

УДК 547.89+004.942

МЕТОДИКА ПОИСКА СТРУКТУР-ЛИДЕРОВ НА ОСНОВЕ ОЦЕНОК БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *IN SILICO* И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В РЯДУ 2,3-БЕНЗОДИАЗЕПИНОВ

Гуртовая Е.В.¹, Николаев А.С.², Суйков С.Ю.¹, Богза С.Л.¹, Кобраков И.К.³

¹Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко НАН Украины

²Донецкий национальный университет

³Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина

E-mail: k.gurtovaya@i.ua

Методами прикладной статистики исследованы эмпирические зависимости между химическим строением и биологическим действием соединений ряда 2,3-бензодиазепина. Проведен поиск хит-структур анксиолитиков ряда 2,3-бензодиазепина. Предложено соединение — лидер. Проведено сравнение его спектра активности по отношению к тофизопаму.

Ключевые слова: биологическая активность, компьютерный прогноз, 2,3-бензодиазепины, ГАМК рецепторы.

ВВЕДЕНИЕ

Накопленный к настоящему моменту опыт медицинской химии и фармакологии свидетельствует об отсутствии абсолютной специфичности действия известных лекарственных веществ: все они способны вызывать фармакологические эффекты, часть которых используется для терапии определенной патологии, а другие – являются причиной побочного действия и токсичности.

Ни одно химическое соединение невозможно исследовать экспериментально на все известные виды активности. Единственная реальная возможность комплексного исследования биологической активности веществ – развитие новых технологий компьютерного прогнозирования *in silico* и их применение к оценке спектра активности химических соединений с последующим тестированием изучаемых веществ в соответствии с результатами прогноза.

Можно сформулировать следующие требования к средствам прогноза биологической активности химических соединений [1]:

4. большое количество и разнообразие прогнозируемых видов биологической активности;
5. использование реальной обучающей выборки;
6. способность прогнозировать биологическую активность соединений различных химических классов с приемлемой точностью;
7. использование минимальной информации о веществе, достаточной для прогноза спектров активности новых и даже еще не синтезированных, а только

планируемых к синтезу химических соединений;

8. быстродействие, позволяющее за приемлемое время выполнять прогноз и анализ спектров биологической активности сотен тысяч и миллионов химических соединений.

Традиционные подходы к анализу количественных соотношений «структура-активность» (КССА) не соответствуют этим критериям и применимы только к соединениям одного и того же химического класса, как правило, с одним видом (или узким кругом) биологической активности. Однако новое поколение таких средств, более близких к идеалу уже существует (PASS, LAZAR, ISIDA, Codessa Pro и др.). Одним из их ключевых отличий является очень широкий спектр видов биологической активности, включенных в прогноз. Так система PASS (Prediction of Spectra Biological Activity for Substances) (<http://www.ibmh.msk.su/pass>) прогнозирует по структурной формуле химического вещества около 4000 видов биологической активности, включающих основные и побочные фармакологические эффекты, механизмы действия, мутагенность, канцерогенность, тератогенность и эмбриотоксичность [2]. Прогнозная модель системы PASS основана на анализе зависимостей «структура-активность» для веществ из обучающей выборки, содержащей более 60000 разнообразных биологически активных веществ (субстанции известных лекарственных препаратов и фармакологически активные соединения) [3]. Биологическая активность в данной системе описывается качественным образом (наличие/отсутствие). Результаты прогноза представляются как список названий вероятных видов активности с расчетными оценками вероятностей наличия (P_a) и отсутствия каждого вида активности (P_i), которые имеют значения от 0 до 1. Эти вероятности рассчитываются независимо по подвыборкам активных и неактивных соединений, и поэтому их сумма не равна единице. Чем больше для конкретной активности величина P_a и чем меньше величина P_i , тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте [2]. Разработчиками программы адекватность прогноза оценивается величиной 90% [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цель работы заключалась в поиске структуры перспективного анксиолитика (психотропного средства, избирательно подавляющего чувство эмоционального напряжения, беспокойства, тревоги, страха) среди ряда соединений 2,3-бензодиазепина, а также оценке прогнозных закономерностей связи между биологическим действием и химическим строением в указанном ряду для определения наиболее перспективных направлений дизайна. Как известно, анксиолитики имеют широкий спектр применения в медицине, как транквилизаторы. Но также возможно применение анксиолитиков при лечении раковых заболеваний [4].

