

WITAMINY Z GRUPY B – OPIS WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH ORAZ BIOAKTYWNOŚCI Z WYKORZYSTANIEM PRZYKŁADOWYCH NARZĘDZI CHEMINFORMATYCZNYCH

B VITAMINS – DESCRIPTION OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND BIOACTIVITY BY EXEMPLARY CHEMINFORMATICS TOOLS

Sylvia Banach, Aneta Jezierska*

*Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii,
ul. F. Joliot–Curie 14, 50–383 Wrocław
e-mail: aneta.jezierska@uwr.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Witaminy z grupy B

1.1. Witamina B1 – Tiamina

1.2. Witamina B2 – Ryboflawina

1.3. Witamina B3 – Niacyna, nikotynamid, rybozyd nikotynamidu

1.4. Witamina B5 – Kwas pantotenowy

1.5. Witamina B6 – Pirydoksyna, pirydoksal, pirydoksamina

1.6. Witamina B7 – Biotyna

1.7. Witamina B9 – Kwas foliowy

2. Metody cheminformatyczne

2.1. Molinspiration – opis metod

2.1.1. Kalkulator właściwości fizykochemicznych

2.1.2. Bioaktywność

3. Uzyskane wyniki oraz dyskusja

3.1. Deskryptory fizykochemiczne

3.2. Bioaktywność

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr Sylwia Banach w latach 2017–2022 studiowała na kierunku *Chemia Medyczna* (studia I oraz II stopnia) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Tematem pracy magisterskiej były badania witamin z grupy B przy pomocy metod chemii obliczeniowej, takich jak np. Teoria Funkcjonału Gęstości (DFT), a także narzędzi cheminformatycznych. Interesuje się metodami chemii obliczeniowej stosowanymi zwłaszcza w projektowaniu związków aktywnych biologicznie oraz w opisie ich właściwości fizykochemicznych (*drug design*).



<https://orcid.org/0000-0002-6003-9375>

Dr hab. Aneta Jezierska, prof. UWr jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, gdzie jest obecnie zatrudniona na stanowisku profesora uczelni. Obecnie, jej zainteresowania naukowe skupiają się m.in. wokół badań zarówno nad małymi układami, jak i makroukładami o znaczeniu biologicznym. W swoich badaniach naukowych stosuje zaawansowane metody nowoczesnej chemii obliczeniowej, zwłaszcza metody dynamiki molekularnej *ab initio*.



<https://orcid.org/0000-0001-6601-9124>

ABSTRACT

This paper presents a literature review of the biochemistry of vitamins B and the results of *in silico* physicochemical properties and bioactivity studies. The description was performed by cheminformatics tools closely related to the field of Medicinal Chemistry. It allows us to predict a great number of properties e.g. logP, TPSA, molecular volume or bioactivity associated with the chosen proteins (like kinases, proteases etc.). These investigations were carried out with the use of cheminformatics web tool *Molinspiration*. Its great advantages are mainly its wide availability, ease of application and quick analysis of small compounds. Thanks to the comparison with literature data of well-known B vitamins, it is possible to confirm that current cheminformatic web tools provide high reliability of the results and can support Drug Design methods.

Keywords: B vitamins, cheminformatics, medicinal chemistry, drug design, Molinspiration, bioactivity

Słowa kluczowe: witaminy B, cheminformatyka, chemia medyczna, projektowanie leków, Molinspiration, bioaktywność

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- DPT – difosforan tiaminy
FMN – mononukleotyd flawinowy
FAD – dinukleotyd flawinoadeninowy
NA – kwas nikotynowy, niacyna
NAM – amid kwasu nikotynowego, nikotynamid
NR – rybozyd nikotynamidu
NAD⁺ – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy
NADP⁺ – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
CoA – koenzym A
ACP – białkowy nośnik grup acylowych
AMP – adenozyno-5'-fosforan
ATP – adenozyno-5'-trifosforan
PN/PNP – pirydoksyna / fosforan 5'-pirydoksyny
PM/PMP – pirydoksamina / fosforan 5'-pirydoksaminy
PL/PLP – pirydoksal / fosforan 5'-pirydoksalu
PABA – kwas paraaminobenzoesowy
DHF – dihydrofolian
THF – tetrahydrofolian
PSA – pole powierzchni polarnej
TPSA – topologiczne pole powierzchni polarnej
MLP – mapa rozkładu lipofilności
nON – liczba akceptorów wiązania wodorowego
nOHNH – liczba donorów wiązania wodorowego
nviolations – liczba naruszonych Reguł Lipińskiego
Ro5 – Reguły Lipińskiego, Zasada Pięciu
nrotb – liczba wiązań z możliwością rotacji
GPCR – receptory sprzężone z białkami G

WPROWADZENIE

Prawidłowe funkcjonowanie organizmu jest ściśle powiązane z szeroką gamą precyzyjnie skoordynowanych ze sobą reakcji biochemicznych, których sprawny przebieg możliwy jest dzięki enzymom. Są to białka katalityczne pozwalające na znaczne obniżenie energii aktywacji reakcji pomiędzy selektywnie wybranymi substratami (w danej temperaturze, pH, ciśnieniu). Dzięki temu reakcje biochemiczne charakteryzuje wysoka specyficzność, a także wydajność [1].

Znaczna część enzymów w swojej strukturze zawiera dodatkowe elementy mające za zadanie jeszcze większe usprawnienie przebiegu procesów chemicznych. Są to tzw. kofaktory, czyli elementy struktury białek enzymatycznych stanowiące małe cząsteczki organiczne lub nieorganiczne [2]. Wśród nich możemy wyróżnić grupy prostetyczne, czyli fragmenty połączone poprzez wiązanie kowalencyjne z białkiem (np. biotyna), jak również koenzymy oddziałujące z białkiem poprzez liczne wiązania niekowalencyjne (np. NAD^+) [3]. Enzym nieposiadający koenzymu określany jest mianem apo-enzymu (czyli niemogącego jeszcze pełnić swojej funkcji docelowej). Po dołączeniu odpowiedniego koenzymu jest on przekształcany w aktywny biologicznie holo-enzym [4].

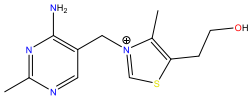
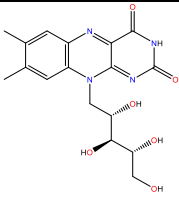
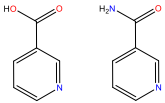
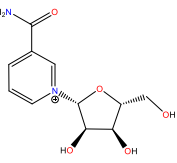
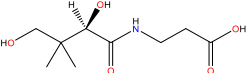
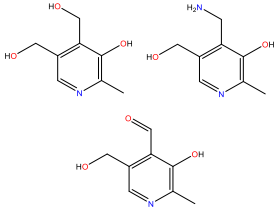
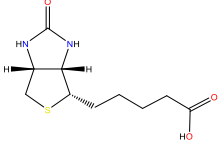
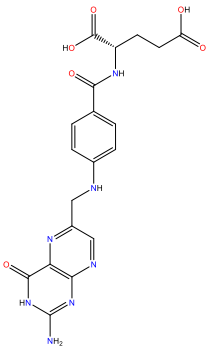
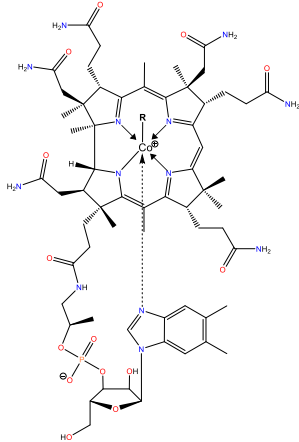
Wiele z koenzymów w organizmie ludzkim ma swoje źródło m.in. w pożywieniu, czego przykładem są witaminy [3]. Jest to grupa związków organicznych, których stosunkowo niewielka ilość jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania organizmu [5].

1. WITAMINY Z GRUPY B

Wśród witamin z grupy B można wyróżnić 8 głównych grup związków, które różnią się od siebie strukturalnie i określane są mianem: B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 oraz B12. Związki te w literaturze są powszechnie uznane jako witaminy, jednakże istnieją również inne, dla których kwestia ta wciąż jest sporna, jak np. witamina B8 (inozytol) [6], czy B13 (kwas orotowy) [7], które mogą zostać wytworzone w organizmie ludzkim na drodze syntezy endogennej. Związki te stanowią prekursorzy, odpowiednio, cząsteczek sygnałowych (estry fosforylowanych pochodnych inozytolu i lipidów [8]) oraz pirymidynowych zasad azotowych [9].

