

©Коллектив авторов

ПРОГНОЗ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ КСЕНОБИОТИКОВ ПРОГРАММАМИ PASS И GUSAR

Е.И. Короткевич^{1,2*}, А.В. Рудик¹, А.В. Дмитриев¹, А.А. Лагунин^{1,2}, Д.А. Филимонов¹

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *эл.почта: evgeshashibanova@gmail.com

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Метаболическая стабильность определяет степень устойчивости лекарственно-подобных соединений к биотрансформации в организме человека и характеризуется такими фармакокинетическими параметрами как период полувыведения ($T_{1/2}$) и клиренс (CL). Как правило, для их оценки используются *in vitro* системы на основе клеток или субклеточных фракций (в основном микросомальные ферменты печени), которые служат моделями процессов, протекающих в живом организме. Полученные в результате экспериментов данные используются для построения QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) моделей. На основе свободно доступной базы данных ChEMBL v.27 было отобрано более 8000 записей, содержащих структуры соединений и значения их клиренса и/или периода полувыведения, полученные *in vitro* на микросомах печени человека. Для получения количественных и классификационных моделей было использовано программное обеспечение GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) и PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Для оценки качества моделей использовалась 5-кратная перекрёстная проверка. Для разделения соединений на стабильные и не стабильные были выбраны пороги $T_{1/2}=30$ мин, $CL=20$ мл/мин/кг. Точность моделей варьируется от 0,5 (посчитано на тестовой выборке для количественной модели прогноза времени полувыведения при 5-кратной перекрёстной проверке) до 0,96 (посчитано на тестовой выборке для классификационной модели прогноза клиренса при 5-кратной перекрёстной проверке).

Ключевые слова: метаболическая стабильность; период полувыведения; клиренс; QSAR; PASS; GUSAR

DOI: 10.18097/PBMC20216703295

ВВЕДЕНИЕ

Большинство лекарственно-подобных соединений подвергается биотрансформации в организме человека. Поэтому на этапе поиска потенциальных лекарств следует проводить оценку их метаболической стабильности [1]. Быстрый метаболизм снижает полезное время циркуляции вещества в организме, тогда как высокая метаболическая устойчивость может спровоцировать нежелательные побочные эффекты [2]. Для лекарственных соединений необходимо достичь их умеренной и высокой метаболической стабильности, а для соединений-пролекарств хорошим показателем будет умеренная и даже низкая метаболическая стабильность. Метаболическая стабильность лекарственно-подобных соединений в организме косвенно оценивается по таким параметрам, как клиренс (CL) и период полувыведения ($T_{1/2}$). Основным органом метаболизма в организме является печень, поэтому для оценки CL и $T_{1/2}$ применяют *in vitro* исследования на печёночных микросомах человека и животных. Микросомальные тест-системы легко адаптировать к высокопроизводительному

скринингу, суть которого заключается в том, что соединения в известной начальной концентрации инкубируют с микросомами, а затем количественно фиксируют долю оставшегося соединения через заданные промежутки времени при помощи масс-спектрометрии или любого другого аналитического метода, позволяющего точно определить концентрацию того или иного соединения [3]. Из данных такого скрининга при помощи формул рассчитывают период полувыведения или клиренс.

В настоящее время значительное количество данных о микросомальных исследованиях лекарственно-подобных соединений собрано в общедоступной базе данных ChEMBL [4], на основе которой уже построено множество QSAR моделей для прогнозирования различных свойств лекарственно-подобных соединений [5]. На основе как ChEMBL, так и других источников информации были разработаны модели для прогнозирования CL [6-8] и $T_{1/2}$ [9-12], которые, как правило, используют бинарную классификацию

