

к производным галактозы по сравнению с производными глюкозы.

По программе AIMALL (aim.tkgristmill.com) с использованием волновой функции, полученной методом Хартри-Фока с базисным набором 3-21G для геометрии, найденной методом QM/MM, был проведен AIM-анализ белка, углевода и конъюгатов в случае системы 1,3- α -дигалактоза с лектином.

Для пар атомов, один из которых входит в состав лектина, а другой в состав α -1,3-*D*-дигалактозы, между которыми можно предположить образование водородных связей, нами на уровне теории HF/3-21G была проанализирована электронная плотность (ρ_b) в критической точке связи (ВСП) и лапласиан электронной плотности в ВСП ($\Delta\rho_b$) (табл. 2).

Таблица 2

Значения ρ_b и $\Delta\rho_b$ (а.е.) в критических точках связей

Номера атомов	ρ_b	$\Delta\rho_b$
O44...H152	0,0435	0,156
O128...H95	0,0222	0,092
H119...O130	0,0154	0,084
O9...H154	0,0492	0,138
H68...O139	0,0057	0,032

Примечание: O44 — атом кислорода COOH-группы остатка *L*-аспарагиновой кислоты. H95 — атом водорода CONH₂-группы остатка *L*-аспарагина. H119 — атом водорода OH-группы остатка *L*-серина. O9 — атом кислорода COOH-группы остатка *L*-глутаминовой кислоты. H68 — атом водорода OH-группы остатка *L*-тирозина. H152, H154 — атомы водорода OH-групп остатка *D*-галактозы. O128, O130, O139 — атомы кислорода OH-групп остатков *D*-галактозы.

С позиций квантовой теории «атомы в молекулах» (AIM) Р. Бейдера водородную связь характеризует небольшая электронная плотность в критической точке связи, а также положительный лапласиан. Чем больше электронная плотность в ВСП, тем сильнее водородная связь. Таким образом, можно сделать вывод, что образуются 5 водородных связей, причем две из них (O44...H152 и O9...H154) можно выделить как более сильные.

Эти наиболее прочные связи осуществляются между атомами кислорода карбоксильных групп аспарагиновой и глутаминовой кислот и атомом водорода гидроксильной группы галактозного звена. Менее прочные водородные связи присутствуют между атомами водорода амидной группы аспарагина и кислорода гидроксильной группы галактозного фрагмента, атомами водорода гидроксильной группы серина и кислорода гидроксильной группы галактозного остатка.

Таким образом, анализ топологических свойств электронной плотности указывает на доминирующую роль остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот в белок-углеводном связывании.

В работе проведено сравнение углеводной специфичности природного лектина арахиса и лектинов его искусственных мутантов, в которых остаток *L*-глутаминовой кислоты (129-й аминокислотный остаток) замещен другими аминокислотными звеньями. Выяснилось, что такое замещение вызывает существенное повышение ингибирующих концентраций углевода, то есть снижение специфичности. Указанный результат согласуется с данными осуществленного нами AIM-анализа.

Результаты проведенного молекулярного моделирования коррелируют с данными экспериментов по вторичной структуре аминокислотной цепи лектина арахиса, по углеводной специфичности, а также вкладе в нее природы аномеров углеводов и звеньев *L*-глутаминовой кислоты. Последнее подтверждает предсказательную силу метода QM/MM в целом, энергии образования конъюгата белок-углевод как критерия углеводной специфичности, а также электронной плотности в критической точке связи и лапласиана этой величины в отношении установления ключевых для проявления лектиновой активности аминокислотных остатков.

УДК 577.2

МИРАЖИ 3D-МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

П. М. Васильев

Волгоградский государственный медицинский университет

Проведен сравнительный анализ возможностей моделирования биологической активности химических соединений.

Ключевые слова: 3D-моделирование, 2D-моделирование, докинг.

В настоящее время эффективный экспериментальный поиск новых соединений с высокой фармакологической активностью осложняется рядом факторов, главными из которых являются следующие:

1. Огромное число химических структур.
2. Большое разнообразие видов биологической активности.
3. Дороговизна первичного синтеза новых химических структур.
4. Высокая стоимость биологических экспериментов.
5. Достижение естественного максимума по многим видам фармакологической активности, обусловленного особенностями функционирования организма человека.

Указанные препятствия привели к резкому снижению эффективности поиска новых лекарственных средств.

Поэтому в настоящее время обязательным начальным этапом поиска фармакологически ак-

тивных веществ является использование внеэкспериментальных компьютерных методов *in silico*.

Классические 2D-методы в прогнозе биологической активности химических соединений используются уже более 50 лет. Методы молекулярного моделирования стали применяться в 3D-QSAR в 1970-х гг., но их широкое использование относится к началу 1990-х гг., когда появились первые ПК с развитыми графическими интерфейсами.

