

ФАРМАКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ, МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

УДК 615.015.11:541.69:681.3.06

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ QSAR-ЗАВИСИМОСТЕЙ

П.М. Васильев, А.А. Спасов, В.А. Косолапов, В.А. Анисимова

Кафедра фармакологии ВолГМУ,

НИИ физической и органической химии Ростовского государственного университета

В настоящее время для оптимизации поиска новых химических соединений с высокой фармакологической активностью широко применяются компьютерные методы, основанные на анализе QSAR-зависимостей – количественных соотношений "структура – активность". Ранее было показано успешное использование информационной технологии "Микрокосм" [2] для компьютерного прогноза различных видов фармакологической активности структурно разнородных химических соединений. Между тем, поиск наиболее активных веществ в рядах соединений – структурных аналогов, также является одной из важных задач экспериментального скрининга. В частности, является актуальной оптимизация с помощью информационной технологии "Микрокосм" поиска соединений с высокой антиоксидантной активностью среди синтезированных в НИИ ФОХ РГУ новых производных имидазобензимидазола [1], изучение которых ведется на кафедре фармакологии ВолГМУ [4]. Наличие у данного ряда веществ антиоксидантных свойств может быть обусловлено π -электронной избыточностью трициклической ароматической системы имидазобензимидазола [6].

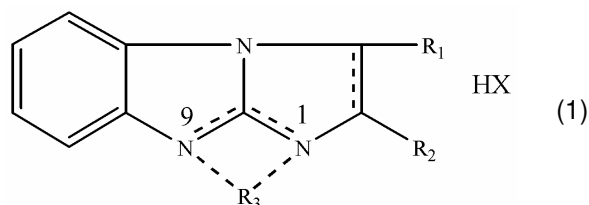
ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Создание системы компьютерного прогноза антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола на базе информационной технологии "Микрокосм", тестирование точности системы, вычислительный прогноз активности новых соединений, сопоставление результатов этого прогноза с данными экспериментальных исследований.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Информационным наполнением системы служит база данных по структуре и антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола. Основой методики прогноза, подробно описанной в [2], являются полученные методами теории распознавания образов QSAR-зависимости, связывающие полуколичественные градации антиоксидантной активности и структуру соединений, представленную в виде матрицы структурных дескрипторов. Исследование выполнялось в несколько этапов.

Первичные испытания соединений. Экспериментальное изучение антиоксидантных свойств производных имидазобензимидазола проводили *in vitro* на модели аскорбат-индуцируемого перекисного окисления липидов гомогенатов печени крыс по количеству образования ТБК-положительных продуктов, определяемых спектрофотометрически [5]. Показателем уровня антиоксидантной активности являлась минимальная эффективная концентрация вещества, замедляющая перекисное окисление липидов на 10 % ($MЭК_{10}$), которую определяли графически. Всего для последующего включения в обучающие выборки было испытано 63 соединения общей формулой (1) – 57 N_9 - и 6 N_1 -производных имидазобензимидазола [4].



(14)

Формирование обучающих выборок. По результатам экспериментальных испытаний [4] была создана база данных, содержащая структурные формулы всех 63 испытанных производных имидазобензимидазола (1) и показатели уровня их антиоксидантной активности $MЭК_{10}$. С целью обеспечения более высокой точности прогноза [3] структуры были занесены в память компьютера с учетом солеобразующего компонента НХ.

Формирование списка градаций активности. Для обработки в информационной технологии "Микрокосм" значения фармакологической активности должны быть представлены в бинарном виде, а соединения разделены на два класса: принадлежащие и не принадлежащие к данному диапазону активности. С этой целью все испытанные вещества сначала были отнесены к одному из четырех классов активности в соответствии с уровнем $MЭК_{10}$: высокоактивные, $MЭК_{10} \leq 10^{-6}$ моль/л; умеренноактивные, $10^{-5} < MЭК_{10} < 10^{-6}$ моль/л; низкоактивные, $MЭК_{10} = 10^{-5}$ моль/л; неактивные, $MЭК_{10} \geq 10^{-4}$ моль/л. Затем были проведены следующие группировки производных имидазобензимидазола согласно уровня их антиоксидантного действия.