Прогноз соединения с наиболее высокой биологической активностью мы проводили для нескольких рядов производных 2,3-бензодиазепина. Анализ литературных данных [5–11] позволил выделить следующие ключевые структуры для проведения компьютерного скрининга (рис.1), вместе с их производными через процедуру прогноза было проведено 72 объекта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

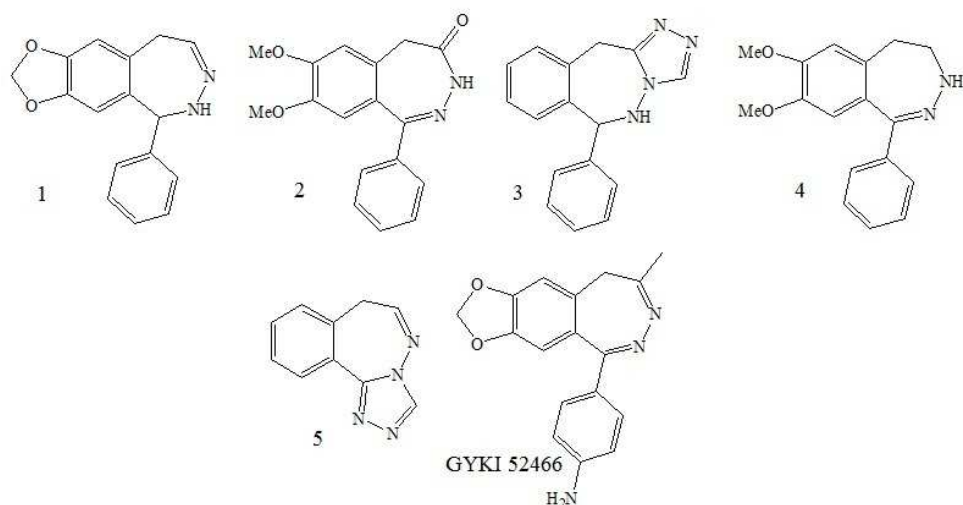


Рис. 1. Ключевые структуры производных 2,3-бензодиазепина, отобранные для компьютерного прогноза.

Нами была проведена верификация прогноза программы PASS на основе литературных данных для веществ с известным спектром активности с помощью статистического пакета аппарата визуального анализа GNU R [12]. Результаты прогноза для хорошо изученного соединения GYKI 52466 (Рис. 1), также относящегося к данному классу приведены в Таблице 1.

Таблица 1
Данные оценки достоверности прогноза программы PASS для соединения GYKI 52466

Данные прогноза системы PASS		Литературные данные	
Вид активности	P, %	Параметр	
Anxiolytic	0,856	$1/IC_{50}$ ([³ H]CP526,427)	$0,079 \mu M^{-1}$
GABA receptor agonist	0,425	$1/IC_{50}$ (KA-[Ca ²⁺] _i)	$0,045 \mu M^{-1}$
Antidepressant	0,333	$1/ED_{50}$	$0,028 (мг/кг)^{-1}$
Antiparkinsonian	0,242	$1/TD_{50}$	$0,013 (мг/кг)^{-1}$

В использованной нами литературе все эксперименты по биологической активности проводились на DBA/2 мышах. Принимая во внимание то, что

плотность живых объектов (мышей) близка к 1 (следовательно $1/\text{кг} \sim 1/\text{дм}^3$), мы можем численно сравнивать между собой эффективную и токсическую дозы с концентрациями полумаксимального ингибирования. Сравнение сегментных диаграмм реального спектра активности и прогноза (Рис. 2), показывает вполне удовлетворительную адекватность прогноза (форму диаграммы), что свидетельствует в пользу использования программы PASS для прогноза активности соединений в ряду 2,3-бензодиазепина.

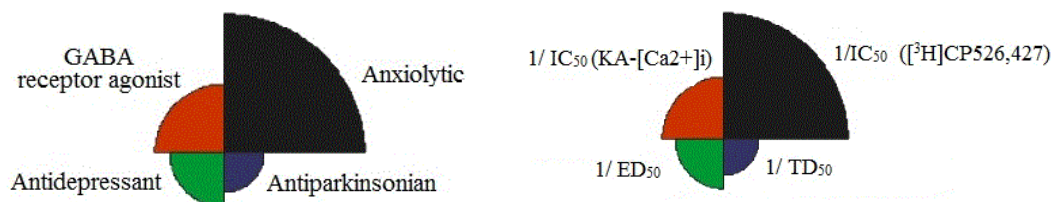


Рис. 2. Диаграммы оценки достоверности прогноза программы PASS.

