

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
ПРЕДСКАЗАНИЕ МИШЕНЕЙ НЕКОТОРЫХ ИЗОНИАЗИДОВ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОГО
МОДЕЛИРОВАНИЯ**

А. Т. МАКИЧЯН, Т. М. ЗАЛЯН и В. К. ГАРИБЯН

Российско-Армянский университет
Институт биомедицины и фармации
Армения, Ереван 0051, ул. Овсепя Эмина, 123
E-mail: ani.makichyan@rau.am

Представлены результаты *in silico* экспериментов по определению фармакокинетических параметров некоторых изониазидов, производных тиосемикарбазидов пиридин-4-карбоновой кислоты, а также предсказания мишеней, с которыми исследуемые соединения проявляют высокие значения комплексообразования. В качестве оценочной функции были использованы полученные результаты взаимодействия исследуемых соединений и отобранных мишеней путем виртуального скрининга мишеней и докинг-анализа. Проведен сравнительный анализ пространственно-энергетических характеристик комплексообразования с идентичными результатами уже известных взаимодействий. Определены возможные типы и воздействия исследуемых соединений на отобранных мишеней.

Рис. 1, табл. 2, библиограф. ссылок 25.

Процесс поиска и идентификации «соединений лидеров» является трудоемким и зависит от многих факторов. Современный дизайн лекарственных соединений осуществляется с использованием нескольких подходов для идентификации и верификации «соединений лидеров» [1]. Одним из основных является использование методов молекулярного моделирования и хемоинформатики [2]. Использование отмеченных методов позволяет первично оценить биоактивность исследуемых соединений, определить возможные мишени, с которыми могут образовываться комплексы, и выявить типы и механизмы их действия [3]. Для решения данной задачи в современном дизайне лекарственных соединений с использованием вычислительной техники используются разные методы и программные пакеты [4]. Примером являются методики до-

кинг-анализа и виртуального скрининга, включающего предсказание мишеней и лигандов. Докинг-анализ в основном используется для конформационного поиска наилучшей и достоверной ориентации лиганда при комплексообразовании лиганд-мишень [5]. Для достижения максимального (приближенного к реальным условиям) результата обычно используется парный докинг – предсказание взаимодействия лиганда с мишенью [6]. Используя возможности обратного виртуального скрининга (поиск и предсказание мишеней), исследователь из существующих баз данных отбирает биомакромолекулы, которые могут стать потенциальными мишенями для исследуемых соединений [7]. В данной работе представлены результаты отбора мишеней и первичной оценки биоактивностей некоторых изониазидов [8] (рис.) с использованием методов молекулярного моделирования и хемоинформатики.

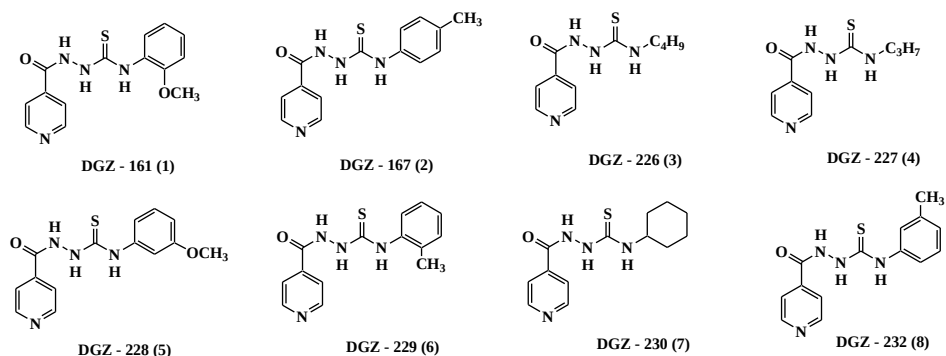


Рис. Структуры исследуемых изониазидов (соединений 1-8).

