

◆ УДК 615.213:547.898].07

*О. А. Раевский, А. М. Сапегин, Н. В. Лукьянв, В. В. Чистяков,
Г. И. Ванькин, В. П. Соловьев, А. Ф. Солдтнв, В. В. Ткачев,
Л. О. Атовмян, А. С. Штепанек, Т. Н. Кудря, А. М. Пинчук,
В. Е. Зубарева, И. И. Булгак*

МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЯЗИ СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ. МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ АНТИКОНВУЛЬСАНТЫ

Институт физиологически активных веществ АН СССР, отделение Института химической физики АН СССР, Московская область; Институт органической химии АН УССР, Киев, Институт химии АН МССР, Кишинев

Макроциклические полиэфиры (МП) обладают способностью образовывать комплексы с различными ионами биометаллов и алкиламмониевых фрагментов [10]. В биологических объектах комплексообразование обуславливает такие процессы, как ферментативный катализ, ингибирование, репликация, хранение и передача генетической информации, иммунный ответ, баланс концентраций ионов снаружи и внутри клеток. В связи с этим МП являются предметом пристального внимания прежде всего специалистов по биомиметической химии, изучающих проблемы кооперативного связывания нескольких активных центров лигандов с одним катионом [15] и хирального узнавания в диастереомерных активированных комплексах с участием макроциклических молекул [22].

Публикаций, связанных с изучением физиологической активности синтетических макроциклических соединений, исключительно мало. Из имеющихся работ большая часть связана с оценкой токсикологических свойств [21]. Действие макроциклов на центральную нервную систему изучалось для ряда диаза-18-краун-6, содержащих в качестве заместителей при атоме азота остатки аминокислот [8]. В работе [8] было обнаружено, что такие соединения предупреждают судороги, вызываемые коразолом, тиосемикарбазидом, ареколином, стрихнином и максимальным электрошоком.

В предыдущей публикации нами представлены сведения о некоторых психотропных свойствах девяти широко используемых МП [24]. Из результатов этой работы очевидно, что психотропная активность таких соединений в значительной мере определяется числом электронодонорных центров макроцикла, его размерами, природой заместителей при макроциклическом каркасе. Тем самым становится правомерной постановка задача целенаправленного поиска эффективных психотропных веществ среди МП.

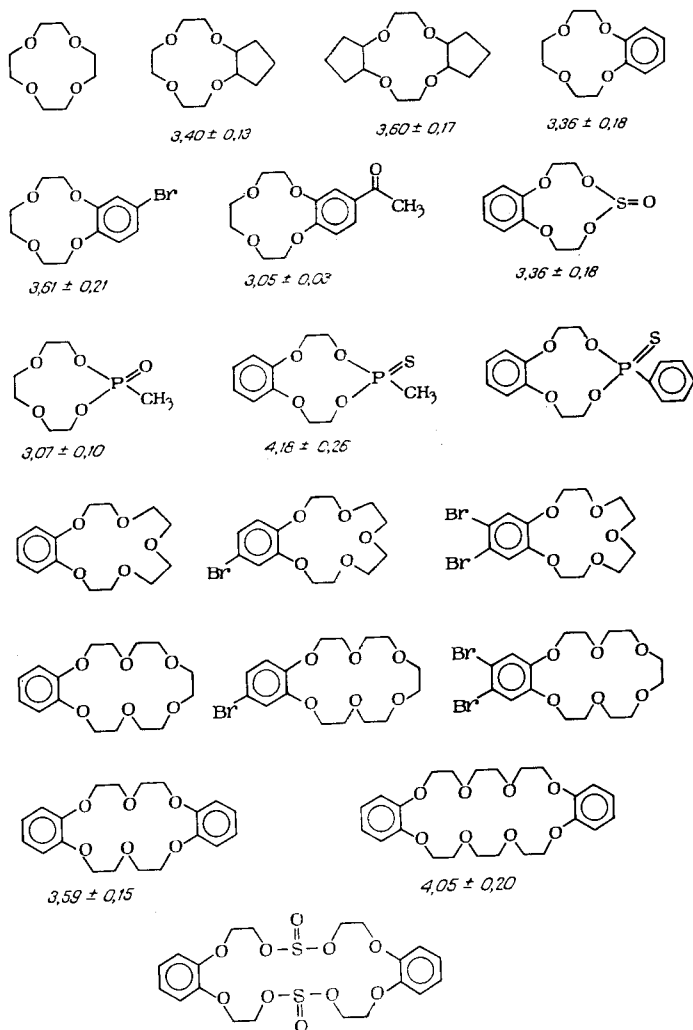
Успех решения этой задачи в значительной степени определяется полнотой и корректностью описания структуры исследуемых соединений. С этой точки зрения, математического моделирования связи структура — активность как процесса выявления набора наиболее информативных дескрипторов структуры и построения на их основе функциональной зависимости, адекватной данным о биоактивности, часто оказывается недостаточно для определения направления поиска перспективных соединений. В процессе построения прогностической модели структура — активность наряду с математическим моделированием должно быть включено построение модели описания структуры, базирующееся на анализе физико-химических свойств и знаниях эксперта-физхимика о строении (в том числе возможных конформациях) изучаемых соединений. Чтобы подчеркнуть это обстоятельство, в настоящей работе введено понятие «физико-химического моделирования» как процесса совместного построения обладающей ясным физическим смыслом модели описания структуры изучаемых соединений и модели связи этого описания структуры с проявляемой ими биологической активностью. Такая трактовка физико-химического моделирования отлич-

