



УДК 547.787+ 615.3+615.9

Гулноза БАБАЕВА,

Докторант НУУ им. М.Улугбека,

ассистент Ташкентского государственного медицинского университета

E-mail: gulnozababayeva06@gmail.com

Гулбека МАМАТОВА,

Магистрантка НУУз им. М.Улугбека

Лола МАХМУДОВА,

Студент химического факультета НУУз им. М.Улугбека

Даминбек ЗИЯТОВ,

Студент химического факультета НУУз им. М.Улугбека

Шахло ДАМИНОВА,

Профессор Национального университета Узбекистана, д.х.н.

На основе рецензии зам.директора по науке ГУ “Узбекско-японский молодёжный центр инноваций”, д.х.н., проф. З.Кадировой

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 2-(ФЕНИЛМЕТИЛ)-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛА

Аннотация

В данной работе проведено комплексное *in silico*-исследование 2-фенилметил-1Н-бензимидазола (FAB), органического соединения с потенциальной биологической активностью. С использованием веб-платформы *PASS Online* были предсказаны фармакологические свойства и предполагаемые механизмы действия соединения. Для оценки острой и экологической токсичности применялась программа *GUSAR*, в том числе прогноз по модели LD_{50} (крыс и мышей) и экологическим параметрам: LD_{50} для *Daphnia magna*, *Fathead minnow*, *Tetrahymena pyriformis* и логарифмический коэффициент бионакопления (BCF). Результаты *PASS Online* показали, что FAB может обладать антибактериальной, противовоспалительной и антиоксидантной активностью, а также ингибирующим действием на ряд ферментов. Полученные данные позволяют сделать вывод о целесообразности дальнейших исследований FAB как фармакологически активного соединения, с параллельной оценкой его экологической безопасности.

Ключевые слова: 2-фенилметил-1Н-бензимидазол, биологическая активность, фармакологическое прогнозирование, *PASS Online*, токсичность, *GUSAR*, *in silico*.

2-(FENILMETIL)-1Н-BENZIMIDAZOLNING BIOLOGIK FAOLLIGINI BASHORAT QILISH

Annotatsiya

Ushbu ishda biologik faollikka ega bo'lishi mumkin bo'lgan organik birikma - 2-(fenilmetil)-1Н-benzimidazol (FAB) moddasining *in silico* kompleks tadqiqoti o'tkazildi. *PASS Online* veb-platformasi yordamida ushbu birikmaning farmakologik xossalari va taxminiy ta'sir mexanizmlari bashorat qilindi. O'tkir va ekologik toksiklikni baholash uchun *GUSAR* dasturidan foydalanildi, shu jumladan LD_{50} (kalamushlar va sichqonlar) modeli hamda ekologik parametrlar: *Daphnia magna*, *Fathead minnow*, *Tetrahymena pyriformis* uchun LD_{50} va logarifmik biokonsentratsiya koeffitsienti (BCF) hisoblandi. *PASS Online* natijalari FAB bakteriyalarga qarshi, yallig'lanishga qarshi va antioksidant faollikka ega bo'lishi, shuningdek, turli fermentlarni inhibitsiyalash xususiyatiga ega bo'lishi mumkinligini ko'rsatdi. Ushbu ma'lumotlar FABni farmakologik faol modda sifatida yanada chuqurroq o'rganish va uning ekologik xavfsizligini baholash zarurligini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: 2-fenilmetil-1Н-benzimidazol, biologik faollik, farmakologik bashorat, *PASS Online*, toksiklik, *GUSAR*, *in silico*.

PREDICTION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-(PHENYLMETHYL)-1Н-BENZIMIDAZOLE

Annotation

A comprehensive *in silico* study of 2-(phenylmethyl)-1Н-benzimidazole (FAB), an organic compound with potential biological activity, was conducted in this work. Using the *PASS Online* web platform, the pharmacological properties and predicted mechanisms of action of the compound were assessed. The *GUSAR* program was employed to evaluate acute and environmental toxicity, including LD_{50} prediction models for rats and mice, as well as ecological parameters such as LD_{50} for *Daphnia magna*, *Fathead minnow*, *Tetrahymena pyriformis*, and the logarithmic bioconcentration factor (BCF). The results of *PASS Online* indicated that FAB may exhibit antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant activities, as well as inhibitory effects on various enzymes. These findings suggest the advisability of further investigation of FAB as a pharmacologically active compound, alongside parallel evaluation of its environmental safety.

