

УДК 541.69:541.572+615.781.6

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ОРИЕНТАЦИИ МОЛЕКУЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
В ПОЛОСТИ РЕЦЕПТОРА В РАМКАХ АЛГОРИТМА BiS**

© 2007 В.А. Потемкин, М.А. Гришина*, Е.В. Барташевич

*Челябинский государственный университет**Статья поступила 20 апреля 2006 г.**С доработки — 14 июня 2006 г.*

Предложен алгоритм BiS для моделирования ориентации молекул лекарственных средств в полости рецептора, основанный на предположении комплементарности поля биологически активных соединений полю рецептора, на котором они осуществляют действие. Сопоставление расчетных ориентаций биологически активных соединений различных классов на соответствующих рецепторах с данными рентгеноструктурного анализа (Protein Data Bank) показало, что результаты, полученные в рамках данного подхода, значительно лучше имеющихся в литературе. Предложенный метод позволил выявить детали механизма действия ДНК-антиметаболитов, ингибиторов дигидрофолатредуктазы. Найдена зависимость величины активности от параметров строения комплексов "рецептор—лиганд".

Ключевые слова: биологическая активность, 3D QSAR-метод, структуры комплексов "рецептор—лиганд", "хозяин—гость".

ВВЕДЕНИЕ

Исследование взаимодействия соединений в биологических системах, а также механизмов действия лекарственных средств требует изучения строения комплексов "рецептор—лиганд", которые по сути являются комплексами вида "хозяин—гость". На настоящий момент накоплен значительный материал исследований подобных систем методами рентгеноструктурного анализа (РСА), дифракции электронов и нейтронов, ЯМР спектроскопии [1]. Кроме экспериментальных исследований, для понимания характера взаимодействия в данных системах требуется теоретическое изучение закономерностей, обеспечивающих биологический эффект, возникающий в результате взаимодействия рецептора и лиганда. Данная проблема имеет как фундаментальное значение — установление механизмов биологического действия соединений, так и практическое — прогноз новых лекарственных средств. Очевидно, что задача расположения молекулы лекарственного средства в полости рецептора во многом сходна с проблемами упаковки молекул и не является тривиальной. Одним из основных этапов решения данной задачи является определение ориентации молекулы в полости рецептора, что позволяет определить силовые центры и характер взаимодействия, а также выявить фармакофорные фрагменты.

Для решения задачи ориентации на настоящий момент имеется ряд подходов. В основе большинства имеющихся подходов лежит предположение о геометрическом соответствии фармакофорной части молекулы сайту рецептора. Для "укладки" в полости рецептора, как и во многих традиционных подходах, используется пространствозаполняющая модель молекулы в виде объединения ван-дер-ваальсовых сфер. В разных вариантах решения использовали как жесткие сферы [2—6], так и сферы с переменной жесткостью [7—12]. Представленные многочисленные попытки, как правило, позволяют установить верную ориентацию только в рядах

* E-mail: maria_grishina@csu.ru

структурно аналогичных молекул. Попытки ориентации соединений разных классов приводят к значительным отклонениям от экспериментально установленного расположения молекулы в полости рецептора. Причины подобных отклонений являются достаточно очевидными: геометрическая форма молекулы является важной, но не единственной характеристикой, определяющей расположение молекулы в полости рецептора. Безусловно, ориентацию молекулы определяет весь комплекс ван-дер-ваальсовых, кулоновских и специфических взаимодействий

Среднеквадратичные отклонения истинных и предсказанных координат атомов молекул (σ), максимальное смещение координат атомов (Δr_{MAX}), а также углы между главными осями вращения экспериментально определенной ориентации и предсказанной ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$)