Принятые сокращения: 5-fold CV – 5-fold Cross Validation (5-кратная перекрёстная проверка); GUSAR – General Unrestricted Structure-Activity Relationships; IAP – Invariant Accuracy of Prediction (Инвариантная точность прогноза); MNA – Multilevel Neighborhoods of Atom (дескрипторы многоуровневых атомных окрестностей); PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances; Q^2 – коэффициент детерминации предсказания; QNA – Quantitative Neighborhoods of Atoms (количественные дескрипторы атомных окрестностей); QSAR – Quantitative Structure-Activity Relationship (количественная взаимосвязь структура-свойство); R^2 – коэффициент детерминации; RBF-SCR – комбинация радиально-базисной функции (Radial Basis Function) с самосогласованной регрессией (Self-Consistent Regression); RMSE – Root Mean Square Error (среднеквадратичная ошибка модели); SCR – Self-Consistent Regression (самосогласованная регрессия).



(стабильный/нестабильный), при этом некоторые из созданных моделей являются частью веб-ресурсов по прогнозу ADMET свойств [13]. Так как не существует общепринятой классификации лекарственно-подобных соединений по их метаболической стабильности, различные ресурсы, оптимизируя свои модели, используют разные пороговые значения, что затрудняет сравнение окончательных результатов. Например, для времени полувыведения часто используется порог 30 мин [11, 14] (соединения со значениями периода полувыведения более 30 мин классифицируются как стабильные, в противном случае — как нестабильные). В то же время платформа ADMETlab [13] использует пороги периода полувыведения, которые равны 3 и 8 ч (<3 ч — нестабильно, $3 \text{ ч} < T_{1/2} < 8$ ч — умеренно стабильно, >8 ч — стабильно), а в веб-приложении MetStabOn [15] были использованы пороги 0,6 ч и 2,32 ч ($<0,6$ ч — нестабильно; $0,6 \text{ ч} < T_{1/2} < 2,32$ ч — умеренно стабильно, $>2,32$ ч — стабильно). Для клиренса наиболее часто используемыми порогами являются 20 мл/мин/кг и 300 мл/мин/кг [1] (<20 мл/мин/кг — стабильно, $20 \text{ мл/мин/кг} < CL < 300 \text{ мл/мин/кг}$ — умеренно стабильно, $>300 \text{ мл/мин/кг}$ — нестабильно), а также встречаются пороги 5 мл/мин/кг и 15 мл/мин/кг (>15 мл/мин/кг — нестабильно; $5 \text{ мл/мин/кг} < CL < 15 \text{ мл/мин/кг}$ — умеренно стабильно; <5 мл/мин/кг — стабильно) [13]. В нашей работе мы создали классификационные модели прогноза метаболической стабильности, используя пороги 30 мин для $T_{1/2}$ и 20 мл/мин/кг для CL. Также были созданы количественные модели прогноза, которые уже не зависят от выбора порога.

МЕТОДИКА

Процессинг данных о лекарственно-подобных соединениях и их свойствах

Из базы данных ChEMBL v. 27 [4] нами извлечена информация о структурах биологически активных соединений и значениях их CL или/и $T_{1/2}$, которые были получены в исследованиях *in vitro* на микросомах печени человека. Для извлечения данных мы использовали поле “bao_endpoint”, однозначно характеризующее изучаемый параметр согласно классификации BioAssay Ontology classification [16]. Мы использовали коды “BAO_0002115” и “BAO_0002759”, которые характеризуют данные как $T_{1/2}$ и CL соответственно. Также мы отобрали данные, полученные только в экспериментах *in vitro* для человека. Для этого были использованы поля “assay_organism” и “bao_format” (=BAO_0000251) в таблице “assays”. При фильтрации данных учитывали поле “relation” в таблице “activities”, которое указывает, является ли значение $T_{1/2}$ или CL точным (знак в поле только “=”) или относительным (знак в поле “=”, “>”, “<” и другие). Всего было извлечено более 8000 записей. На рисунке показана диаграмма, отражающая объем полученных данных с применением указанной выше фильтрации. Для дальнейшей работы все извлеченные данные были сохранены в формате SDF.