Материалы и методы

Для создания трехмерных молекулярных моделей исследуемых соединений была использована программа ChemOffice версии 13.0 [9]. Молекулярные модели исследуемых мишеней были взяты из базы данных RCSB [10]. Для проведения докинг-анализа использовали программные пакеты AutoDock Vina и AutoDock Tools [11]. Докинг-анализ проводился с использованием метода “слепой способ”. Статистическая достоверность результатов докинга обеспечивалась 5-кратной повторяемостью 20 начальных конформаций для каждого соединения с объемом пространственного поиска, не превышающей 27000 Å³. Определение константы связывания комплексообразований лиганд-мишень проводилось с использованием уравнения:

$$\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln \left(\frac{1}{K} \right),$$

где ΔG_{exp} – энергия взаимодействия, R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, K – константа связывания [12]. Конформацион-

ный анализ исследуемых взаимодействий осуществлялся с использованием программы Discovery Studio Visualizer v 19.1.0.18287 [13]. Определение фармакокинетических параметров и предсказание мишеней для исследуемых соединений проводились с использованием онлайн платформы Click2Drug [14]. Процесс кластеризации и визуализации результатов докинга проводились с использованием программы, созданной в лаборатории структурной биоинформатики ИБиФ РАН, на основе алгоритма FOREL в среде Python. Разработанная нами программа позволяет автоматизировать процесс многоступенчатого анализа данных, полученных в результате молекулярного докинга, с последующей визуализацией, что, в свою очередь, увеличивает эффективность представления данных. Статистический анализ результатов исследования проводился на основе комплексного применения стандартных статистических методов, включающих вычисления стандартных отклонений, средних значений, стандартных средних ошибок.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты расчета фармакокинетических параметров свидетельствуют, что все исследуемые соединения имеют высокое значение всасываемости через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), при этом не проходят через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (табл. 1). По оценке «Правила пяти» Липинского [15] все соединения имеют положительный результат. Исследуемые модели, кроме соединений **3** и **4**, соответствуют предъявленным критериям и могут рассматриваться как «соединения лидеры».

Процедура предсказания мишеней была проведена в 3 этапа. Первым является первичный отбор с использованием баз данных, после которого из 3068 первоначальных мишеней, на основе 2D и 3D сходства, были отобраны топ 100 мишеней. Вторым этапом были выбраны топ 15 мишеней, имеющие высокие коэффициенты сродства с исследуемыми соединениями (список не приведен). Третьим этапом являлось проведение докинга для всех соединений и отобранных мишеней.

**Рассчитанные фармакокинетические параметры
исследуемых соединений**

Соединение	Фармакокинетика			Коэффициент «подобия лекарства»		Медицинская химия	
	всасываемость через ЖКТ	переход через ГЭБ	Log Kp, см/с	критерии Липинского	биодоступность (0-1)	соединение-лидер	синтетическая доступность (1-10)
1	Высокое	Нет	-7.01	Да	0.55	Да	2.69
2	Высокое	Нет	-6.63	Да	0.55	Да	2.56
3	Высокое	Нет	-6.90	Да	0.55	Нет	2.43
4	Высокое	Нет	-7.07	Да	0.55	Нет	2.33
5	Высокое	Нет	-7.07	Да	0.55	Да	2.65
6	Высокое	Нет	-6.63	Да	0.55	Да	2.73
7	Высокое	Нет	-6.66	Да	0.55	Да	2.59
8	Высокое	Нет	-6.67	Да	0.55	Да	2.58

В результате докинг-анализа и полученных пространственно-энергетических характеристик комплексообразования были выбраны мишени для каждого соединения, проявляющие высокие значения константы связывания. На основе построенных конформационных карт для каждого комплекса были определены пространственные координаты комплексообразования и выявлены типы взаимодействий лигандов с мишенями. В табл. 2 приведены результаты предсказания мишеней и возможных воздействий исследуемых соединений на них. Полученные результаты сравнительного анализа пространственного расположения и выявленные типы взаимодействий лигандов в активных центрах отобранных мишеней с известными литературными данными свидетельствуют, что в основном имеет место ингибирующий тип действия [19,20], при этом все соединения, кроме **2**, могут проявлять противоопухолевые свойства [16,17, 19, 22-25]. Необходимо отметить, что соединения **3** и **6** имеют идентичный тип действия на ту же мишень.

