_ER_Filter	не токсичне				
TOX_ER	не визначено				
MRTD, мг/кг/сутки	більш, ніж 3,16				
TOX_BRM_Rat, мг/кг/сутки	78,21	40,82	48,74	52,43	55,17
TOX_BRM_Mouse, мг/кг/сутки	367,92	372,71	171,18	239,92	254,12
TOX_MUT	не мутагенний, крім штамів TA102 S. Typhimurium та WP2 uvr E. Coli	не мутагенний			
TOX_hERG, моль/л	4,41	5,43	5,83	4,67	4,87

Таблиця 12

Показники токсичності кислот, розраховані ADMET Predictor™

Параметри	Метанова	Етанова	Пропанова	Бутанова	Пентанова
TOX_ER_Filter	не токсичне				
TOX_ER	не визначено				
MRTD, мг/кг/сутки	більш, ніж 3,16				
TOX_BRM_Rat, мг/кг/сутки	197,65	188,67	184,29	187,29	187,32
TOX_BRM_Mouse, мг/кг/сутки	685,3	826,78	438,42	502,56	512,1
TOX_MUT	не мутагенний				
TOX_hERG, моль/л	3,66	3,77	3,15	3,35	3,42

неність до калієвого каналу. Згідно розрахункам, приведеним в табл. 12 для кислот (етанова, пропанова, бутанова, пентанова) характерна приблизно однакова концентрація, що викликає токсичну дію на організм щурів, метанова кислота найменш токсична (концентрація 197,65 мг/кг/сутки). Найбільшу токсичну дію на організм мишей оказує пропанова кислота, так як для розвитку пухлин у 50% тварин їй потрібна найменша концентрація, що становить 438,42 мг/кг/сутки. Для відповідного впливу етанової кислоти на організм мишей потрібна найвища з розрахованих концентрацій 826,78 мг/кг/сутки, тобто вона проявляє найменшу токсичну дію при більш низьких концентраціях. Розрахунки також показали, що всі при-

ведені кислоти мають приблизно однакову кардіотоксичність.

Таким чином, розрахунки фізико-хімічних та біофармацевтичних властивостей для КЛЖК та їх попередників показали високий коефіцієнт дифузії та наявність залежності між збільшенням вуглеводного радикалу та зменшенням коефіцієнту дифузії. Розрахована висока ефективна проникність тонкого кишечника людей P_{eff} дозволяє припустити, що всмоктування досліджуваних сполук відбувається шляхом пасивної дифузії. Найбільше з протеїнами плазми крові зв'язуються кислоти, із збільшенням вуглеводного ланцюжка цей показник зменшується. Окрім того, всім сполукам, що досліджувались притаманне високе проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр. Найбільшу спорідненість до ізоформ цитохрому мають альдегіди, тобто вони мають найвищу початкову швидкість реакції метаболізму, ніж спирти та кислоти. Підвищення метаболічної стійкості спостерігається в ряді альдегіди – спирти – кислоти. Показано, що всі досліджені сполуки не проявляють токсичних властивостей та мають незначну кардіотоксичність. Для прояву токсичності в організмі щурів та мишей потрібне застосування високих концентрацій сполук.