Вид активности	Соединение	$\sigma, \text{Å}$	$\Delta r_{\text{MAX}}, \text{Å}$	$\alpha_1, \text{град.}$	$\alpha_2, \text{град.}$	$\alpha_3, \text{град.}$	Вид активности	Соединение	$\sigma, \text{Å}$	$\Delta r_{\text{MAX}}, \text{Å}$	$\alpha_1, \text{град.}$	$\alpha_2, \text{град.}$	$\alpha_3, \text{град.}$	
Ингибиторы риновируса HRV14 (1ruc)*	1hri	0,14	0,15	5,7	6,9	5,9	Ингибиторы CDK2 (1bkx)	1agw	0,80	1,24	8,8	8,5	3,6	
	1hrv	0,28	0,41	4,2	4,1	2,1		1aq1	0,66	1,23	1,9	4,6	4,3	
	1r09	0,29	0,48	2,6	4,8	4,3		1atp	0,70	1,36	2,6	2,7	0,9	
	1ruc	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0		1bkx	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	
	1rue	0,02	0,04	3,4	5,5	4,7		1ckp	0,26	0,56	7,0	8,9	4,9	
	1rug	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0		2csn	0,74	1,09	7,2	7,2	1,2	
	1vrh	0,35	0,64	2,2	2,0	1,4		1fgi	0,81	1,64	3,3	4,3	2,7	
	2r04	0,18	0,22	0,3	1,3	1,2		2hck	0,81	1,63	1,8	1,7	1,0	
	2r06	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0		1ian	0,24	0,43	2,5	2,7	1,6	
	2r07	0,08	0,15	0,2	1,4	1,4		1stc	0,72	1,46	7,9	8,6	6,3	
	2rs5	0,14	0,15	0,1	0,8	0,8		1ydr	0,97	1,81	1,6	5,7	5,9	
	1r08	0,31	0,42	0,5	1,7	1,7		1yds	0,68	1,11	1,1	4,3	4,5	
	2hwb	0,18	0,26	4,7	5,0	3,0		1ydt	1,14	2,17	1,1	5,7	5,5	
	2hwc	0,14	0,24	4,9	7,0	6,0		ДНК-анти- метаболиты (1ims)	1d35	0,24	0,35	6,4	6,5	1,4
	1rud	0,29	0,35	6,4	6,5	8,7			1d37	0,61	1,02	8,8	8,9	1,4
	1ruh	0,30	0,38	6,5	5,8	9,0		Ингибиторы дигидрофол- атредуктазы (1rg7)	1ims	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0
	1rui	0,29	0,35	6,4	6,5	8,7			1rg7	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0
	2rm2	0,32	0,42	7,0	7,0	0,5			Hfp1	1,05	2,02	8,0	9,0	5,8
	2rr1	0,28	0,32	6,4	6,6	8,6								
	2rs1	0,29	0,36	6,4	6,5	8,7		Ингибиторы p38 MAP- киназы (1bl7)	1a9u	0,77	1,37	5,2	7,8	7,6
2rs3	0,36	0,40	6,2	7,7	4,2	1bl6	0,51		0,92	1,2	8,3	8,4		
Ингибиторы термолизина (5tmn)	1thl	0,87	1,93	2,2	1,8	1,8	1bmk		0,50	1,00	2,6	6,8	7,2	
	1tmn	0,45	0,92	4,0	4,3	3,9	1di9		0,80	1,28	5,2	6,9	8,3	
	1tlp	0,80	1,71	6,0	4,4	6,6	1ian		1,36	2,74	5,9	1,8	6,2	
	5tln	1,26	2,25	7,7	2,5	7,6	1kv1		0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	
4tmn	0,18	0,31	6,5	2,7	6,3	Ингибиторы эластазы (1eau)	1kv2		1,07	2,03	6,9	7,4	7,4	
3tmn	0,94	1,66	5,0	5,0	3,2		1ela		0,73	1,33	2,8	3,3	1,9	
5tmn	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0		1elb	0,80	1,30	6,1	7,1	7,5		
6tmn	0,01	0,02	0,1	0,1	0,1		1elc	0,86	1,74	7,0	8,4	7,0		
Ингибиторы эластазы (1eau)	1b0e	0,72	1,20	4,2	5,0		5,4	1eld	0,97	1,86	5,2	4,4	2,9	
	1bma	0,84	1,59	8,6	7,8		4,8	1ele	0,98	1,92	5,0	6,4	4,6	
	1eas	0,95	1,73	7,0	2,4		7,4	1inc	0,83	1,28	3,0	4,9	4,8	
	1eat	0,96	1,80	6,6	2,2		6,9	4est	0,20	0,35	1,2	2,4	2,4	
	1eau	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	7est	0,98	1,49	5,0	3,3	3,7		

* Название соединений соответствует названию в Protein Data Bank, в скобках стандартное соединение.

