

УДК 578.23, 57.042.2

©Коллектив авторов

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК И ОПТИМИЗАЦИЯ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ИНТЕГРАЗЫ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА

Д.С. Дружиловский^{1}, Д.А. Филимонов¹, Лиан Ченджонг², Пич Меган²,
Никлаус Марк², В.В. Поройков¹*

¹Лаборатория структурно-функционального конструирования лекарств,
Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский
институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, 119121, Москва,
Погодинская ул., 10; тел.: +499 255-30-29; эл. почта: explorermf@yandex.ru

²Национальный институт рака, Национальный институт здоровья, Фредерик,
Мэриленд, США

Поиск и оптимизация новых ингибиторов интегразы ВИЧ-1 является актуальной задачей, вследствие имеющих место недостатков существующих лекарств для терапии ВИЧ/СПИД, обусловленных наличием побочных эффектов, высокой стоимостью лечения и возникновением резистентности. В работе продемонстрирована перспективность применения компьютерных методов для поиска и оптимизации ингибиторов реакции 3'-процессинга, осуществляемой интегразой ВИЧ-1. Показана возможность применения специализированной версии компьютерной программы PASS для поиска среди коммерчески доступных образцов химических соединений оригинальных ингибиторов реакции 3'-процессинга, принадлежащих к новому химическому классу. Сравнение общих фармакологических профилей, рассчитанных с помощью PASS для выборки оригинальных ингибиторов интегразы и выборки ингибиторов, известных из литературы, показало, что прогнозируемая селективность оригинальных соединений в среднем сопоставима с селективностью известных ингибиторов, а вероятность проявления побочных/токсических эффектов ниже у оригинальных веществ. Отличия фармакологических профилей оригинальных соединений от известных из литературы ингибиторов 3'-процессинга указывают на существенную новизну веществ изучаемого нами химического класса. Анализ расчетных параметров QikProp, характеризующих ADME свойства молекул, показал, что для оригинальных соединений имеют место значительно меньшие отклонения от диапазона рекомендуемых значений по сравнению с параметрами для ингибиторов интегразы, известных из литературы. Сделан вывод о более высокой перспективности изучаемых нами оригинальных веществ по сравнению с известными из литературы ингибиторами 3'-процессинга.

Ключевые слова: интеграза ВИЧ-1, ингибиторы 3'-процессинга, поиск и оптимизация, компьютерные оценки, PASS, QikProp.

ВВЕДЕНИЕ. С момента регистрации первых случаев заболевания в 1981 году [1], к настоящему времени СПИД рассматривается в качестве одной из самых опасных пандемий. Возбудитель СПИД был идентифицирован в 1983 году [2]; им оказался вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), относящийся к семейству ретровирусов. К 1986 г. начались клинические испытания первых антиретровирусных препаратов. Результатом проведенных исследований стало создание HAART - высокоактивной антиретровирусной терапии [3]. Несмотря на все принимаемые профилактические меры, число людей, инфицированных ВИЧ, неуклонно растет во всем мире [4]. По данным Объединенной программы ООН по СПИД (UNAIDS) [5], приведенным в ежегодном "Докладе о развитии эпидемии СПИД", всего в мире к концу 2007 г. было инфицировано 33 млн. человек. В России на конец 2008 г. официально зарегистрировано свыше 400 тысяч инфицированных, а согласно существующим оценкам, количество инфицированных может составлять от 860 тысяч до 1 миллиона человек.

* - адресат для переписки

Существующие лекарственные препараты для терапии ВИЧ/СПИД обладают значительными недостатками: наличие существенных побочных эффектов, высокая стоимость лечения, возникновение резистентности к применяемой терапии [6]. В связи с этим актуальной проблемой является поиск и создание новых высокоэффективных лекарственных препаратов, направленных на подавление вирусной активности в организме.

Одним из наиболее перспективных направлений считается разработка ингибиторов интегразы ВИЧ-1 [7] - фермента, катализирующего реакцию интеграции вирусной ДНК в ДНК клетки человека. Поскольку у интегразы ВИЧ-1 нет гомологичных белков в организме человека, можно ожидать, что отрицательное действие ее ингибиторов на пациентов в ходе лечения будет гораздо меньшим по сравнению с существующими препаратами. Найдено и запатентовано несколько десятков тысяч веществ, ингибирующих интегразу путем блокады 3'-процессинга и/или реакции переноса цепи (две основные реакции, осуществляемые данным ферментом) [8, 9]; при этом, количество соединений, ингибирующих реакцию переноса цепи, значительно выше [10]. В то же время, поиск новых ингибиторов интегразы остается актуальным, поскольку уже отмечено возникновение резистентности по отношению к первому внедренному в медицинскую практику препарату Ралтегравир [11].

В настоящее время в поиске и оптимизации новых физиологически активных веществ широко применяются методы компьютерного конструирования лекарств, основанные на информации о структуре макромолекулы-мишени и/или о структуре известных лигандов [12-15]. В случае интегразы ВИЧ-1 применение таких методов затруднено, поскольку пространственная структура полноразмерного фермента до сих пор не расшифрована. Построено несколько теоретических моделей, на основе которых осуществляются попытки описания фермент-лигандного взаимодействия (например, [16-19]). Имеется ряд работ, в которых с использованием компьютерных методов найден ряд соединений, обладающих антиинтегразной активностью. В частности, на основе данных об известных ингибиторах интегразы были построены модели фармакофоров и с их использованием осуществлен виртуальный скрининг среди коммерчески доступных образцов химических соединений [20-23]. Для анализа взаимосвязей между структурой и биологической активностью ингибиторов интегразы были также использованы методы QSAR на основе сравнительного анализа молекулярных полей (CoMFA) и сравнительного анализа молекулярного сходства (CoMSIA) [24].