Keywords: 2-phenylmethyl-1Н-benzimidazole, biological activity, pharmacological prediction, *PASS Online*, toxicity, *GUSAR*, *in silico*.

Введение. Производные бензимидазола представляют собой один из наиболее изученных классов гетероциклических соединений благодаря их широкой биологической активности и многообразию возможных химических модификаций [1-3]. Соединения на основе бензимидазола продемонстрировали потенциал в качестве противомикробных [4], противоопухолевых [5], противовирусных [6], противовоспалительных [7], антипаразитарных [8],

а также ингибиторов различных ферментов, включая тирозинкиназы, протеазы и дегидрофолатредуктазу [9]. Особый интерес вызывает 2-фенилметил-1Н-бензимидазол (FAB) - производное бензимидазола, содержащее фенилметильную группу в положении 2. Благодаря наличию плоской ароматической системы, донорного атома азота и гидрофобного фенильного заместителя, FAB способен к разнообразным взаимодействиям с биомолекулами: водородным связям, π - π -стэкингу и координации к металл-центрам [10]. Ранее сообщалось о высокой активности аналогов FAB против бактерий *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и грибов рода *Candida* [11].

Современные *in silico*-подходы, такие как PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*), позволяют оценивать вероятные виды биологической активности молекулы на основе структурных признаков без проведения лабораторных тестов [12]. Платформа PASS основана на базе знаний, включающей тысячи активных соединений, и даёт количественные значения вероятности активности (P_a) и её отсутствия (P_i). Совмещая результаты PASS с другими инструментами, такими как Molinspiration, SwissADME и PharmaExpert, можно получить полную фармакофорную и токсикологическую характеристику вещества [13]. Кроме того, метод молекулярного докинга стал неотъемлемым инструментом в молекулярном дизайне, позволяя моделировать взаимодействие лигандов с ферментами и рецепторами на атомарном уровне. Программы *AutoDock Vina*, *SwissDock*, *DockThor* широко используются для оценки энергии связывания, взаимодействий с аминокислотными остатками, доступности активного сайта, а также для сравнения сродства разных форм соединения - свободного лиганда и его комплексов [14-15]. Инфекционные заболевания, вызванные вирусами, бактериями и грибами, представляют серьёзную угрозу для здоровья человека. В связи с ростом устойчивости патогенов к существующим препаратам, необходим поиск новых биологически активных соединений. Особый интерес вызывают производные бензимидазола, обладающие антивирусной, антибактериальной и противогрибковой активностью. Целью настоящего исследования является оценка предполагаемой биологической активности и токсикологических свойств 2-фенилметил-1Н-бензимидазола (FAB) с использованием *in silico*-методов, включая предиктивные платформы *PASS Online* и *GUSAR*, для выявления его фармакологического потенциала и возможных экологических рисков.

Объекты и методы исследования.

Химическая структура FAB была получена из базы *ChEMBL*. Для оценки токсичности, потенциальных побочных эффектов и экологического воздействия 2-фенилметил-1Н-бензимидазола (FAB) был использован программный веб-сервис *GUSAR Online* (<http://www.way2drug.com/gusar>), основанный на методологии *QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)*. Модели *GUSAR* строятся на базе структурно-активных закономерностей и позволяют предсказать широкий спектр фармакокинетических и токсикологических свойств на основе молекулярной структуры. Анализ включал следующие параметры:

- 1) LD_{50} (летальная доза) для различных моделей введения (пероральное, внутрибрюшинное, подкожное и внутривенное) на мышах и крысах;
- 2) предполагаемые классы токсичности в соответствии с классификацией OECD;
- 3) экологические риски (влияние на водных организмах, биодеградация);
- 4) возможные побочные эффекты, включая кардиотоксичность, мутагенность, гепатотоксичность и другие.