с рецептором. В совокупности данные виды взаимодействий определяют молекулярное поле, которое и должно обеспечивать максимальную комплементарность к рецептору биологически активных соединений. При этом следует иметь в виду, что каждая молекула с данным видом биологической активности содержит фрагменты, определяющие связывание с активными центрами рецептора. Эту часть молекулы можно назвать фармакофорной. Эффективностью связывания фармакофорной части молекулы с рецептором будет определяться величина биологической активности. Остальные атомы, которые не взаимодействуют с рецептором, могут выполнять роль "балластной" части молекулы. Разные молекулы могут связываться с разными активными центрами рецептора. Поэтому генеральная совокупность всех активных молекул должна достоверно описывать поле рецептора. Тогда для решения проблемы ориентации молекул в полости рецептора необходимо определение совокупного поля выборки молекул. Данная задача может быть решена в рамках 3D QSAR алгоритма BiS [13—17]. Возможность использования данного алгоритма для анализа биологической активности ранее была проверена на значительном количестве выборок соединений. Среди них противотуберкулезные, антибактериальные, противовоспалительные, противоопухолевые средства, субстраты цитохрома P450 и т.д. [13—17, 19, 20]. При этом рассматривали соединения различного строения и состава, включающие как типичные органоены, так и элементы высших периодов, в том числе переходные металлы [21]. С использованием алгоритма BiS определены фармакофорные части молекул, выявлены взаимосвязи биологической активности с характеристиками поля молекул. Показано, что коэффициенты корреляции полученных зависимостей составляют 0,90—0,99. В данной работе определена ориентация молекул в полости реального рецептора с использованием алгоритма BiS. Качество ориентации проверено при сопоставлении расчетных данных с данными PCA комплексов лекарственных средств с рецептором (см. таблицу).

АЛГОРИТМ BiS

Определение молекулярного поля в алгоритме BiS проводится с использованием кулоновского потенциала и потенциала ван-дер-ваальсовых взаимодействий, наводимых на точку m поверхности молекулы. Кулоновский потенциал определяется из известного уравнения:

$$\varphi_m^q = \sum_{i=1}^N \frac{q_i}{R_{im}} k, \quad (1)$$

где N — число атомов рассматриваемой структуры; q_i — заряд ее атома i ; R_{im} — расстояние от точки m до атома i ; k — коэффициент пересчета в единицы СИ.

Для расчета потенциала ван-дер-ваальсовых взаимодействий, наводимых на точку m , по аналогии с кулоновским предложено использование следующего уравнения [17]:

$$\varphi_m^{\text{VDW}} = -2 \sum_{i=1}^N V_{im} \frac{2^3 r_i^3}{R_{im}^6}, \quad (2)$$

где V_{im} — глубина минимума потенциальной энергии в соответствии с потенциалом Леннарда-Джонса; r_i — ван-дер-ваальсов радиус атома i . Расчет величин V_{im} , r_i и q_i может быть произведен в рамках модели MERA [18]. В уравнении (2) для упрощения расчетов учтено только притяжение за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий.

Комплементарное поле рецептора может быть смоделировано в виде совокупности псевдо-атомов (пробных сфер с некоторым зарядом и радиусом), контактирующих с поверхностью молекулы. Для определения характеристик комплементарного поля проводится определение кулоновских и ван-дер-ваальсовых потенциалов поля первой молекулы выборки. Полученные потенциалы позволяют определить характеристики псевдо-атома с центром в точке m (заряд q_m и радиус r_m), который обеспечивает максимальную комплементарность рассматриваемой молекуле в данной точке поля. Набор псевдо-атомов является моделью рецептора. Характеристики каждой пробной сферы m можно вычислить по формулам:

$$q_m = -\frac{\varphi_m^q}{\sum_{i=1}^N \frac{k}{R_{im}}}; \quad r_m = \sqrt[3]{\frac{\varphi_m^{\text{VDW}}}{-2^3 \sum_{i=1}^N \frac{2V_{im}}{R_{im}^6}}}$$

Затем в комплементарном поле в рамках комбинированного симплексного и квази-ньютоновского метода проводится оптимизация ориентации второй молекулы до достижения минимума совокупной вероятности контакта (P) ее атомов со всеми псевдо-атомами:

$$P = 1 - \prod_{m=1}^M (1 - p_m), \quad \text{где } p_m = \exp\left(-\frac{E_m}{RT}\right), \quad M \text{ — число пробных сфер};$$

$$E_m = \sum_{i=1}^N \left(\frac{kq_i q_m}{R_{im}} - 2V_{im} \frac{(r_m + r_i)^6}{R_{im}^6} + V_{im} \frac{(r_m + r_i)^{12}}{R_{im}^{12}} \right). \quad (3)$$

В найденной ориентации уточняется комплементарное поле рецептора путем добавления потенциалов поля второй молекулы к имеющимся: $\varphi_m^q = \varphi_m^q + \varphi_m^{q'}$; $\varphi_m^{\text{VDW}} = \varphi_m^{\text{VDW}} + \varphi_m^{\text{VDW}'}$.