Целью настоящей работы была компьютерная оценка биологической активности и физико-химических характеристик оригинальных ингибиторов реакции 3'-процессинга, принадлежащих к химическому классу, для которого эта активность ранее не была известна [25], и сопоставление их по этим характеристикам с известными из литературы ингибиторами интегразы ВИЧ-1.

Поиск новых лекарственных препаратов – сложная и многокритериальная задача, при решении которой необходимо учитывать всю совокупность фармакодинамических и фармакокинетических характеристик потенциальных базовых структур [26]. При проведении экспериментальных доклинических и клинических испытаний эта задача решается последовательно – от выявления специфической фармакологической активности у большого числа молекул к оценке детального фармакологического профиля, фармакокинетических характеристик и безопасности для отдельных наиболее активных веществ.

Применение компьютерных методов позволяет оценивать фармакодинамические и фармакокинетические параметры веществ на ранних стадиях исследований, осуществляя виртуальный скрининг большого числа молекул и отсеивая химические соединения, обладающие заведомо не удовлетворительными свойствами [27]. Как показал проведенный нами ранее анализ [28], выбор компьютерных методов, которые бы обеспечивали высокое качество оценок, должен основываться на предшествующем опыте их применения.

МЕТОДИКА. Мы использовали компьютерную программу PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [29] для оценки общего фармакологического профиля изучаемых веществ и компьютерную программу QikProp [30] для оценки параметров, характеризующих ADME свойства (см. ниже).

Программа PASS (версия 09.1) по структурной формуле органического соединения позволяет предсказывать 3750 видов биологической активности на основе анализа обучающей выборки, содержащей более 200000 известных биологически активных веществ, принадлежащих к различным химическим классам [31]. Химическая структура представлена в PASS в виде оригинальных MNA дескрипторов (Multilevel Neighbourhoods of Atoms), имеющих универсальный характер и описывающих с достаточно хорошей точностью разнообразные зависимости “структура-активность” [32]. Используемый в PASS математический алгоритм обеспечивает получение устойчивых в статистическом смысле зависимостей “структура-активность” и, соответственно, результатов прогноза [33]. В программе PASS результат прогноза представляют величины P_a и P_i , характеризующие вероятности наличия и отсутствия рассматриваемой активности, соответственно. Более детальное описание программы PASS приведено в публикациях [29, 32, 33] и на веб-сайте [31].

Для комплексной оценки спектров биологической активности использовали компьютерную программу PharmaExpert [34], при помощи которой можно отбирать соединения, имеющие с высокой вероятностью требуемые профили биологической активности.

Наряду со стандартной версией программы PASS, позволяющей получать оценки общего фармакологического профиля веществ, нами был создан ряд специализированных версий, основанных на обучающих выборках, содержащих ингибиторы интегразы ВИЧ-1. При создании этих выборок мы использовали различные информационные ресурсы, доступные через Интернет: полнотекстовые электронные журналы, такие как Journal of Medical Chemistry, Bioorganic & Medicinal Chemistry и др.; патентные базы данных European Patent [35] и United States Patent and Trademark Office [36]; базы данных NIAID [37] и ChemIDplus [38], отдельные документы, найденные с использованием поисковой системы Google. Кроме того, в обучающую выборку была добавлена информация о 148 соединениях, исследованных в Национальном институте рака США (NCI). В качестве системы управления базами данных была использована ISIS/Base [39], позволяющая хранить, обновлять и обрабатывать информацию о химических веществах, включая данные о структурной формуле, молекулярной массе, биологической активности, литературные ссылки и т.д. Данные о структуре и биологической активности экспортировались в файлы формата SDF, которые были использованы в качестве специализированных обучающих выборок программы PASS. Выборки различались по критериям отбора “активных” веществ (различные пороговые значения IC_{50} , ингибирование реакции переноса цепи, ингибирование 3'-процессинга, различия в условиях проведения эксперимента: интегразы, выделенная из “дикого” или мутировавшего вида, проведение предварительной преинкубации с целью формирования прединтеграционного комплекса, использование в качестве кофактора ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} , и др.)

Обучающая выборка содержала 218 соединений (из которых 35 ингибируют 3'-процессинг с $IC_{50} < 10$ мкМ), отобранных с учетом структурных особенностей изучаемых нами оригинальных соединений из химического класса, для которого данная активность не была известна ранее.

Для сопоставления расчетных характеристик ингибиторов интегразы ВИЧ-1, известных из литературы, с характеристиками анализируемых нами оригинальных соединений, нами было составлено 2 независимые выборки. Выборка I, содержащая 263 соединения с $IC_{50} < 10$ мкМ из 29 химических классов, была собрана нами из литературы. Выборка II содержала 53 оригинальных соединения, синтезированных в Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ИНТЕГРАЗЫ ВИЧ-1

и протестированных *in vitro* в Институте физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, из которых 21 соединение ингибировало реакцию 3'-процессинга с $IC_{50} < 100$ мкМ [40].

Для оценки фармакокинетических параметров анализируемых молекул была использована программа QikProp, которая обеспечивает быстрое (~10000 молекул/час) вычисление физико-химических дескрипторов и параметров лекарственного подобия (drug-likeness), необходимых для прогноза ADME (адсорбция, распределение, метаболизм, и выделение). Эта программа в настоящее время широко используется фармацевтическими фирмами для отсеивания ("filtering out") заведомо неперспективных соединений [41, 42]. Описание дескрипторов, оцениваемых программой QikProp, и рекомендуемый для перспективных лекарственно-подобных соединений диапазон значений приведены в таблице 1.

Таблица 1. Параметры, рассчитываемые программой QikProp.