Для оценки вариативности прогнозной биологической активности нами были использованы диаграммы размахов, или графики "ящики с усами" (box-whisker plots) (Рис. 3). Для трех видов активности — анксиолитической, антидепрессантной и антипаркинсонической в выборке наиболее вероятным значением является 0, для агонистической по отношению к ГАМК рецептору (GABA receptor agonist) — 0.28. Только для агонистической по отношению к ГАМК рецептору наиболее вероятное значение в выборке значимо больше нуля. Наибольший разброс значений (и максимальные величины оценки) наблюдается для анксиолитической активности. Минимальный максимум (наименее перспективный вид) имеет антидепрессантная активность.

Анализ главных компонент на всем массиве прогнозных данных активности показал наибольшую целесообразность использования 2,3-бензодиазепинов в роли анксиолитических агентов (Рис.4). Анализ совместной вариации различных видов активности (Рис.5) показал существование определенного кластера данных с функциональной связью между анксиолитической активностью и действием в роли агониста ГАМК рецептора (Рисунок 5, строка 1, столбец 2 - производные ключевой структуры 5). Для данного кластера наблюдается линейная зависимость агониста к ГАМК рецепторам и анксиолитического действия. В зоне графика «низкая анксиолитическая активность — низкая активность к ГАМК» (эллипс «В») находятся бензодиазепины с карбоксильным заместителем.

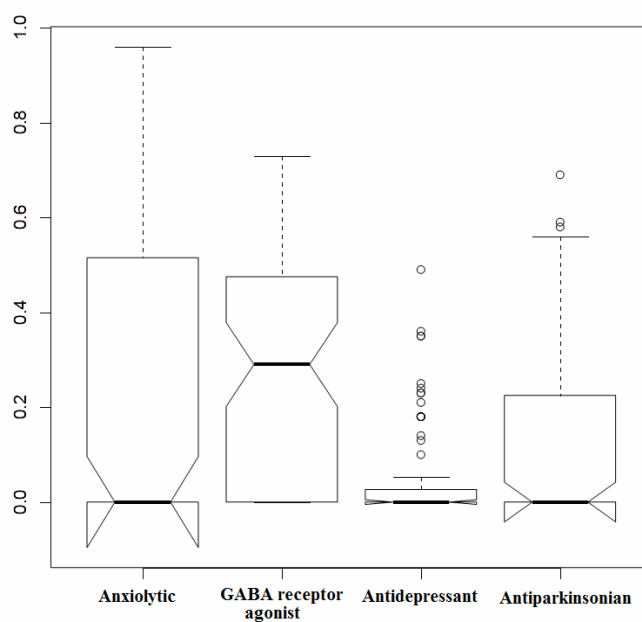


Рис. 3. Визуальная экспресс-оценка вариативности отобранных видов биологической активности.

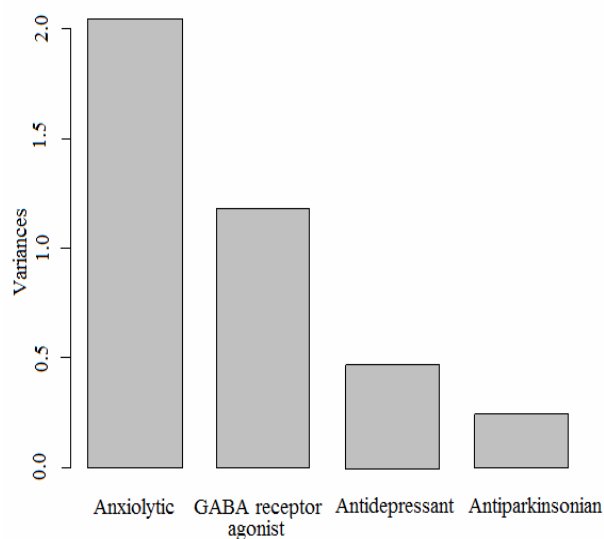


Рис. 4. Анализ главных компонент.