Потенциалы поля второй молекулы $\varphi_m^{q'}$ и $\varphi_m^{\text{VDW}'}$ вычисляются аналогично потенциалам первой молекулы по формулам (1) и (2). Аналогичная процедура осуществляется для третьей, четвертой и всех последующих молекул выборки. По окончании процедуры производится рассмотрение расположения первой, второй и т.д. молекул выборки в уточненном комплементарном поле. Процедура прекращается, если различие в координатах атомов молекул на новом и предыдущем шаге ориентации не превышает заданного предела.

По окончании процедуры ориентации строится линейная зависимость между величиной биологической активности и параметрами взаимодействий псевдо-атомов модельного рецептора с молекулой. В качестве параметров могут быть использованы энергии взаимодействия, рассчитанные по уравнению (3), и силы F_m :

$$F_m = \sum_{i=1}^N \frac{dE_m}{dR_{im}}$$

Те псевдо-атомы модельного рецептора, характеристики взаимодействия с которыми входят в линейную зависимость активности, а значит, определяют ее величину, могут моделировать активные центры рецептора. Фрагменты лекарственного средства, расположенные вблизи активных центров, определяют фармакофорную часть молекулы.

Таким образом, по окончании расчета в алгоритме ViS определяется относительная ориентация молекул в полости модельного рецептора, устанавливается зависимость биологической активности от параметров поля молекул (характеристик взаимодействия молекул с модельным рецептором), выявляются фармакофорные части молекул.

ОРИЕНТАЦИЯ МОЛЕКУЛ В ПОЛОСТИ РЕАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА

Данные PCA комплекса "рецептор—лиганд" хотя бы для одной молекулы выборки и установленная с помощью моделирования (алгоритм ViS) их относительная ориентация позволяют расположить молекулы всей выборки в реальном рецепторе (рис. 1). Для проверки качества ориентации молекул с использованием предложенного подхода в Protein Data Bank [1] проведен отбор данных PCA комплексов рецепторов с лекарственными средствами. Среди них ДНК-антиметаболиты, ингибиторы p38 MAP-киназы, риновируса HRV14, термолизина, эластазы, циклин-зависимой киназы (CDK2) и дигидрофолатредуктазы. Результаты сравнения экспериментальной и расчетной ориентации, приведенные в таблице, показали, что точность ориентации существенно превосходит имеющиеся аналоги. Так, в работе [11] отклонение координат атомов (Δr_{MAX}) по выборке ингибиторов риновируса HRV14 достигает 4,77 Å (соединение **1r09**), для ингибиторов термолизина — 11,14 Å (соединение **5tln**), эластазы — 10,01 Å (соединение **1inc**), а для ингибиторов CDK2 — 18,70 Å (соединение **1ian**). При использовании алго-

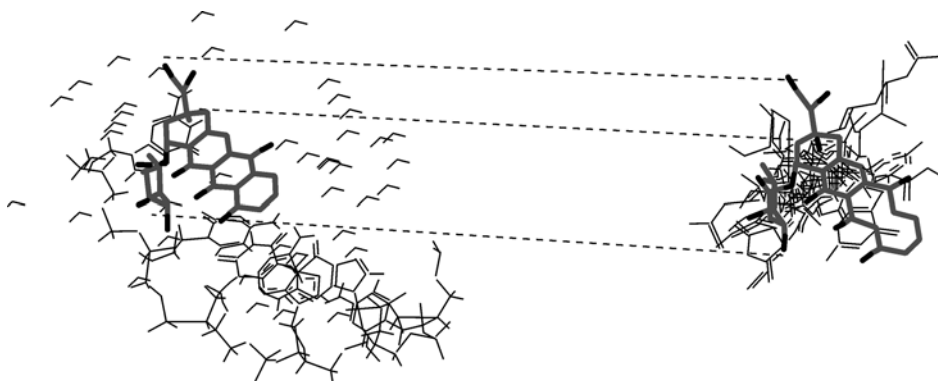


Рис. 1. Определение ориентации молекул в полости реального рецептора на примере ДНК-антиметаболитов. Справа — результат относительной ориентации молекул, полученный в рамках алгоритма ViS. Для молекулы, выделенной жирной линией, имеются данные PCA комплекса с рецептором. Слева приведен комплекс "рецептор—лиганд" по данным PCA

ритма ViS для ориентации соединений тех же выборок отклонения Δr_{MAX} , как правило, не превышают 2 \AA (см. таблицу).

