

УДК 547.022+615.07

Т. Г. Волкова*, К. В. Балакин**, Я. А. Иваненков**, М. В. Ключев*

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ БЕНЗИЛИДЕНАНИЛИНА

PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF BENZYLIDENEANILINE STRUCTURAL ANALOGUES

*Ивановский государственный университет, кафедра органической
и биологической химии, 153025 Иваново, ул. Ермака, д. 39.

**Институт физиологических активных веществ РАН,
142432 Черноголовка, Моск. обл., Северный проезд, д. 1

Построена классификационная модель, позволяющая прогнозировать эффективность образования нековалентных комплексов между низкомолекулярными органическими соединениями (производные бензилиденанилина) и белковыми макромолекулами (биомишенями). Профиль предсказанной биологической активности показывает, что для исследуемых соединений существует зависимость от количества атомов углерода (nC) в боковой алкильной цепи. Аффинность производных бензилиденанилина определяется их активной конформацией.

Ключевые слова: биологическая активность, производные бензилиденанилина, соотношение «структура – свойство».

The classification model, which allows predicting the effectiveness of non-covalent complexes formation between low molecular organic compounds (derivatives of benzylideneaniline) and protein macromolecules is proposed. The type of the biological activity depends on a number of carbon atoms in the side alkyl chain. The affinity of the benzylideneaniline derivatives is determined by their active conformation.

Key words: biological activity, benzylideneaniline derivatives, structure – property correlation.

Жидкокристаллическое состояние, сочетающее в себе устойчивость к внешним воздействиям с гибкостью и пластичностью, оказалось удобным для многих биологических процессов [1]. Сложные биологически активные молекулы (например, ДНК, полипептиды, производные холестерина, цереброзиды) и даже макроскопические тела (например, вирусы) также могут находиться в состоянии мезофазы.

В последние годы большой интерес к исследованию биологических аспектов жидких кристаллов (ЖК) [2, 3], относящихся не только к лиотропным, но и к термотропным ЖК, связан и с развитием так называемого виртуального скрининга биологической активности, который позволяет проводить оценку потенциального воздействия низкомолекулярных органических соединений на различные белковые биологические мишени.

Цель настоящей работы – виртуальный скрининг биологической активности производных бензилиденанилина (рис. 1), с использованием построенной модели количественной связи между структурой и свойствами (КССС) химических соединений [4 – 9].

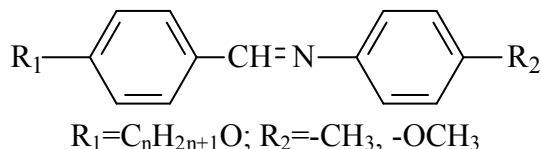


Рис. 1. Исследуемые молекулы ряда *n*-*n*-алкилоксибензилиден-*n*'-толуидина ($n = 1 - 12$) и ряда *n*-*n*-алкилоксибензилиден-*n*'-метоксианилина ($n = 1,3 - 12$)

Создание эффективной модели для предсказания мишень-специфичной активности является задачей, востребованной на ранних этапах химико-фармацевтической индустрии, поскольку позволяют проводить направленный отбор соединений, обладающих предсказанным профилем мишень-специфичной активности, еще на стадии виртуальных комбинаторных библиотек.

В рамках настоящей работы была построена классификационная модель, позволяющая прогнозировать эффективность образования нековалентных комплексов между низкомолекулярными органическими соединениями (производными бензилиденанилина) и белковыми макромолекулами (биомишенями). В каждом из случаев речь идет о специфических белковых рецепторах и ферментах, являющихся фармацевтически значимыми биологическими мишенями.

КССС-моделирование

Обучающая выборка. В качестве обучающей выборки были использованы лекарственные соединения из базы, состоящей из 17000 веществ с экспериментально определенной и подтвержденной мишень-специфичной активностью. В обучающую выборку вошли лекарственные соединения, обладающие активностью по отношению к различным группам биологических мишеней, например тирозиновым киназам, рецепторам, связанным с G-белками, нуклеарным рецепторам, ВИЧ-интегразе, ДНК-топоизомеразе, каспазным ферментам, хемокиновым рецепторам и т. д. Всего в пределах обучающей выборки насчитывалось более 200 уникальных типов биологических мишеней. Ключевые параметры разнообразия отобранных модельных структур, такие как число уникальных гетероциклов, коэффициенты разнообразия и число скринов (определения и способы расчета этих параметров описаны в работе [10]), указывают на их высокое структурное разнообразие. Следовательно, результаты КССС-моделирования не искажены преобладанием некоторых хемотипов соединений, а отражают объективные зависимости.