Cechami, które łączą witaminy B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 oraz B12 są ich rozpuszczalność w wodzie, obecność atomu/atomów azotu w strukturze oraz funkcja pełniona w organizmie. Stanowią one prekursorzy różnorodnych **koenzymów**, przez co szczegółowa lista pełnionych przez nie zadań jest niezmiernie długa [5, 10, 11]. Wzory strukturalne witamin z grupy B przedstawiono poniżej (Tabela 1).

Tabela 1. Nazewnictwo oraz wzory strukturalne witamin z grupy B
 Table 1. B vitamins nomenclature and structural formulas

Nazwa	Wzór strukturalny	Nazwa	Wzór strukturalny
B1: Tiamina [12]		B2: Ryboflawina [12]	
B3: Kwas nikotynowy, amid kwasu nikotynowego, rybozyd nikotynamidu [13]	 	B5: Kwas pantotenowy [14]	
B6: Pirydoksyna, pirydoksal, pirydoksamina [15]		B7: Biotyna [12]	
B9: Kwas foliowy [12]		B12: Kobalamina [12]	

1.1. WITAMINA B1 – TIAMINA

Tiamina została zidentyfikowana podczas badań nad chorobą beri-beri, która powszechnie występowała na terenach dzisiejszej Indonezji pod koniec XIX w. Lekarz Christian Eijkman, w oparciu o wyniki testów przeprowadzonych na mode-

lach zwierzęcych, przedstawił hipotezę, że źródłem choroby jest spożywanie mechanicznie oczyszczonego ryżu [16]. Bezpośredniego odkrycia tzw. czynnika anti-beri-beri dokonał biochemik Kazimierz Funk [17]. Zainspirowany badaniami Eijkmana wyizolował czynnik z otrąb ryżowych, a następnie częściowo scharakteryzował jego strukturę chemiczną, identyfikując m.in. obecność grupy aminowej. Na tej podstawie Funk przedstawił ogólny termin dla związków znajdujących się w pożywieniu, a których obecność w diecie jest niezbędna do utrzymania zdrowia: witaminy (od połączenia słów *vital* oraz *amina*). Obecnie znanych jest o wiele więcej struktur chemicznych witamin. Nie w każdej występuje grupa aminowa, jednakże historycznie termin witaminy jest stosowany do dziś [17]. Pełny wzór strukturalny witaminy B1 został po raz pierwszy przedstawiony przez Roberta Williamsa, który na podstawie obecności atomu siarki oraz grupy aminowej nadał jej nazwę tiamina [17].

Tiamina w organizmie ludzkim jest przekształcana w estry fosforanowe oraz adenylozotrifosfotiaminę. Najbardziej rozpowszechniony jest difosforan tiaminy (DPT), który jako koenzym występuje przykładowo w wieloenzymatycznych kompleksach z grupy dehydrogenaz, takich jak dehydrogenaza pirogronianowa, α -ketoglutaranowa, czy α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach [17]. DPT bierze udział w katalizowaniu reakcji utlenienia α -ketokwasu z uwolnieniem CO₂. Reakcja ta ma znaczenie w szeregu procesów biochemicznych, jak np.: dekarboksylacja pirogronianu i synteza sukcyńlo-CoA w cyklu Krebsa czy też katabolizm waliny, leucyny oraz izoleucyny [17].

DPT występuje także w transketolazie szlaku pentozofosforanowego [18]. Skutkiem tego, poziom witaminy B1 ma wpływ na przebieg metabolizmu węglowodanów, a więc pośrednio także na syntezę licznych związków istotnych biologicznie jak np. kwasy tłuszczowe, kwasy nukleinowe, czy prekursorzy aminokwasów aromatycznych do syntezy neuroprzekazników [18]. Rolą transketolazy jest katalizowanie reakcji przeniesienia fragmentów dwuwęglowych z ksylulozo-5-fosforanu na akceptory: rybozo-5-fosforan lub erytrozo-5-fosforan, w wyniku czego powstają aldehyd 3-fosfoglicerynowy oraz odpowiednio sedoheptulozo-7-fosforan lub fruktozo-6-fosforan. Dzięki temu możliwe jest dostarczenie pentoz do syntezy nukleotydów czy metabolitów o dużej energii do szlaku glikolizy [19].

1.2. WITAMINA B2 – RYBOFLAWINA

Pierwsze doniesienia na temat witaminy B2 pochodzą z 1879 r., kiedy Alexander Blyth wyizolował z serwatki mleka krowiego związek wykazujący żółtozieloną fluorescencję, któremu nadał nazwę laktochrom [20].

Początkowo badania na temat znaczenia witaminy B2 były ściśle powiązane z pracami nad wyodrębnieniem czynnika przeciwko pelagrze, który w późniejszym czasie został zidentyfikowany jako witamina B3. Prace te jednak zaowocowały również izolacją ryboflawiny przez grupę naukową Kuhna i Gyorgy'iego na Uniwersytecie w Heidelbergu [20]. Ponownie, została ona pozyskana z mleka i potwierdzono, że odpowiada laktokromowi Blytha. Zaobserwowano również, że ulega ona rozpadowi w wyniku kilkugodzinnej ekspozycji na światło słoneczne. Związek ten został zidentyfikowany jako pochodna izoalloksazyny z dołączoną resztą pentozy. Ze względu na fakt, że tym cukrem była ryboza, zaproponowano by związek ten otrzymał nazwę ryboflawina [20].

Obecnie wiadomo, że witamina B2 jest kluczowym składnikiem w diecie, ze względu na to, że stanowi prekursor kofaktorów takich jak dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD) oraz mononukleotyd flawiny (FMN) [21]. Białka enzymatyczne, dla których obecność FMN lub FAD jest niezbędna do pełnienia swoich funkcji, określane są mianem flawoprotein. Kofaktory te pośredniczą w licznych reakcjach enzymatycznych, gdzie większość z nich oparta jest na jedno- i dwuelektronowych reakcjach redoks [22, 23]. Przykładowo, FAD jako akceptor protonów przechodzi w formę zredukowaną $FADH_2$, która uczestniczy w łańcuchu transportu elektronów w mitochondrium (proces oddychania wewnątrzkomórkowego) [10]. Z kolei przykładową funkcją FMN jest udział w regulacji poziomu hormonów tarczycy [24]. Kofaktor ten występuje w dejodynazie jodotyrozyny, która odpowiedzialna jest za utrzymanie homeostazy jodu w organizmie, poprzez katalizowanie redukcyjnego odjodowania pochodnych jodotyrozyny. Stanowią one produkty uboczne podczas biosyntezy trijodotyroniny oraz tyroksyny (odpowiednio hormon T3 oraz T4) [24].

1.3. WITAMINA B3 – NIACYNA, NIKOTYNAMID, RYBOZYD NIKOTYNAMIDU

Mianem witaminy B3 określa się kwas nikotynowy (NA), amid kwasu nikotynowego, inaczej nikotynamid (NAM) oraz rybozyd nikotynamidu (NR) [25]. W organizmie ludzkim ulegają one modyfikacjom, w wyniku których powstają dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy NAD^+ oraz jego fosforan $NADP^+$ [18]. Są to kofaktory w ponad 500 enzymach powiązanych z szeregiem procesów biochemicznych, np. takich jak wytwarzanie energii, naprawa DNA czy ekspresja genów. Ogromne znaczenie witaminy B3 podkreśla fakt, że prawie wszystkie komórki są w stanie przeprowadzić reakcje prowadzące do przekształcenia niacyny w jej aktywną biologicznie formę [26] (np. szlak Preissa–Handlera [25]).

Historia witaminy B3 związana jest z badaniami nad pelagrą na początku XX wieku, które prowadzone były przez Josepha Goldbergera. Skorelował on rozwój choroby z mało zróżnicowaną dietą i dowiódł, że włączenie do niej odpowiednich

pokarmów, jak np. suszone drożdże, skutkuje ustąpieniem objawów [13]. W 1937 r. Conrad Elvehjem udowodnił, że związkami odpowiedzialnymi za poprawę stanu pacjentów są kwas nikotynowy oraz jego amid, co skutkowało zakończeniem epidemii pelagry w 1938 r., w wyniku wzbogacenia chleba w witaminę B3 [13]. Ze względu na ścisły związek niedoboru witaminy B3 z rozwojem pelagry jest ona określana również mianem witaminy PP (z ang. *Prevents Pelagra*) [26].