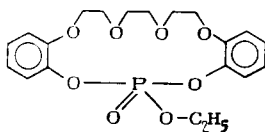
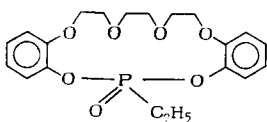
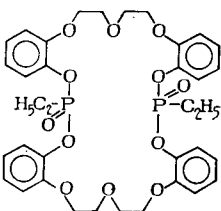
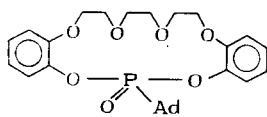
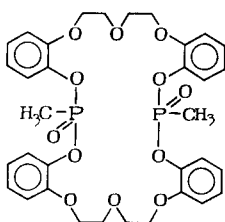
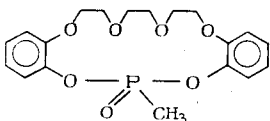
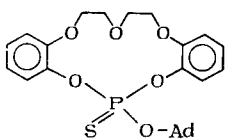
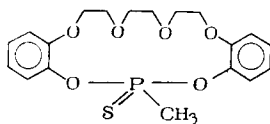
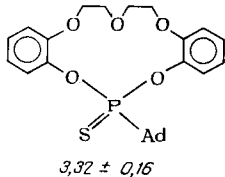
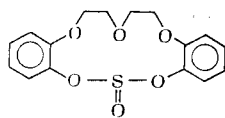
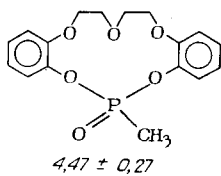
чается от традиционного использования физико-химических параметров структуры для моделирования связи структура — активность, основанного на априорно заданных физико-химических моделях [18].

В настоящей публикации представлены результаты моделирования связи структура — активность в ряду краун-эфиров на примере их противосудорожного действия. Структурные формулы изученных соединений представлены на схеме.