Молекулярные дескрипторы. Расчет и отбор минимально необходимого набора молекулярных дескрипторов, наиболее подходящего для последующего моделирования, является ключевой стадией в построении эффективной КССС модели. Для того чтобы модель можно было использовать для решения практических задач, эти дескрипторы должны быть легко и быстро рассчитываемыми при помощи доступных программных пакетов. В то же время, эти дескрипторы должны адекватно кодировать специфические свойства как модельных, так и тестируемых молекул, в частности учитывать изомерные структуры. Такие свойства определяют целый ряд внутри- и межмоле-

кулярных взаимодействий, влияющих на связывание низкомолекулярных органических молекул с белковыми биомолекулами, например, количество доноров и акцепторов водородной связи, конформационная подвижность, распределение электростатического потенциала, дипольные взаимодействия, ван-дер-Ваальсовы силы и гидрофобные эффекты. В кратком изложении процедура расчета и отбора молекулярных дескрипторов для КССС-моделирования мишень-специфичной активности заключала в себе расчет большого числа дескрипторов при помощи программного комплекса Informagenesis с последующим отбором наиболее подходящих дескрипторов при помощи оценки t-статистики, корреляционного анализа и анализа главных компонент [11, 12]. В результате комплексных процедур было отобрано семь дескрипторов, способных наиболее адекватно описать мишень-специфичную активность, а также учитывать изомеризацию тестируемых соединений (табл.).

При анализе дескрипторов было обнаружено, что различия в свойствах исследуемых категорий соединений, основанные на индивидуальных дескрипторах, в некоторых случаях являются статистически значимыми и позволяют разделять принципиально разные группы соединений с полярной мишень-специфичной активностью. Однако в большинстве случаев эти различия являются весьма малыми, и очевидно, что классификация соединений по профилю их мишень-специфичной активности на основе любого индивидуального дескриптора невозможна. Следовательно, для решения поставленной задачи необходимо использовать более мощные статистические алгоритмы анализа данных, которые способны учитывать совокупный вклад всех дескрипторов.

Молекулярные дескрипторы

Дескриптор	Определение
logP	расчетный логарифм коэффициента распределения органического соединения в системе 1-октанол/вода
HBD	число доноров водородной связи
HBA	число акцепторов водородной связи
HB2	расчетный показатель силы акцепторов водородной связи
Zagreb	топологический индекс Загреба
SS	суммарный электротопологический индекс
VDWvol	объем Ван-дер-Ваальса

КССС-моделирование с использованием самоорганизующихся карт Кохонена

Самоорганизующиеся карты Кохонена представляют собой современный инструмент для высокоэффективного анализа и визуализации мультипараметрических данных, позволяющий создавать дву- или трехмерные изображения многомерных пространств свойств [13]. Этот метод находит все более широкое применение в различных областях органической и медицинской химии, включая предсказание физиологических и физико-химических свойств соединений (например, [14 – 18]).

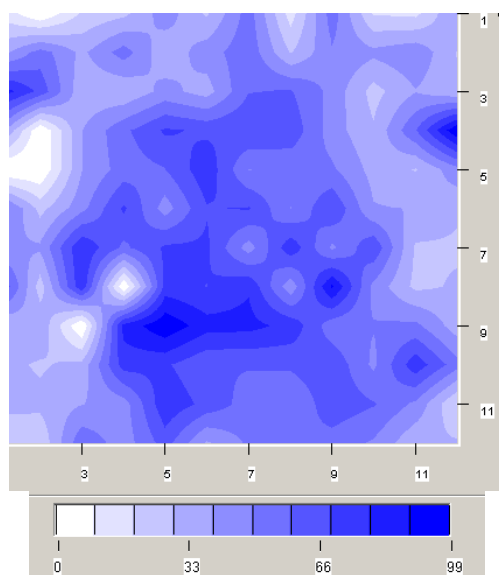


Рис. 2. Карта Кохонена полной исходной обучающей выборки (17000 лекарственных соединений)