Формирование моделей обобщенных образцов. Для каждой из 5 обучающих выборок были сформированы модели обобщенных образцов классов соединений, принадлежащих и не принадлежащих к данным диапазонам активности – в виде матрицы из 1800 видов QL-дескрипторов по методике, подробно изложенной в [2].

Формирование решающих правил. В соответствии с подробно описанными алгоритмами методами Байеса, расстояния, ближайшего соседа и локального распределения с использованием консервативной, нормальной и рискованной стратегий для всех 5 обучающих выборок были рассчитаны решающие правила.

Автотестирование решающих правил. Оценка точности прогноза уровня антиоксидантной активности проводилась отдельно по каждой из 5 обучающих выборок для каждой из трех стратегий по четырем показателям распознающей и прогностической способности итогового решающего правила: результатам автопрогноза, скользящего, перекрестного и двойного скользящего контролей – как это подробно изложено в [2].

Независимое тестирование. С целью жесткого тестирования адекватности и точности создаваемой системы была сформирована тестовая выборка, содержащая структуры 10 новых производных имидазобензимидазола, изученных в эксперименте, но не включенных в первичную базу данных. С помощью рассчитанных по обучающим выборкам решающих правил была произведена вычислительная оценка уровня антиоксидантной активности этих 10 соединений; результаты прогноза сопоставлены с данными экспе-

риментального тестирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Автотестирование решающих правил. В табл. 1–3 приведены результаты проверки точности прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола на обучающих выборках. Анализ данных табл. 1 показывает, что при использовании консервативной стратегии точный прогноз невозможен только для умеренной активности (низкое значение $Fa = 64\%$ в скользящем контроле). Для всех остальных уровней прогноз достаточно адекватен, особенно в случае прогноза просто факта наличия антиоксидантной активности ($Fo = 97\%$ в скользящем контроле), либо ее высокого уровня ($Fo = 90\%$ в скользящем контроле). Аналогично, при использовании нормальной стратегии (табл. 2) для умеренной активности точный прогноз невозможен ($Fa = 38\%$ в перекрестном контроле). Для остальных уровней прогноз адекватен, особенно для факта наличия антиоксидантной активности ($Fo = 95\%$ в скользящем контроле), либо для ее высокого уровня ($Fo = 90\%$ в скользящем контроле). Анализ данных табл. 3 показывает, что при использовании рискованной стратегии адекватный прогноз возможен для всех градаций антиоксидантной активности, однако наилучшие результаты также достигаются для классов "активные" ($Fo = 98\%$ в скользящем контроле) и "высокоактивные" ($Fo = 94\%$ в скользящем контроле). В целом эффективность прогноза антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола для всех стратегий примерно одинакова, однако точность прогноза незначительно повышается от консервативной стратегии к нормальной и рискованной (в скользящем контроле среднее значение $Fo = 87, 89$ и 91% соответственно). Вероятно, это происходит за счет правильного прогнозирования активности "нестандартных" соединений, имеющих в структуре редко встречающиеся QL-дескрипторы. По всем трем стратегиям точность прогноза неактивных соединений выше, чем точность прогноза активных: в скользящем контроле среднее значение $Fn = 88, 90$ и 93% против $Fa = 85, 87$ и 88% . Это обусловлено тем, что разнообразие QL-дескрипторов в классах неактивных соединений выше, чем в классах активных, что, в свою очередь, объясняется известным фактом – для всех видов фармакологической активности неактивные соединения структурно более переменны и встречаются чаще, чем активные. В частности, высокоактивные структуры обучающей выборки представлены всего 743 видами QL-дескрипторов, из которых только 152 являются высокодостоверными признаками высокой антиоксидантной активности ("фармакофорами", $P < 0,001$); тогда как не высокоактивные структуры представлены 1662 видами QL-дескрипторов, из них 346 являются высокодостоверными признаками отсутствия высокой

антиоксидантной активности ("анти-фармакофо- рами", $P < 0,001$).