Прогноз показывает, что анксиолитическая активность (*anxiolytic*) возможна практически у всех бензодиазепинов, за исключением производных ключевых структур **2** и **4** (Рисунок 5, строка 1, столбец 2, эллипс «В»). Наиболее вероятно

появление этой активности у производных ключевой структуры **5** (Рис. 1). Для ряда производных структуры **5** ожидается увеличение анксиолитической активности и действия бензодиазепинов как агонистов ГАМК рецепторов при введении в триазольный фрагмент аминогруппы (пространственное удаление аминогруппы от триазольного цикла уменьшает активность) (Рисунок 5, строка 1, столбец 2, эллипс рассеяния «А»).

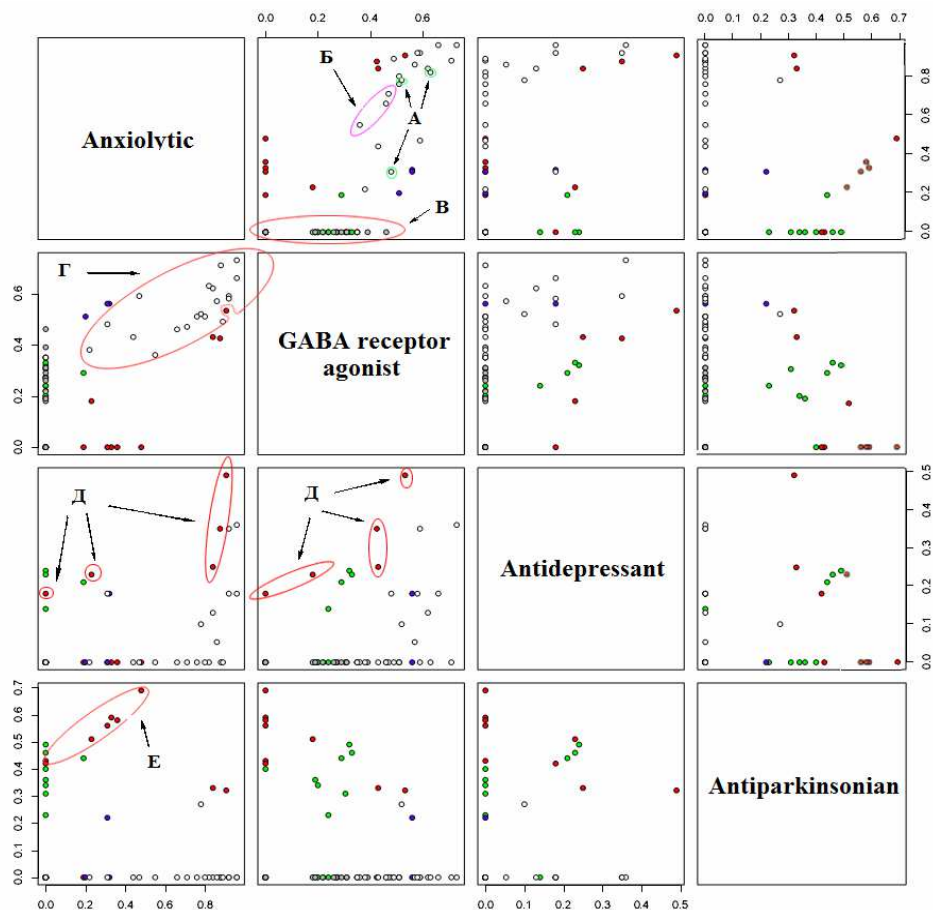


Рис. 5. Графики совместной вариации для выбранных видов активности.

Прогнозируется уменьшение значения биологической активности при введении в триазольное кольцо $-(\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$ группы (чем больше длина мостика карбоксильной группы, тем меньше значение активности) (Рисунок 5, строка 1, столбец 2, эллипс «Б»).

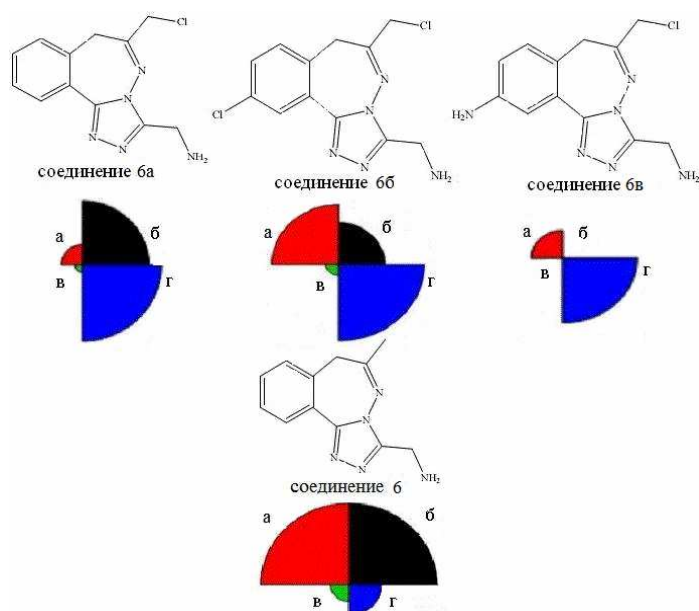
Антидепрессантная (*antidepressant*) активность у 2,3-бензодиазепинов в наибольшей степени ожидается у производных ключевой структуры **1**, содержащих диоксолановый фрагмент (Рисунок 5, строка 3, столбец 1 и 2, эллипс рассеяния «Д»). Возможно уменьшение прогнозной биологической активности при введении в