Równolegle prowadzone były także badania nad charakterystyką NAD⁺, w oparciu o tzw. koferment z ekstraktu drożdżowego, który ułatwiał przebieg fermentacji alkoholowej [27]. W 1923 r. stwierdzono, że w jego skład wchodzi fosforan cukru nukleozydowego i to on jest substancją niezbędną podczas metabolizmu węglowodanów w trakcie fermentacji. W 1933 r. NAD⁺ został wyizolowany przez Otto Warburga, który udowodnił, że jego rolą jest przenoszenie wodoru [13]. Szersze spektrum funkcji NAD⁺ wyjaśnił biochemik Hans Adolf Krebs, poprzez opis jego roli w licznych szlakach metabolicznych jak np. glikoliza, cykl kwasów trikarboksylowych (cykl Krebsa) oraz fosforylacja oksydacyjna [13].

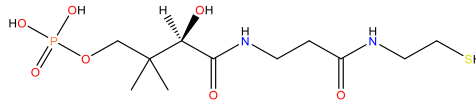
Niacyna jest stosowana jako lek regulujący poziom lipidów we krwi, co zmniejsza ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, bądź też spowalnia rozwój chorób układu krążenia [28]. Jednak działanie NA powiązane jest z efektami ubocznymi, jak uderzenia gorąca czy zaczerwienie skóry [29]. Aktualnie prowadzone są badania nad wykorzystaniem rybozydu nikotynamidu w terapii dyslipidemii oraz miażdżycy [25]. Chlorek NR posiada już status GRAS (z ang. *Generally Recognised As Safe* – ogólnie uważany za bezpieczny [30]), a uzyskane wyniki wskazują, że spożywanie jego preparatów cechuje wydajniejszy wzrost poziomu NAD⁺ w komórkach w porównaniu do innych prekursorów [25].

1.4. WITAMINA B5 – KWAS PANTOTENOWY

Nazwa kwasu pantotenowego wywodzi się od greckiego słowa *pantotheren*, czyli wszechobecny, ze względu na szerokie rozpowszechnienie związku w przyrodzie (wyłącznie w postaci izomeru D) [26]. W 1936 r. Thomas Jukes na podstawie modelu zwierzęcego udowodnił, że niedobór kwasu pantotenowego skutkuje zapaleniem skóry oraz zaburzeniami wzrostu [14]. W 1939 r. Williams wraz ze współpracownikami przeprowadził pierwszą izolację kwasu pantotenowego z wątroby oraz opisał jego budowę chemiczną, a już w 1940 r. Karl Folkers we współpracy z firmą Merc przedstawił procedurę jego syntezy [31].

Aktywnymi formami witaminy B5 w organizmie są koenzym A (CoA) oraz acylowy składnik białka nośnikowego (ACP). Odkrycie pierwszego z nich zostało dokonane w 1946 r. przez Fritza Lipmanna i Nathana Kaplana, z kolei rolę kwasu pantotenowego w kompleksie syntazy kwasów tłuszczowych (jako ACP) opisano w latach 60-tych XX wieku [14, 31].

Witamina B5 w pożywieniu występuje głównie w formach aktywnych biologicznie (tzn. CoA, ACP), które w ludzkim przewodzie pokarmowym ulegają hydrolizie [32]. Kwas pantotenowy jako prekursor CoA i ACP ulega w komórkach docelowych licznym modyfikacjom strukturalnym: fosforylacji, kondensacji z cysteiną i dekarboksylacji. Do powstałej 4'-fosfopanteteiny (Rysunek 1) dołączane jest ugrupowanie AMP (pochodzące z ATP), a po fosforylacji grupy 3'-OH ostatecznie powstaje CoA [32].



Rysunek 1. Wzór strukturalny 4'-fosfopanteteiny. Opracowanie własne na podstawie [14]

Figure 1. 4'-phosphopantetheine structural formula. Own preparation based on [14]

Koenzym A (CoA) uczestniczy w reakcjach związanych z katabolizmem oksydacyjnym, np. acetylo-CoA jest produktem pośrednim w cyklu kwasu cytrynowego [26]. ACP stanowi łańcuch polipeptydowy, do którego dołączona jest 4'-fosfopanteteina i jest związany kowalencyjnie z kompleksem syntazy kwasów tłuszczowych (w domenie, która również określana jest mianem ACP). Enzym apo-ACP jest przekształcany w holoenzym w wyniku modyfikacji potranslacyjnej, podczas której 4'-fosfopanteteina pochodząca z CoA łączy się z docelowym enzymem poprzez grupę hydroksylową reszty seryny. Grupa prostetyczna zawiera grupę -SH, dzięki czemu może tworzyć wiązania tioestrowe z łańcuchami acylowymi pośrednicząc w syntezie złożonych kwasów tłuszczowych. Obecność fragmentu 4'-fosfopanteteiny jest kluczowa dla pełnionej roli, ponieważ stanowi długie i elastyczne ramię przenoszące substraty w obrębie enzymu [14, 33].

Kwas pantotenowy i jego pochodne są badane pod kątem licznych potencjalnych zastosowań terapeutycznych [14]. Przypuszcza się, że pantetyna (dimer panteteiny) może mieć pozytywny wpływ na poziom cholesterolu we krwi, a więc zmniejszyć ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [34]. Dodatkowo, wykazano, że suplementacja witaminy B5 u osób z jej niedoborem, skutkuje złagodzeniem objawów u pacjentów cierpiących na reumatoidalne zapalenie stawów [14].

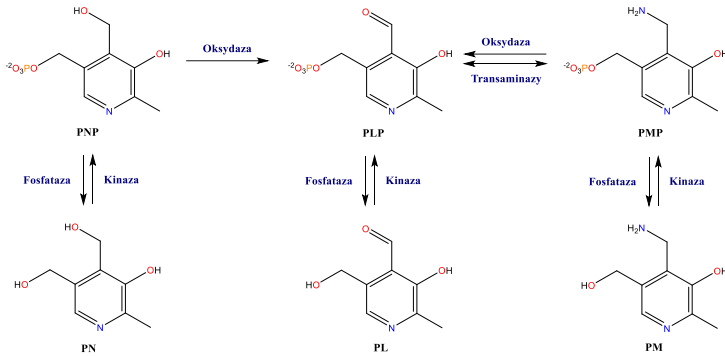
1.5. WITAMINA B6 – PIRYDOKSYNA, PIRYDOKSAL, PIRYDOKSAMINA

Odkrycie witaminy B6 ma początek w latach 30-tych XX wieku. W tym czasie prowadzono badania nad akrodynią, która charakteryzuje się m.in. chorobowymi zmianami skórnymi, jak łuszczenie się, opuchlizna oraz zaczerwienie. Rudolf Peters wykorzystując model zwierzęcy udowodnił, że objawy tej choroby można zniwelować poprzez wzbogacenie diety o ekstrakt drożdżowy [35]. Z kolei po zakoń-

czeniu II Wojny Światowej, Gino Frontali ten sam preparat zaczął podawać niemowlętom cierpiącym na chorobowe zmiany skórne wywołane okresem głodu. Ten sposób leczenia odniósł pozytywny skutek i udowodnił korzystny wpływ składnika ekstraktu [35]. Związkiem tym była pirydoksyna (PN) – pochodna pirydyny, której izolacji, krystalizacji oraz charakterystyki dokonała grupa naukowa, do której należeli m.in. Paul György, Karl Folkers, Richard Kuhn [35]. Kolejnym ważnym etapem w historii poznawania właściwości witaminy B6 były spostrzeżenia Esmonda Snella. Na podstawie testu mikrobiologicznego zaobserwował, że pirydoksynę w obecności związków aminokwasowych charakteryzuje większa aktywność biologiczna. Jest to wynik przekształcenia pirydoksyny w pirydoksaminy (PM) oraz po utlenieniu w pirydoksal (PL) [35].

Każda z tych pochodnych w organizmie ludzkim jest przekształcana do najbardziej aktywnej biologicznie formy witaminy B6, tzn. fosforanu 5'-pirydoksalu (PLP) [15]. Proces ten zachodzi w ramach tzw. szlaku ratunkowego (z ang. *salvage pathway*), gdzie kinazy zależne od ATP katalizują przyłączenie grupy fosforanowej do grupy –OH podstawnika hydroksymetylowego. Z kolei oksydaza katalizuje utlenienie form PNP i PMP do PLP (Rysunek 2) [15, 36].