В 2D- и 3D-QSAR-системах используются различные способы представления химических данных, но все они исходят из классической структурной формулы соединения. Адекватные способы извлечения содержащейся в ней информации позволяют получить до 90 % сведений о свойствах изучаемого вещества даже без построения 3D-молекулярной модели. Широко применяемые в 3D-моделировании методы молекулярной механики и полумпирические методы квантовой химии основаны, прежде всего, на параметризации двухмерных структурных фрагментов молекулы, а это означает, что наиболее распространенные 3D-подходы являются производными от 2D-методов.

Адекватный прогноз фармакологической активности методами 3D-молекулярного моделирования осложняется несколькими проблемами.

1. Недостаточная точность построения сложных молекулярных моделей.
2. Отсутствие учета влияния среды.
3. Проблема совмещения нежестких, конформационно подвижных молекул.

Вышеперечисленные недостатки приводят к тому, что 3D-подходы далеко не всегда превосходят по эффективности 2D-методы.

Сравнение восьми программ докинга (DOCK, FlexX, FRED, Glide, GOLD, SLIDE, Surflex, QXP) по способности вычислять положение лигандов в сайте связывания тимидин-киназы и по точности виртуального скрининга ингибиторов этого фермента показало, что только три из них (Glide, GOLD, Surflex) выполняют свои функции с приемлемой точностью.

В аналогичном исследовании для трех докинговых систем (Glide, GOLD, ICM) сравнивалась способность вычислять положение лигандов в сайтах связывания трех фармакологически релевантных белков-мишеней и точность виртуального скрининга таких соединений. Было показано, что средняя прогностическая способность программы Glide составляет 61 %, для GOLD она равна 48 %, а для ICM изменяется от 45 % до 61 %.

В работе приводят результаты проверки точности девяти различных QSAR-систем в виртуальном скрининге, активных в отношении 11 ферментных биомшеней и соединений. На двух тестовых выборках из 24 580 и 9 869 структур тестировались два метода 2D-сходства, четыре метода 3D-сходства и три программы докинга. Результаты при-

ведены в табл. 1, из которой видно, что наиболее точными оказались 2D-методы, для 3D-методов сходства получены промежуточные результаты, а методы докинга показали низкую эффективность.

Таблица 1

Средняя эффективность 2D- и 3D-методов виртуального скрининга

2D-сходство	K_E	3D-сходство	K_E	Докинг	K_E
TOPOSIM	21,2	SQW	15,9	FLOG	4,6
Daylight	17,2	SQW-Shape	7,4	Glide	11,5
		ROCS	7,4	FRED	7,4
		ROCS-color	19,6		

Примечание. K_E — отношение доли активных соединений среди активных по прогнозу структур к доле активных соединений в тестовой выборке.

Сравнение прогностических возможностей семи известных 2D-, 2.5D- и 3D-систем было проведено с использованием метода PLS способами автопрогноза, скользящего и независимого контроля на выборках соединений, активных в отношении восьми важных в фармакологическом отношении белков-мишеней. Показателем точности прогноза служил квадрат коэффициента корреляции, характеризующий долю правильно спрогнозированных соединений. Средние значения этого параметра по 8 видам биологической активности приведены в табл. 2, из которой видно, что все 2D-, 2.5D- и 3D-методы обладают примерно одинаковой точностью.

Таблица 2

Средние показатели точности прогноза известных QSAR-систем

Метод	R^2 , %	Q^2 , %	R^2_{test} , %
Cerius ² (2D)	76	68	47
HQSAR (2D)	84	72	30
CORINA (2.5D)	82	72	51
CoMFA (3D)	80	68	49
CoMSIA-basic (3D)	76	65	52
CoMSIA-extra (3D)	73	66	49
EVA (3D)	84	70	36

Примечание. R^2 , Q^2 , R^2_{test} — точность прогноза PLS-моделей по результатам автопрогноза, скользящего контроля и независимого тестирования.

ИТ «Микрокосм» является 2D-QSAR-системой, основанной на представлении химической структуры в виде совокупности 2D-подструктурных дескрипторов языка QL.

С целью сравнения прогностической способности ИТ «Микрокосм» и указанных в табл. 2 QSAR-систем проведено следующее исследование.

Обучающая выборка из работы, включающая 76 ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (ACE), была подвергнута кластерному анализу по величине pIC_{50} . В результате выявлено три класса соединений: с высокой, умеренной и низ-

кой активностью. С использованием ИТ «Микрокосм» по трем стратегиям прогноза рассчитаны решающие правила для прогноза высокого уровня АСЕ-ингибирующей активности, как наиболее интересного в практическом отношении. Прогностическая способность полученных QSAR-зависимостей оценивалась по обучающей выборке способами автопрогноза и скользящего контроля, а также способом независимого тестирования по выборке из 38 соединений, данные о которых не использовались при расчете решающих правил. Сопоставление полученных результатов и результатов из работы приведено в табл. 3.