На базе компьютерной программы ИПК-1 с использованием 7 молекулярных дескрипторов (табл.) была построена карта Кохонена, представленная на рис. 2. Иначе говоря, было получено двумерное отображение 7-мерного пространства свойств, причем объекты, расположенные в непосредственной близости друг от друга на карте Кохонена, являются близкими соседями и в 7-мерном пространстве. Размерность карты была выбрана таким образом, чтобы получить картину с оптимальным разрешением и в то же время избежать излишней фрагментации, при которой на карте появляются мало-заселенные области с неопределенной классификацией. В результате проведенной процедуры обучения и построения карт Кохонена получили общую картину распределения свойств соединений из полной исходной обучающей базы. Соединения широко распределены по карте в областях, образующих разновеликие сегменты неправильной формы. Отчетливо видны области, в которых исследуемые группы соединений из обучающей выборки преобладают, или наоборот, представлены лишь незначительно. Различие в заселенности подобных зон может превышать величины двух порядков.

После построения общих карт поочередно были выявлены зоны распределения на них различных групп соединений, обладающих различной мишень-специфичной активностью. Очевидно, что наблюдаются заметные различия в положениях соединений из этих групп. При этом для каждой группы можно выделить компактные области повышенной заселенности, а также области малой заселенности. Подобная разбивка карты упрощает ее анализ и тестирование, хотя и ведет к возможным неточностям при отнесении точек, в которых существует лишь незначительное преобладание молекул одной категории. В результате такого отнесения всех зон выяснилось, что построенные карты Кохонена обладают высокой потенциальной предсказательной способностью. Средний процент разделения модельных групп соединения составил 77 % (первая рандомизация) и 75 % (вторая рандомизация). Эти цифры свидетельствуют об очень высокой дискриминирующей способности разработанной КССС модели.

Важнейшим выводом, который можно сделать на основании полученных экспериментальных результатов, является наличие в исследуемом 7-мерном пространстве свойств компактных регионов, соответствующих группам соединений с различным профилем мишень-специфичной активности.

Исследование профиля мишень-специфичной активности производных бензилиденанилина

Найденные закономерности размещения различных лекарственных субстанций на картах Кохонена были использованы для прогнозирования профиля мишень-специфичной активности соединений из тестируемой выборки (рис. 1). Методология профилирования состоит из расчета для каждого члена тестируемой выборки семи дескрипторов, аналогичных использованным для построения модели, и последующего проявления положения каждого соединения на описанных в предыдущем разделе картах Кохонена в режиме тестирования модели. Тестируемое соединение классифицировалось как принадлежащее к уникальному классу(ам) физиологически активных лекарственных субстанций, если оно попадало в точку на карте, в которой преобладают соединения с конкретной мишень-специфичной активностью из тренирующей выборки. Некоторые репрезентативные карты Кохонена, отражающие распределение соединений из тестируемой выборки на фоне областей с различной мишень-специфичной активностью, представлены на рис. 3.

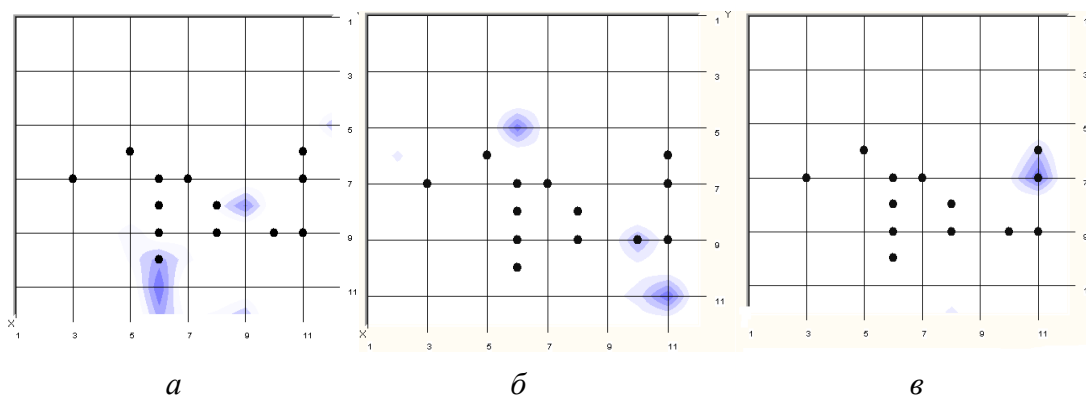


Рис. 3. Локализация соединений из тестируемой выборки (черные точки) на фоне репрезентативных мишень-специфичных областей: антагонисты ГАМК рецепторов (а), антагонисты кальциевых каналов (б), антагонисты каннабиноидных рецепторов (в)

