

Р. И. Зубатюк^{1*}, Л. И. Кучеренко², И. А. Мазур²,
О. В. Хромылева², О. В. Шишкин^{1,3}

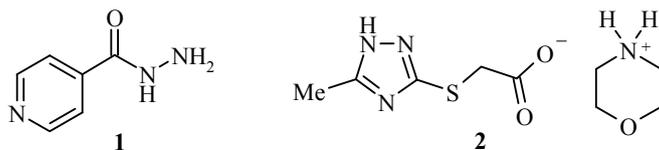
ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ КОМПЛЕКСОВ ИЗОНИАЗИДА С ТИОТРИАЗОЛИНОМ

Проведено комбинированное молекулярно-механическое и квантово-химическое моделирование строения двух- и трёхкомпонентных комплексов противотуберкулёзного препарата изониазида с тиотриазолином – (3-метил-1,2,4-триазол-5-ил)тиоацетатом (МТТА) морфолиния. С помощью молекулярно-механических расчётов были найдены возможные варианты взаимодействия молекул, окончательный расчёт стабильности комплексов проведен методом функционала плотности B97-D/6-311G** с учётом влияния растворителя в континуальной модели SMD. Результаты расчёта показывают, что образование стабильных комплексов изониазида с тиотриазолином возможно как в газовой фазе ($\Delta G^{298} = -13.6$ ккал/моль), так и в водном растворе ($\Delta G^{298} = -7.6$ ккал/моль). Образование двухкомпонентных комплексов между изониазидом и МТТА без участия морфолина заметно менее выгодно ($\Delta G^{298} = -6.6$ ккал/моль в газовой фазе и $\Delta G^{298} = -2.6$ ккал/моль в растворе). Таким образом, морфолин может рассматриваться как компонент, который способствует образованию комплексов между изониазидом и МТТА.

Ключевые слова: изониазид, тиотриазолин, квантово-химические расчёты, молекулярные комплексы, конформационный поиск.

Туберкулёз – широко распространённое инфекционное заболевание человека. Существует мнение, что туберкулёзом инфицирована приблизительно треть населения Земли, и примерно каждую секунду происходит новое инфицирование [1–4]. Для лечения больных туберкулёзом применяются различные лекарственные средства, в частности производные гидразида изоникотиновой кислоты, антибиотики и современные комбинированные лекарственные средства [1–2].

Наиболее высокую активность в отношении микобактерий туберкулёза проявляет изониазид (гидразид изоникотиновой кислоты) (1) – один из эталонных препаратов главной группы. Изониазид, кроме положительного фармакотерапевтического эффекта, проявляет также токсическое действие на функции печени, центральной и периферической нервной системы, кардио- и системную гемодинамику. Поэтому актуальным остаётся вопрос предупреждения токсического действия изониазида. Применение антиоксидантов в комплексной терапии инфекционных заболеваний имеет несомненные перспективы. В последнее время в мировой практике наблюдается тенденция создания новых лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций, содержащих совместимые по физико-химическим и фармакологическим характеристикам антиоксидант и препарат базовой терапии. Поэтому для уменьшения токсического действия изониазида было предложено одновременно назначать препарат антиоксидантного действия, а именно тиотриазолин (2), который представляет собой (3-метил-1,2,4-триазол-5-ил)тиоацетат (МТТА) морфолиния [5].



Совместное применение изониазида и тиотриазолина позволяет предположить возможность образования достаточно прочных межмолекулярных комплексов этих соединений. Поэтому представлялось интересным рассмотреть возможную структуру и энергетические характеристики комплексов, образованных изониазидом, МТТА и морфолином в газовой фазе и в водном растворе.

Теоретическое моделирование энергетических характеристик и строения возможных комплексов изониазида с тиотриазолином является нетривиальной задачей исходя из целого набора факторов. Так, в молекулах присутствуют несколько групп, между которыми могут образовываться те или иные водородные связи, в зависимости от взаимного расположения и конформации молекул. Молекула МТТА является конформационно лабильной. Было показано, что она может существовать в нескольких близких по энергии конформациях [6]. Поэтому для нахождения возможных молекулярных комплексов необходимо использовать методы, которые гарантируют анализ всех возможных конформеров молекул и всех вариантов их взаимного расположения в комплексах. Такая задача по своей сути близка к задаче "молекулярного докинга" – нахождения наилучшего варианта взаимодействия данной молекулы с мишенью, в качестве которой обычно выступают макромолекулы или их фрагменты, такие как активный центр белка.