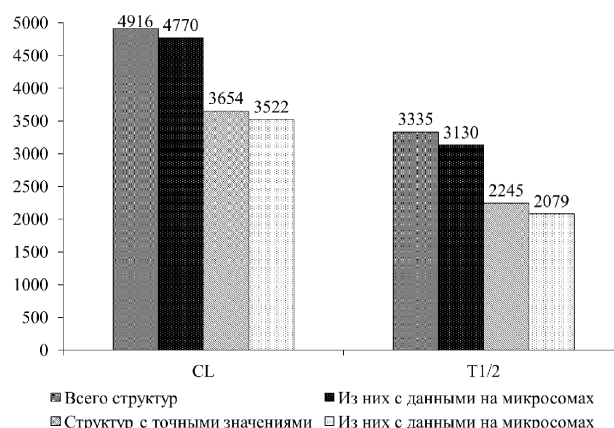


Рисунок. Число извлечённых отфильтрованных по необходимым параметрам структур из базы данных ChEMBL v.27 для человека.

Построение моделей GUSAR и PASS

Для построения QSAR моделей для прогноза метаболической стабильности были использованы программы GUSAR [17] и PASS [18]. Данные с точными значениями были использованы для получения количественных моделей, данные со всеми значениями (точные и относительные) — для классификационных. При построении количественных моделей использовали десятичный логарифм от исходных значений $T_{1/2}$ и CL. В случае, если для одного соединения в выборке содержалось несколько измеренных точных значений, то для построения количественной модели брали их медианное значение. В случае же построения классификационных моделей, если одно и то же соединение относилось к разным классам, то его удаляли из обучения.

Программа GUSAR основана на методе самосогласованной регрессии (SCR) по умолчанию [19] с возможностью применения также комбинации радиально-базисной функции с самосогласованной регрессией (RBF-SCR) и использует атомно-центрированные подструктурные дескрипторы QNA, MNA и физико-химические дескрипторы. Для оценки качества обучения в GUSAR была использована 5-кратная перекрёстная проверка [20]. Данный метод основан на том, что после сортировки данных по величине экспериментального значения их разбивают на 5 непересекающихся частей примерно одинакового размера. Поочерёдно каждую часть рассматривают как тестовую выборку, а остальные 4 части — как обучающую выборку. Модель обучается на четырёх частях и делается прогноз для соединений из оставшейся тестовой части. После получения и объединения результатов прогноза для всех пяти тестовых частей были рассчитаны следующие метрики точности — специфичность (specificity), чувствительность (sensitivity) и сбалансированная точность для классификационных моделей, R^2 (коэффициент детерминации), Q^2 (коэффициент детерминации предсказания) и RMSE (среднеквадратичная ошибка модели) для количественных моделей.

При создании классификационных моделей в GUSAR на основе публикаций [7, 8] было выбрано значение CL, равное 20 мл/мин/кг, для классификации соединений на “стабильные”, если значение CL менее указанного порога, и “нестабильные”, если значение больше или равно. Также на основе публикации [11] для T1/2 был выбран порог 30 мин, который позволял характеризовать соединение как “стабильное” при значениях более 30 мин, и как “нестабильное” при значениях меньше или равно указанного порога [9, 20, 21]. При разделении соединений на классы были удалены те, которые не могли быть однозначно отнесены к одному из двух классов, например, при конфликте значения и знака.

Для создания классификационных моделей метаболической стабильности мы использовали программу PASS, которая основана на байесовском подходе и дескрипторах MNA первого и второго уровня [18]. Она разработана для прогнозирования спектров биологической активности органических соединений по их структурной формуле. Для разделения соединения обучающей выборки на классы мы выбрали следующие пороговые значения: $CL < 20$ мл/мин/кг для класса соединений “стабильные”, “умеренно стабильные” при значении $20 \text{ мл/мин/кг} \leq CL < 300 \text{ мл/мин/кг}$, и “нестабильные” для $CL \geq 300 \text{ мл/мин/кг}$ на основании публикаций [1]. Для данных по периоду полувыведения, как и в случае GUSAR, был выбран порог 30 мин. Для оценки качества обучения в PASS используется 5-кратная перекрёстная проверка и рассчитывается инвариантная точность прогноза ($IAP_{5\text{-fold CV}}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены характеристики количественных и классификационных моделей, построенных в программе GUSAR. Наилучшие результаты были получены при применении самосогласованной регрессии (SCR) для классификационных моделей и при применении комбинации радиальной базовой функции с самосогласованной регрессией (RBF-SCR) для количественных моделей, в том числе при 5-кратной перекрёстной проверке. Из представленных данных видно, что модели, полученные на выборках со значениями T1/2, уступают по качеству моделям, полученным на выборках со значениями CL. Такая тенденция прослеживается как для количественных, так и для классификационных моделей.