бензольное кольцо (C₁-Ph в структурах **1-4**) амино- или нитрогруппы вместо хлора (P_a (NH₂) > P_a (NO₂)).

Антипаркинсоническая активность (*antiparkinsonian*) более всего ожидается у производных бензодиазепина **1** на рисунке 1 (Рисунок 5, строка 4, столбец 1, эллипс «Е»). Она может быть несколько снижена для соединений содержащих в 4 положении бензодиазепинового фрагмента кето-группу.

Также для всех приведенных в работе производных бензодиазепина характерно действие в роли агонистов ГАМК рецепторов, в случае наличия триазольного фрагмента С(1)-N(2), аннелированного с диазепиновым циклом, эта активность должна повышаться (Рисунок 5, строка 2, столбец 1, эллипс «Г»). Присутствие в триазольном фрагменте и в С(4)-положении диазепинового цикла метильного радикала увеличивает прогноз активности.

Ожидается увеличение анксиолитической активности и действия бензодиазепинов в роли агонистов ГАМК рецепторов при введении в положение 1 семичленного цикла фенильного фрагмента и галогензамещного фенильного заместителя. Напротив, введение амино- или нитрогрупп в арильный заместитель при С(1)-атоме диазепинового кольца уменьшает эти значения (P_a (NH₂) > P_a (NO₂)).



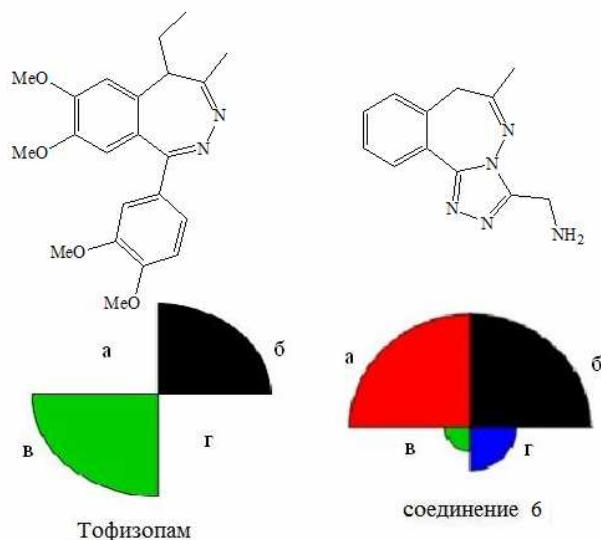
а – Anxiolytic; б - GABA receptor agonist; в - GABA receptor antagonist; г - Antidepressant.

Рис. 6. Сегментные диаграммы, полученные при обработке данных компьютерного прогноза для ключевой структуры **6** и ее производных.

В результате проведенного анализа для дальнейшего исследования было отобрано соединение **5a**, далее использованное как ключевая структура **6** (Рис. 6). Для её производных мы провели расширенный прогноз биологической активности и сравнили его с результатами прогноза для популярного в медицинской практике

тофизопама (грандаксина). Оказалось, что практически любое замещение в структуре **6** приводит к ухудшению прогноза целевых характеристик.

На Рисунке 6 видно, что наибольшим потенциалом, как анксиолитик, обладает соединение **6**. Также для него ожидается максимальное действие как агониста ГАМК рецепторов. По данным прогноза ожидается заметное преимущество предложенного нами производного 2,3-бензодиазепина над тофизопамом (Рис. 7).



а – Anxiolytic; б - GABA receptor agonist; в - GABA receptor antagonist; г - Antidepressant.

Рис. 7. Сравнение прогноза спектров биологической активности тофизопама и соединения **6**.