PLP w roli kofaktora występuje w około 140 enzymach, przy czym liczba ta obejmuje pięć z sześciu klas enzymów [36]. W wyniku tego witamina B6 ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego przebiegu wielu procesów biochemicznych jak np. biosynteza aminokwasów, metabolizm homocysteiny, katabolizm tryptofanu [15, 37]. Z drugiej strony budowa chemiczna tego związku powoduje, że jego zbyt wysokie stężenie w organizmie w wolnej formie może powodować niepożądane, uboczne reakcje chemiczne. Przykładowym procesem jest tworzenie aldimin w wyniku reakcji grupy aldehydowej z grupami aminowymi reszt aminokwasowych białek. W związku z tym nadmierna suplementacja witaminy B6 może mieć negatywne skutki, czego objawami są m.in. uczucie drętwienia rąk i stóp [36]. Dlatego też pula wolnej formy PLP jest utrzymywana w komórce na bardzo niskim poziomie. Aby zapobiec ekspozycji białek na działanie wolnego PLP podczas jego transportu do docelowych apo-enzymów wykorzystywany jest najprawdopodobniej tzw. mechanizm kanałów (z ang. *channeling*) [36].



Rysunek 2. Przekształcenia witaminy B6 w organizmie w ramach szlaku ratunkowego. Opracowanie własne na podstawie [15, 36]

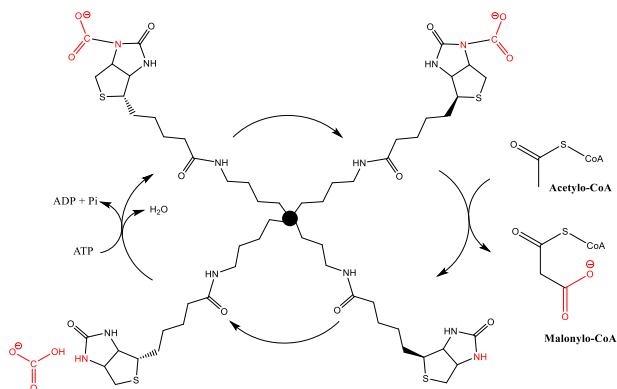
Figure 2. Vitamin B6 transformations in the organism on the salvage pathway. Own preparation based on [15, 36]

1.6. WITAMINA B7 – BIOTYNA

W 1901 r. Eugene Wilders opisał mieszaninę związków organicznych o nazwie *Bios*, niezbędną do prawidłowego rozwoju drożdży [31, 38]. Następnie wyizolowano z żółtka jaj tzw. koenzym R niezbędny dla wzrostu bakterii [38]. W 1936 r. Fritz Kögl i Benno Tönnis ponownie wyizolowali z żółtek jaj ten sam związek, jednak nadali mu nazwę biotylna, ponieważ podejrzewali, że stanowi kluczową substancję mieszaniny *Bios* Wildersa [31]. Rok później Paul György opisał witaminę H (z niem. *Haut* – skóra), której podanie zwierzętom spożywającym surowe białka jaja kurzego, poprawiało w znacznym stopniu ich stan zdrowia. Zwierzęta te cierpiały m.in. z powodu zapalenia skóry, łysienia, nieprawidłowej postawy ciała, a regularny dodatek surowych jaj w diecie ostatecznie skutkowałam śmiercią w ciągu kilku tygodni [31]. Rozwój tej choroby został wytłumaczony w 1940 r. przez Esmonda Snella, który opisał białko występujące w jajach kurzych charakteryzujące niezwykle wysokie powinowactwo do biotyny: awidynę [31]. Do dziś jest to jedno z najsilniejszych znanych oddziaływań białko–ligand. Dodatek surowego białka jaj powoduje silny niedobór biotyny, ze względu na hamowanie jej wchłaniania w przewodzie pokarmowym [39]. Dokładne objawy niedoboru witaminy B7 u ludzi zostały scharakteryzowane w 1942 r. i obejmowały one m.in. zapalenie skóry, senność, hipercholesterolemię [31]. Również w tym samym roku przedstawiony został wzór strukturalny biotyny, a także potwierdzono, że biotylna, witamina H oraz koenzym R to ten sam związek [31].

Struktura chemiczna biotyny jest ściśle powiązana z pełnią przez nią funkcją. W enzymach biotylno–zależnych stanowi grupę prostetyczną, której długi elastyczny łańcuch boczny (kwas walerianowy połączony wiązaniem amidowym z grupą aminową łańcucha bocznego reszty lizyny enzymu) przemieszcza się w obrębie

miejsc aktywnych enzymu (Rysunek 3) [40]. Enzymy wykorzystujące biotynę należą m.in. do grupy karboksylaz, których rolą jest przenoszenie ugrupowania CO_2 w reakcji zależnej od ATP [39, 41]. Przykładowo, w wyniku tego z acetylo-CoA powstaje malonylo-CoA (karboksylaza acetylo-CoA). Innymi enzymami z tej grupy są karboksylaza: pirogronianowa, propionilo-CoA, metylokrotonylo-CoA [42]. Biorą one udział w reakcjach powiązanych m.in. z glukoneogenezą, syntezą kwasów tłuszczowych czy katabolizmem aminokwasów [41, 42].



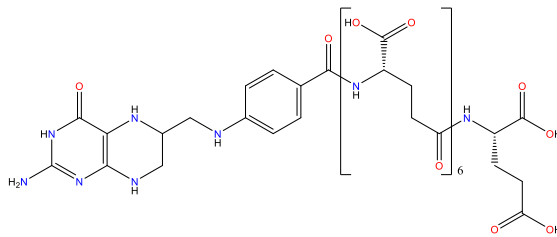
Rysunek 3. Schematyczne przedstawienie działania grupy prostetycznej biotyny w karboksylazach na przykładzie karboksylazy acetylo-CoA. Opracowanie własne na podstawie [41]

Figure 3. Schematic representation of biotin prosthetic group action in carboxylases on the acetyl-CoA carboxylase example. Own preparation based on [41]

Homeostaza biotyny jest utrzymywana w ramach tzw. cyklu biotynowego [39]. Biotyna w pożywieniu występuje głównie w formie biotynylowanych białek bądź biocytyny (N-biotynylo-L-lizyna) [42]. Związki te najpierw ulegają proteolizie katalizowanej przez enzymy jelitowe: proteazy i biotynidazę (rozrywającej wiązanie amidowe łączące biotynę z resztą lizyny) [39, 42]. Dołączenie biotyny do miejsc aktywnych docelowych apoenzymów jest możliwe za pośrednictwem syntetazy holokarboksylazy [41, 42]. Reszta lizyny w białku, do której dołączana jest biotyna, położona jest w wysoce konserwatywnej sekwencji aminokwasów MLM charakterystycznej dla wszystkich karboksylaz [42, 44]. Powstałe holokarboksylazy po wypełnieniu swoich funkcji są degradowane w lizosomach, a uwalniana biocytyna podlega recyklingowi, tzn. ponownie dochodzi do rozerwania wiązania amidowego z lizyną i wolna biotyna jest zwracana w ramach cyklu biotynowego [41, 42].

1.7. WITAMINA B9 – KWAS FOLIOWY

Kwas foliowy to syntetyczna forma witaminy B9, która rzadko występuje w przyrodzie [45]. Cząsteczka zbudowana jest z układu pterydynowego, do którego poprzez mostek metylenowy dołączony jest kwas paraaminobenzoesowy (PABA) tworzący wiązanie amidowe z grupą aminową kwasu glutaminowego [46]. Naturalnie rozpowszechnione formy witaminy B9 różnią się kilkoma cechami strukturalnymi. Do kwasu PABA dołączony jest łańcuch heptaglutaminowy, a pierścień pterydynowy jest zredukowany do formy di- lub tetrahydrofolianu (DHF, THF) (Rysunek 4). Dodatkowo, przy atomach azotu N5, N10 lub obu dołączone są dodatkowe atomy węgla w postaci grup takich jak metylowa, metylenowa, metanyleidowa czy formylowa [47]. Witamina B9 naturalnie występująca w pożywieniu (tzn. posiadająca łańcuch poliglutaminowy) przed wchłonięciem musi ulec hydrolizie do monoglutaminianu, stąd syntetyczna forma, czyli kwas foliowy jest łatwo dostępna biologicznie [48].