Таблица 1

Точность прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола по результатам тестирования обучающих выборок по консервативной стратегии (%)

Уровень активности	Автопрогноз				Скользкий контроль				Перекрестн. контроль				Дв. скольз. контроль			
	Fo	Fa	Fn	Fu	Fo	Fa	Fn	Fu	Fo	Fa	Fn	Fu	Fo	Fa	Fn	Fu
Активные	100	100	100	3	97	97	100	5	95	95	100	2	97	97	100	5
Высокоактивные	100	100	100	6	90	90	90	5	93	86	97	6	90	90	90	5
Умеренноактивные	95	100	93	6	75	64	78	6	83	70	86	17	75	64	78	6
Низкоактивные и неактивные	100	100	100	3	88	83	91	8	84	78	88	10	88	83	91	8
Высокоактивные и умеренноактивные	100	100	100	5	88	92	82	6	88	95	78	5	88	92	82	6
Среднее	99	100	99	5	87	85	88	6	89	85	90	8	87	85	88	6

Примечание. Fo – общая точность прогноза, %; Fa – точность прогноза активных соединений, %; Fn – точность прогноза неактивных соединений, %; Fu – отказ от прогноза, %.

Таблица 2

Точность прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола по результатам тестирования обучающих выборок по нормальной стратегии (%)

Уровень активности	Метод прогноза	Автопрогноз			Скользкий контроль			Перекрестн. контроль			Дв. скольз. контроль		
		Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn
Активные	Лок. распред.	100	100	100	95	95	100	100	100	100	95	95	100
Высокоактивные	Ближ. соседа	100	100	100	90	91	90	90	77	98	90	91	90
Умеренноактивные	Лок. распред.	98	100	98	83	75	85	76	38	90	83	75	85
Низкоактивные и неактивные	Лок. распред.	100	100	100	87	84	89	79	76	82	87	84	89
Высокоактивные и умеренноактивные	Лок. распред.	100	100	100	87	89	84	89	95	80	87	89	84
Среднее		100	100	100	89	87	90	87	77	90	89	87	90

Таблица 3

Точность прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола по результатам тестирования обучающих выборок по рискованной стратегии (%)

Уровень активности	Метод прогноза и тип дескриптора	Автопрогноз			Скользкий контроль			Перекрестн. контроль			Дв. скольз. контроль		
		Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn	Fo	Fa	Fn
Активные	Байеса 10	98	98	100	98	98	100	97	97	100	98	98	100
Высокоактивные	Расстояния 6	97	91	100	94	86	98	92	86	95	94	86	98
Умеренноактивные	Лок. распр. 10	98	100	98	89	81	91	84	75	87	89	81	91
Низкоактивные и неактивные	Лок. распр. 6	98	96	100	87	88	87	76	72	79	87	88	87
Высокоактивные и умеренноактивные	Лок. распр. 6	98	100	96	87	87	88	86	89	80	87	87	88
Среднее		98	97	99	91	88	93	87	84	88	91	88	93

Результаты автотестирования решающих правил показали, что по всем трем стратегиям прогноз в класс "высокоактивные" (против всех остальных) высокодостоверен, а именно этот уровень активности прежде всего интересует исследователя. Поэтому для 10 соединений тестовой выборки был выполнен прогноз на наличие

высокой активности; итоговые расчетные оценки сопоставлены с данными экспериментальных исследований. Результаты приведены в табл. 4, из которой видно, что общая точность прогноза составляет $Fo = 80\%$; для высокоактивных соединений точность $Fa = 100\%$; для невысокоактивных соединений $Fn = 78\%$. Закономерно, что из 10 соеди-

(14)

нений только одно оказалось высокоактивным, причем структура данного соединения включает