Таблица 2

**Результаты предсказания мишеней *in silico* и возможные действия
исследуемых лигандов на них**

Соединение	Выявленная мишень	Энергия связывания, ккал/моль	Константа связывания	Возможное действие	Тип действия
1	каталитическая субъединица α протеинкиназы А	-8,53 $\pm$ 0,42	1,6 $\times$ 10 ⁶	противоопухолевое [16, 17]	ингибитор
2	простаноидный рецептор EP3	-8.59 $\pm$ 0,42	1,8 $\times$ 10 ⁶	повышение моторики ЖКТ, снижение глазного давления [18, 19]	активатор
3	рецептор колониестимулирующего фактора макрофагов	-7.16 $\pm$ 0,35	1,8 $\times$ 10 ⁵	противоопухолевое и антиинфламаторное[20, 21]	ингибитор
4	цитохром P450	-5.81 $\pm$ 0,35	1,7 $\times$ 10 ⁴	противоопухолевое [22]	ингибитор
5	танкираза 2	-7.62 $\pm$ 0,38	3,5 $\times$ 10 ⁵	противоопухолевое [23]	ингибитор
6	рецептор колониестимулирующего фактора макрофагов	-8.94 $\pm$ 0,45	3,3 $\times$ 10 ⁶	противоопухолевое и антиинфламаторное[20, 21]	ингибитор
7	карбоновая ангидраза IX	-7.37 $\pm$ 0,36	2,3 $\times$ 10 ⁵	противоопухолевое (антикарциноген) [24]	ингибитор
8	рецептор, активируемые протеазами тип 1	-8.36 $\pm$ 0,41	1,2 $\times$ 10 ⁶	противоопухолевое (антикарциноген) [25]	ингибитор

Использованные в работе подходы и методы современного *in silico* дизайна лекарственных соединений дают возможность первичной оценки биоактивностей исследуемых соединений, что, в свою очередь, снижает финансовые затраты и время на физические эксперименты. Полученные результаты позволят исследователю в дальнейших экспериментах верифицировать биоактивность исследуемых «соединений лидеров», используя результаты *in silico* экспериментов.

Работа выполнена под руководством Г.Г. Данагуляна и Л.С. Унаняна за счет средств, выделенных в рамках субсидии Минобрнауки России на финансирование научно-исследовательской деятельности РАУ.

**ՈՐՈՇ ԻԶՈՆԻԱԶԻԴՆԵՐԻ ՖԱՐՄԱԿԻՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՅՈՒՅԱՆԻՇՆԵՐԻ
ՈՐՈՇՈՒՄ ԵՎ ԹԻՐԱԽՆԵՐԻ ԿԱՆԽԱՏԵՍՈՒՄ ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ՄՈԴԵԼԱՎՈՐՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՄԱՆ ՄԻՋՈՑՈՎ**

Ա. Տ. ՄԱԿԻՉՅԱՆ, Տ. Մ. ՋԱԼՅԱՆ և Վ. Կ. ՂԱՐԻԲՅԱՆ

Ներկայացված են որոշ իզոնիազիդների՝ պիրիդին-4-կարբոնաթթվի թիոսեմիկարբազիդների ածանցյալների *in silico* հետազոտման արդյունքները՝ դրանց ֆարմակոկինետիկ հատկանիշների որոշման համար, ինչպես նաև կատարվել է թիրախների կանխատեսում, որոնց հետ հետազոտվող նյութերը ցուցաբերում են կոմպլեքսագոյացման բարձր ցուցանիշներ: Որպես գնահատական ցուցանիշ /ֆունկցիա/ օգտագործված էին հետազոտվող միացությունների փոխազդեցությունները ընտրված թիրախների հետ վիրտուալ սկրինինգի և դոկինգ հետազոտության միջոցով: Իրականացվել է կոմպլեքսագոյացման տարածաձևերգետիկ ընդլայնման համեմատական վերլուծություն նմանատիպ հայտնի փոխազդեցությունների արդյունքների հետ: Որոշված են ընտրված թիրախների վրա հետազոտվող նյութերի ազդեցության հնարավոր տարբերակները և ձևերը:

**DETERMINATION OF PHARMACOKINETIC PARAMETERS
AND PREDICTION OF TARGETS OF SOME ISONIAZIDES USING
METHODS OF MOLECULAR MODELING**

A. T. MAKICHYAN, T. M. ZALYAN and V. K. GHARIBYAN

Russian-Armenian University
123, Hovsep Emin Str., Yerevan 0051, Armenia
E-mail: ani.makichyan@rau.am