Rysunek 4. Wzór strukturalny koniugatu heptaglutaminowego na przykładzie tetrahydrofolianu. Opracowanie własne na podstawie [45]

Figure 4. Structural formula of a heptaglutamine conjugate using tetrahydrofolate as an example. Own preparation based on [45]

Niedobór witaminy B9 skutkuje rozwojem anemii megaloblastycznej, co pośrednio po raz pierwszy zaobserwowała Lucy Wills w latach 30-tych XX wieku podczas badań nad rozwojem tej choroby u kobiet w ciąży. Jej występowanie powiązała z ubogą dietą, a następnie odkryła, że podanie ekstraktu drożdżowego zatrzymuje rozwój anemii [49]. Podczas badań prowadzonych na przestrzeni następných lat napotkano wiele trudności powiązanych z brakiem zbieżnych wyników na temat różnych ekstraktów drożdżowych i preparatów z wątroby zwierzęcej. Konflikt ten wynikał z nierozróżnienia anemii megaloblastycznej oraz złośliwej. Pierwsza z nich wynika z niedoboru kwasu foliowego, gdzie jego podanie może skutkować trwałym skutkiem leczniczym, z kolei druga z niedoboru witaminy B12, przy czym podanie B9 może tymczasowo osłabić objawy tej choroby, dając mylne wrażenie skutku leczniczego [49].

Kwas foliowy jest prekursorem licznych koenzymów tj.: THF, 5–metylo–THF, 5,10–metyleno–THF, 10–formylo–THF oraz DHF, których enzymy obejmują cykl kwasu foliowego. Foliiany pełnią funkcję akceptorów lub donorów jednostek jednowęglowych i są powiązane z procesami takimi jak synteza pirymidyn i puryn oraz aminokwasów [45–47]. Przykładowym procesem, w który zaangażowana jest pochodna kwasu foliowego jest synteza metioniny z homocysteiny katalizowana przez syntazę metioniny (MS). Donorem grupy metylowej w szlaku metioninowym jest 5–metylo–THF, który po zakończonej reakcji przechodzi w formę THF. Metionina w następnych reakcjach jest przekształcana w S–adenozylometionę (SAM), która jest nośnikiem grupy metylowej dla licznych związków z grupy lipidów, peptydów, neuroprzekaźników, jak również jest odpowiedzialna za metylację cytozyny w DNA, czyli proces regulujący ekspresję genów [45, 48].

2. METODY CHEMINFORMATYCZNE

Cheminformatyka (określana również mianem chemoinformatyki) stanowi interdyscyplinarną naukę, która wykorzystuje metody informatyczne do rozwiązywania problemów chemicznych [50]. W zakres jej działań wchodzi operacje *in silico* na modelach molekularnych cząsteczek chemicznych, prowadzące do odtworzenia ich właściwości fizykochemicznych, czy też projektowanie molekularne (np. synteza cząsteczek o danych właściwościach, jak również sam proces syntezy). Dodatkowo w ramy cheminformatyki można „włożyć” także operacje na danych, jak np. ich przechowywanie, przeszukiwanie, przetwarzanie, analizę oraz wizualizację [50].

Obecnie dostępne są liczne oprogramowania cheminformatyczne, zarówno komercyjne, jak i niekomercyjne. Przykładem drugiego typu z nich jest narzędzie *Molinspiration*, funkcjonujące od 2002 r. w formie ogólnodostępnej witryny internetowej, której początek związany jest z Uniwersytetem Bratysławskim. Narzędzie to umożliwia obliczanie wartości deskryptorów i projektowanie cząsteczek o określonych właściwościach [51].

2.1. MOLINSPIRATION – OPIS METOD

Analiza wybranych układów molekularnych przy pomocy *Molinspiration* rozpoczyna się od wprowadzenia danych wejściowych przy pomocy kodu SMILES (notacja liniowa kodująca informację strukturalną, z ang. *Simplified Molecular Input Line Entry System* [52]), bądź też narysowania cząsteczki. Następnie możliwe jest obliczenie różnych właściwości, które zostały podzielone na trzy główne grupy:

- Właściwości fizykochemiczne (*Calculate Properties*),

- Bioaktywność (*Predict Bioactivity*),
- Struktury 3D (*Galaxy 3D Generator*): MLP (z ang. *Molecular Lipophilicity Potential*) oraz PSA (z ang. *Polar Surface Area*).

2.1.1. Kalkulator właściwości fizykochemicznych

W ramach pierwszej grupy otrzymanych wyników, można uzyskać informacje o kluczowych dla dziedziny projektowania leków deskryptorach molekularnych takich jak: logP, TPSA, liczba atomów ciężkich (tzn. bez atomów wodoru), masa molowa, liczba akceptorów i donorów wiązania wodorowego, analiza struktury pod kątem Reguł Lipińskiego, liczba wiązań, wokół których możliwa jest rotacja oraz objętość molekularna.

LogP

Współczynnik podziału oktanol/woda to logarytm dziesiętny ze stosunku stężenia badanej substancji w oktanolu oraz formy niezjonizowanej w wodzie [53]. Na podstawie tej wartości można określić ogólne powinowactwo cząsteczki do rozpuszczania się w środowisku polarnym i niepolarnym, a więc również jej biodostępność po podaniu doustnym leku, tendencję do akumulacji w organizmie, czy też zdolność do pasywnego przechodzenia przez błonę komórkową. Im wartość logP jest wyższa, tym cząsteczka jest bardziej hydrofobowa. Istnieje wiele różnych wytycznych na temat odpowiedniego zakresu wartości logP dla cząsteczek leku, np. bazując na Regułach Lipińskiego [54] (opisanych dokładniej w dalszej części artykułu w sekcji *violations*) logP powinien być niższy niż 5. Algorytm obliczania tego deskryptora zastosowany w *Molinspiration* (miLogP 2.2) oparty został na około 12 tysięcznym zbiorze treningowym cząsteczek głównie o charakterze leko- podobnym.

TPSA

TPSA [\AA^2], czyli topologiczna powierzchnia polarna (z ang. *Topological Polar Surface Area*) jest metodą wyznaczania molekularnego pola powierzchni polarnej (PSA). PSA stanowi sumę powierzchni atomów tlenu oraz azotu wraz z dołączonymi do nich wodorami. Procedura TPSA oparta jest na sumowaniu fragmentów powierzchni polarnej, które wcześniej poddano tabelaryzacji w oparciu o klasyczne badania PSA dla przykładowych cząsteczek [55].

nON i nOHNH

Parametry te oznaczają odpowiednio liczbę akceptorów i donorów wiązania wodorowego. W przypadku pierwszorzędowych grup aminowych $-NH_2$, liczba donorów uwzględniana jest jako dwa (w innych cheminformatycznych narzędziach internetowych (np. *SwissADME* [56]) $nOHNH = 1$). Z kolei grupa hydroksylowa jest wliczana nie tylko jako donor, ale także jako akceptor wiązania wodorowego.

nviolations

Parametr ten wskazuje, ile Reguł Lipińskiego [54] zostało naruszonych przez badaną strukturę. „Zasada pięciu” definiuje zakresy wartości czterech deskryptorów fizykochemicznych, tak aby były optymalne dla cząsteczek potencjalnych leków. Są to:

- $\log P \leq 5$ (**5** • 1),
- $M \leq 500$ g/mol (**5** • 100),
- $nON \leq 10$ (**5** • 2),
- $nOHNH \leq 5$ (**5** • 1),

których wartości liczbowe stanowią wielokrotność cyfry 5 (co zostało podkreślone w działaniach w nawiasach), skąd wywodzi się określenie Reguł Lipińskiego, również jako „Zasada Pięciu” (z ang. *Rules of five*, Ro5) [54]. Spełnienie tych parametrów nie zawsze oznacza, że właściwości farmakokinetyczne badanej cząsteczki będą odpowiednie oraz odwrotnie: ich przekroczenie nie zawsze związane jest z brakiem możliwości wykorzystania cząsteczki jako leku. Jednakże stosowanie tego typu uniwersalnych reguł (również takich jak reguły Ghose’a [57], Vebera [58], Egana [59] czy Muegge’a [60]) stanowi element badań przesiewowych prowadzonych na znacznych zbiorach cząsteczek w celu wyodrębnienia najlepszych kandydatów na lek.

nrotb

Liczba wiązań z możliwością rotacji jest parametrem opisującym elastyczność konformacji cząsteczki. Wiązanie to jest definiowane jako wiązanie pojedyncze, niewchodzące w skład pierścienia, które związane jest z nieterminalnym atomem ciężkim. Algorytm obliczania *nrotb* nie uwzględnia wiązania amidowego C–N ze względu na jego częściowy charakter wiązania podwójnego, a więc również wysoką energetyczną barierę rotacji. Zbyt wysoka liczba wiązań z możliwością rotacji może utrudniać działanie potencjalnego leku, ze względu na szerokie spektrum możliwych konformacji, stąd przybranie odpowiedniej (dopasowanej do docelowego miejsca wiązania cząsteczki) może być utrudnione.

volume

Parametr ten określa objętość molekularną cząsteczki [\AA^3]. Wynik generowany jest w oparciu o optymalizację geometrii cząsteczek znanych już leków bądź podobnych do leków, w zestawie treningowym przy pomocy półempirycznej metody AM1 [61]. Na podstawie ich fragmentów generowane są objętości fragmentaryczne, których suma jest następnie dopasowana do całościowych objętości molekuł.