Достаточно точное определение структуры комплексов позволяет устанавливать количественные взаимосвязи параметров взаимодействия в комплексе "реальный рецептор—лиганд" с величиной биологической активности. Так, на примере ДНК-антиметаболитов показано, что активность зависит от энергии взаимодействия комплексов "ДНК—молекула лекарственного средства" с водным окружением ($R = 0,92$). Кроме того, обнаружено, что величина активности высокоактивных ДНК-антиметаболитов коррелирует с энергией деформации валентных углов молекул, находящихся в полости рецептора ($R = 0,90$). Это позволяет предположить, что следующей стадией, после встраивания молекулы в рецептор, может быть ковалентное связывание с ДНК, что подтверждают данные PCA для ряда высокоактивных ДНК-антиметаболитов.

Расчет энергетических характеристик комплексов "реальный рецептор—лиганд" для ингибиторов дигидрофолатредуктазы показал, что для данной группы лекарственных средств водное окружение играет иную роль, чем в случае ДНК-антиметаболитов. В данном случае гидро-

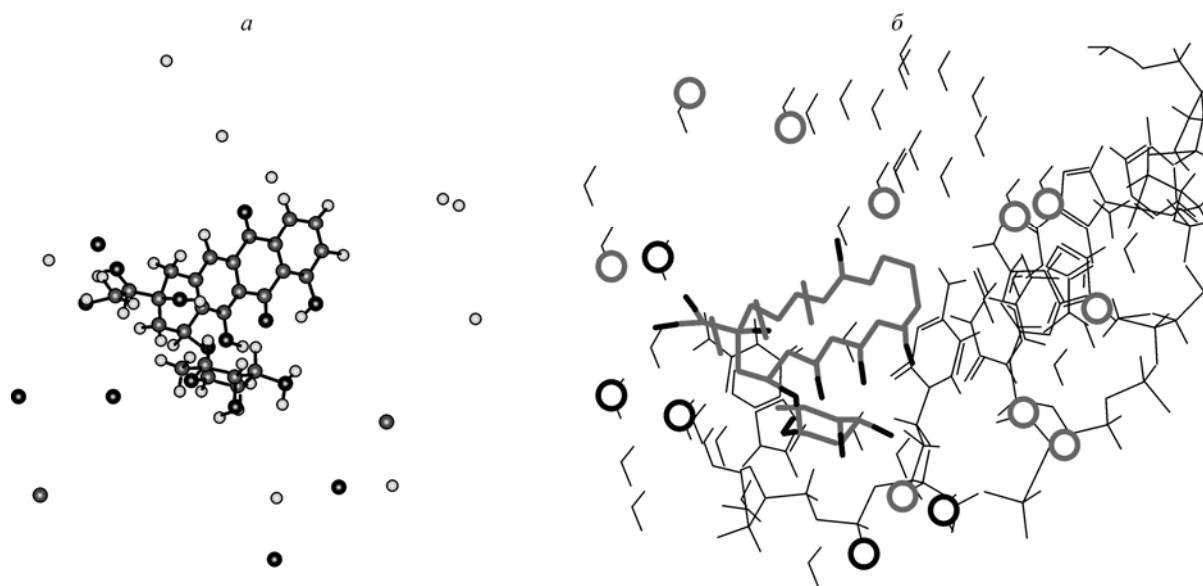


Рис. 2. Расположение высокоактивного ДНК-антиметаболита (**1d37**) в полости модельного рецептора (а) и молекулы ДНК (б).

● — атомы кислорода и азота, ● — атомы углерода, ○ — атомы водорода

фильность молекул лекарственных средств приводит к понижению активности соединений. Коэффициент корреляции полученного уравнения составил 0,91.