На наш взгляд, эта структура перспективна в качестве соединения-лидера для последующих исследований. Данное соединение ранее не было синтезировано и в настоящий момент не описано в зарубежных и отечественных источниках и представляет интересную синтетическую цель.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложена методология двухстадийной оценки активности с использованием существующих расчетных программ.
2. Проведена оценка биологической активности широкого ряда производных 2,3-бензодиазепина.
3. Проведена верификация прогноза системой PASS для производных 2,3-бензодиазепина с использованием данных по биологическим испытаниям родственных соединений.

4. На основе прогноза получена структура перспективного соединения-лидера ряда 2,3-бензодиазепина с максимальной прогнозной анксиолитической активностью.

Список литературы

1. Филимонов Д.А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / Д.А. Филимонов, В.В. Поройков // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2006. – Т. 1, № 2. – С. 66–75.
2. Поройков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов, Т.А. Глориозова и др. // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13, №1. – С. 137–143.
3. Poroikov V. PASS: identification of probable targets and mechanisms of toxicity / V. Poroikov, D. Filimonov, A. Lagunin [et al.] // SAR and QSAR in Environmental Research. – 2007. – Vol. 18, No. 1-2. – P. 101–110.
4. Yarani R. Anti-Angiogenic/ Anxiolytic effect of chlordiazepoxide: Evidence on dual activity for cancer patients / R. Yarani, K. Mansouri, A. Mahnam // International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research. – 2011. – Vol. 5, No. 3. – P. 32–35.
5. Zappala M. Synthesis and evaluation of pharmacological and pharmacokinetic properties of 11h-[1,2,4]triazolo[4,5-c][2,3]benzodiazepin-3(2h)-ones / M. Zappala, R. Gitto, F. Bevacqua [et al.] // J. Med. Chem. – 2000. – Vol. 43. – P. 4834–4839.
6. Rizzo M. Chromatographic separation of 2,3-benzodiazepines / M. Rizzo // Journal of Chromatography B. – 2000 – Vol. 747. – P. 203–216.
7. Horvath E.J. Anxiolytic 2,3-benzodiazepines, their specific binding to the basal ganglia / E.J. Horvath, K. Horvath, T. Hamoria et al // Progress in Neurobiology – 2000. – Vol. 60, No. 4. – P. 309–342.
8. Szenasi G. 2,3-Benzodiazepine-type AMPA receptor antagonists and their neuroprotective effects / G. Szenasi, M. Vegh, G. Szabo et al // Neurochemistry International, – 2008. – Vol. 52. – P. 166–183.
9. Chimirri A. 1-Aryl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazepin-4-ones: Novel AMPA receptor antagonists / A. Chimirri, G. De Sarro // J. Med. Chem. – 1997. – Vol. 40 – P. 1258–1269.
10. Weiser T. AMPA receptor antagonists for the treatment of stroke / T. Weiser // Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, – 2005. – Vol. 4. – P. 153–159.
11. Zappala M. New 7,8-ethylenedioxy-2,3-benzodiazepines as noncompetitive AMPA receptor antagonists / M. Zappala, A. Pellicano, N. Micale et al // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, – 2006. – Vol. 16. – P. 167–170.
12. R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Гуртова К.В. Методика пошуку структур-лідерів на основі оцінок біологічної активності in silico та її використання в ряду 2,3-бензодіазепінів / Гуртова К.В., Ніколаєв О.С., Суйков С.Ю., Богза С.Л., Кобраков І.К. // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 242-252.

Методами прикладної статистики досліджені емпіричні залежності між хімічною будовою і біологічною дією сполук ряду 2,3-бензодіазепіну. Проведено пошук хіт-структур анксиолітиків ряду 2,3-бензодіазепіну. Запропоновано сполуку – лідер. Проведено порівняння її спектра активності по відношенню до тофізопаму.

Ключові слова: біологічна активність, комп'ютерний прогноз, 2,3-бензодіазепіни, ГАМК рецептори.

THE LEAD COMPOUNDS SEARCH TECHNIQUE BASED ON ASSESSMENT OF BIOLOGICAL ACTIVITY IN SILICO, AND ITS USAGE IN A SERIES OF 2,3-BENZODIAZEPINE

Gurtova K.V.¹, Nikolaev O.S.², Sujkov S.Y.¹, Bogza S.L.¹, Kobrakov I.K.³

¹L. M. Litvinenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry, Donetsk, Ukraine

²Donetsk National University, Donetsk, Ukraine

³Gubkin Russian State University of Oil and Gas

E-mail: kathy-himka@mail.ru

Directed search for compounds which have necessary reactivity and / or allow to create new pharmacologic agents, has recently become particularly relevant. Costly and time-consuming direct biological testing has been actively replaced by computer modeling. Predictive systems for computer (in silico) screening can assess the probability levels of a wide range of activities for a particular compound.