2.1.2. Bioaktywność

Molinspiration umożliwia obliczenie potencjalnej bioaktywności badanej cząsteczki względem wybranych białek. Aktywność jest badana pod kątem: inhibicji kinaz oraz proteaz, aktywacji kanałów jonowych oraz oceny cząsteczki jako potencjalnego liganda dla receptorów jądrowych oraz receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR). Określenie potencjalnej bioaktywności jest oparte na wirtualnych badaniach przesiewowych baz danych. Cząsteczka jest analizowana pod kątem podobieństwa do znanych farmakoforów bazując na cechach takich jak hydrofobowość, objętość molekularna, masa cząsteczkowa, elastyczność struktury czy możliwość tworzenia wiązań wodorowych. Procedura oparta jest na dwóch głównych krokach:

1. Struktury związków aktywnych oraz nieaktywnych względem danego białka ulegają fragmentaryzacji. Do uzyskanych podstruktur przypisywany jest współczynnik częstości ich występowania w danej grupie. Dane te, po odpowiednich operacjach statystycznych, tworzą jeden zbiór fragmentów z przypisaną wartością liczbową, która obrazuje wkład danej podstruktury w aktywność wobec białka.
2. W następnym kroku, fragmentaryzacji ulega badana cząsteczka i analogicznie tworzona jest tabela przypisująca danej podstrukturze współczynnik częstości jej występowania. Zbiór ten jest porównywany z modelem utworzonym w kroku pierwszym. Uzyskane wartości są sumowane, a następnie normalizowane. Otrzymany wynik zawiera się w przybliżeniu w przedziale od $-3,00$ do $3,00$. Gdy wartość jest większa od $0,20$, przewiduje się, że badana cząsteczka wykazuje pożądaną bioaktywność względem danego białka.

Wybór białek, wobec których metoda *Molinspiration* przewiduje bioaktywność, uwarunkowany jest ich kluczowym znaczeniem w dziedzinie poszukiwania nowych leków. Inhibitory kinaz stanowią potencjalne leki przeciwnowotworowe. Środki tego typu cechuje większa selektywność względem komórek nowotworowych w przeciwieństwie do środków ogólnie cytotoksycznych [62]. Inhibicja proteaz stanowi cel w terapii przeciwwirusowej, przykładowo w poszukiwaniach leków na AIDS [63], a także w uzupełnieniu obecnie znanych terapii infekcji wirusowych [64]. Modulatory kanałów jonowych są stosowane w leczeniu licznych chorób, jak np.

nadciśnienie, cukrzyca czy też w terapii przewlekłego bólu. Leki tego typu mogą mieć za zadanie bezpośrednie blokowanie kanałów czy też modulację ich ekspresji [65]. Sygnalizacja za pośrednictwem receptorów jądrowych odbywa się poprzez oddziaływania allosteryczne z małymi ligandami lipofilowymi, co pośrednio prowadzi do aktywacji lub hamowania ekspresji genów. Zaburzenie tego procesu może skutkować rozwojem nowotworów, zaburzeń metabolicznych czy chorób zapalnych, stąd ligandy receptorów jądrowych mogą stanowić bardzo ważną grupę leków [66]. Rolą receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR) jest przekazywanie sygnałów do wnętrza komórek, poprzez wiązanie endogennych ligandów, jak np. hormony, neuroprzekazniki. Białka te powiązane są z licznymi chorobami (np. cukrzycą, chorobą Alzheimera, nowotworami, otyłością), stąd potencjalne leki ukierunkowane na GPCR stanowią obiecujący cel badań [67].

3. UZYSKANE WYNIKI ORAZ DYSKUSJA

W ramach przeprowadzonych badań wykonano analizę witamin z grupy B przy pomocy metod cheminformatycznych. Wykorzystując internetowe narzędzie *Molinspiration* [51] otrzymano wartości deskryptorów kluczowych w dziedzinie projektowania leków, a także opis przewidywanej bioaktywności witamin z grupy B względem wybranych celów molekularnych.

3.1. DESKRYPTORY FIZYKOCHEMICZNE

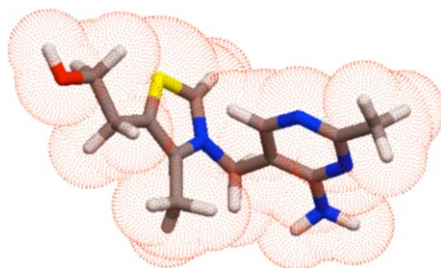
W Tabeli 2 przedstawiono parametry fizykochemiczne opisujące witaminy z grupy B, przy czym w wynikach nie uwzględniono witaminy B12 (kobalaminy).

Uzyskane wartości $\log P$ wskazują na dominujący hydrofilowy charakter związków, co jest zgodne z danymi literaturowymi – witaminy B należą do grupy witamin rozpuszczalnych w wodzie [11]. Informację tę potwierdzają również mapy powierzchni MLP, na których przeważa powierzchnia o barwie czerwonej (Rysunek 5). Przy konstruowaniu map rozkładu lipofilności wykorzystywana jest następująca konwencja: kolory pomarańczowy oraz czerwony określają molekularną powierzchnię hydrofilową, a fioletowy oraz niebieski – hydrofobową.

Tabela 2. Wartości deskryptorów fizykochemicznych witamin z grupy B (dla dominujących form w pH = 7,4) uzyskane przy pomocy *Molinspiration*

Table 2. Physicochemical descriptors of B vitamins (for dominant forms at pH = 7,4) obtained via *Molinspiration*

	miLogP	TPSA [Å ²]	nON	nOHNH	nviolations	nrotb	volume [Å ³]
B1: Tiamina	-3,45	75,92	5	3	0	4	239,76
B2: Ryboflawina	-0,76	161,56	10	5	0	5	321,31
B3: Niacyna	-2,80	53,02	3	0	0	1	104,15
B3: Nikotynamid	-0,48	55,99	3	2	0	1	110,16
B3: Rybozyd nikotynamidu	-5,06	116,90	7	5	0	3	219,70
B5: Kwas pantotenowy	-3,90	109,68	6	3	0	6	201,17
B6: Pirydoksyna	-0,55	73,58	4	3	0	2	154,10
B6: Pirydoksamina	-3,24	80,99	4	5	0	2	158,18
B6: Pirydoksal	-0,10	70,42	4	2	0	2	148,27
B7: Biotyna	-1,96	81,25	5	2	0	5	211,62
B9: Kwas foliowy	-3,21	222,03	13	4	1	9	358,92



Rysunek 5. Przykładowa mapa powierzchni MLP – tiamina. Wizualizacja wykonana za pośrednictwem *Molinspiration* – Galaxy 3D Structure Generator v2022.11.beta [51]

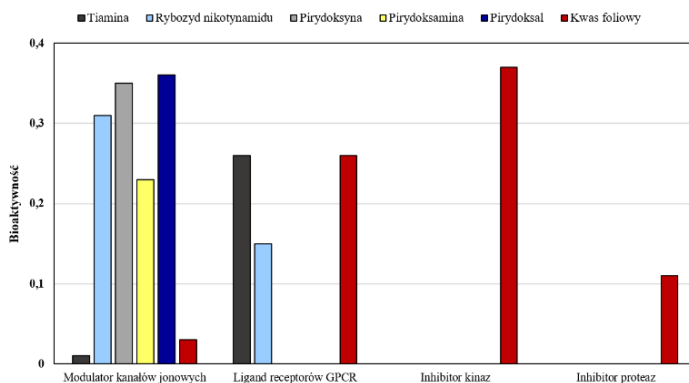
Figure 5. Example of the MLP surface map – thiamine. Visualization made via *Molinspiration* – Galaxy 3D Structure Generator v2022.11. beta [51]