Число атомов сайта реального рецептора, как правило, велико, поэтому бывает непросто определить его активные центры связывания с лигандом. Для решения данной задачи предложено сопоставлять реальный и модельный рецептор, как это продемонстрировано на примере ДНК-антиметаболитов (рис. 2). Обнаружено, что активные центры модельного рецептора хорошо имитируют атомы реального рецептора. Для ДНК-антиметаболитов показано, что активными центрами рецептора являются атомы углерода и кислорода гуанозинового и цитидинового нуклеотидов ДНК. Кроме того, активное участие во взаимодействии с лекарственным средством принимают атомы водорода и кислорода молекул воды, связанных с ДНК, что объясняет зависимость биологической активности ДНК-антиметаболитов от энергии взаимодействия комплекса "ДНК—лекарственное средство" с водным окружением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложено использование алгоритма BiS для определения ориентации молекул в полости реального рецептора. Применение данного подхода продемонстрировано на выборках ДНК-антиметаболитов и ингибиторов дигидрофолатредуктазы, ингибиторов р38 MAP-киназы, риновируса HRV14, термолитина, эластазы и циклин-зависимой киназы (CDK2). Показано, что алгоритм BiS может успешно использоваться для прогноза биологической активности соединений. Полученные количественные модели с высоким коэффициентом корреляции описывают экспериментальные величины активности. Сопоставление структур комплексов "модельный рецептор—лиганд" и "реальный рецептор—лиганд" позволяет выделять активные центры рецепторов, определять характер и детали механизмов взаимодействия молекул с реальным рецептором.

Работа выполнена при поддержке Федерального агентства по образованию (Грант 2.2.2.3.9693), Гранта Президента РФ МК-2800.2005.3, Правительства Челябинской области (грант № урчел 04-04-96094).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z. *et al.* // Nucl. Acids Research. – 2000. – **28**, N 1. – P. 235 – 242.
2. Stouch T.R., Jurs P.C. // J. Med. Chem. – 1986. – **29**, N 11. – P. 2125 – 2136.
3. Masek B.B., Merchant A., Matthew J.B. // Ibid. – 1993. – **36**, N 9. – P. 1230 – 1238.
4. Bohacek R.S., McMartin C. // J. Amer. Chem. Soc. – 1994. – **116**, N 13. – P. 5560 – 5571.
5. Alper H.E., Stouch T.R. // J. Phys. Chem. – 1995. – **99**, N 15. – P. 5724 – 5731.
6. Ripka A.S., Satyshur K.A., Bohacek R.S. *et al.* // Org. Lett. – 2001. – **3**, N 15. – P. 2309 – 2312.
7. Hodgkin E.E., Richards W.G. // Chem. Commun. – 1986. – **17**. – P. 1342 – 1344.
8. Lemmen C., Lengauer T., Klebe G. // J. Med. Chem. – 1998. – **41**, N 23. – P. 4502 – 4520.
9. Hoffmann D., Kramer B., Washio T. *et al.* // Ibid. – 1999. – **42**, N 21. – P. 4422 – 4433.
10. Grant J.A., Gallardo M.A., Pickup B.T. // J. Comput. Chem. – 1996. – **17**, N 14. – P. 1653 – 1666.
11. Cosgrove D.A., Bayada D.M., Johnson A.P. // J. Comput.-Aided Mol. Design. – 2000. – **14**, N 6. – P. 573 – 591.
12. Hull R.D., Singh S.B., Nachbar R.B. *et al.* // J. Med. Chem. – 2001. – **44**, N 8. – P. 1177 – 1184.
13. Гришина М.А., Потемкин В.А., Микушина К.М. *и др.* // Биомед. химия. – 2004. – **50**. – Прил. № 1. – С. 68 – 76.
14. Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В. *и др.* // Хим.-фарм. журн. – 2002. – **36**, № 1. – С. 22 – 25.
15. Потемкин В.А., Арсламбеков Р.М., Барташевич Е.В. *и др.* // Журн. структур. химии. – 2002. – **43**, № 6. – С. 1126 – 1130.
16. Mikuchina K., Potemkin V., Grishina M. *et al.* // Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. – 2002. – **335**, N 1. – P. C74.
17. Grishina M.A., Potemkin V.A., Rusinov G.L. *et al.* // From Genes to Drugs via Crystallography, 33rd crystallographic course at the E. Majorana Centre, Erice, Italy, 23 May – 2 June 2002. Book of Abstracts. Poster Abstracts. – P. 48.
18. Потемкин В.А., Барташевич Е.В., Белик А.В. // Журн. физич. химии. – 1998. – **72**, № 4. – С. 650 – 656.
19. Потемкин В.А., Гришина М.А., Федорова О.В. *и др.* // Хим.-фарм. журн. – 2003. – **37**, № 9. – С. 24 – 28.
20. Потемкин В.А., Гришина М.А., Барташевич Е.В. *и др.* // Биофизика. – 2005. – **50**, № 3. – С. 418 – 422.
21. Потемкин В.А., Максаков В.А., Корнев В.С. // Журн. структур. химии. – 2005. – **46**, № 1. – С. 100 – 105.