Принимая во внимание сложность нахождения всех вариантов взаимодействия в такой трёхкомпонентной системе, решение задачи с использованием разумного количества процессорного времени возможно лишь методами молекулярной механики. С другой стороны, методы молекулярной механики не могут гарантировать приемлемую надёжность результатов. Поэтому результаты молекулярно-механического моделирования необходимо уточнять с помощью квантово-химических расчётов. В качестве метода расчёта был выбран функционал плотности B97D [7], который включает в себя эмпирическую дисперсионную поправку и является одним из лучших функционалов для оценки энергий межмолекулярных взаимодействий [8]. Был выбран базисный набор 6-311G** [9]. Для моделирования сольватационных эффектов использовался полуэмпирический континуальный метод SMD, который является одним из наиболее точных из существующих континуальных моделей, в частности для расчёта энергий сольватаций ионных соединений [10]. В качестве модельного растворителя использовалась вода. Все квантово-химические расчёты были проведены с помощью пакета программ Gaussian 09 [11].

Таким образом, использовалась следующая схема поиска наиболее стабильных комплексов изониазида с МТТА и морфолином:

- методом генетического конформационного поиска с использованием силового поля MMFF94, который реализован в программе OpenVabel [12], были найдены возможные комплексы, отличающиеся взаимной ориентацией молекул и их конформацией. Всего для каждой системы было рассчитано порядка 10000 комплексов, что для подобных систем гарантирует полное покрытие вариационного пространства;

– из комплексов, полученных на предыдущем шаге, были отобраны 100 наиболее энергетически выгодных, для них была проведена предварительная оптимизация геометрии методом (SMD-)B97D/6-31G*;

– окончательная оптимизация 10 наиболее энергетически выгодных комплексов, полученных на предыдущем шаге, была проведена методом (SMD-)B97D/6-311G**.

Необходимо отметить, что при расширении базисного набора 6-31G* до 6-311G** в результате оптимизации строение комплексов качественно не изменялось, сохранялись все водородные связи и взаимное расположение молекул. Также практически не изменялся порядок стабильности комплексов.

Для каждого типа комплексов был проведён расчёт частот нормальных колебаний в гармоническом приближении и рассчитана свободная энергия Гиббса при 298 К в приближении жёсткого ротатора. Энергия образования комплексов была рассчитана как разница между свободной энергией комплекса и суммой свободных энергий его изолированных компонентов.

Рассчитанные структура, энергии и характеристики внутримолекулярных водородных связей четырёх наиболее стабильных двух- и трёхкомпонентных комплексов в газовой фазе и водном растворе приведены в качестве дополнительной информации.

Результаты квантово-химических расчётов структуры и энергии образования молекулярных комплексов изониазида с МТТА и морфолином приведены в табл. 1, 2, строение изолированных молекул и нумерация атомов показаны на рисунке. Во всех найденных наиболее стабильных комплексах между компонентами образуются множественные водородные связи, которые, очевидно, являются основными связывающими межмолекулярными взаимодействиями. Вследствие несоответствия числа доноров и акцепторов протона в образующих комплексы молекулах, невозможности одновременно образовать водородные связи с участием всех доноров протона в силу геометрических ограничений, а также высокой конформационной подвижности молекул, в первую очередь МТТА, в найденных комплексах компоненты имеют различную ориентацию относительно друг друга и реализуются различные межмолекулярные взаимодействия. При этом во всех найденных наиболее стабильных трёхкомпонентных комплексах каждый из компонентов образует водородные связи с двумя другими. Также ни в одном из наиболее стабильных комплексов не обнаружены внутримолекулярные водородные связи.