Таблица 3

Сравнение точности прогноза известных QSAR-систем и ИТ «Микрокосм»

Метод	$R^2_{\text{а}} \%$	$Q^2_{\text{в}} \%$	$R^2_{\text{т}} \%$
Cerius ² (2D)	76	68	47
HQSAR (2D)	84	72	30
CORINA (2.5D)	82	72	51
CoMFA (3D)	80	68	49
CoMSiA-basic (3D)	76	65	52
CoMSiA-extra (3D)	73	66	49
EVA (3D)	84	70	36
ИТ «Микрокосм»	$F_{\text{а авто}} \%$	$F_{\text{в лооув}} \%$	$F_{\text{т тест}} \%$
Консервативная стратегия	97	90	80
Нормальная стратегия	95	91	76
Рисковая стратегия	97	89	68

Примечание. $F_{\text{а авто}}$, $F_{\text{в лооув}}$, $F_{\text{т тест}}$ — точность прогноза в ИТ «Микрокосм» наличия/отсутствия высокого уровня АСЕ-ингибирующей активности по результатам автопрогноза, скользящего контроля и независимого тестирования.

Из табл. 3 видно, что во всех трех тестах по всем трем стратегиям ИТ «Микрокосм» превосходит по точности все семь известных 2D-, 2.5D- и 3D-QSAR-систем прогноза биологической активности.

Заключение: итоги тестирования 2D- и 3D-методов прогноза биологической активности показывают, что 2D-QSAR-системы позволяют получать не менее точные в сравнении с 3D-подходами результаты, более того, они часто превосходят по точности методы 3D-QSAR-анализа и докинга.

В отличие от 2D-подходов 3D-методы основаны на более сложных моделях, имеющих весьма жесткие допущения и ограничения; они намного более трудоемки, требуют значительно большего объема вычислений и времени; для их использования часто необходима дополнительная информация о структуре белков, не всегда достаточно достоверная и доступная; применение их для обработки больших массивов химико-биологической информации подчас бывает проблематичным.

Программные среды для поиска биологически активных веществ *in silico* методами молекулярного моделирования, докинга и 3D-QSAR являются дорогостоящими, что делает их недоступными для подавляющего большинства российских ученых.

В настоящее время наблюдается кризис 3D-методов и «ренессанс» 2D-систем: во всем мире активно разрабатываются новые и модифицируются ранее созданные 2D-подходы к прогнозу биологической активности химических соединений.

УДК 615.2:547.785.5

**НАПРАВЛЕННЫЙ ПОИСК
В ИТ «МИКРОКОСМ» НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
БЕНЗИМИДАЗОЛА И ИНДОЛА
С ВЫСОКОЙ P2Y₁-АНТИПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

**П. М. Васильев, А. Ю. Стуковина,
А. А. Спасов, В. А. Анисимова***

*Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоградский научный центр РАМН и Администрации Волгоградской области, НИИ физической и органической химии Южного федерального университета**

С использованием ИТ «Микрокосм» проведен направленный поиск новых производных бензимидазола и индола с высокой P2Y₁-антипуринергической активностью.

Ключевые слова: бензимидазол, индол, антипуринергическая активность.

В настоящей работе с применением ИТ «Микрокосм» проведен направленный поиск новых соединений среди конденсированных производных бензимидазола и индола, проявляющих высокую P2Y₁-антагонистическую активность.

Первичный скрининг 56 конденсированных бензимидазолов был выполнен без использования компьютерных методов прогнозирования. Действие веществ на P2Y₁-рецепторы оценивали по их влиянию в концентрации 1·10⁻⁶ М на степень АДФ-индуцированной (7·10⁻⁸ М) активации тромбоцитов в безкальциевой среде с использованием метода малоуглового светорассеяния. Препаратом сравнения был выбран селективный P2Y-антагонист Basilen Blue, подавляющий активацию тромбоцитов на 21,5 %. В результате кластерного анализа полученных данных выявлены три класса P2Y₁-блокирующей активности: «высокая», «умеренная» и «низкая». В класс соединений с активностью «высокая» вошли 13 веществ; таким образом, точность некомпьютерного поиска составила 23,2 %.

На первом этапе в ИТ «Микрокосм» по трем градациям уровня P2Y₁-антагонистических свойств и трем стратегиям прогноза были рассчитаны 9 исходных решающих правил. По результатам тестирования на обучающей выборке три решающих правила для уровня активности «умеренная» были исключены из рассмотрения. Полученные 6 решающих правил для градаций активности «высокая» и «высокая или умеренная» были использованы для последующего прогноза. Наи-