In the paper has been made a search of a hit-structure of anxiolytic (is a drug that inhibits anxiety) from the 2,3-benzodiazepine family. The purpose of the work was to assess the regularity of relationship between biological activity and chemical structure in this series to determine the most promising direction of design. Prediction of the leading compounds activities has been obtained by using an expert system PASS. To estimate the probability of prediction was carried out the verification of this system by using the model compounds (drug substances with relative chemical structures). It is quite satisfactory adequacy forecast (form diagrams) shows a comparison of segment diagrams of the real spectrum of activity and prognosis. This argues in favor of using the program PASS to predict the activity of compounds in a series of 2,3-benzodiazepine. The greatest practicability of 2,3-benzodiazepines as anxiolytic agents showed a principal component analysis on the entire array of prediction activity datas.

Empirical relationships between chemical structure and biological activity of 2,3-benzodiazepines derivatives was examined by methods of applied statistics. The package GNU R and apparatus of visual analysis was used for statistical analysis.

A leader compound, which is currently not described in any domestic or foreign sources, was suggested. It provides an interesting synthetic model. A comparison of the activity spectrum of proposals compound to tofizopam was carry out..

Key words: biological activity, computer prediction, 2,3-benzodiazepines, GABA receptors.

References

1. Filimonov D., Poroikov V., Prediction of biological activity spectra for organic compounds, *Rossiyskiy Himicheskiy Jurnal*, **1**, 66 (2006).
2. Poroikov V., Filimonov D., Glorizova T., Lagunin A., Druzhilovsky D., Stepanchikova A., Computer-aided prediction of biological activity spectra for substances: virtual chemogenomics, *Vestnik VOGiS*, **13**, 137 (2009).
3. Poroikov V., Filimonov D., Lagunin A., Glorizova T. and Zakharov A., PASS: identification of probable targets and mechanisms of toxicity, *SAR and QSAR in Environmental Research*, **18**, 101 (2007).

4. Yarani R., Mansouri K., Mahnam A., Anti-Angiogenic / Anxiolytic effect of chlordiazepoxide: Evidence on dual activity for cancer patients, *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*, **5**, 32 (2011).
5. Zappala M., Gitto R., Bevacqua F., Quartarone S., Chimirri A., Rizzo M., De Sarro G., and De Sarro A., Synthesis and evaluation of pharmacological and pharmacokinetic properties of 11h-[1,2,4]triazolo[4,5-c][2,3]benzodiazepin-3(2h)-ones, *J. Med. Chem.*, **43**, 4834 (2000).
6. Rizzo M., Chromatographic separation of 2,3-benzodiazepines, *Journal of Chromatography B.*, **747**, 203 (2000).
7. Horvath E.J., Horvath K., Hamoria T., Fekete M.I., Solyom S., Palkovits M., Anxiolytic 2,3-benzodiazepines, their specific binding to the basal ganglia, *Progress in Neurobiology*, **60**, 309 (2000).
8. Szenasi G., Vegh M., Szabo G., Kertesz S., Kapus G., Albert M., Greff Z., Ling I., Barkoczy J., Simig G., Spedding M., Laszlo G., Harsing Jr., 2,3-Benzodiazepine-type AMPA receptor antagonists and their neuroprotective effects, *Neurochemistry International*, **52**, 166 (2008).
9. Chimirri A., De Sarro G., 1-Aryl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazepin-4-ones: Novel AMPA receptor antagonists, *J. Med. Chem.* **40**, 1258 (1997).
10. Weiser T., AMPA receptor antagonists for the treatment of stroke, *Current Drug Targets – CNS & Neurological Disorders*, **4**, 153 (2005).
11. Zappala M., Pellicano A., Micale N., Menniti F., Ferreri G., De Sarro G., Grasso S. and De Michelid C., New 7,8-ethylenedioxy-2,3-benzodiazepines as noncompetitive AMPA receptor antagonists, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 167 (2006).
12. R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Поступила в редакцию 28.11.2013 г.