В таблицах 2 и 3 представлены характеристики классификационных моделей, построенных в программе PASS.

Для моделей по T1/2, построенных как в GUSAR, так и в PASS, оценки качества ниже по сравнению с моделями по CL, поэтому мы изменили классификационные пороги согласно публикации [21]. Были выбраны пороги 30 мин и 60 мин: структурам со значениями < 30 мин присваивался класс “нестабильный”, со значениями > 60 мин — “стабильный”. Соединения со значениями, лежащими между этими порогами, исключались из выборки.

Таблица 1. Характеристически количественных и классификационных моделей по CL и T1/2, построенных в программе GUSAR

Параметры моделей	CL	T1/2
Количественные модели		
N	3391	1977
R^2_{train}	0,998	0,982
Q^2_{train}	0,814	0,569
R^2_{test}	0,772	0,500
$RMSE_{\text{test}}$	0,778	0,384
Классификационные модели		
N	3722	2879
Чувствительность	0,901	0,842
Специфичность	0,936	0,820
Сбалансированная точность	0,919	0,831
Чувствительность (тест)	0,966	0,660
Специфичность (тест)	0,699	0,866
Сбалансированная точность (тест)	0,913	0,787

Примечание: N — Количество соединений в обучении; R^2_{train} — коэффициент детерминации, посчитанный на обучающей выборке; Q^2_{train} — коэффициент детерминации предсказания, посчитанный на обучающей выборке; R^2_{test} — коэффициент детерминации, посчитанный на тестовой выборке (пятикратная перекрёстная проверка); $RMSE_{\text{test}}$ — среднеквадратичная ошибка модели, посчитанная на тестовой выборке (пятикратная перекрёстная проверка).

Таблица 2. Характеристики моделей по CL, построенных в программе PASS

Класс метаболической стабильности	Количество соединений	$IAP_{5\text{-fold CV}}$
Стабильный	670	0,93
Умеренный	355	0,95
Нестабильный	2607	0,96

Примечание. Здесь и в таблицах 3 и 4 $IAP_{5\text{-fold CV}}$ — Invariant Accuracy of Prediction (Инвариантная точность прогноза) посчитанная при 5-кратной перекрёстной проверке, численно эквивалентна величине AUC (Area Under Curve — площадь под кривой).

Таблица 3. Характеристики моделей по T1/2, полученные в программе PASS

Класс метаболической стабильности	Количество соединений	$IAP_{5\text{-fold CV}}$
Стабильный	1819	0,83
Нестабильный	1009	0,83

Новые пороги позволили улучшить качество моделей, что видно по результатам, представленным в таблице 4, но при этом было потеряно 25% соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Информация о метаболической стабильности лекарственно-подобных органических соединений чрезвычайно важна. Использование *in vivo* и *in vitro* тестов требует больших временных и финансовых затрат, и можно тестировать

Таблица 4. Характеристики классификационных моделей по T1/2 при использовании в качестве пороговых значений 30 мин и 60 мин, полученных в GUSAR и PASS

GUSAR		
N	2247	
Чувствительность	0,899	
Специфичность	0,871	
Сбалансированная точность	0,888	
Чувствительность (тест)	0,815	
Специфичность (тест)	0,867	
Сбалансированная точность (тест)	0,844	
PASS		
Класс метаболической стабильности	Количество соединений	IAP _{5-fold} CV
Стабильный (T1/2≥60мин)	1171	0,88
Нестабильный (T1/2<30мин)	1012	0,88

Примечание N — количество соединений в обучении.