Экспериментальная биологическая часть

Противосудорожную активность соединений оценивали по тесту максимального электрошока (МЭШ) при трансаурикальном раздражении (53 мА; 0,5 с, 50 Гц). В опытах использовали белых беспородных мышей массой 20—22 г. Вещества вводили внутривенно в виде раствора или взвеси в оливковом масле за 15—20 мин до эксперимента. Противосудорожным действием краун-эфиров считали предупреждение тонических проявлений и смерти животных. Результаты обрабатывали по методу Литчфилда и Уилкоксона при $P < 0,05$. Среднеэффективные дозы ED_{50} (в мг/кг) приводили к $lg\ 1/C_0$, где C_0 — концентрация полиэфиров в организме, выраженная в молях на 1 л, при допущении их равномерного распределения и примерного равенства плотности воды и тканей организма. Всего в настоящей работе изучено 34 макроциклических соединения, для 16 из которых значения $lg\ 1/C_0$ находились в интервале 3,05—4,47, и они были отнесены к выборке активных соединений в дискриминантном анализе. 18 оставшихся соединений, не предупреждающих судорог в дозах до 250 мг/кг ($0 < lg\ 1/C_0 < 3,0$), составили выборку неактивных соединений. В качестве стандартных веществ были выбраны депакин и седуксен, значения $lg\ 1/C_0$ для кото-





рых оказались равными 3,13 и 4,90 соответственно. Соответствующие данные о биологической активности с их 95% доверительными интервалами для 30 соединений изученного ряда представлены в схеме.

Методика моделирования и анализа данных

На этапе качественного анализа связи структура — активность для выявления наиболее информативных дескрипторов структуры и физико-химических свойств исследуемых соединений, связанных с проявляемой макроциклами психотропной активностью, был использован метод «обобщенного портрета» [1] в дискриминантном анализе. В этом методе на множестве векторов Z , представляющих разности векторов (компоненты которых состоят из дескрипторов структуры) обучающей выборки активных (X) и неактивных (\bar{X}) соединений:

$$Z = \{Z_{ij} = X_i - \bar{X}_j\}, \quad \begin{matrix} i = 1, 2, \dots, N \\ j = 1, 2, \dots, M \end{matrix}$$

где N и M — объемы выборок (число векторов) для активных и неактивных соединений соответственно, строится такой минимальный по модулю вектор Φ_0 , чтобы проекции векторов X и \bar{X} на его направление наиболее далеко отстояли друг от друга, т. е.,

$$\Phi_0 = \arg \max \left[\min_{X_i \in X} X_i^T \Phi - \max_{\bar{X}_j \in \bar{X}} \bar{X}_j^T \Phi \right].$$

Вектор Φ_0 в этом случае называется оптимальным обобщенным портретом, а соответствующая ему ориентированная гиперплоскость $X \Phi_0 = C_0$, где

$$C_0 = \frac{1}{2} \cdot \left(\begin{array}{c} \min X_i^T \varphi_0 + \max \bar{X}_j^T \varphi_0 \\ X_i \in X \quad \bar{X}_j \in \bar{X} \end{array} \right)$$

является оптимальной с точки зрения разделения соединений на активные ($X \varphi_0 > C_0$) и неактивные ($\bar{X} \varphi_0 < C_0$).

Минимальное подпространство наиболее информативных дескрипторов, обеспечивающих заданное качество разделения соединений на активные и неактивные, определялось с помощью одной из трех схем пошагового дискриминантного анализа (добавлением дескрипторов, выбрасыванием дескрипторов, комбинированной: поочередное добавление и выбрасывание дескрипторов, начиная с некоторого базового набора), дающей наименьшее число дескрипторов. Качество решающего правила оценивалось по экзаменационной выборке соединений из соотношения правильных и ошибочных результатов отнесения.

Выявленное минимальное подпространство дескрипторов служило основой для моделирования описания структуры соединений путем введения новых дескрипторов, содержащих информацию, аналогичную выделенным информативным дескрипторам, и обладающих ясным физическим смыслом, с последующим дискриминантным анализом нового набора дескрипторов, и так до тех пор, пока не будет получено компактное, содержательное описание структуры исследуемых соединений. При этом в случае краун-эфиров принимались во внимание особенности их конформационных состояний (из рентгеноструктурных данных [9] и расчетов по методу молекулярной механики [18]), а также предполагаемый характер их взаимодействия с биологической мишенью [6, 7, 10, 24]. В качестве специфических молекулярных дескрипторов использовались индексы, основанные на донорно-акцепторных факторах [11, 13—15], отражающих комплексобразующие свойства краун-эфиров [12, 16, 23].