По результатам компьютерного эксперимента можно говорить о том, что все протестированные соединения обладают потенциальной биологической активностью. Всего было выявлено 9 наиболее вероятных биологических мишеней (см. рис. 4), по отношению к которым тестируемые соединения показали различную степень «виртуальной» активности (*in silico* скоринг). С целью определения наиболее значимых структурных детерминант, которые могли бы играть значимую роль в полученной классификации, была построена зависимость количества атомов углерода (nC) в боковой алкильной цепи от вида предсказанной биологической активности (рис. 4). В результате удалось выяснить, что между ними существует очевидная корреляция. Было выявлено три общих группы; соединения с количеством атомов углерода 1 – 5 в ряде

гомологов *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-толуидина, а также *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-метоксианилины с $nC = 1, 3 - 5$, составляют первую группу соединений, обладающих активностью по отношению к первым трем биологическим мишеням (см. рис. 4). Во вторую группу вошли соединения с $nC = 7 - 9$, которые можно рассматривать в качестве потенциальных антагонистов эстрогеновых рецепторов и кальциевых каналов. Третья группа включает в себя структуры с $nC = 11 - 12$, с предсказанной активностью по отношению к АХАТ и каннабиноидным рецепторам. Принципиальные отличия в активности были показано для соединений с $nC = 6, 10$. Так, к наиболее вероятным биологическим мишеням для *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-толуидинов с $nC = 6$ можно отнести ГАМК рецептор, липоксигеназы и ЦОГ, в то время как для соединений из второго структурного класса таковыми являются эстрогеновые рецепторы и кальциевые каналы. Если для производных *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-толуидина ($nC = 10$) наиболее вероятна активность по отношению к антагонистам сигма и гистаминовых рецепторов, то для представителей ряда *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-метоксианилинов с тем же количеством атомов углерода была предсказана биологическая активность, характерная для третьей группы соединений (см. выше).

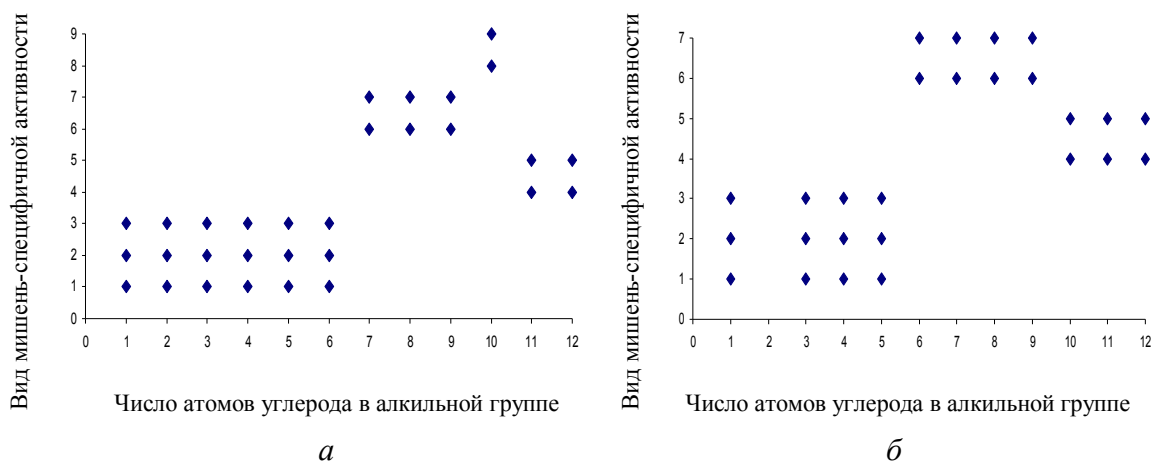


Рис. 4. Зависимость вида предсказанной биологической активности от количества атомов углерода в алкильной цепи производных *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-толуидина (а) и *n-n*-алкилоксибензилиден-*n'*-метоксианилина (б).