Обозначения дескрипторов	Описание дескрипторов	Рекомендуемые значения
Stars	Число значений или предсказанных параметров, которое выпадает из 95% диапазона сходных значений известных лекарственных веществ. Отклонившимся от рекомендуемого диапазона значениям присваивается "*". Большое число звезд предполагает, что молекула обладает меньшей drug-likeness. Параметр Stars включает в себя 24 параметра (дипольный момент молекулы, молекулярный вес, потенциал ионизации и др.). (См. описание программы).	0-5
mol MW	Молекулярная масса	130,0-725,0
CNS	Побочное действие на ЦНС	-2(неактивно) +2(активно)
donorHB	Число доноров водородной связи	0,0-6,0
accptHB	Число акцепторов водородной связи	2,0-20,0
QPpolrz	Расчетное значение полярности в кубических ангстремах.	13,0-70,0
QPlogPo/w	Расчетное значение коэффициента распределения октанол/вода.	-2,0-6,5
QPlogS	Расчетное значение растворимости в воде, моль/л.	-6,5-0,5
CIQPlogS	Конформационно-независимые расчетные значения растворимости в воде, моль/л.	-6,5-0,5
QPlogHERG	Расчетная величина IC_{50} для блокады HERG K ⁺ каналов, которая может стать причиной возникновения сердечных аритмий.	>-5
QPPCaco	Сасо-клетки являются моделью для определения проницаемости барьера кишечник/кровь. Расчетные значения проницаемости при пассивном транспорте.	плохо <25 норма >25, <500 отлично >500
QPlogBB	Расчетное значение коэффициента проницаемости через гематоэнцефалический барьер (при пероральном приеме препарата).	-3,0 – 1,2
QPPMDCK	Расчетные значения проницаемости при пассивном транспорте для MDCK клеток, являющихся моделью для определения проницаемости через гематоэнцефалический барьер.	плохо <25 норма >25, < 500 отлично >500
Metab	Число вероятных метаболических реакций	1-8
QPlogKhsa	Связывание с сывороточным альбумином человека.	-1,5 – 1,5
Human Oral Absorption	Качественная оценка абсорбции препарата при пероральном приеме.	1 – низкая, 2 – средняя, 3 – высокая
Percent Human Oral Absorption	Предсказанная абсорбция для человека при приеме препарата перорально, %.	>80 % высокое, <25% низкое
RuleOfFive	Количество нарушений правила пяти Липински.	максимум 4
RuleOfThree	Количество нарушений правила трех Йоргенсена: QPlogS>-5,7, QPPCaco > 22 нм/сек, первичных метаболитов <7	максимум 3

Для поиска веществ, потенциально обладающих требуемыми свойствами, были использованы базы данных коммерчески доступных образцов химических соединений ChemBridge [43], AsInEx [44], InterBioScreen [45], ChemBlock [46], в совокупности содержащие около 2 млн. уникальных структур, а также интегральная библиотека химических соединений, образцы которых доступны от более чем 200 поставщиков; ChemNavigator [47], содержащая около 24 млн. уникальных структур. Кроме того, библиотека из ~10000 потенциально синтезируемых молекул была предоставлена нам проф. С.А. Шевелевым с сотрудниками (Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва).

Как показал проведенный нами предварительный анализ [48, 49], среди миллионов коммерчески доступных химических веществ на основе компьютерного прогноза с использованием программы PASS не удастся отобрать базовые структуры ингибиторов интегразы ВИЧ-1, для которых бы совсем не прогнозировались какие-либо побочные или токсические эффекты. По-видимому, этот результат может быть объяснен тем обстоятельством, что прогноз PASS учитывает лишь особенности структуры анализируемой молекулы и носит качественный характер (активно/неактивно), в то время как при взаимодействии вещества с биологическим объектом наличие/отсутствие активности имеет дозозависимый характер. Учитывая это обстоятельство, в дальнейшем поиск потенциальных ингибиторов интегразы мы проводили на основе виртуального скрининга веществ, обладающих специфической активностью, а расчетную оценку общих фармакодинамических и фармакокинетических характеристик выполняли лишь для молекул, специфическая активность которых была подтверждена в эксперименте [35].

Химический синтез отобранных на основе компьютерного прогноза и предложенных экспертами веществ осуществлялся проф. С.А. Шевелевым с сотрудниками (Лаборатория ароматических азотсодержащих соединений Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва).

Исследование ингибирования интегразы ВИЧ-1 в энзиматических тестах *in vitro* проводилось д.б.н. М.Б. Готтих с сотрудниками в Научно-исследовательском институте физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова и Dr. Y. Pommier с сотрудниками в Лаборатории молекулярной фармакологии Национального института рака США. Методики тестирования ингибирования интегразы ВИЧ-1 соответствовали общепринятым [7, 50].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

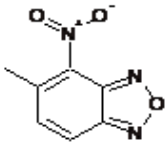
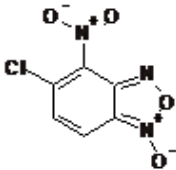
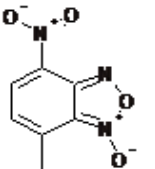
Поиск новых активных производных. Нами была составлена специализированная обучающая выборка, содержащая 218 молекул, отобранных с учетом особенностей структуры веществ изучаемых химических классов. Из них 35 ингибировали 3'-процессинг интегразы ВИЧ-1 с $IC_{50} < 100$ мкМ, остальные не обладали выраженной активностью. При обучении компьютерной программы PASS было показано, что средняя ошибка прогноза составляет около 12% (скользящий контроль с исключением по одному).

Был проведен поиск молекул, предположительно обладающих требуемой активностью, среди химических соединений из интегральной библиотеки ChemNavigator, имеющих структурное сходство с соединениями изучаемого химического класса. Три вещества протестированы в Национальном институте рака США. Результаты компьютерного прогноза в сравнении с экспериментальными данными приведены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, для трёх веществ из библиотеки ChemNavigator, не включённых в обучающую выборку PASS, результаты компьютерного прогноза подтверждены экспериментом. Это свидетельствует о возможности использования специализированной версии программы PASS для поиска новых оригинальных производных с требуемой активностью.

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ИНТЕГРАЗЫ ВИЧ-1

Таблица 2. Сравнение результатов прогноза и эксперимента для новых ингибиторов интегразы.