Количественные дескрипторы построенной модели описания структуры макроциклов использовались для моделирования связи структура — психотропная активность. Прогностическая модель количественной связи структура — активность (КССА) строилась в несколько этапов. На I этапе с помощью методов факторного анализа проверялись полнота описания структуры, скоррелированность переменных в модели, представительность выборки соединений. На II этапе с использованием пошагового регрессионного анализа отбирался минимальный набор информативных переменных.

Для проверки устойчивости количественной модели связи структура — активность и обеспечения возможности включения дополнительных переменных в модель (с целью ее уточнения за счет содержательных, но слабо вариабельных дескрипторов) на III этапе проводился сингулярный анализ. На основе этого анализа строилась регрессионная модель на характеристических компонентах сингулярного разложения матрицы плана с последующим пересчетом полученных коэффициентов к исходному набору переменных. На заключительном этапе модель КССА проверялась на адекватность с помощью дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение. При обсуждении возможного характера взаимодействия макроциклов с биомишенью вначале их биологическую активность связывали со способностью транспортировать ионы металлов через липидный бислой мембран в виде сэндвичевых комплексов [10]. Однако данные [6, 7] указывают на отсутствие прямой корреляции между ионофорной и биологической активностями. В настоящее время представляется, что в основе биологической активности макроциклов лежит их способность к образованию комплексов с катионами биомишени [24]. Поскольку макроциклические комплексоны являются в основном мембранотропными соединениями [7, 10, 24], то наиболее вероятным проявлением их комплексобразующих свойств может быть изменение поверхностного заряда (потенциала) клеточных мембран. В пользу этого предположения свидетельствует обнаружение подобного действия у местных анестетиков и некоторых МП [9, 20]. Не исключено, что биологическая активность краун-эфиров реализуется и через прямое электронодонорное взаимодействие с регуляторными структурами биологических мембран. При этом во взаимодействии с мишенью одновременно принимает участие небольшое число электронодонорных центров лиганда.

Для проверки этого предположения, а также оценки влияния на антиконвульсантную активность других молекулярных свойств макроциклов, отражающих рассмотренные виды их взаимодействия с биомишенью, был проведен дискриминантный анализ по 47 дескрипторам трех классов: информационно-топологическим, молекулярным и дескрипторам субстрат-рецепторных комплексов.

В классе информационно-топологических дескрипторов были исполь-

Результаты дискриминантного анализа связи структура МП — психотропная активность

Соединение	Прогноз на обучении		Прогноз на экзамене	
	верно	нет	верно	нет
Активные	12 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)
Неактивные	15 (100)	0 (0)	3 (75)	1 (25)
Всего . . .	27 (100)	0 (0)	6 (85,7)	1 (14,3)

Примечание. В скобках дан процент.

присоединенный [18], молекулярная связность, индекс Винера [5], индекс Рандича [5] и информационные индексы Шеннона по химически эквивалентным атомам в брутто-формуле соединения (без атомов водорода), типам связей, характеру связей (простые, двойные и т. д.). В качестве молекулярных дескрипторов были использованы гидрофобность ($\log P$) [26], молекулярная рефракция (MR) [2], молекулярная масса соединения, молекулярная масса макроцикла, молекулярный объем [18], энтальпия образования [17]. Наконец, к дескрипторам субстрат-рецепторных комплексов [25] были отнесены количество донорных центров в молекуле, макроцикле; количество донорных центров, способных к кооперативному связыванию; донорно-акцепторные факторы этих центров и их суммы попарных произведений, отнесенные к количеству связей между донорными центрами:

$$E_{\text{ТЛ}} = \frac{\sum_{i,j} E_i E_j}{\Delta},$$

где E_i и E_j — электронодонорные факторы i -го и j -го центров соответственно; Δ — количество связей между ними; или к геометрическому расстоянию R , полученному из конформационных расчетов и рентгеноструктурных данных:

$$E_{\text{ТЛ}} = \sum_{i,j} E_i E_j / R,$$

а также энтропийные факторы электронодонорных центров.