Таблица 4

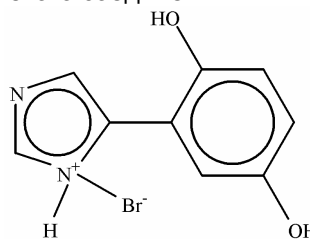
Результаты компьютерного прогноза и экспериментальной проверки уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола

Шифр соединения	Компьютерная оценка наличия высокой активности ¹				Экспериментальная оценка активности	Совпадение оценок
	Конс.	Норм.	Риск.	Общая		
РУ-17	отказ	-	-	-	Умеренная	+
РУ-121	+	+	+	+	Низкая	-
РУ-122	±	-	+	±	Низкая	±
РУ-252	-	-	-	-	Низкая	+
РУ-375	+	+	+	+	Высокая	+
РУ-506	-	-	-	-	Умеренная	+
РУ-574	-	-	-	-	Низкая	+
РУ-1139	-	-	-	-	Неактивно	+
РУ-1178	-	-	-	-	Неактивно	+
РУ-1231	-	-	-	-	Низкая	+

Примечание. По консервативной, нормальной и рисковой стратегиям соответственно.

100 "фармакофоров" высокой антиоксидантной активности и только 16 "анти-фармакофоров". Производя суперпозицию подструктур-"фармакофоров", можно выявить фрагмент структуры (2), ответственный за высокую антиоксидантную ак-

тивность этого соединения.



(2)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На базе информационной технологии "Микрокосм" создана высокоточная система компьютерного прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола; технология может быть использована для прогноза уровня других видов фармакологической активности в других рядах структурно однородных химических соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова В.А., Спасов А.А., Косолапов В.А. и др. // Хим.-фарм. журнал. – 2002. – Т. 36, № 11. – С. 3–8.
2. Васильев П.М., Спасов А.А. // Вестн. ВолГМУ. – 2005. – № 1 (13). – С. 23–30.
3. Васильев П.М., Спасов А.А., Косолапов В.А. и др. // Молекулярное моделирование: тез. докл. IV Всерос. конф. – М., 2005. – С. 51.
4. Косолапов В.А. Антиоксидантные средства: стратегия отбора, перспективы применения. автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 2005. – 41 с.
5. Ланкин В.З., Гуревич С.М., Булакова Е.Б. // Труды московского общества испытателей природы. – М., 1975. – Т. 52. – С. 73–78.
6. Пожарский А.Ф. Теоретические основы химии гетероциклов. – М.: Химия, 1985. – 278 с.

Vassiliev P.M., Spasov A.A., Kosolapov V.A., Anisimova V.A. A computer prognosis and experimental testing of antioxidant activity of new chemical compounds using QSAR-dependences // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 2(14). – P. 16–19.

The designing of computer system for prognosticating antioxidant activity of imidazobenzimidazole derivatives on the basis of the information technology of «Microcosm» was described. It was shown that information technology of «Microcosm» makes possible to prognosticate the level of antioxidant activity for these substances with high precision; the technology may be also used for prognosticating other types of pharmacological activity of other classes of structurally similar chemical compounds.

УДК 615,3:547.854.4:542.91:616.984–097–022–085

СИНТЕЗ И АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬ 1-[2-(ФЕНОКСИ)ЭТОКСИ]МЕТИЛ]ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА

М.С. Новиков, А.А. Озеров, Ю.А. Орлова, Р.У. Букхайт*

Лаборатория фармацевтической химии ВНЦ РАМН и Администрации Волгоградской области, Кафедра фармацевтической химии ВолГМУ, *ImQuest BioSciences, Inc. (Мериленд, США)

С момента открытия вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) как этиологического агента синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) [2, 3] до настоящего времени инфекция ВИЧ явля-

ется серьезной клинической проблемой [4]. Применяемые в клинике препараты делятся на два основных класса: ингибиторы вирусной протеазы и обратной транскриптазы (ОТ). Их использование