только уже синтезированные соединения. Методы *in silico* позволяют быстро оценить параметры метаболитической стабильности даже для новых, ещё не синтезированных, соединений.

В нашей работе построены количественные и классификационные модели для оценки периода полувыведения и клиренса лекарственно-подобных органических соединений на основе данных *in vitro* экспериментов на микросомах печени человека из базы данных ChEMBL v.27. Точность построенных моделей GUSAR оценена с использованием 5-кратной перекрёстной проверки. Для прогноза клиренса лекарственно-подобных соединений на тестовой выборке для количественной модели GUSAR коэффициент детерминации R² равен 0,772 и для классификационной модели (стабильно/нестабильно при пороге 20 мл/мин/кг) сбалансированная точность равна 0,913. Для времени полувыведения на тестовой выборке для количественной модели GUSAR коэффициент детерминации R² равен 0,5 и для классификационной модели (стабильно/нестабильно при пороге 30 мин) сбалансированная точность равна 0,787.

Точность моделей PASS оценена на 5-кратной перекрёстной проверке (IAP_{5-fold} CV) и в среднем составила 0,95 при оценке классификационных значений клиренса (стабильно/умеренно стабильно/не стабильно) и 0,84 при оценке классификационных значений времени полувыведения (стабильно/не стабильно при пороге 30 мин).

При удалении умеренно стабильных соединений (период полувыведения от 30 мин до 1 ч) удалось добиться улучшения качества классификационных моделей, как в PASS (с 0,84 до 0,90) так и в GUSAR (с 0,787 до 0,888).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-15-00396.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве тест-систем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Esaki T., Watanabe R., Kawashima H., Ohashi R., Natsume-Kitatani Y., Nagao C., Mizuguchi K. (2018) Mol. Inform., **38**, 1-11.
- Słoczyńska K., Gunia-Krzyżak A., Koczurkiewicz P., Wójcik-Pszczola K., Żelaszczyk D., Popiół J., Pękala E. (2019) Acta. Pharm., **69**(3), 345-361.
- Williamson B., Wilson C., Dagnell G., Riley R. (2017) J. Pharmacol. Toxicol. Methods, **84**, 31-36.
- Mendez D., Gaulton A., Bento P., Chambers J., de Veij M., Félix E., Magariños M.P., Mosquera J.F., Mutowo P., Nowotka M., Gordillo-Marañón M., Hunter F., Junco L., Mugumbate G., Rodriguez-Lopez M., Atkinson F., Bosc N., Radoux C., Segura-Cabrera A., Hersey A., Leach A. (2019) Nucleic Acids Res., **47**, 930-940.
- Bosc N., Atkinson F., Felix E., Gaulton A., Hersey A., Leach A.R. (2019) J. Cheminform., **11**, 4. DOI: 10.1186/s13321-018-0325-4
- Gupta R., Gifford E., Liston T., Waller C., Hohman M., Bunin B., Ekins S. (2010) Drug Metab. Dispos., **38**(11), 2083-2090.
- Lee P., Cucurull-Sanchez L., Lu J., Du Y. (2007) J. Comput.-Aided Mol. Des., **21**(12), 665-673.
- Sakiyama Y., Yuki H., Moriya T., Hattori K., Suzuki M., Shimada K., Honma T. (2008) J. Mol. Graph. Model, **26**(6), 907-915.
- Hu Y., Unwalla R., Denny R., Bikker J., Di L., Humblet C. (2010) J. Comput.-Aided Mol. Des., **24**(1), 23-35.
- Zakharov A., Peach M., Sitzmann M., Filippov I., McCartney H., Smith L., Pugliese A., Nicklaus M. (2012) Future Med. Chem., **4**(15), 1933-1944.
- Liu R., Schyman P., Wallqvist A. (2015) J. Chem. Inf. Model, **55**(8), 1566-1575.
- Schwaighofer A., Schroeter T., Mika S., Hansen K., Ter Laak A., Lienau P., Reichel A., Heinrich N., Müller K.R. (2008) J. Chem. Inf. Model., **48**(4), 785-796.
- Dong J., Wang N., Yao Z., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D., Lu A., Cao D. (2018) J. Cheminform., **10**(1), 29. DOI: 10.1186/s13321-018-0283-x
- Schyman P., Liu R., Desai V., Wallqvist A. (2017) Front. Pharmacol., **8**, 889. DOI: 10.3389/fphar.2017.00889
- Podlewska S., Kafel R. (2018) Int. J. Mol. Sci., **19**(4), 1040. DOI: 10.3390/ijms19041040
- Visser U., Abeyruwan S., Vempati U., Smith R., Lemmon V., Schurer S. (2011) BMC Bioinformatics, **12**, 257. DOI: 10.1186/1471-2105-12-257
- Filimonov D., Zakharov A., Lagunin A., Poroikov V. (2009) SAR QSAR Environ. Res., **20**(7-8), 679-709
- Filimonov D., Druzhilovskiy D., Lagunin A., Glorizova T., Rudik A., Dmitriev A., Pogodin P., Poroikov V. (2018) Biomedical Chemistry: Research and Methods, **1**(1), e00004. DOI: 10.18097/bmcr00004