Идентификатор молекулы в ChemNavigator	Структурная формула	Ингибирование 3'-процессинга	
		Прогноз (Pa)	Эксперимент (IC ₅₀ , мкМ)
27832405		0,536	3,0
27808525		0,819	15,9
27923021		0,897	6,1

Сравнение фармакологических профилей оригинальных и известных из литературы ингибиторов интегразы. Для сравнения прогнозируемых фармакологических профилей ингибиторов 3'-процессинга мы использовали две независимых выборки: I и II.

Оценки фармакологических профилей веществ обеих выборок были получены с использованием программы PASS 09.1, прогнозирующей 3750 видов биологической активности со средней точностью прогноза 95,3%.

На рисунке 1 приведены распределения соединений по числу прогнозируемых с вероятностью Pa>50% видов активности для обеих выборок.

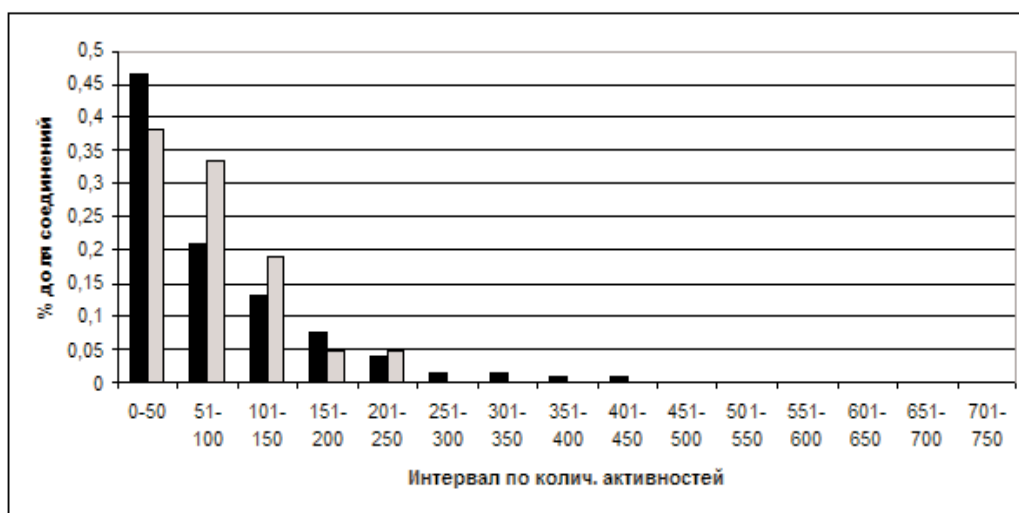


Рисунок 1.

Доля соединений, попадающих в определенный интервал значений по количеству прогнозируемых с вероятностью Pa>50% видов биологической активности.

Тёмные столбики - выборка I; светлые - выборка II.

Для веществ из выборки I среднее число прогнозируемых с вероятностью $P_a > 50\%$ видов биологической активности составляет 94, минимальное число – 0, максимальное – 725, среднеквадратичное отклонение – 116. Для веществ из выборки II среднее число прогнозируемых с вероятностью $P_a > 50\%$ видов биологической активности составляет 74, минимальное число – 11, максимальное – 228, среднеквадратичное отклонение – 57.

Выборка опубликованных в литературе ингибиторов 3'-процессинга незначительно отличается от выборки оригинальных соединений в интервале 10 – 250 прогнозируемых видов активности (рис. 1). Вместе с тем, как показывает анализ прогнозируемых спектров биологической активности, для 23 соединений из выборки I с вероятностью $P_a > 50\%$ прогнозируется более 250 видов активности, то есть они уступают по селективности соединениям выборки II. С другой стороны, в выборке I присутствуют 39 соединений, для которых с вероятностью $P_a > 50\%$ прогнозируется менее 10 видов активности, что говорит об их более высокой селективности, чем изучаемые нами оригинальные соединения (выборка II). Из выборки II мы отобрали 8 соединений, имеющих значения $IC_{50} < 10$ мкМ, которые мы обозначили как наиболее перспективные для дальнейших исследований. Для этих соединений количество видов биологической активности, прогнозируемых с вероятностью $P_a > 50\%$, лежит в интервале от 14 до 228, что не отличается существенно от картины, наблюдаемой для всей выборки II.

Как показал проведенный нами с помощью программы PharmaExpert анализ (рис. 2), для 8 наиболее перспективных оригинальных соединений в прогнозируемых спектрах наиболее типичными являются следующие виды биологической активности: Acrocyllindropepsin inhibitor, Saccharopepsin inhibitor, Polyporopepsin inhibitor, Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor, Phospholipid-translocating ATPase inhibitor, L- glutamate oxidase inhibitor, Sialagogue, Na^+ -transporting two-sector ATPase inhibitor, Chymosin inhibitor, GST M substrate.

No	Pa>Pi	Pa>30%	Pa>50%	Pa>70%	Types of Activity
1	8	8	8	5	Phospholipid-translocating ATPase inhibitor
2	8	8	8	6	Acrocyllindropepsin inhibitor
3	8	8	8	6	Saccharopepsin inhibitor
4	8	8	8	3	Na^+ -transporting two-sector ATPase inhibitor
5	8	8	8	4	Sialagogue
6	8	8	8	5	Polyporopepsin inhibitor
7	8	8	8	6	Chymosin inhibitor
8	8	8	8	7	L-glutamate oxidase inhibitor
9	8	8	8	7	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor
10	8	8	7	2	Phosphatidylserine decarboxylase inhibitor
11	8	8	7	0	Chaperonin ATPase inhibitor
12	8	8	7	0	GST M substrate
13	8	8	7	2	Acylglycerol lipase inhibitor
14	8	8	7	1	Alanine-tRNA ligase inhibitor
15	8	8	7	0	Plastoquinol-plastocyanin reductase inhibitor
16	8	8	7	2	(R)-6-hydroxynicotine oxidase inhibitor
17	8	8	7	1	Pentastatin-6-T DFI T-6-inhibitor

Рисунок 2.