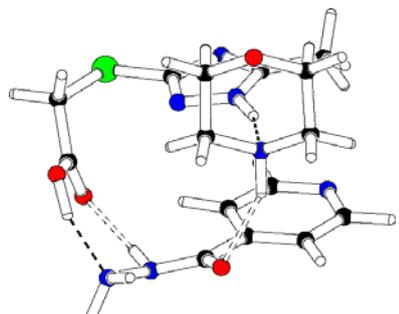
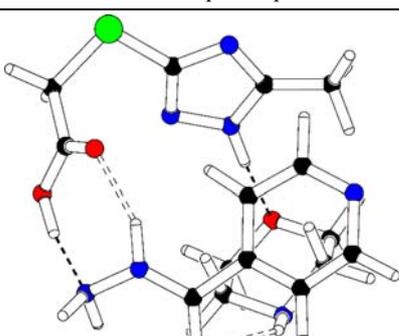
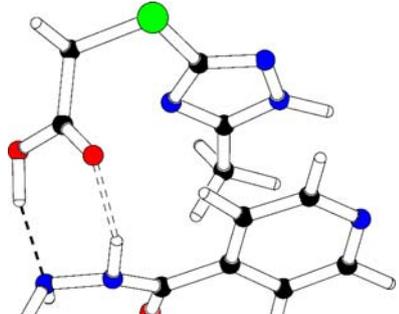
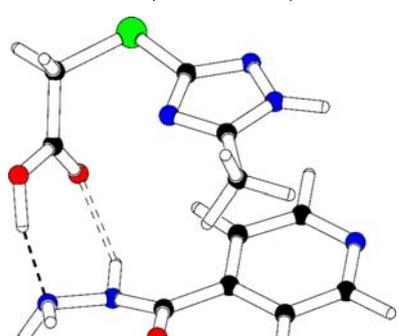
Необходимо отметить, что молекула МТТА в комплексах находится в "ортогональной" конформации, в которой связь $\text{CH}_2\text{--COOH}$ ориентирована практически перпендикулярно плоскости триазольного кольца. Ранее было показано, что такая конформация не является наиболее энергетически выгодной для свободной молекулы МТТА, но реализуется в кристалле и в водном растворе [6].

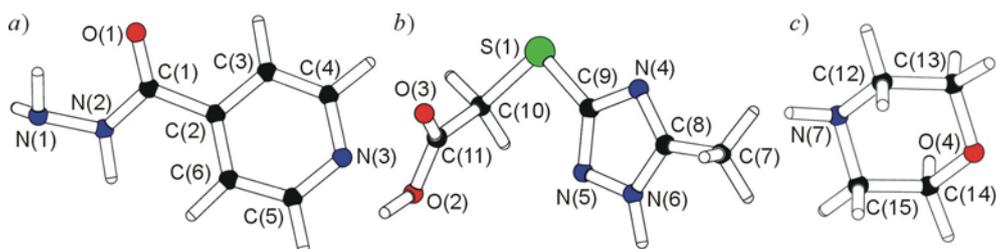
Квантово-химические расчёты показывают, что в газовой фазе образование трёхкомпонентного комплекса **N3-g** изониазида с МТТА и морфолином энергетически выгодно (табл. 1). В этом комплексе карбоксильная группа МТТА и гидразиновая группа изониазида связаны двумя сильными водородными связями $\text{O}(2)\text{--H}\cdots\text{N}(1)$ и $\text{N}(2)\text{--H}\cdots\text{O}(3)$, которые можно охарактеризовать как резонансно-усиленные [13]. Протонированный атом триазольного цикла образует водородную связь с молекулой морфолина, которая, в свою очередь, связана водородной связью с карбонильной группой МТТА. В водном растворе наиболее стабильный комплекс **N3-w** имеет

сходное строение (табл. 2). Интересно отметить, что в растворе наблюдаются гораздо более сильные водородные связи O(2)–H···N(1) (1.64–1.67 Å), чем в газовой фазе (1.78–1.81 Å), но при этом ослабевают связи N(7)–H···O(1) (2.09–2.21 и 2.35–2.41 Å в газовой фазе и растворе соответственно). Рассчитанная энергия образования комплекса в водном растворе значительно

Таблица 1

Строение наиболее стабильных комплексов изониазида с МТГА и морфолином в газовой фазе и в водном растворе, свободная энергия образования комплексов и характеристики межмолекулярных водородных связей D–H···A по данным метода (SMD-)B97D/6-311G**

Газ			Водный раствор		
 <p style="text-align: center;">N3-g</p> <p style="text-align: center;">$\Delta G_{\text{form}}^{298} = -13.4$ ккал/моль</p>			 <p style="text-align: center;">N3-w</p> <p style="text-align: center;">$\Delta G_{\text{form}}^{298} = -2.2$ ккал/моль</p>		
Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.	Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.
N(2)–H···O(3)	1.87	149	N(2)–H···O(3)	1.91	150
N(6)–H···N(7)	1.76	164	N(6)–H···O(4)	1.77	175
N(7)–H···O(1)	2.09	151	N(7)–H···O(1)	2.41	137
O(2)–H···N(1)	1.78	162	O(2)–H···N(1)	1.67	169
 <p style="text-align: center;">N2-g</p> <p style="text-align: center;">$\Delta G_{\text{form}}^{298} = -6.6$ ккал/моль</p>			 <p style="text-align: center;">N2-w</p> <p style="text-align: center;">$\Delta G_{\text{form}}^{298} = -2.6$ ккал/моль</p>		
Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.	Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.
N(2)–H···O(3)	1.88	149	N(2)–H···O(3)	2.06	141
O(2)–H···N(1)	1.76	162	O(2)–H···N(1)	1.66	165