19. Lagunin A., Romanova M., Zadorozhny A., Kurilenko N., Shilov B., Pogodin P., Ivanov S., Filimonov D., Poroikov V. (2018) *Front. Pharmacol.*, **10**, 1136.
DOI: 10.3389/fphar.2018.01136
20. Grossman R., Seni G., Elder J., Agarwal N., Liu H. (2010). "Ensemble Methods in Data Mining: Improving Accuracy Through Combining Predictions". *Synthesis Lectures on Data Mining and Knowledge Discovery*, **2**, 1-126.
DOI: 10.2200/S00240ED1V01Y200912DMK002
21. Perryman A., Stratton T., Ekins S., Freundlich J. (2016) *Pharm. Res.*, **33**(2), 433-449.

Поступила в редакцию: 15. 04. 2021.
После доработки: 20. 04. 2021.
Принята к печати: 27. 04. 2021.

PREDICTION OF METABOLIC STABILITY OF XENOBIOTICS BY THE PASS AND GUSAR PROGRAMS

E.I. Korotkevich^{1,2}, A.V. Rudik¹, A.V. Dmitriev¹, A.A. Lagunin^{1,2}, D.A. Filimonov¹*

¹Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: evgeshashibanova@gmail.com
²Medico-biological Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University,
1 Ostrovityanova str., Moscow, 117997 Russia

Metabolic stability refers to the susceptibility of compounds to the biotransformation; it is characterized by such pharmacokinetic parameters as half-life (T_{1/2}) and clearance (CL). Generally, these parameters are estimated by *in vitro* assays, which are based on cells or subcellular fractions (mainly liver microsomal enzymes) and serve as models of the processes occurring in living organisms. Data obtained from the experiments are used to build QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) models. More than 8000 compounds with known CL and/or T_{1/2} values obtained *in vitro* using human liver microsomes were selected from the freely available ChEMBL v.27 database. GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) and PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) softwares were used to make quantitative and classification models. The quality of the models was evaluated using 5-fold cross-validation. Compounds were subdivided into "stable" and "unstable" by means of the following threshold parameters: T_{1/2} = 30 minutes, CL = 20 ml/min/kg. The accuracy of the models ranged from 0.5 (calculated in 5-fold CV on the test set for the half-life prediction quantitative model) to 0.96 (calculated in 5-fold CV on the test set for the clearance prediction classification model).

Key words: metabolic stability; half-life; clearance; QSAR; PASS; GUSAR

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 19-15-00396).

Received: 15.04.2021, revised: 20.04.2021, accepted: 27.04.2021.