Пример наиболее типичных видов биологической активности выявленных при помощи программы PharmaExpert.

Для выборки I, содержащей 263 соединения, наиболее типичными являются следующие виды биологической активности: Retinal oxidase inhibitor, Mucositis treatment, Leukotriene C antagonist, 15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor, Steroid 21-monooxygenase inhibitor, Chlordecone reductase inhibitor, Membrane integrity agonist, Hypercholesterolemic, Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor,

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ИНТЕГРАЗЫ ВИЧ-1

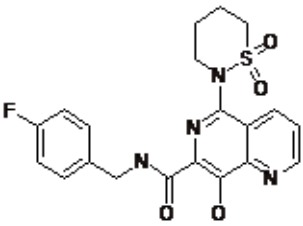
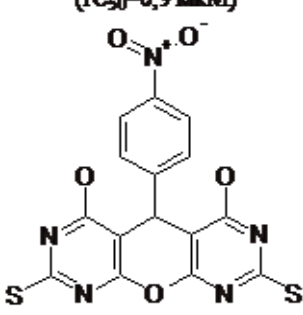
AROAI expression enhancer. Как видно из представленных данных, среди наиболее типичных видов активности, прогнозируемых для двух выборок, имеется лишь одно совпадение - Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor.

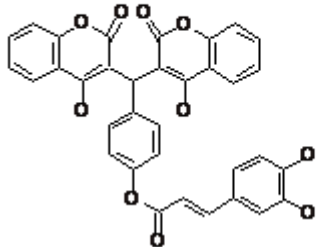
Отличия фармакологических профилей оригинальных соединений от известных из литературы ингибиторов 3'-процессинга являются дополнительным свидетельством существенной новизны веществ изучаемого нами химического класса.

Необходимо также отметить, что при пороге $Pa > 50\%$ PASS 09.1 прогнозирует возможное наличие побочных/токсических эффектов для 2 из 8 наиболее перспективных соединений из выборки II (25%), в то время как такого рода эффекты прогнозируются для 102 из 263 веществ из выборки I (39%).

Сравнение фармакокинетических свойств оригинальных и известных из литературы ингибиторов интегразы. Как показал анализ параметров ADME, рассчитанных с использованием программы QikProp для соединений выборки I, только 24 из 263 соединений соответствуют рекомендуемому диапазону значений для всех 19 параметров, остальные же соединения хотя бы по одному параметру выходят за рамки этого диапазона. Ниже представлены примеры оценки параметров QikProp для соединений L-870,810 [18], V-165 [19] и соединения с ID=47 [20] из выборки I. Как видно из представленных данных, для соединений L-870,810 и V-165 все расчетные параметры, за исключением QPlogHERG, соответствуют рекомендуемому диапазону значений.

Их высокая активность в отношении ингибирования интегразы ВИЧ-1 и удовлетворительные расчетные ADME характеристики объясняют интерес к ним исследователей и возможность использования в качестве препаратов сравнения при изучении реакции 3'-процессинга.

L-870,810 (IC₅₀=0,085 mM) 	stars 0	CNS -2	mol_MW 430,453	donorHB 1
	accptHB 8,75	QPpolrz 43,221	QPlogPa/w 2,806	QPlogS -5,118
	CIQlogS -5,443	QPlogHERG -6,003	QPPCaco 381,853	QPlogBB -1,091
	QPPMDCK 317,899	Metab 3	QPlogKhsa 0,048	HumanOral Absorption 3
	PercentHuman OralAbsorption 89,586	RuleOfFive 0	RuleOfThree 0	
V-165 (IC₅₀=0,9 mM) 	stars 1	CNS -2	mol_MW 403,387	donorHB 3,8
	accptHB 6,5	QPpolrz 33,168	QPlogPa/w 1,553	QPlogS -4,341
	CIQlogS -5,746	QPlogHERG -4,272	QPPCaco 39,691	QPlogBB -1,446
	QPPMDCK 120,962	Metab 4	QPlogKhsa -0,061	HumanOral Absorption 3
	PercentHuman OralAbsorption 64,654	RuleOfFive 0	RuleOfThree 0	

Соединение 47 (IC₅₀=2,6 мкМ) 	stars 5	CNS -2	mol_MW 590,542	donorHB 4
	acceptHB 10,5	QPpolrz 58,79	QLogPo/w 3,705	QLogS -6,77
	CIQLogS -8,71	QLogHERG -8,524	QPPCaco 32,828	QLogBB -3,213
	QPPMDCK 12,319	Metab 5	QLogKhsa 0,41	HumanOral Absorption 1
	PercentHuman OralAbsorption 62,821	RuleOfFive 1	RuleOfThree 1	

С другой стороны, для соединения 47 ряд расчётных параметров, таких как QLogS, CIQLogS, QLogHERG, QLogBB, QPPMDCK и Human Oral Absorption, имеют значения, выходящие за рамки рекомендуемых значений (табл. 1). Таким образом, данное соединение является “кандидатом на отсев” в ходе виртуального скрининга.

Аналогичный расчет был нами выполнен для 53 производных изучаемого нами нового химического класса. В данный набор вошли ранее описанная выборка II и 32 соединения, для которых прогноз с помощью специализированной версии программы PASS показал высокую вероятность наличия ингибирования реакции 3'-процессинга. Анализ расчетных характеристик показал, что для 21 соединения параметры QikProp соответствуют рекомендуемому диапазону значений.

Ниже приведены примеры прогнозируемых параметров QikProp для трёх соединений с регистрационными номерами ИОХ-18-74, ИОХ-18-92, ИОХ-18-23.