Większość z badanych układów stanowi małowcząsteczkowe związki organiczne, stąd liczba akceptorów i donorów wiązania wodorowego oraz liczba wiązań z możliwością rotacji jest stosunkowo niewielka. Zależność ta, zgodnie z Regułami Lipińskiego, ma korzystny wpływ na farmakokinetykę, a więc na procesy ADME (z ang. *Absorbability*, *Distribution*, *Metabolism*, *Excretion* – wchłanianie, dystrybucja, metabolizm, wydalanie [68]). W przedstawionym zbiorze związków

aktywnych biologicznie wyjątki pod względem rozmiaru układu stanowią ryboflawina oraz kwas foliowy o największych wartościach objętości molekularnej (*volume*). W przypadku drugiego z wymienionych, można zauważyć niezgodność z jedną z reguł Lipińskiego dotyczącą zbyt wysokiej ilości akceptorów wiązań wodorowych. Cecha ta potencjalnie mogłaby stanowić przeszkodę podczas wchłaniania preparatów kwasu foliowego, jednakże problem ten nie występuje ze względu na aktywny sposób absorpcji związku przez błony komórkowe [45].

3.2. BIOAKTYWNOŚĆ

W Tabeli 3 przedstawione zostały wyniki bioaktywności dla witamin z grupy B względem wybranych celi molekularnych, uzyskane przy pomocy narzędzia *Molinspiration*. Na Rysunku 6 przedstawiono wyłącznie dodatnie wartości bioaktywności, czyli większe od 0, świadczące o potencjalnej aktywności danych związków wobec określonych białek. Na podstawie uzyskanych danych można zaobserwować, że najwięcej związków potencjalnie może wykazać bioaktywność wobec kanałów jonowych, jako ich modulatory. Najwyższą predyspozycję wykazują rybozyd nikotynamidu (B3) oraz niefosforylowane formy witaminy B6: pirydoksyna, pirydoksamina oraz pirydoksal, których wspólną cechą strukturalną jest obecność pierścienia pirydyny.



Rysunek 6. Wykres przedstawiający dodatnie wartości bioaktywności względem wybranych białek, uzyskanych dla witamin z grupy B (dla dominujących form w pH = 7,4) uzyskane przy pomocy *Molinspiration* [51]

Figure 6. Graph showing bioactivity positive values against selected proteins, obtained for B vitamins (for dominant forms at pH = 7.4) obtained via *Molinspiration* [51]

Tabela 3. Wartości bioaktywności witamin z grupy B (dla dominujących form w pH = 7,4) uzyskane przy pomocy *Molinspiration* [51]
 Table 3. Bioactivity values of B vitamins (for dominant forms at pH = 7,4) obtained via *Molinspiration* [51]

	Inhibitor kinaz	Inhibitor proteaz	Modulator kanałów jonowych	Ligand receptorów jądrowych	Ligand receptorów GPCR
B1: Tiamina	-0,37	-0,64	0,01	-1,72	0,26
B2: Ryboflawina	-0,21	-0,40	-0,40	-0,62	-0,11
B3: Niacyna	-2,08	-2,31	-1,33	-2,51	-2,08
B3: Nikotynamid	-1,70	-2,11	-1,51	-2,86	-2,02
B3: Rybozyd nikotynamidu	-0,30	0,00	0,31	-1,38	0,15
B5: Kwas pantotenowy	-0,80	-0,17	-0,52	-0,72	-0,33
B6: Pirydoksyna	-0,72	-0,93	0,35	-0,77	-0,39
B6: Pirydoksamina	-0,89	-0,92	0,23	-0,94	-0,36
B6: Pirydoksal	-0,71	-1,20	0,36	-0,45	-0,51
B7: Biotyna	-0,56	0,06	-0,66	-0,91	-0,29
B9: Kwas foliowy	0,37	0,11	0,03	-0,41	0,26

Wśród analizowanych związków można zauważyć, że najmniejszą selektywność wykazuje kwas foliowy, którego cechuje dodatni wynik dla czterech spośród pięciu badanych grup białek. Zależność ta może wynikać z obecności w organizmie wielu aktywnych pochodnych witaminy B9, które nieznacznie różnią się od siebie strukturalnie (DHF, THF itd.). Równocześnie kwas foliowy jako inhibitor kinaz, charakteryzuje najwyższą wartość bioaktywności, wśród wszystkich otrzymanych wyników (0,37). Związki o tego typu aktywności mogą potencjalnie stanowić leki w nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej [62]. Na podstawie tego wyniku można założyć, że dalsza analiza oraz modyfikacja farmakoforu opartego o strukturę kwasu foliowego pod kątem zwiększenia bioaktywności, może skutkować otrzymaniem obiecującej wyjściowej struktury do szerzej zakrojonych badań w kierunku wybranych kinaz, powiązanych z metabolizmem komórek nowotworowych.

Przedstawiona procedura analizy związków na przykładzie witamin z grupy B, stanowi wstępną charakterystykę pod kątem oceny cząsteczek jako potencjalnych leków. Narzędzie cheminformatyczne *Molinspiration* stanowi przystępne źródło wielu informacji niezbędnych przy tego typu analizie. Uzyskane dane pozwalają na szeroką interpretację, a koszt ich otrzymania jest niewielki. Cechy te są kluczowe

w dziedzinie projektowania leków, gdzie popularną metodą wyodrębniania nowych farmakoforów są szeroko zakrojone badania przesiewowe na ogromnych bazach danych. Obecnie można zaobserwować szybki rozwój ogólnodostępnych narzędzi cheminformatycznych, czego przykładami są również witryny takie jak *SwissADME* [56], *CardioToxCsM* [69] czy *MolGpKa* [70].

PODSUMOWANIE

Projektowanie związków o określonych właściwościach fizykochemicznych i aktywności biologicznej ma kluczowe znaczenie w walce z chorobami nieuleczalnymi, bądź też takimi, gdzie stosowane dotąd terapeutyki przestały być skuteczne (zjawisko lekooporności). Zastosowanie metod *in silico*, a także różnych dostępnych narzędzi internetowych może znacznie przyspieszyć ten proces. Zaprezentowane wyniki badań dla związków z grupy witamin B, pokazały, jak skutecznie można zastosować narzędzie *Molinspiration* w nowoczesnym *drug design*.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Blanco, G. Blanco, *Medical Biochemistry*, Chapter 8 – Enzymes, Academic Press, 2017, p.153–175.
- [2] G.M. Ullmann, *Supramolecular Photosensitive and Electroactive Materials*, Chapter 6 – Charge Transfer Properties of Photosynthetic and Respiratory Proteins, Academic Press, 2001, p.525–584.
- [3] R. Renneberg, V. Berkling, V. Loroch, *Biotechnology for Beginners (Second Edition)*, Chapter 2 – Enzymes: Molecular Supercatalysts for Use at Home and in Industry, Academic Press, 2017, p.33–63.
- [4] G. Litwack, *Human Biochemistry*, Chapter 5 – Enzymes, Academic Press, 2018, p. 95–129.
- [5] J.W. Fuquay, P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, Academic Press, 2011, p.396–402, vol.2.
- [6] N. Siddiqui, V. Singh, M.M. Deshmukh, R. Gurunath, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 18514.
- [7] M. Masoud, A. Ali, A. Elfatah, G. Amer, *Open J. Inorg. Non met. Mater.*, 2021, **11**, 1.
- [8] B. Vanhaesebroek, S. Leever, K. Ahmadi, J. Timms, R. Katso, P.C. Driscoll, R. Woscholski, P.J. Parker and M.D. Waterfield, *Annu. Rev. Biochem.*, 2001, **70**, 535.
- [9] E. Samain, *Comprehensive Glycoscience: 1.23 – Production of Oligosaccharides in Microbes*, Elsevier, 2007, p.923–947.
- [10] A. Gironés-Vilaplana, D. Villaño, J. Marhuenda, D.A. Moreno, C. García-Viguera, *Nutraceutical and Functional Food Components: Chapter 6 – Vitamins*, Academic Press, 2017, p.159–201.
- [11] J. Gawęcki, *Witaminy*, Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań, 2002.
- [12] M. Jaehme, D. Slotboom, *Biochim. Biophys. Acta.*, 2014, **1850(3)**, 565.
- [13] Y. Yang, A.A. Sauve, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.*, 2016, **1864(12)**, 1787.
- [14] J.W. Miller, L.M. Rogers, R.B. Rucker, *Present Knowledge in Nutrition*, Ninth Edition, Chapter 25: Pantothenic Acid, International Life Sciences Institute, 2012.
- [15] M. Parra, S. Stahl, H. Hellmann, *Cells*, 2018, **7(7)**, 84.
- [16] American Chemical Society National Historic Chemical Landmarks, The Vitamin B Complex, www.acs.org/education/whatischemistry/landmarks/vitamin-b-complex.html.