Из рассмотренных дескрипторов минимальный набор после дискриминантного анализа составили энтропийный и два электронодонорных фактора, индекс Шеннона для эквивалентных по характеру связей в молекуле, индексы окружения — простой, взвешенный и присоединенный, а также два индекса, отражающих молекулярные свойства, — молекулярная масса и молекулярный объем. Результаты дискриминантного анализа на основе этих 9 дескрипторов представлены в таблице.

Полученные результаты подтверждают важную роль комплексобразующей способности макроциклов в формировании их психотропной активности и указывают на необходимость учета возможных стерических препятствий при взаимодействии МП с биомишенью. Так, среди высокоактивных соединений есть лиганды, в молекулах которых имеется три легко доступных электронодонорных центра. В связи с этим можно предположить, что взаимодействующая с мишенью сторона лиганда представляет собой треугольник, образованный электронодонорными атомами кислорода. Поэтому в качестве переменных в регрессионную зависимость структура макроцикла — антиконвульсантная активность были включены попарные произведения электронодонорных факторов этого треугольника и соответствующие расстояния между ними для равновесной конформации. При этом включение в модель только одного минимального расстояния между электронодонорными центрами треугольника уже дает коэффициент корреляции

зованы число вершин в молекулярном графе N_0 , число вершин степени $2n$ ($\delta=2$), $3n$ ($\delta=3$) и $4n$ ($\delta=4$), а также их суммы $\sum \delta_i$ [3]; число связей, в i том числе простых, двойных, ароматических (с исключением водорода и без него) [3]; количество циклов в молекулярном графе; количество атомов, не входящих ни в один цикл [4]; простой индекс [18], взвешенный индекс и

R 0,60, а введению двух попарных произведений электронодонорных факторов этого треугольника отвечает R 0,77. Еще более высокое значение коэффициента корреляции (R 0,92) дает включение в регрессионную модель наряду с произведениями электронодонорных факторов активных центров при минимальной (E_{12}) и максимальной (E_{23}) сторонах треугольника молекулярной массы (M):

$$\hat{Y} = -4,13 + 1,27E_{12} - 1,90E_{23} + 6,03M - 1,05M^2 \quad (S = 0,84; F = 16,2; n = 15),$$

где \hat{Y} — расчетное значение биоотклика; M — молекулярная масса, взятая с коэффициентом 0,01.

Следует отметить, что недостаточная вариабельность размеров активного треугольника и электронодонорных свойств входящих в него центров, а также ограниченность выборки соединений (особенно относительно заместителей, влияющих на транспортные свойства) не позволяют на данном этапе изучения МП ставить вопрос об определении количественных вкладов каждого из рассматриваемых дескрипторов в величину проявляемой активности. Эта задача может быть решена по мере накопления новых данных и расширения выборки соединений за счет синтеза новых перспективных соединений на основе установленной корреляции между параметрами структуры и антиконвульсантной активностью. Так, для изученных МП увеличение этой активности коррелирует с уменьшением минимального расстояния между активными центрами в треугольнике и увеличением их электронодонорной способности по отношению к третьему активному центру.

Дальнейшая работа по конструированию макроциклических антиконвульсантов представляется нам как синтез новых соединений, отвечающих требованиям построенной в данной работе модели с ее последующим уточнением за счет постоянного пополнения обучающей выборки соединений.