ИОХ-18-74 (IC₅₀=0,3 мкМ)	stars 2	CNS 0	mol_MW 336,426	donorHB 0
	acceptHB 2,5	QPpolrz 34,716	QLogPo/w 4,826	QLogS -5,237
	CIQLogS -6,317	QLogHERG -6,049	QPPCaco 2615,73	QLogBB -0,077
	QPPMDCK 3264,67	Metab 0	QLogKhsa 0,629	HumanOral Absorption 3
	PercentHuman OralAbsorption 100	RuleOfFive 0	RuleOfThree 0	

КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ИНТЕГРАЗЫ ВИЧ-1

ИОХ-18-92 (IC₅₀=6,1 мкМ)	stars 1	CNS -1	mol_MW 195,134	donorHB 0
	acceptHB 4	QPpolrz 16,811	QPlogPo/w -0,159	QPlogS -0,766
	CIQPlogS -1,901	QPlogHERG -3,302	QPPCaco 155,055	QPlogBB -1,002
	QPPMDCK 65,972	Metab 2	QPlogKhsa -0,848	HumanOral Absorption 2
	PercentHuman OralAbsorption 65,222	RuleOfFive 0	RuleOfThree 0	

ИОХ-18-23 IC₅₀> 500 мкМ	stars 7	CNS -2	mol_MW 546,353	donorHB 0
	acceptHB 15	QPpolrz 40,427	QPlogPo/w -3,251	QPlogS -0,234
	CIQPlogS -4,737	QPlogHERG -5,475	QPPCaco 0,114	QPlogBB -5,244
	QPPMDCK 0,027	Metab 4	QPlogKhsa -2,103	HumanOral Absorption 1
	PercentHuman OralAbsorption 0	RuleOfFive 2	RuleOfThree 1	

Как видно из приведенных данных, для соединений ИОХ-18-74 и ИОХ-18-92 расчётные ADME характеристики в основном соответствуют диапазону рекомендуемых значений, что позволяет рекомендовать их для дальнейших исследований.

Иная картина наблюдается для соединения ИОХ-18-23. Хотя физико-химические параметры QPpolrz, QPlogPo/w, QPlogS, CIQPlogS находятся в пределах рекомендуемых значений, однако ADME характеристики QPlogHERG, QPlogBB, QPPMDCK и QPPCaco не соответствуют требуемому диапазону. Это позволяет сделать заключение о низкой перспективности дальнейшей разработки данного соединения.

На рисунке 3 приведены процентные соотношения соединений из выборок I и II, попадающих в диапазон рекомендуемых значений параметров QikPgor, и выходящих за рамки данного диапазона.

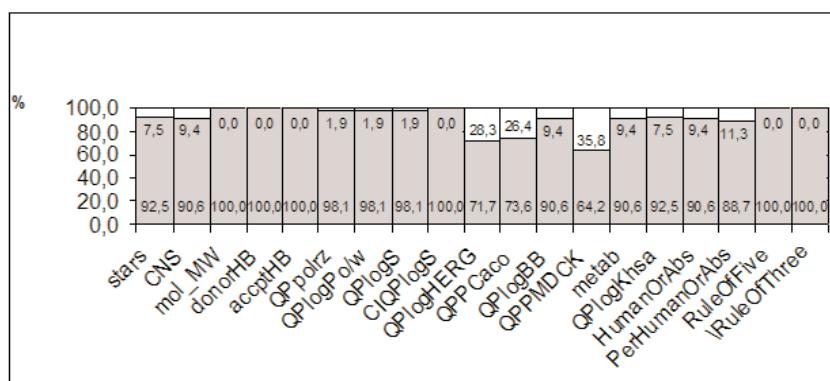
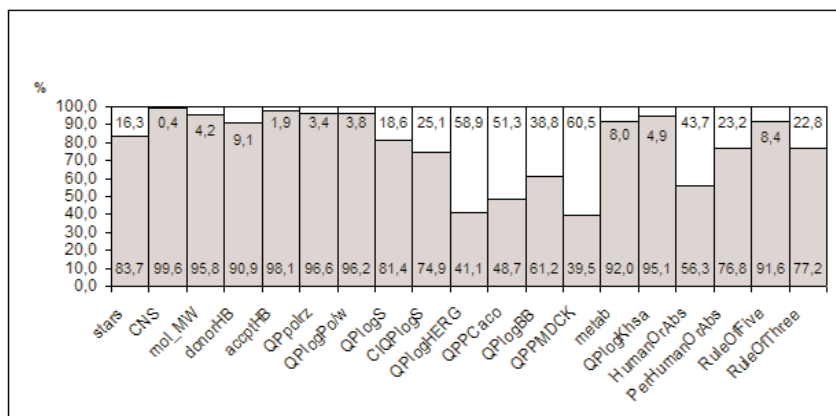


Рисунок 3.

Процентное соотношение веществ, попадающих в рекомендуемый диапазон значений QikProp (темные столбики) и выходящих за рамки этого диапазона (светлые столбики).

А - выборка I (литературные данные); Б - выборка II (оригинальные соединения).

Как видно из приведенных на рисунке 3 данных, в среднем характеристики соединений изучаемого нами класса (рис. 3Б) гораздо ближе к рекомендуемым значениям, чем аналогичные характеристики ингибиторов 3'-процессинга, рассматриваемых в литературе.

По 15 из 19 параметров QikProp 90% веществ выборки II имеют рекомендуемые значения, в то время как для веществ выборки I аналогичный результат наблюдается только для 9 из 19 параметров QikProp.

Наибольшее количество веществ из выборки I выходит за рамки рекомендуемых значений для следующих параметров QikProp: QPPMDCK (60,5%), QPlogHERG (58,9%), QPPCaco (51,3%), HumanOrAbs (43,7%), QPlogBB (38,8%), CIQPlogS (25%). Для веществ из выборки II наибольшие отклонения наблюдаются по параметрам QPPMDCK (35,8% соединений), QPlogHERG (28,3%) и QPPCaco (26,4%).