- [17] A. Tylicki, M. Siemieniuk, *Postępy Hig. Med. Dosw.* (Online), 2011, **65**, 447.
- [18] D.O. Kennedy, *Nutrients*, 2016, **8(2)**, 68.
- [19] G.F. Combs, *The Vitamins (Fourth Edition): Chapter 10 – Thiamin*, Academic Press, 2012, p.261–276.
- [20] C.A. Northrop–Clewes, D.I. Thurnham, *Ann. Nutr. Metab.*, 2012, **61(3)**, 224.
- [21] M.M.E. Huijbers, M. Martínez-Júlvez, A.H. Westphal, E. Delgado-Arciniega, M. Medina, W.J.H. van Berkel, *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 43880.
- [22] T. Zhou, H. Li, M. Shang, D. Sun, C. Liu, G. Che, *TrAC –Trends Anal. Chem.*, 2021, **143**, 116412.
- [23] F. Abyar, I. Novak, *Spectrochimic. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2022, **264**, 120268.
- [24] J. Hu, W. Chuenchor, S.E. Rokita, *J. Biol. Chem.*, 2015, **290(1)**, 590.
- [25] M. Mehmel, N. Jovanović, U. Spitz, *Nutrients*, 2020, **12(6)**, 1616.
- [26] P.M. Suter, *Essential and Toxic Trace Elements and Vitamins in Human Health: Chapter 16 – The B–vitamins*, Academic Press, 2020, p.217–239.
- [27] A. Harden, W.J. Young, *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.*, 1906, **78**, 369.
- [28] S.H. Ganji, V.S. Kamanna, M.L. Kashyap, *J. Nutr. Biochem.*, 2003, **14(6)**, 298.
- [29] D.L. Cooper, D.E. Murrell, D.S. Roane, S. Harirforoosh, *Int. J. Pharm.*, 2015, **490(1–2)**, 55.
- [30] U.S. Food and Drug Administration FDA, Generally Recognized as Safe (GRAS), www.fda.gov.
- [31] D.J. Lanska, *Ann. Nutr. Metab.*, 2012, **61(3)**, 246.
- [32] R. Leonardi, Y.M. Zhang, C.O. Rock, S. Jackowski, *Prog. Lipid Res.*, 2005, **44(2–3)**, 125.
- [33] D.I. Chan, H.J. Vogel, *Biochem. J.*, 2010, **430**, 1.
- [34] A. Czumaj, S. Szrok–Jurga, A. Hebanowska, J. Turyn, J. Swierczynski, T. Sledzinski, E. Stelmanska, *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, **21(23)**, 9057.
- [35] I.H. Rosenberg, *Ann. Nutr. Metab.*, 2012, **61(3)**, 236.
- [36] M.L. di Salvo, R. Contestabile, M.K. Safo, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.*, 2011, **1814(11)**, 1597.
- [37] K. Stach, W. Stach, K. Augoff, *Nutrients*, 2021, **13(9)**, 3229.
- [38] D. Laudert, H.P. Hohmann, *Comprehensive Biotechnology (Third Edition), 3.50 – Application of Enzymes and Microbes for the Industrial Production of Vitamins and Vitamin–Like Compounds*, Pergamon, 2011, p.616–634.
- [39] R.B. Rucker, C.L. Keen, F.M. Steinberg, *Vitamins and Food–Derived Biofactors*, *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, Academic Press, 2014, p.356–377.
- [40] H.W. Heldt, B. Piechulla, *Plant Biochemistry (Fourth Edition): 15 – Lipids are membrane constituents and function as carbon stores*, Academic Press, 2011, p.359–398.
- [41] H.M. Said, *Sub–cell. Biochem.*, 2012, **56**, 1.
- [42] A. León–Del–Río, *J. Inherit. Metab. Dis.*, 2019, **42(4)**, 647.
- [43] S. Elrefai, B. Wolf, *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease (Fifth Edition), Chapter 48 – Disorders of Biotin Metabolism*, Academic Press, 2015, p.531–539.
- [44] D.M. Mock, *J. Nutr.*, 2017, **147(8)**, 1487.
- [45] S. Ebara, *Congenit. Anom.*, 2017, **57(5)**, 138.
- [46] J.F. Goossens, X. Thuru, C. Bailly, *Free Radic. Biol. Med.*, 2021, **171**, 1.
- [47] H.I. Rosenberg, *Ann. Nutr. Metab.*, 2012, **61**, 231.
- [48] R. Pieroth, S. Paver, S. Day, C. Lammersfeld, *Curr. Nutr. Rep.*, 2018, **7(3)**, 70.
- [49] A.V. Hoffbrand, D.G. Weir, *Br. J. Haematol.*, 2001, **113(3)**, 579.
- [50] J. Polański, A. Bąk, *Podstawy Chemoinformatyki Leków*, Wydanie II rozszerzone, Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice, 2018.
- [51] Molinspiration Cheminformatics free web services, Slovensky Grob, Slovakia, www.molinspiration.com.
- [52] D. Weininger, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1988, **28(1)**, 31.

- [53] Y. Kwon, Handbook of Essential Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Drug Metabolism for Industrial Scientists, 4.2.4: Partition and Distribution Coefficients, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2001, p.44.
- [54] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Adv. Drug Deliv. Rev., 1997, **23**, 4.
- [55] P. Ertl, B. Rohde, P. Selzer, J. Med. Chem., 2000, **43**, 3714.
- [56] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, Sci. Rep., 2017, **7**, 42717.
- [57] A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski, J. Comb. Chem., 1999, **1**, 55.
- [58] D.F. Veber, S.R. Johnson, H.Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, J. Med. Chem., 2002, **45**, 2615.
- [59] W.J. Egan, K.M. Merz, J.J. Baldwin, J. Med. Chem., 2000, **43**, 3867.
- [60] I. Muegge, S.L. Heald, D. Brittelli, J. Med. Chem., 2001, **44**, 1841.
- [61] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J. Am. Chem. Soc., 1985, **107**, 3902.
- [62] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Protein Kinase Inhibitors, 2022 Dec 29, www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548591/.
- [63] S.E. Lazerwith, D. Siegel, R.M. McFadden, M.R. Mish, W.C. Tse, New Antiretrovirals for HIV and Antivirals for HBV, Comprehensive Medicinal Chemistry III, 2017, Elsevier, p.628–664.
- [64] A.K. Patick, K.E. Potts, Clin. Microbiol. Rev., 1998, **11**(4), 614.
- [65] P.J. Birch, L.V. Dekker, I.F. James, A. Southan, D. Cronk, Drug Discov., 2004, **9**(9), 410.
- [66] E.R. Weikum, X. Liu, E.A. Ortlund, Protein Sci., 2018, **27**, 1876.
- [67] D. Yang, Q. Zhou, V. Labroska, S. Qin, S. Darbalaie, Y. Wu, E. Yuliantie, L. Xie, H. Tao, J. Cheng, Q. Liu, S. Zhao, W. Shui, Y. Jiang, M.W. Wang, Signal Transduct. Target Ther., 2021, **6**(1), 7.
- [68] J. Lombardino, J. Lowe, J., Nat. Rev. Drug Discov., 2004, **3**, 853.
- [69] S. Iftkhar, A.G.C. de Sá, J.P.L. Velloso, R. Aljarf, D.E.V. Pires, D.B. Ascher, J. Chem. Inf. Model., 2022, **62**, **20**, 4827.
- [70] X. Pan, H. Wang, C. Li, J.Z.H. Zhang, J. Changge, J. Chem. Inf. Model., 2021, **61**, 3159.

Praca wpłynęła do Redakcji 7 marca 2023 r.