Строение молекул изониазида (a), МТТА (b) и морфолина (c) с нумерацией атомов

меньше, чем в газовой фазе. Тем не менее в обоих случаях энергии отрицательные, что говорит о термодинамической стабильности таких комплексов.

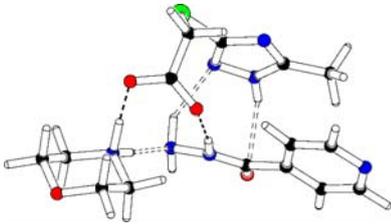
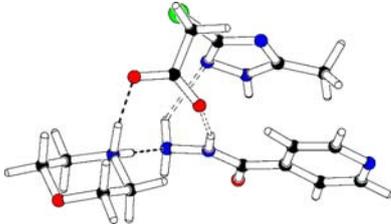
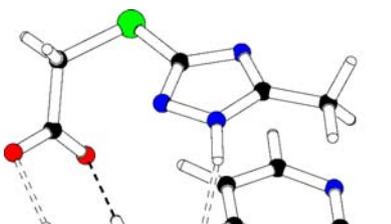
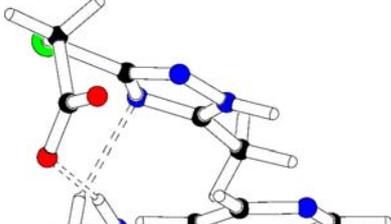
В наиболее стабильных двухкомпонентных комплексах изониазида с МТТА также образованы межмолекулярные водородные связи между карбоксильной и гидразинной группами, связи O(2)–H···N(1) также являются очень сильными (H···N 1.64–1.67 Å). Но при этом триазольный цикл водородные связи не образует. По всей видимости, это связано с дополнительными стерическими и конформационными затруднениями, которые необходимо преодолеть для их образования. Энергия образования двухкомпонентных комплексов в газовой фазе заметно меньше, чем трёхкомпонентных, а в растворе приблизительно такая же.

Поскольку МТТА и морфолин являются кислотой и основанием, между ними возможен перенос протона с карбоксильной группы МТТА на атом азота морфолина и образование соли. По данным квантово-химических расчётов процесс такой ионизации и разрыв ионной пары невыгоден не только в газовой фазе ($\Delta G^{298} = 124.4$ ккал/моль), но и в водном растворе ($\Delta G^{298} = 2.1$ ккал/моль). Несмотря на это, можно предполагать образование связанных ионных пар, в которых перенос протона происходит внутри молекулярных комплексов. Поэтому был проведён также поиск соответствующих наиболее стабильных комплексов и рассчитана их энергия образования с учётом того, что в свободном состоянии компоненты комплексов существуют в нейтральном состоянии.

Наиболее стабильные трёхкомпонентные ионные комплексы имеют сходное строение в газовой фазе и в растворе (табл. 2). Интересно отметить образование в комплексе **Z3-g** очень короткой водородной связи между положительно заряженной группой NH₂ морфолина и отрицательно заряженной карбоксильной группой с расстоянием H···O 1.44 Å. Настолько короткое расстояние между акцептором и протоном может свидетельствовать о стремлении системы к обратному переносу протона, и, соответственно, нестабильности такого ионного комплекса [14]. При этом энергия образования ионного комплекса **Z3-g** приблизительно такая же, как и нейтрального **N3-g**. Стабильность трёхкомпонентного ионного комплекса **Z3-w** в водном растворе значительно выше, чем нейтрального **N3-w**, при этом водородная связь N(7)–H···O(3) не является короткой. Это говорит о том, что водная среда стабилизирует образование ионных комплексов между изониазидом и тиотриазолином.

Образование двухкомпонентных ионных комплексов в газовой фазе крайне невыгодно – энергия образования до +94 ккал/моль, что связано с большой энергией разрыва ионной пары в газовой фазе. Образование таких комплексов в водном растворе также энергетически не выгодно, поскольку свободная энергия их образования близка к нулю (исходя из результатов расчётов).