Средний процент отклонений по всем 19 параметрам QikProp равен 21,2% для соединений из выборки I и 8,4% для соединений из выборки II, что свидетельствует о большей перспективности производных изучаемого нами химического класса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В результате выполненного нами исследования продемонстрирована перспективность использования компьютерных методов для поиска и оптимизации ингибиторов реакции 3'-процессинга, осуществляемой интегразой ВИЧ-1.

Показано, что применение специализированной версии PASS позволяет путем виртуального скрининга выявлять новые активные производные, принадлежащие к изучаемому нами новому химическому классу, среди коммерчески доступных образцов химических соединений.

Сравнение общих фармакологических профилей, рассчитанных с помощью PASS 09.1 для выборки оригинальных ингибиторов интегразы и выборки ингибиторов, известных в литературе, показало, что в среднем ожидаемая селективность изучаемых нами соединений (74 ± 57 видов активности на одно соединение) сопоставима с селективностью веществ, известных из литературы (94 ± 116 видов активности на одно соединение). Вместе с тем, у отдельных ингибиторов интегразы, представленных в литературе, селективность может оказаться выше, чем у изучаемых нами оригинальных соединений.

Соединения изучаемого нами химического класса оказываются более перспективными и с точки зрения прогнозируемых побочных/токсических эффектов по сравнению с ингибиторами 3'-процессинга, известными из литературы, поскольку такого рода эффекты прогнозируются для 25% и 39% веществ, соответственно.

Среди рассмотренных нами известных из литературы ингибиторов интегразы, только 9,1% (24/263) соответствовали всем 19 расчетным параметрам QikProp, характеризующих ADME свойства молекул. В то же время, среди изучаемых нами оригинальных соединений доля молекул с удовлетворительными характеристиками ADME составляла 39,6% (21/53).

Таким образом, на основе полученных нами результатов, можно прийти к выводу о более высокой перспективности изучаемых нами оригинальных веществ по сравнению с известными из литературы ингибиторами 3'-процессинга, как с точки зрения их фармакодинамических, так и фармакокинетических характеристик.

Выражаем искреннюю признательность проф. С.А. Шевелеву с сотрудниками (ИОХ РАН) за химический синтез изучаемых веществ, д.б.н. М.Б. Готтих с сотрудниками (ИФХБ МГУ) и Dr. Y. Pommier с сотрудниками (NCI) за тестирование *in vitro* изучаемых соединений, Игорю Филиппову (NCI) за детальное обсуждение рукописи. Данная работа выполнена при поддержке МНТЦ, ВТЕР и ВП (грант № 3197/111/Q-257).

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegal F.P., Lopez C., Hammer G.S., Brown A.E., Kornfeld S.J., Gold J., Hassett J., Hirschman S.Z., Cunningham-Rundles C., Adelsberg B.R. (1981) New Engl. J. Med., **305**, 1439-1444.
2. Barré-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., Nugeyre M.T., Chamaret S., Gruest J., Dauguet C., Axler-Blin C., Vézinet-Brun F., Rouzioux C., Rozenbaum W., Montagnier L. (1983) Science, **220**, 868-871.
3. Vella S., Palmisano L. (2000) Antiviral Res., **45**, 1-7.
4. Jaffe H. (2004) Science, **305**, 1243-1244.
5. <http://www.unaids.org>
6. Sabin C.A., Smith C.J., Youle M., Lampe F.C., Bell D.R., Puradiredja D., Lipman M.C., Bhagani S., Phillips A.N., Johnson M.A. (2006) AIDS, **20**, 67-71.
7. Pommier Y., Johnson A.A., Marchand C. (2005) Nature Rev. Drug Discov., **4**, 236-248.