In the paper presented the results of *in silico* experiments to determine the pharmacokinetic parameters of some isoniazid derivatives of pyridine-4-carboxylic acid thiosemicarbazides as well as target prediction of the compounds, which exhibit high values of complexation, are presented. For the evaluation function of interaction are used they obtained from virtual screening and docking analysis. The ChemOffice software are used to create the three-dimensional models of investigations compounds. For docking analysis, Autodock Vina and Autodock tools are used. The conformational analysis of the investigated interactions was carried out using the Discovery Studio Visualizer v 19.1.0.18287. Conformational maps of interaction are constructed, as well as amino acid residues involved in the complexation process were identified. Possible types and effects of the under study compounds on the selected targets were determined. The complexation energies and binding constants of the compounds and the selected targets are calculated. A comparative analysis of the spatial and energy characteristics of complexation with identical results of already known interactions is carried out.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Kunal R. In Silico Drug Design // Academic Press, 2019, 886 p. (ISBN 978-0-12-816125-8, <https://doi.org/10.1016/C2017-0-04310-0>).
- [2] Xu J. Chemoinformatics and drug discovery// Molecules, 2002. <https://doi.org/10.3390/70800566>.
- [3] Surabhi B., Singh K. // Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 2018, v. 8, p. 504. 10.22270/jddt.v8i5.1894.
- [4] Yu W., MacKerell A. // Methods Mol Biol., 2017, v.1520: p.85, (doi: 10.1007/978-1-4939-6634-9_5).
- [5] McInnes C. // Current Opinion in Chemical Biology, 2007, v.11, Iss 5, p. 494 (<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.08.033>).
- [6] Раевский О. Моделирование соотношений "структура-свойства" изд. Добросвет, 2008, 288 с.
- [7] Kitchen D., Decornez H., Furr J., Bajorath J. // Nature methods and applications Nature Reviews Drug Discovery, 2004, v. 3, iss 11, p. 935 (<https://doi.org/10.1038/nrd1549>).
- [8] Данагулян Г.Г., Залян Т.М. / "От синтеза полиэтилена до стереодивергентности", материалы Международной научной конференции, посвященной 100-летию органической химии ПГНИУ, Пермь, 2018, с. 102.
- [9] <https://www.perkinelmer.com/product/chemoffice-professional-chemofficepro>.
- [10] <https://www.rcsb.org/>
- [11] Trott O., Olson A.J. // Journal of computational chemistry, 2010, v. 31(2), p. 455.
- [12] Ландау Л., Лифшиц Е. Теоретическая физика, 1976, Т V. Статистическая физика, часть 1.
- [13] BIOVIA D. S. BIOVIA Discovery Studio (2017) R2: A comprehensive predictive science application for the Life Sciences //San Diego, CA, USA <http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio>. – 2017.
- [14] <http://www.click2drug.org/>
- [15] Lipinski C. // Drug Discovery Today: Technologies, 2004, 1(4), p. 337.
- [16] Søberg K., Skålhegg B.S. //Frontiers in endocrinology, 2018, v. 9, p. 538. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00538>.
- [17] Turnham R., Scott J. // Gene, 2016, v. 577(2), p. 101. (<https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.11.052>).
- [18] Kim M., Jiao H., Kim S. // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2017, v. 390 (9), p. 961 (doi:10.1007/s00210-017-1398-8).
- [19] Waterbury D., Eglen R., Faurot G., Cooper G. // Investigative Ophthalmology & Visual Science, 1990, v. 31, (12) p. 2560.
- [20] Patel S., Player M. // Curr. Top Med Chem., 2009, v. 9 (7) p. 599 (doi:10.2174/156802609789007327. PMID 19689368).
- [21] Cannarile M., Weissner M., Jacob W. // Journal for Immunotherapy of Cancer, 2017, v. 5 (1), p. 53 (doi:10.1186/s40425-017-0257-y. PMC 5514481. PMID 28716061).
- [22] Gay S., Roberts A., Halpert J. // Future medicinal chemistry, 2010, v. 2 (9), p. 1451 (<https://doi.org/10.4155/fmc.10.229>).
- [23] Haikarainen T., Krauss S., Lehtio L. // Current pharmaceutical design, 2014, v. 20 (41), p.6472 (<https://doi.org/10.2174/1381612820666140630101525>).
- [24] Supuran C., Winum J. // Future Med. Chem., 2015, v. 7 (11), p. 1407 (doi:10.4155/fmc.15.71).
- [25] Liu X., Yu J., Song S. // Oncotarget, 2017, v. 8 (63), p. 107334 (<https://doi.org/10.18632/oncotarget.21015>).