Строение наиболее стабильных ионных комплексов изониозида с МТГА и морфолином в газовой фазе и водном растворе, свободная энергия образования комплексов и характеристики межмолекулярных водородных связей D–H···A по данным метода (SMD-)B97D/6-311G**

Газ			Водный раствор		
 <p>Z3-g $\Delta G_{\text{form}}^{298} = -13.6$ ккал/моль</p>			 <p>Z3-w $\Delta G_{\text{form}}^{298} = -7.6$ ккал/моль</p>		
Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.	Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.
N(1)–H···N(5)	2.13	143	N(1)–H···N(5)	2.31	137
N(2)–H···O(2)	1.76	165	N(2)–H···O(2)	1.85	165
N(6)–H···O(1)	2.45	119	N(7)–H···N(1)	1.79	172
N(7)–H···N(1)	1.85	168	N(7)–H···O(3)	1.72	169
N(7)–H···O(3)	1.44	175			
 <p>Z2-g $\Delta G_{\text{form}}^{298} = 94.3$ ккал/моль</p>			 <p>Z2-w $\Delta G_{\text{form}}^{298} = -0.2$ ккал/моль</p>		
Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.	Связь	Расстояние H···A, Å	Угол D–H···A, град.
N(1)–H···O(3)	1.92	159	N(1)–H···N(4)	2.35	139
N(2)–H···O(2)	1.78	152	N(2)–H···O(3)	1.84	167
N(6)–H···O(1)	2.26	138			

Таким образом, результаты квантово-химических расчётов комплексов изониозида с (3-метил-1,2,4-триазол-5-ил)тиоацетатом морфолина свидетельствуют о том, что образование таких комплексов возможно как в газовой фазе, так и в растворе. При этом в газовой фазе образуются комплексы нейтральных молекул с энергией образования до -13.6 ккал/моль. В водном растворе при образовании комплексов происходит перенос протона с карбоксильной группы МТГА на атом азота морфолина. Энергия образования таких ионных комплексов достигает -7.6 ккал/моль. Образование двухкомпо-

нентных комплексов между изониазидом и МТГА без участия морфолина заметно менее выгодно и в газовой фазе, и в растворе. То есть морфолин может рассматриваться как компонент, который способствует образованию комплексов между изониазидом и МТГА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Б. В. Норе́йко, *Новости медицины и фармации*, **19**, 261 (2008).
2. *Global tuberculosis control: WHO Report 2002*, Geneva, 2002, p. 295.
3. S.-W. Lee, L. S.-C. Chung, H.-H. Huang, T.-Y. Chuang, Y.-H. Liou, L. S.-H. Wu, *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **14**, 622 (2010).
4. D. García de Viedma, M. Marín, S. Hernangómez, M. Díaz, M. J. Ruiz Serrano, L. Alcalá, E. Bouza, *Arch. Intern. Med.*, **162**, 1873 (2002).
5. И. А. Мазур, Л. И. Кучеренко, Т. Ю. Винниченко, А. И. Гринашук, Е. Е. Калашникова, Н. А. Авраменко, О. В. Хромилева, РФ Пат. 2501797.
6. R. I. Zubatyuk, S. V. Shishkina, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, O. V. Shishkin, *Struct. Chem.*, **19**, 407 (2008).
7. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, **132**, 154104 (2010).
8. J. Antony, S. Grimme, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 5287 (2006).
9. R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.*, **72**, 650 (1980).
10. A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 6378 (2009).
11. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, N. J. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision B.01*, 2009.
12. N. M. O'Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, G. R. Hutchison, *J. Cheminf.*, **3**, 33 (2011).
13. V. Bertolasi, P. Gilli, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 945 (1997).
14. P. Gilli, V. Bertolasi, L. Pretto, G. Gilli, *J. Mol. Struct.*, **790**, 40 (2006).

¹ НТК "Институт монокристаллов" НАН Украины,
пр. Ленина, 60, Харьков 60001, Украина
e-mail: roman@xray.isc.kharkov.com

Поступило 8.02.2014

² Запорожский государственный медицинский университет,
пр. Маяковского, 28, Запорожье 69059, Украина
e-mail: podium@bigmir.net

³ Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина,
пл. Свободы, 4, Харьков 61122, Украина
e-mail: shishkin@xray.isc.kharkov.com