8. Boros E.E., Edwards C.E., Foster S.A., Fuji M., Fujiwara T., Garvey E.P., Golden P.L., Hazen R.J., Jeffrey J.L., Johns B.A., Kawasuji T., Kiyama R., Koble C.S., Kurose N., Miller W.H., Mote A.L., Murai H., Sato A., Thompson J.B., Woodward M.C., Yoshinaga T. (2009) *J. Med. Chem.*, **52**, 2754-2761.
9. Zhao X.Z., Maddali K., Vu B.C., Marchand C., Hughes S.H., Pommier Y., Burke T.R. Jr. (2009) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 2714-2717.
10. Hazuda D.J., Felock P., Witmer M., Wolfe A., Stillmock K., Grobler J.A., Espeseth A., Gabryelski L., Schleif W., Blau C., Miller M.D. (2000) *Science*, **287**, 646-650.
11. Garrido C., de Mendoza C., Soriano V. (2008) *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, **12**, 40-46.
12. Xu H., Lv M. (2009) *Curr. Pharm. Des.*, **15**, 2120-2148.
13. Chen X., Tsiang M., Yu F., Hung M., Jones G.S., Zeynalzadegan A., Qi X., Jin H., Kim C.U., Swaminathan S., Chen J.M. (2008) *J. Mol. Biol.*, **380**, 504-519.
14. da Silva C.H., da Silva V.B., Taft C.A. (2008) *Drug Metab. Lett.*, **2**, 256-260.
15. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Glorizova T.A., Lagunin A.A., Druzhilovsky D.S., Zakharov A.V., Stepanchikova A.V., Rudik A.V. (2007). Abstr. Internat. Experts Meeting "Drug Design and Development. ISTC Targeted Initiative.", Moscow, pp. 31-32.
16. Karki R.G., Tang Y., Burke T.R. Jr., Nicklaus M.C. (2004) *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, **18**, 739-760.
17. Cherepanov P., Ambrosio A.L., Rahman S., Ellenberger T., Engelman A. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 17308-17313.
18. Wielens J., Crosby I.T., Chalmers D.K. (2005) *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **19**, 301-317.
19. Barreca M.L., Ortuso F., Iraci N., De Luca L., Alcaro S., Chimirri A. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **363**, 554-560.
20. Liao C., Karki R.G., Marchand C., Pommier Y., Nicklaus M.C. (2007) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 5361-5365.
21. Dayam R., Al-Mawsawi L.Q., Zawahir Z., Witvrouw M., Debyser Z., Neamati N. (2008) *J. Med. Chem.*, **51**, 1136-1144.
22. Ramkumar K., Tambov K.V., Gundla R., Manaev A.V., Yarovenko V., Traven V.F., Neamati N. (2008) *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 8988-8998.
23. Jaganatharaja J., Gowthaman R. (2006) *Bioinformation*, **1**, 112-117.
24. Makhija M.T., Kulkarni V.M. (2002) *J. Computer-Aided Mol. Des.*, **16**, 181-200.
25. Poroikov V., Druzhilovsky D., Shevelev S., Gottikh M., Nicklaus M. (2008). Abstr. 4-th International Conference "Genomics, Proteomics, Bioinformatics and Nanobiotechnologies for Medicine", Moscow, p. 69.
26. Поройков В.В., Филимонов Д.А., Глориозова Т.А., Лагунин А.А., Дружиловский Д.С., Степанчикова А.В. (2009) *Информ. вестн. ВОГиС*, **13**, 137-143.
27. Da Silva C.H., da Silva V.B., Taft C.A. (2008) *Drug Metab. Lett.*, **2**, 256-260.
28. Geronikaki A., Druzhilovsky D., Zakharov A., Poroikov V. (2008) *SAR QSAR Environ Res.*, **19**, 27-38.
29. Filimonov D., Poroikov V. (2008). *Chemoinformatics Approaches To Virtual Screening*. Ed. Varnek A., Tropsha A. Cambridge: RSC Publishers, pp. 182-216.
30. Loughlin W.A., Pierens G.K., Petersson M.J., Henderson L.C., Healy P.C. (2008) *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 6172-6178, <http://www.schrodinger.com/ProductDescription.php?mID=6&sID=10>
31. <http://www.ibmc.msk.ru/PASS/>
32. Филимонов Д.А., Поройков В.В. (2006). *Рос. хим. журн.*, **50**(2), 66-75.
33. Poroikov V., Filimonov D., Lagunin A., Glorizova T., Zakharov A. (2007) *SAR & QSAR Environ. Res.*, **18**, 101-110.
34. Poroikov V., Lagunin A., Filimonov D. (2005) In: *QSAR and Molecular Modelling in Rational Design of Bioactive Molecules*. Eds. Esin Aki Sener, Ismail Yalcin, Ankara (Turkey), CADD & D Society, pp.514-515.

35. <http://ep.espacenet.com>
36. <http://www.uspto.gov/patft/index.html>
37. <http://apps1.niaid.nih.gov>
38. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus>
39. <http://www.mdl.com>
40. Дружиловский Д.С., Готтих М.Б., Шевелев С.А., Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Захаров А.В., Поройков В.В. (2009). Тез. докл. XVI Рос. Нац. конгресса "Человек и лекарство", Москва, с. 534.
41. Rizzi A., Fioni A. (2008) J. Chem. Inf. Model., **48**, 1686-1692.
42. Loughlin W.A., Pierens G.K., Petersson M.J., Henderson L.C., Healy P.C. (2008) Bioorg. Med. Chem., **16**, 6172-6178.
43. www.chembridge.com
44. <http://www.asinex.com/>
45. <http://www.ibscreen.com>
46. <http://www.chemblock.com/>
47. <http://www.chemnavigator.com/>
48. Druzhilovsky D.S., Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Poroikov V.V. (2007) Abstr. 4rd Internat. Symp. "Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI-2007)", Moscow, p.175.
49. Поройков В.В., Дружиловский Д.С., Филимонов Д.А., Шевелев С.А., Готтих М.Б., Никлаус М.К. (2007) Тез. Докл. XIV Российского национального конгресса "Человек и лекарство", Москва, с.311.
50. Приказчикова Т.А., Сычева А.М., Агапкина Ю.Ю., Александров Д.А., Готтих М.Б. (2008) Успехи химии, **77**, 445-459.

Поступила: 10. 01. 2009.

COMPUTER-ASSISTED SEARCH AND OPTIMIZATION OF NEW INTEGRASE INHIBITOR OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS

D.S. Druzhilovsky¹, D.A. Filimonov¹, Chenzhon Liao², Megan Peach², Mark Niclaus², V.V. Poroikov¹

¹Laboratory of Structure-Function Based Drug Design, Institutution of Russian Academy of Medical Sciences Institute of Biomedical Chemistry RAMS, 119121, Moscow, Pogodinskaya street, 10; tel.: +499 255-30-29; e-mail: explorermf@yandex.ru

²National Cancer Institute, National Health Institute, Frederick, Maryland, USA

Finding and optimization of new HIV-1 integrase inhibitors is an important task due to the drawbacks of the existing antiretroviral therapy caused by the significant adverse effects, high cost of the treatment, and emerging resistance. In this study we used computer-assisted methods for finding and optimization of new HIV-1 integrase inhibitors blocking the 3'-processing reaction. Possibility of application of the specialized version of computer program PASS for searching original inhibitors of 3'-processing reaction among the commercially available samples of chemical compounds, belonging to a new chemical class, is shown. We compared the general pharmacological profiles calculated by PASS for the sets of original integrase inhibitors discovered in the study with those for known inhibitors published in literature. It was shown that the predicted average selectivity is close for the compounds from both sets, while the predicted adverse/toxic actions are less for the original compounds. Differences of pharmacological profiles of original compounds and known from literature inhibitors of 3'-processing pointed out to the essential novelty of our substances. Significantly less deviations from the recommended values for QikProp parameters, which characterized the ADME properties, have been observed for the original compounds than for the integrase inhibitors published in literature. Thus, one may come to the conclusion that the original compounds look more prospective comparing to the earlier known inhibitors of 3'-processing.

Key words: integrase of HIV-1, 3'-processing inhibitors, search and optimization, computer-assisted estimation, PASS, QikProp.