S U M M A R Y

The paper discusses the results obtained during physicochemical modelling of anticonvulsant activity-structure relationship in 34 macrocyclic compounds. It was suggested that a ligand side interacting with the target might represent a triangle formed by electronic donor atoms of oxygen. This means that the anticonvulsant activity of the macrocyclic compounds should be essentially affected by values of active centre electronic donor factors composing the triangle and by topography of these centres. To test this, a discriminant analysis was used, which enabled the activities of 32 out of 34 compounds tested to be precisely predicted. On the basis of the results from the discriminant analysis a regression equation was formulated, which included a molecular weight in addition to the electronic donor factors. Regression ratio-derived correlations between the structural parameters and anticonvulsant activity make it possible to make practical recommendations for designing new effective compounds.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алгоритмы и программы восстановления зависимостей / Под ред. В. Н. Вапника. — М., 1984.
2. Иоффе Б. В. Физические методы определения строения органических соединений. — М., 1984.
3. Кабанкин А. С., Лексина Л. А., Бондарева А. П. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1985. — Т. 19, № 6. — С. 709—714.
4. Кабанкин А. С., Бондарева А. П., Ландау М. А. // Там же. — 1986. — Т. 20, № 12. — С. 1466—1469.
5. Кузьмин В. Е., Коновороцкий Ю. П. // Журн. структ. химии. — 1985. — Т. 26, № 4. — С. 14—21.
6. Лукоянов Н. В., Раевский О. А., Штепанек А. С., Кудря Т. П. // Биол. мембраны. — 1984. — Т. 1, № 4. — С. 379—383.
7. Лукоянов Н. В., Ванькин Г. И., Журавлева Л. В. и др. // Там же. — 1985. — Т. 2, № 1. — С. 71—76.
8. Лукьяненко Н. Г., Богатский А. В., Воронина Т. А. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1985. — Т. 19, № 6. — С. 691—693.
9. Лукьяненко Н. Г., Богатский А. В., Савенко Т. А. и др. // Биофизика. — 1985. — Т. 30, № 3. — С. 427—430.
10. Овчинников Ю. А., Иванов В. Г., Шкроб А. М. Мембрано-активные комплексоны. — М., 1974.
11. Раевский О. А., Новиков В. П. // Хим.-фарм. журн. — 1982. — Т. 16, № 5. — С. 583—587.

12. Раевский О. А., Солотнов А. Ф., Штепанек А. С. и др. // Изв. АН СССР. Сер. химия. — 1984. — № 4. — С. 797—803.
13. Раевский О. А. Введение в конструирование биологически активных веществ. — М., 1984.
14. Раевский О. А., Григорьев В. Ю. Задачи по курсу «Конструирование биологически активных веществ.» — М., 1986.
15. Раевский О. А. // Теор. и exper. химия. — 1986. — Т. 22, № 4. — С. 450—463.
16. Раевский О. А., Трепалин С. В., Зубарева В. Е. и др. // Координационная химия. — 1986. — Т. 12, № 6. — С. 723—729.
17. Рид Р., Праусниц Дж. Свойства газов и жидкостей: Пер. с англ. — Л., 1982.
18. Стьюпер Э., Бриггер У., Джурс П. Машинный анализ связи химической структуры и биологической активности: Пер. с англ. — М., 1982.
19. Ткачев В. В., Атовмян Л. О., Раевский О. А. и др. // Всесоюзное совещание по кристаллохимии неорганических и координационных соединений, 4-е: Тезисы докладов. — Бухара, 1986. — С. 123.
20. Хашаев З. Х.-М., Григорьев П. А. // Биофизика. — 1987. — Т. 32, № 2. — С. 347—348.
21. Хираока М. Краун-соединения: Пер. с англ. — М., 1986.
22. Cram D. J., Cram J. M. et al. // J. Amer. chem. Soc. — 1977. — Vol. 99. — P. 2564—2570.
23. Izatt R. M., Bradshaw J. S., Nielsen S. A. // Chem. Rev. — 1985. — Vol. 85. — P. 271—339.
24. Lukojanov N. V., Vankin G. I., Panarin V. A. et al. // International Symposium on Macrocyclic Chemistry, 11th: Proceedings, — Florence, 1986. — P. 163.
25. Raevsky O. A. // QSAR in Drug Design and Toxicology. — Amsterdam, 1987. — P. 31—36.
26. Pekker R. F. The Hydrophobic fragmental Constant. — Amsterdam, 1977. — P. 350—355.