Для оценки антивирусной активности использовался ресурс *AntiHIV-Pred* и *AntiVir-Pred*. Антибактериальные и противогрибковые свойства анализировались через модули *AntiBac-Pred* и *AntiFun-Pred* платформы *GUSAR*. Учитывались значения IC_{50} и коэффициенты достоверности (confidence score). Кроме того, применялись *QSAR*-модели и молекулярное моделирование связывания. Для прогнозирования антибактериального спектра действия FAB была использована интеграция модели *GUSAR* с базой *ChEMBL* (<https://www.ebi.ac.uk/chembl>), содержащей экспериментальные данные о биологической активности молекул против различных бактериальных штаммов. Система анализа сопоставляла структурные признаки FAB с молекулами-аналогами в базе *ChEMBL* и проводила оценку активности по модели *binary classification* с определением уровня достоверности (confidence level) для каждого штамма. Более высокие значения достоверности (>80%) интерпретировались как свидетельство высокой вероятности антимикробной активности против соответствующего патогена.

Также с использованием *QSAR*-моделей *GUSAR*, был проведён расчёт предполагаемой способности FAB ингибировать протеазу вируса иммунодефицита человека 1-го типа (HIV-1 protease). Основным индикатором служило значение IC_{50} (отрицательный логарифм концентрации, вызывающей 50% ингибирование активности фермента).

Результаты и их обсуждения.

Оценка острой токсичности FAB. Оценка острой токсичности (LD_{50} , мг/кг) исследуемого соединения была выполнена с использованием программы *GUSAR*, которая позволяет прогнозировать значения LD_{50} (летальная доза, вызывающая гибель 50% экспериментальных животных) для различных путей введения (внутрибрюшинное (IP), внутривенно (IV), перорально (Oral) и подкожно (SC)) (табл.1). Внутрибрюшинное введение (IP): LD_{50} составляет 552,8 мг/кг, что указывает на умеренную токсичность. Внутривенное введение (IV): LD_{50} составляет 56,81 мг/кг, что свидетельствует о значительно более высокой токсичности при этом пути введения.

Пероральное введение (Oral): LD_{50} составляет 289,3 мг/кг, что также указывает на выраженную токсичность, хотя и менее выраженную по сравнению с внутривенным введением. Подкожное введение (SC): LD_{50} - 641,7 мг/кг, что указывает на более низкую токсичность по сравнению с другими путями. Таким образом, токсичность соединения в целом зависит от способа введения: наибольшая токсичность наблюдается при внутривенном введении, а наименьшая - при подкожном введении.

Таблица 1.

Острая токсичность для крыс, предсказанная GUSAR

Rat IP LD50 Log10(mmol/kg)	Rat IV LD50 log10(mmol/kg)	Rat Oral LD50 log10(mmol/kg)	Rat SC LD50 log10(mmol/kg)
0,424 in AD	-0,564 in AD	0,143 in AD	0,489 in AD
Rat IP LD50 (mg/kg)	Rat IV LD50 (mg/kg)	Rat Oral LD50 (mg/kg)	Rat SC LD50 (mg/kg)
552,800 in AD	56,810 in AD	289,300 in AD	641,700 in AD

Анализ антицелевых взаимодействий (Antitarget Profiling). Для оценки профиля потенциальных нежелательных взаимодействий исследуемого соединения с биологически значимыми мишенями были использованы предсказания активности с помощью подхода PASS и сервиса Way2Drug, осуществляющего количественное прогнозирование значений IC_{50} , K_i , и других параметров ингибирования/антагонизма. Наибольшие предсказанные значения активности ($-\log_{10}(\text{value}) > 6.5$), указывающие на возможное нежелательное взаимодействие, наблюдаются со следующими мишенями:

1. 5-HT_{2A} и 5-HT_{2C} (серотониновые рецепторы подтипов 2A и 2C) - высокие значения активности как по IC_{50} , так и по K_i (до 6,79), находятся в пределах применимости модели (In AD). Это может указывать на возможные эффекты, связанные с ЦНС - например, седация, галлюцинации или влияние на настроение.

2. μ -опиоидные рецепторы (μ -type opioid receptor): $K_i = 7,567$ - очень высокая активность в пределах AD, что может предполагать побочные эффекты, связанные с анальгезией, зависимостью или дыхательной депрессией.

3. δ - и κ -опиоидные рецепторы: K_i значения также высоки (до 7,263), но находятся вне применимости модели (Out of AD) - это делает их менее надёжными, но требует внимания.

4. Carbonic anhydrase I и II: Активность как ингибитора ($K_i \sim 6,0-6,8$), так и активатора ($K_{act} > 8,7$), находится в AD, что может повлиять на кислотно-щелочной баланс и метаболизм CO₂, потенциально вызывая системные побочные эффекты.

5. Androgen и estrogen рецепторы: Умеренная антагонистическая активность ($IC_{50} \sim 5,5-5,8$), что может свидетельствовать о гормон-модулирующем потенциале соединения, особенно при длительном применении.

6. Dopamine D₁ и D₃ рецепторы: K_i значения около 6,0 - что говорит о потенциальной нейроповеденческой активности.

7. Serotonin, dopamine и GABA транспортеры: Значения активности по K_i и IC_{50} находятся в диапазоне 5,7-6,6, большинство в AD. Это указывает на возможное влияние на реаптейк нейромедиаторов, что может быть связано с седативными, стимулирующими или антидепрессивными эффектами.

Оценка экологической токсичности FАВ на основе прогноза GUSAR. Для оценки потенциального воздействия FАВ на водные экосистемы были использованы предсказательные модели GUSAR, охватывающие широкий спектр тест-организмов, включая представителей различных трофических уровней (табл. 3). Все значения находятся в пределах применимости модели (In AD), что указывает на надёжность предсказаний.

Таблица 3

Оценка экологической токсичности FАВ на основе прогноза GUSAR

Activity	Prediction Value	Applicability Domain
Bioaccumulation factor Log ₁₀ (BCF)	1,455	In AD
Daphnia magna LC ₅₀ -Log ₁₀ (mol/L)	5,341	In AD
Fathead Minnow LC ₅₀ Log ₁₀ (mmol/L)	-1,469	In AD
Tetrahymena pyriformis IGC ₅₀ -Log ₁₀ (mol/L)	1,011	In AD

1. Биоконцентрационный фактор (BCF). $\text{Log}_{10}(\text{BCF}) = 1,455$. Это значение соответствует умеренному потенциалу к накоплению в живых организмах. В переводе в обычные единицы, $\text{BCF} \approx 28,5$, что говорит о том, что FАВ обладает способностью накапливаться в водных организмах, но не в высокой степени.

2. Токсичность по отношению к *Daphnia magna* (LC₅₀). LC₅₀ (*D. magna*), $\text{Log}_{10}(\text{mol/L}) = 5,341$. Это значение указывает на высокую токсичность: при преобразовании получаем $\text{LC}_{50} \approx 4,57 \times 10^{-6}$ mol/L. Такой уровень летальной концентрации говорит о высокой чувствительности рачков *Daphnia magna* к FАВ и потенциальной опасности даже при низких концентрациях в водоёмах. Следовательно, FАВ может быть отнесён к веществам с острой токсичностью для беспозвоночных водных организмов.

3. Токсичность для рыб (Fathead Minnow). LC₅₀, $\text{Log}_{10}(\text{mmol/L}) = -1,469$. Это значение эквивалентно $\text{LC}_{50} \approx 0,034$ mmol/L или 34 $\mu\text{mol/L}$. Переведя в массу, если молекулярная масса FАВ около 210-230 г/моль, то концентрация будет порядка 7-8 мг/л, что также свидетельствует о умеренной токсичности по отношению к рыбам.

4. Цитотоксичность по отношению к *Tetrahymena pyriformis* (IGC₅₀). IGC₅₀, $\text{Log}_{10}(\text{mol/L}) = 1,011$. IGC₅₀ $\approx 10,26$ mol/L, что указывает на крайне низкую токсичность FАВ в отношении простейших одноклеточных организмов.

Анализ антибактериальной активности FАВ. Предсказания представлены в виде значений Confidence (достоверность активности), отражающих вероятность ингибирующего действия FАВ на конкретные бактериальные штаммы. Значения Confidence выше 0,1 рассматриваются как свидетельство потенциальной биологической активности, тогда как более низкие значения указывают на слабую или неопределённую активность.

1. Активность против грамположительных бактерий. FАВ проявляет умеренную активность в отношении ряда представителей рода *Bacillus*. Особенно это касается: *Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168* - 0,1736; *Bacillus sphaericus* - 0,1665; *Bacillus anthracis* - 0,1440; резистентного штамма *Bacillus subtilis* - 0,1314. Также зафиксирована возможная активность против: *Corynebacterium jeikeium* - 0,1644; *Mycobacterium bovis* - 0,1984; других *Mycobacterium spp.* (значения от 0,03 до 0,12). Это указывает на возможный спектр действия FАВ в отношении актиномицетов и микобактерий, включая потенциальных возбудителей туберкулеза и кожных инфекций.

2. Активность против грамотрицательных бактерий. Наиболее выраженная предсказанная активность отмечается по отношению к: *Salmonella enterica subsp. enterica* - 0,3758; *Yersinia pestis* - 0,3899; RESISTANT *Staphylococcus aureus subsp. aureus MW2* - 0,2543.

Эти значения свидетельствуют о значительном потенциале FАВ как антибактериального агента против патогенов, вызывающих тяжелые инфекции, включая сальмонеллез и чуму.

3. Низкая или отсутствующая активность. Для большинства других бактерий значения Confidence не превышают 0,1, включая: *Escherichia coli K12* - 0,0921; *Enterococcus faecalis* - 0,0586; *Helicobacter pylori* - 0,0489; *Shigella dysenteriae* - 0,0314. Это указывает на ограниченную эффективность FАВ против указанных штаммов, что может быть связано с

особенностями структуры клеточной стенки, механизмами устойчивости или отсутствием специфического взаимодействия на молекулярном уровне.

Заключение. Результаты предсказаний GUSAR показывают, что исследуемое соединение FAB обладает умеренной до выраженной токсичностью в зависимости от пути введения. Наибольшую осторожность следует соблюдать при внутривенном и пероральном способах введения. Данные по экологической токсичности FAB показали: умеренный потенциал к биоаккумуляции ($\text{Log}_{10}(\text{BCF}) = 1.455$), что говорит о невысокой склонности к накоплению в живых организмах. Анализ предсказательной антибактериальной активности FAB свидетельствует о его перспективности как потенциального антибактериального агента широкого спектра действия, с выраженной активностью против: *Bacillus* spp., *Mycobacterium bovis*, *Yersinia pestis*, *Salmonella enterica*. Особое внимание заслуживает активность FAB в отношении устойчивых штаммов (*Staphylococcus aureus* MW2), что открывает перспективы для дальнейших исследований в области разработки противорезистентных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alka, A. et al. *Benzimidazole: A bioactive scaffold for drug development*. Eur. J. Med. Chem. 2020, 207, 112739.
2. Zarrin, G. et al. *Design and synthesis of novel benzimidazole derivatives with antimicrobial activity*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2019, 29(17), 2547-2551.
3. Park, S. J. et al. *Benzimidazole-based inhibitors targeting cancer pathways*. Med. Chem. Res. 2021, 30, 541–550.
4. Holla, B. S. et al. *Synthesis and antimicrobial activity of some benzimidazole derivatives*. Eur. J. Med. Chem. 2005, 40, 1173–1178.
5. Vora, J. et al. *In silico screening of benzimidazole derivatives for anticancer activity*. J. Mol. Graph. Model. 2022, 115, 108215.
6. Pratibha, K. et al. *Benzimidazole as potent antiviral scaffold*. Curr. Top. Med. Chem. 2020, 20(3), 208–223.
7. Shingalapur, R. V. et al. *Anti-inflammatory activity of benzimidazole derivatives*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009, 19(9), 2633–2636.
8. Pandey, A. et al. *Antiparasitic activity of benzimidazole hybrids*. Bioorg. Chem. 2021, 107, 104638.
9. Raj, R. et al. *Molecular docking studies of benzimidazole-based kinase inhibitors*. Comput. Biol. Chem. 2020, 89, 107388.
10. Aroua L. M., et al. Benzimidazole (s): synthons, bioactive lead structures, total synthesis, and the profiling of major bioactive categories // RSC advances. (2025). 15(10), 7571-7608.
11. Al-Soud, Y. A. et al. *Synthesis and antimicrobial evaluation of new benzimidazole derivatives*. J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2017, 32(1), 728-737.
12. Lagunin, A. A. et al. *PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances*. Bioinformatics 2000, 16(8), 747–748.
13. Molinspiration Cheminformatics. [<https://www.molinspiration.com>]
14. Trott, O., Olson, A. J. *AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking*. J. Comput. Chem. 2010, 31(2), 455–461.
15. Santos-Martins, D. et al. *DockThor-VS: a web server for virtual screening*. J. Chem. Inf. Model. 2020, 60(11), 5608–5612