Виды мишень-специфичной активности: 1) антагонисты ГАМК рецепторов; 2) ингибиторы липоксигеназ; 3) ингибиторы циклооксигеназ (ЦОГ); 4) ингибиторы ацил-КоА-холестерин ацилтрансфераза (АХАТ); 5) антагонисты каннабиноидных рецепторов; 6) антагонисты эстрогеновых рецепторов; 7) антагонисты кальциевых каналов; 8) антагонисты сигма рецептора; 9) антагонисты гистаминовых рецепторов

Известно, что в большинстве случаев биологические мишени проявляют высокую специфичность по отношению к собственным эндогенным лигандам. Такая субстратная специфичность достигается в первую очередь за счет пространственной комплементарности аминокислотных остатков в активном сайте мишени, что в свою очередь означает доступность и оптимальное количество принципиальных межатомных взаимодействий (водородные связи, гидрофобные и гидрофильные участки, Ван-дер-Ваальсовы, а также диполь-дипольные взаимодействия), за счет которых лиганд удерживается в активном сайте связывания. Такая модель связывания составляет основу

теории «ключ-замок» [19]. Однако, как показывает практика, во многих случаях взаимодействие лиганд-биомишень осуществляется по принципу «вынужденного соответствия» [20], в рамках которого допускается конформационная подвижность (подстройка) как активного сайта мишени, так и лиганда во время связывания. По нашему мнению, именно эта модель наилучшим образом описывает закономерности, обнаруженные в процессе эксперимента. Таким образом, на основании профиля предсказанной биологической активности можно говорить о том, что в ряде случаев аффинность исследуемых соединений определяется в первую очередь их активной конформацией.

Работа проведена при финансовой поддержке проекта Министерства образования и науки РФ «Развитие механизмов интеграции Ивановского государственного университета и Института проблем химической физики РАН» (РНП.2.2.1.1.2820).

Список литературы

1. Минц Р. И., Кононенко Е. В. // Жидкие кристаллы в биологических системах. М. : ВИНТИ. Сер. биофиз., 1982. Т. 13. С. 117.
2. Terasawa R., Fukushi Y., Monzen S. et al. // Biol Pharm Bull. 2009. Vol. 32. № 6. P. 976 – 981.
3. Lockwood N. A., Abbott N. L. // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2005. Vol. 10. Issues 3/4. P. 111 – 120.
4. Walters W. P., Stahl M. T., Murcko M. A. // Drug Disc. Today 1998. Vol. 3. P. 160 – 178.
5. Bajorat J. // Nature Rev. Drug Discov. 2002. Vol. 1. № 11. P. 882 – 894.
6. Shoichet B. K. // Nature. 2004. Vol. 432. № 7019. P. 862 – 865.
7. Lengauer T., Lemmen C., Rarey M., Zimmermann M. // Drug Discov. Today 2004. Vol. 9. № 1. P. 27 – 34.
8. Oprea T. I. // Molecules. 2002. Vol. 7. P. 51 – 62.
9. Green D. V. // Prog. Med. Chem. 2003. Vol. 41. P. 61 – 97.
10. Trepalin S. V., Gerasimenko V. A., Kozyukov A. V. et al. // J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2002. Vol. 42. № 2. P. 249 – 258.
11. Guttman L. // Psychometrika. 1954. Vol. 19. P. 149 – 162.
12. Catell R. B., Vogelmann S. // Multi. Behav. Res. 1977. Vol. 12. P. 289 – 325.
13. Kohonen T. // Self-organizing maps. 3-rd edition. New-York : Springer-Verlag, 2001. 528 p.
14. Anzali S., Gasteiger J., Holzgrabe U. et al. // In book: 3D QSAR in Drug Design / eds. H. Kubinyi, G. Folkers, Y.C. Martin. Dordrecht : Kluwer/ESCOM, 1998. Vol. 2. P. 273 – 299.
15. Bauknecht H., Zell A., Bayer H. et al. // J. Chem. Inf. Comp. Sci. 1996. Vol. 36. № 6. P. 1205 – 1213.
16. Anzali S., Barnickel G., Krug M. et al. // J. Comp.-Aid. Mol. Des. 1996. Vol. 10. № 6. P. 521 – 534.
17. Brüstle M., Beck B., Schindler T. et al. // J. Med. Chem. 2002. Vol. 45. № 16. P. 3345 – 3355.
18. Rabow A. A., Shoemaker R. H., Sausville E. A., Covell D. G. // J. Med. Chem. 2002. Vol. 45. № 4. P. 818 – 840.
19. Fischer E. // Ber. Dt. Chem. Ges. 1894. Vol. 27. P. 2985 – 2993.
20. Koshland D. E. // Synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1958. Feb; Vol. 44. № 2. P. 98 – 104.

Поступила в редакцию 22.06.2010 г.