Література

1. Simulations Plus, Inc., www.simulationsplus.com.
2. Lennernas H. Human Intestinal Permeability // *J. Pharm. Sci.* – 1998. – 87. – P. 403-410.
3. Irvine J.D., Takahashi L., Lockhart K., Cheong J., Tolan J.W., Selick H.E., Grove J.R. MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) cells: a tool for membrane permeability screening // *J. Pharm. Sci.* – 1999. – 88. – P. 28-33.
4. Meylan W.M., Howard P.H., Boethling R.S. Improved method for estimating water solubility from octanol/water partition coefficient // *Env. Tox. and Chem.* – 1996. – 15. - P. 100-106.
5. Hansch C., Leo A., Hoekman D., Hammett S. Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constraints // ACS Publications. — Washington: DC, 1995.
6. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y. Simple method of calculating octanol/water partition coefficient // *Chem. Pharm. Bull.* – 1992. – 40. – P. 127-130.
7. Pagliara A., Carrupt P.-A., Caron G., Gaillard P., Testa B. Lipophilicity profiles of ampholytes // *Chem. Rev.* – 1997. - 97. – P. 3385-3340.
8. Hayduk W., Laudie H. Prediction of diffusion coefficients for nonelectrolytes in dilute aqueous solutions // *American institute of chemical engineers J.* – 1994. – 20. – P. 611.
9. Blair R.M., Fang H., Branham W.S., Hass B.S., Dial S.L., Moland C.L., Tong W., Shi L., Perkins R.G., Sheehan D.M. The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands // *Toxicol. Sci.* – 2000. – 54. – P. 138-153.
10. Branham W.S., Dial S.L., Moland C.L., Hass B.S., Blair R.M., Fang H., Shi L., Tong W., Perkins R.G., Sheehan D.M. Binding of phytoestrogens and mycoestrogens to the rat uterine estrogen receptor // *J. Nutr.* – 2002. – 134. – P. 658-664.
11. Fang H., Tong W., Shi L.M., Blair R., Perkins R., Branham W., Hass B.S., Xie Q., Dial S.L., Moland C.L., Sheehan D.M. Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens // *Chem. Res. Tox.* – 2001. – 14. – P. 280-294.
12. Matthews E.J., Kruhlak N.L., Benz R.D., Contrera J.F. Assessment of the health effects of chemicals in humans: I. QSAR estimation of the maximum recommended therapeutic dose (MRTD) and no effect level (NOEL) of

organic chemicals based on clinical trial data // Current Drug Discovery Technologies 2004; 1:1.

13. Робертс Дж., Касерио М. Basic principles of organic chemistry / Под редакцией академика Несмеянова А.Н.. — 2-е, дополненное. — М.: Мир, 1978. — Т. 1. — 843 с.
14. Carey F.A. «Advanced organic chemistry» 5ed., MGH, 2004.

Резюме

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

Борисюк И.Ю., Лихота О.Б.

Компьютерное моделирование проведено с использованием официальной версии программы ADMET Predictor™. Расчеты физико-химических свойств для КЛЖК и их предшественников показали высокий коэффициент диффузии и наличие зависимости между увеличением углеводного радикала и уменьшением коэффициента диффузии. Рассчитанная высокая эффективная проницаемость тонкого кишечника людей P_{eff} позволяет предположить, что всасывание исследуемых соединений происходит путем пассивной диффузии. Больше с протеинами плазмы крови связываются кислоты, с увеличением углеводородной цепочки этот показатель уменьшается. Кроме того, всем исследуемым соединениям присуще высокое проникновение через гематоэнцефалический барьер. Наибольшее сродство к изоформам цитохрома имеют альдегиды, т.е. они имеют наивысшую начальную скорость реакции метаболизма, чем спирты и кислоты. Повышение метаболической устойчивости наблюдается в ряде альдегиды - спирты - кислоты. Показано, что все исследованные соединения не проявляют токсичных свойств и имеют незначительную кардиологическую токсичность. Для проявления токсичности в организме крыс и мышей

требуется применение высоких концентраций соединений.

Ключевые слова: компьютерное моделирование, короткоцепочечные жирные кислоты

Summary

COMPUTER SIMULATION BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES FATTY ACIDS AND THEIR PRECURSORS

Borisyuk I.Yr., Lykhota O.B.

Computer simulation was carried out using the official version of ADMET Predictor™. Calculations of physical and chemical properties for SCFA and their predecessors have shown a high diffusion coefficient and the presence of dependence between the increase in carbohydrate radical, and a decrease in diffusion coefficient. Calculated high effective permeability of the small intestine of people P_{eff} suggests that the absorption of compounds takes place by passive diffusion. More from the blood plasma proteins bind acid with an increase in carbohydrate chains of this figure is reduced. In addition, all compounds that were studied had high penetration across the blood-brain barrier. The greatest affinity for cytochrome isoforms are aldehydes, i.e., they have the highest initial reaction rate of metabolism than the alcohol and acid. Improving metabolic stability is observed in a number of aldehydes - alcohol - acids. It is shown that all the investigated compounds do not exhibit the toxic properties and have little cardiac toxicity. For toxicity in rats and mice requires the use of high concentrations of compounds.

Keywords: Computer simulation, fatty acids

Впервые поступила в редакцию 03.01.2011 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования