

УДК 541.69:541.572+615.781.6  
©Коллектив авторов

## КОМБИНИРОВАННЫЙ ПОДХОД К АНАЛИЗУ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

М.А. Гришина<sup>1</sup>, В.А. Потемкин<sup>1</sup>, К.М. Микушина<sup>2</sup>, Г.В. Пожиленкова<sup>1</sup>, С. Лауфер<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Челябинский государственный университет

<sup>2</sup>Университет Тюбингена, Германия

454021 Челябинск, ул. Бр. Кашириных 129, ЧелГУ, Химический факультет;  
тел.: (3512) 419 012; факс: (3512) 420 925; эл. почта: maria\_grishina@csu.ru

Предложена вычислительная технология анализа и прогноза биологической активности химических соединений, учитывающая конформационную подвижность как рецептора, так и молекулы препарата. Подход позволяет производить классификацию соединений в случае нескольких механизмов действия, определять ориентацию молекул при связывании с рецептором, выявлять активные центры рецептора, находить уравнения связи биологической активности и параметров взаимодействия молекул с рецептором. Возможности использования подхода продемонстрированы на примере ингибиторов p38 MAP-киназы. В рамках предложенного подхода произведена классификация данных соединений по механизму действия. Выделены конформеры молекул, отвечающие за связывание лекарственного средства с рецептором. Определена ориентация таких конформеров в p38 MAP-киназе. Показано, что результат расчетной оценки ориентации молекул в рецепторе хорошо согласуется с данными рентгеноструктурного анализа (РСА). Выявлены активные центры рецептора, взаимодействие с которыми приводит к блокированию рецептора. Получены уравнения взаимосвязи биологической активности с параметрами взаимодействия лекарственного средства с рецептором.

**Ключевые слова:** мультиконформационный анализ, биологическая активность, 3D QSAR, молекулярный докинг.

**ВВЕДЕНИЕ.** Создание перспективных лекарственных средств является актуальной проблемой современной химии. Для направленного поиска эффективных препаратов необходимо изучить механизмы биологического действия соединений, включая определение структуры комплексов "рецептор-лиганд". На сегодняшний момент накоплен значительный материал экспериментальных исследований комплексов "рецептор-лиганд" с помощью рентгеноструктурного анализа, ЯМР-спектроскопии и т.д. [1]. Однако кроме экспериментальных исследований для определения эффективности связывания лекарственного средства с рецептором необходимо теоретическое исследование взаимосвязей биологической активности с параметрами строения комплексов "рецептор-лиганд", выявление активных центров рецептора, блокада которых молекулой лекарственного препарата приводит к изменению биологического ответа.

Для моделирования центров взаимодействий лекарственного средства с рецептором могут быть использованы 3D QSAR алгоритмы HASL, PARM, CoMFA и т.д. (например, [2,3]), позволяющие установить взаимосвязь биологической активности с параметрами строения молекул, их поля, характеристиками взаимодействий в комплексе "моделный рецептор-лиганд". Анализ полученных закономерностей позволяет выделить атомы или группы атомов молекулы и рецептора, ответственные за связывание. Однако ряд существующих на сегодняшний момент 3D QSAR алгоритмов производит рассмотрение молекул в геометрии, соответствующей глобальному минимуму. При этом зачастую не учитывается возможность существования изоэнергетического зеркально противоположного конформера, форма которого может иным образом определять возможность и эффективность взаимодействия с рецептором (рис. 1). Поэтому полученные закономерности могут быть случайными. Кроме того, не вполне очевидно, что биологическую активность соединений будут определять конформеры, соответствующие глобальному минимуму. Более комплементарным полю рецептора может оказаться менее выгодный конформер.

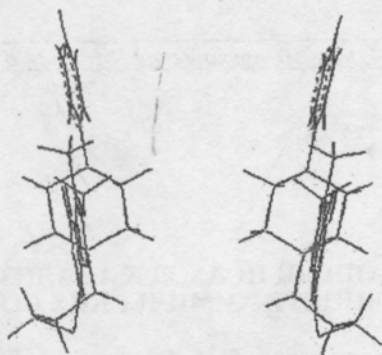


Рисунок 1.  
Равновероятные зеркально противоположные конформеры

Ряд существующих 3D QSAR алгоритмов не учитывает конформационную подвижность рецептора, однако очевидно, что при взаимодействии рецептора с лекарственным средством может происходить подстройка сайта рецептора к биологически активной молекуле. Более того, многие из 3D QSAR алгоритмов требуют априорного предположения относительно ориентации молекул в рецепторе.

Для решения задачи ориентации или, в общем случае, определения расположения молекул в рецепторе на настоящий момент имеется ряд подходов. Среди них наиболее известными являются методы молекулярного докинга (AutoDock, FlexX) [4,5]. Однако вследствие приближенной параметризации потенциалов их использование не всегда приводит к удовлетворительным результатам. В основе большинства других подходов лежит предположение о геометрическом соответствии фармакофорной части молекулы сайту рецептора (например, [6-9]). Представленные многочисленные попытки определения ориентации позволяют установить корректное расположение в рецепторе лишь структурно-аналогичных молекул. Причины подобных отклонений очевидны. Взаимодействие с рецептором определяет не только геометрическая комплементарность рецептора и лиганда, а обеспечивается всем комплексом ван-дер-ваальсовых и кулоновских специфических взаимодействий.

В связи с этим для определения механизмов биологического действия соединений и описания величины активности необходимо создание комбинированного подхода, позволяющего определять ориентацию молекул в рецепторе, выявлять активные центры рецептора и фармакофорную часть молекул при учете конформационной подвижности как рецептора, так и молекулы лекарственного средства, а также динамики взаимодействий "рецептор-лиганд". Для решения данных проблем предложено использование алгоритма BiS (Biological Substrate Search) [10-13] в комбинации с алгоритмом MultiGen [14]. Полученный подход получил название BiS/MC (Multi-Conformational) [15].

**МЕТОДИКА.** Для учета конформационного многообразия соединений использован алгоритм MultiGen [14]. В рамках данного алгоритма осуществляется поиск конформеров вдоль каждой моды гессиана в прямом и обратном направлениях. Если отличие энергии вновь обнаруженного конформера от глобального минимума не превышает заданного предела, то геометрия конформера запоминается. Процедура поиска конформеров повторяется с использованием вновь найденных конформеров в качестве исходных. Вероятность обнаружения  $i$ -го конформера ( $p_i$ ) определяется по формуле (1), в которой  $E_i^K$  - энергия  $i$ -го конформера,  $K$  - число найденных конформеров рассматриваемой молекулы:

$$p_i = \frac{\exp(-E_i^K / RT)}{\sum_{i=1}^K \exp(-E_i^K / RT)} \quad (1),$$

Биологическая активность ( $A$ ) вещества определяется как суперпозиция активностей конформеров ( $A_i$ ).

$$A = \sum_{i=1}^K A_i \cdot p_i \quad (2),$$

Для определения активности конформеров, их ориентации в рецепторе используется алгоритм BiS [10-13]. В основе данного алгоритма лежит предположение о комплементарности поля биологически активных структур полю рецептора, с которым они осуществляют действие.

Для определения поля каждого из конформеров предложено использование кулоновского и ван-дер-ваальсового потенциалов, наводимых на точку  $m$  поверхности конформера. Кулоновский потенциал определяется из известного уравнения:

$$\varphi_m^q = \sum_{i=1}^N \frac{q_i}{R_{im}} k \quad (3),$$

где  $N$  - число атомов рассматриваемой структуры,  $q_i$  - заряд 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 [13]:

$$\varphi_m^{VDW} = -2 \sum_{i=1}^N V_{im} \frac{2^3 r_i^3}{R_{im}^6} \quad (4),$$

где  $V_{im}$  - глубина минимума потенциальной энергии в соответствии с потенциалом Леннарда-Джонса,  $r_i$  - ван-дер-ваальсовый радиус атома  $i$ . Расчет величин  $V_{im}$  и  $r_i$  производится в рамках модели MERA [16]. В данном уравнении для упрощения расчетов использован только член притяжения ван-дер-ваальсовых взаимодействий.

Определение потенциалов поля производится для первого из конформеров выборки. Полученные потенциалы позволяют определить характеристики псевдо-атома (пробной сферы) с центром в точке  $m$  (заряд  $q_m$  и радиус  $r_m$ ), который обеспечивает максимальную комплементарность рассматриваемому конформеру в данной точке поля. Набор таких псевдо-атомов является псевдо-атомной моделью рецептора. Характеристики каждой пробной сферы  $m$  можно вычислить по формулам:

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

Затем в комплементарном поле в рамках комбинированного симплексного и квазиньютоновского алгоритма производится оптимизация ориентации второго конформера выборки до достижения минимума совокупной вероятности контакта ( $P$ ) его атомов со всеми точками модельного рецептора. При этом производится моделирование подстройки формы сайта рецептора к биологически активной структуре. Для этого модельному рецептору придается динамическая форма, способная сжиматься и растягиваться, обтекая форму конформера.

$$P = 1 - \prod_{m=1}^M (1 - p_m),$$

$$\text{где } p_m = \exp\left(-\frac{E_m}{RT}\right)$$

$$E_m = \sum_{i=1}^N \left( \frac{kq_i q_m}{R_{im}} - 2V_{im} \frac{(r_m + r_i)^6}{R_{im}^6} + V_{im} \frac{(r_m + r_i)^{12}}{R_{im}^{12}} \right) \quad (5)$$

В найденной ориентации уточняется комплементарное поле рецептора путем добавления потенциалов поля второго конформера к имеющимся:

$$\varphi_m^q = \varphi_m^q + \varphi_m^{q'}; \quad \varphi_m^{VDW} = \varphi_m^{VDW} + \varphi_m^{VDW'}$$

Потенциалы поля второго конформера  $\varphi_m^{q'}$  и  $\varphi_m^{VDW'}$  вычисляются аналогично потенциалам первого конформера по формулам (3,4). Аналогичная процедура



осуществляется для третьего, четвертого и всех последующих конформеров. По окончании процедуры рассматривается расположение первого, второго и т.д. конформеров в уточненном комплементарном поле. Процедура прекращается, если различие потенциала поля на новом и предыдущем шаге не превышает заданного предела.

По окончании процедуры ориентации определяются параметры взаимодействий псевдо-атомов модельного рецептора с каждым из конформеров. В качестве параметров могут быть использованы энергии взаимодействия, рассчитанные по уравнению (5), и силы  $F_m$ . Расчет сил позволяет учитывать динамику взаимодействий "рецептор-лиганд", направление движения лекарственного препарата в рецепторе.

Далее определяется уравнение взаимосвязи биологической активности от параметров взаимодействия конформеров с модельным рецептором (6).

$$A = \sum_{i=1}^K p_i (a + bE + cF) = a + \sum_{i=1}^K p_i (bE + cF) \quad (6)$$

По найденному уравнению рассчитывается активность каждого из конформеров:

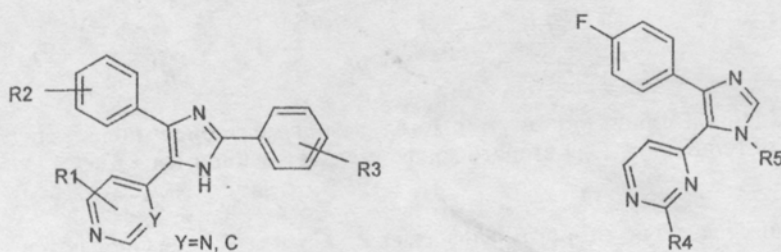
$$F_m = \sum_{i=1}^N \frac{dE}{dR_{im}}$$

При рассмотрении выборок соединений, имеющих несколько возможных сайтов взаимодействия, на основании анализа энергетических и силовых характеристик комплексов "модельный рецептор-лиганд" первоначально производится классификация соединений по механизму их действия, аналогично описанному в [10]. Далее для каждого из классов соединений определяется зависимость биологической активности от параметров взаимодействия с модельным рецептором.

Однако во взаимодействие с рецептором (молекулы) могут вступать лишь в некоторых из возможных конформационных форм, поэтому необходимо выделить те конформеры, которые определяют биологическое действие вещества. Предлагаемый в данной работе подход позволяет решить данную проблему. Для этого по найденным уравнениям зависимости активности от параметров взаимодействия конформеров с модельным рецептором определяется активность каждого из конформеров. Анализ полученных данных позволяет выделить наиболее активные среди них.

После этого в рамках алгоритма BiS производится уточнение модельного рецептора и характеристик взаимодействия с ним при рассмотрении только наиболее активных конформеров. Вновь строятся уравнения зависимости активности от параметров взаимодействия активных конформеров с модельным рецептором. Анализ полученных уравнений позволяет выделить те псевдо-атомы модельного рецептора, взаимодействие с которыми определяет величину биологической активности соединений. Данные псевдо-атомы моделируют активные центры рецептора. Фрагменты конформера, расположенные вблизи активных центров, определяют его фармакофорную часть. Установление ориентации активных конформеров в полости модельного рецептора по предложенному алгоритму и использование данных РСА комплекса "реальный рецептор - лиганд" хотя бы для одного соединения выборки позволяет определить ориентацию других структур в реальном рецепторе. Сопоставление комплексов "модельный рецептор - лиганд" и "реальный рецептор - лиганд" позволяет определить активные центры реального рецептора, определить характер взаимодействия лекарственного средства с реальным рецептором.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** В рамках предложенного алгоритма BiS/MC [15] произведен анализ биологической активности ингибиторов p38 MAP-киназы с рассмотрением конформеров, энергия которых отличается от энергии конформера, соответствующего глобальному минимуму каждого из соединений, не более чем на 10 ккал/моль.





Экспериментально установлено, что у р38 МАР-киназы существует два сайта, взаимодействие с которыми обеспечивает проявление биологического действия соединений, поэтому анализ биологической активности ингибиторов р38 МАР-киназы включал классификацию соединений по механизму их действия. Для этого в рамках алгоритма BiS определены параметры взаимодействий каждого из соединений с модельным рецептором. Рассмотрены энергетические и силовые характеристики полученных комплексов. Показано, что несмотря на сходство в строении соединений, выборка может быть разделена на два класса по силовым характеристикам взаимодействия с модельным рецептором. Для соединений первого класса характерны значения сил по оси X ( $F_x$ ) в интервале  $-0,1643 \div -0,0376 \text{ мдине}^*$ , по оси Y ( $F_y$ )  $0,0153 \div 0,1986 \text{ мдине}$ . Для соединений второго класса  $F_x$  составили  $-0,163 \div 0,0148 \text{ мдине}$ ,  $F_y$  входят в интервал  $-0,0466 \div 0,1685 \text{ мдине}$ . Полученные данные позволяют определить силовые центры взаимодействий соединений каждого из классов. Показано, что для соединений первого класса взаимодействие с модельным рецептором осуществляется со стороны атома азота имидазольного кольца и атома азота N(2) кольца пиримидина. В комплексах соединений второго класса наблюдается расположение силовых центров взаимодействий со стороны заместителей в положении 1 и 4 имидазольного кольца.

Сопоставление результатов классификации с данными рентгеноструктурного анализа комплексов "р38 МАР-киназа - лекарственный препарат" показало хорошую прогностическую ценность данного подхода для определения механизма действия соединений. Поэтому произведено рассмотрение взаимосвязи биологической активности с параметрами строения комплексов "модельный рецептор-лиганд" внутри каждого класса. Для первого класса соединений найдено уравнение, описывающее биологическую активность с коэффициентом корреляции по оценке "скользящий контроль" 0,992. Коэффициент корреляции экспериментальной и расчетной активности для соединений второго класса составил 0,887. С использованием полученных уравнений рассчитана активность каждого из конформеров, выделены наиболее активные из них.

С целью проверки качества процедуры поиска наиболее активных конформеров в рамках сеточного метода, аналогичного [2], произведено сравнение каждого из конформеров с шаблоном (соединением, для которого имеются данные PCA комплекса с р38 МАР-киназой). Показано, что конформеры, обладающие наибольшей величиной активности, действительно максимально схожи с шаблоном, что подтверждает правильность их определения.

Уточнение комплекса "модельный рецептор-лиганд" в рамках алгоритма BiS с рассмотрением только наиболее активных конформеров соединений позволило описать величину активности с более высоким качеством прогноза, чем представленные выше результаты. Для соединений, принадлежащих первому классу (т.е. взаимодействующих на первом сайте рецептора), найдено уравнение, описывающее активность с коэффициентом корреляции 0,9925 ("скользящий контроль"). Для соединений второго класса коэффициент корреляции уравнения взаимосвязи активности с параметрами взаимодействий в комплексе "модельный рецептор - лиганд" составил 0,9978 ("скользящий контроль").

Таким образом, показано, что предложенный алгоритм позволяет не только правильно классифицировать ингибиторы р38 МАР-киназы по механизму их действия, но и установить те конформеры, которые определяют биологическое действие исследуемых соединений.

Более детальный анализ биологической активности произведен для соединений, принадлежащих первому классу. Рассмотрение комплексов "модельный рецептор - лиганд" показало, что важную роль при проявлении биологического действия наиболее активных конформеров играет возможность их связывания с участком псевдо-рецептора, представленным атомами кислорода и азота. Для наиболее активных соединений характерна ориентация конформеров атомами водорода (как правило, аминогруппы, выделенной прямоугольником на рис. 2а), способными образовывать водородные связи с данной частью модельного рецептора. Координация молекул метиленовыми или метильными атомами водорода (выделены прямоугольником на рис. 2б) с данными атомами псевдо-рецептора характерна для низкоактивных соединений. Кроме того, в случае наиболее активных соединений наблюдается сорбция ароматической системой на липофильной части рецептора (выделена на рис. 2 пунктиром). Для низкоактивных соединений характерно менее эффективное для взаимодействия ортогональное расположение ароматической системы по отношению к липофильной части модельного рецептора.

Установление ориентации активных конформеров в полости модельного рецептора по предложенному алгоритму BiS и использование данных PCA комплекса р38 МАР-

\* 1 дина=1410<sup>-3</sup> Н

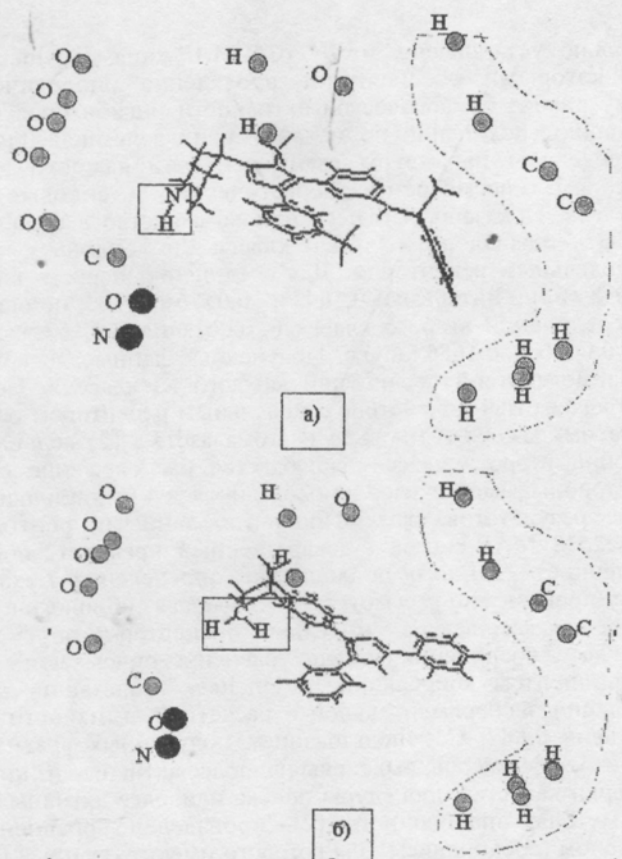


Рисунок 2.

Ориентация активных конформеров в модельном рецепторе, определенном в рамках алгоритма BiS (фармакофорная часть молекулы заключена в прямоугольник): а) высокоактивное соединение пиперидинила, б) низкоактивное соединение. Выделенные атомы псевдоорецептора помечены черным цветом, остальные атомы - серым.

киназы с лекарственными средствами позволяет определить ориентацию других структур в реальном рецепторе (рис. 3). Возможность использования данного подхода была проверена при сопоставлении расчетной ориентации с данными PCA комплексов "рецептор-лиганд", взятых из Protein Data Bank [1]. Показано, что расчетная ориентация хорошо согласуется с экспериментальной. Среднеквадратичные отклонения истинных и предсказанных координат атомов молекул ( $\sigma$ ), максимальное смещение координат атомов ( $\Delta r_{\text{MAX}}$ ), а также углы между главными осями вращения ( $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ ) экспериментально определенной ориентации и предсказанной приведены в таблице.

*Таблица.* Сравнение расчетной ориентации с данными PCA для ингибиторов p38 MAP-киназы (для первого класса стандартом является соединение 1bl7, для второго - 1kv1) (названия соединений соответствуют Protein Data Bank [1])

Molecule	$\sigma, \text{\AA}$	$\Delta r_{\text{MAX}}, \text{\AA}$	$\alpha_1, ^\circ$	$\alpha_2, ^\circ$	$\alpha_3, ^\circ$	Класс соединений
1a9u	0,77	1,37	5,2	7,8	7,6	1
1bl6	0,51	0,92	1,2	8,3	8,4	1
1bl7	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	1
1bmk	0,50	1,00	2,6	6,8	7,2	1
1di9	0,80	1,28	5,2	6,9	8,3	2
1ian	1,36	2,74	5,9	1,8	6,2	2
1kv1	0,00	0,00	0,0	0,0	0,0	2
1kv2	1,07	2,03	6,9	7,4	7,4	2

Для определения активных центров рецептора произведено сопоставление структур комплексов "модельный рецептор - лиганд" и "реальный рецептор - лиганд", полученных при ориентации по предложенному алгоритму. Обнаружено, что активные центры модельного рецептора хорошо согласуются с активными центрами p38 MAP-киназы (рис.4).

Показано, что псевдо-атомы кислорода и азота, выделенные на рисунке 2, моделируют атомы кислорода и азота аминокислотных остатков Ser154 и Asn155 соответственно. Образование водородных связей с ними атомом водорода лекарственного препарата действительно может приводить к эффективному связыванию и проявлению биологического действия соединением. Псевдо-атомы водорода и углерода липофильной части модельного рецептора, выделенной на рисунке 2 пунктиром, имитируют атомы водорода и углерода аминокислотных остатков Lys54, Arg67, Leu75, Lys76, Leu86, Tyr103, Glu110 в липофильной части сайта p38 MAP-киназы.

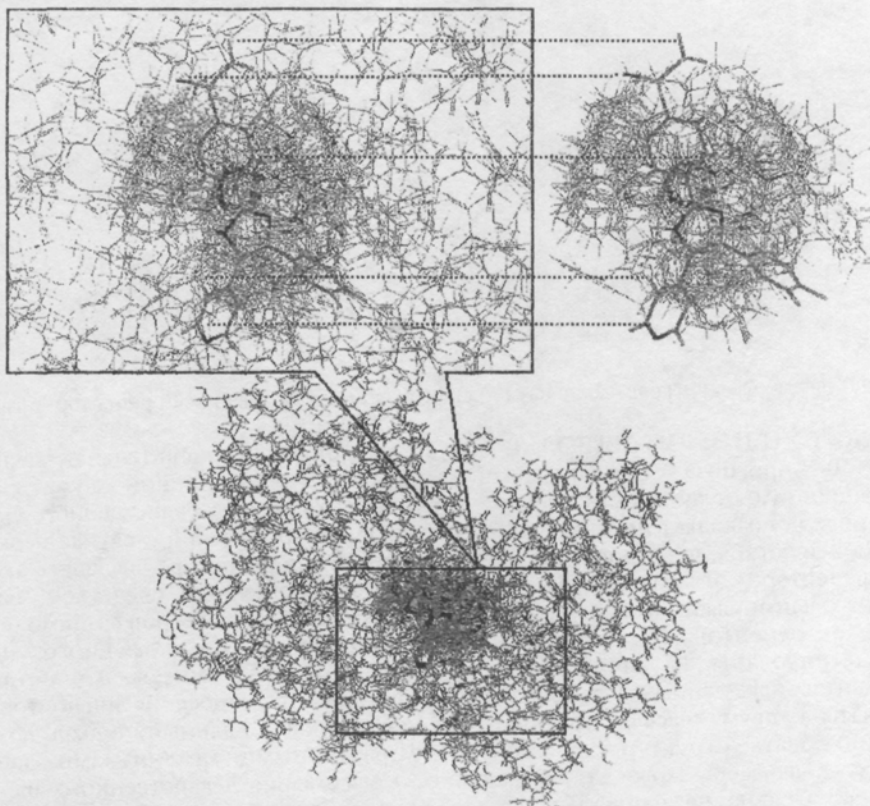


Рисунок 3.

Определение ориентации активных конформеров в полости p38 MAP киназы на примере соединений первого класса

Часть псевдо-атомов (атомы кислорода) входной части рецептора не зарегистрированы PCA (не выделены на рис. 4), однако можно предположить, что данные атомы кислорода могут моделировать атомы кислорода молекул воды, окружающих белок. Можно предположить, что эффективное взаимодействие с ними лекарственного средства может приводить к стабилизации комплекса p38 MAP-киназы с лигандом.

Хорошее соответствие активных центров модельного и реального рецептора позволяет произвести анализ электростатического поля в точках связывания с p38 MAP-киназой. Поэтому в рамках квантово-химических методов (*ab initio*, STO-3G) произведен детальный анализ характеристик поля в активных центрах рецептора. Действительно наблюдается корреляция биологической активности ингибиторов p38 MAP-киназы с совокупным электростатическим потенциалом в данных точках (коэффициент корреляции 0,898). Последнее дает возможность установить детали механизма биологического действия. На основании полученных закономерностей предсказаны новые антиревматические и противовоспалительные средства класса ингибиторов p38 MAP-киназы для последующего синтеза в университете Тюбингена.



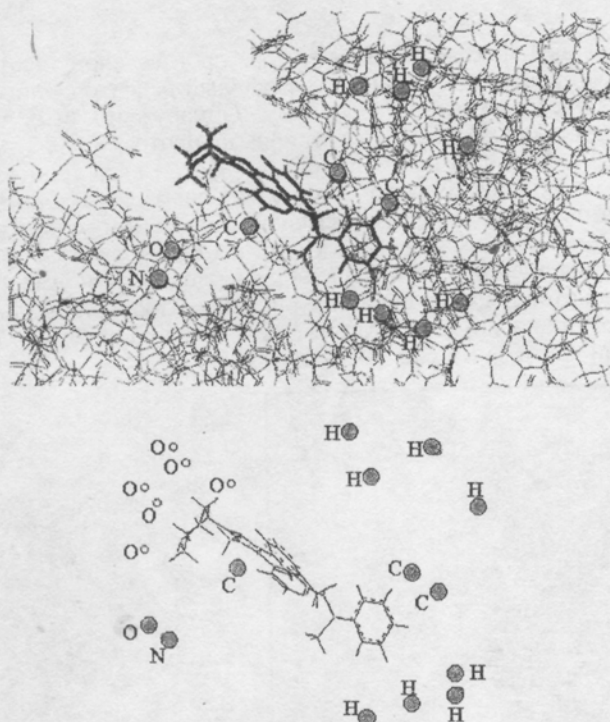


Рисунок 4.

Сопоставление комплексов "модельный рецептор-лиганд" и "реальный рецептор-лиганд"

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.** Предложена новая вычислительная технология анализа и прогноза биологической активности соединений, учитывающая конформационную подвижность как рецептора, так и молекулы лекарственного средства. Данный подход позволяет производить классификацию соединений в случае нескольких механизмов действия, производить ориентацию молекул в рецепторе, выявлять активные центры рецептора, отвечающие за связывание с лекарственным средством, находить уравнения взаимосвязи биологической активности от параметров взаимодействия молекул с рецептором. Возможности использования предложенного подхода продемонстрированы на примере ингибиторов р38 MAP-киназы. Сопоставление экспериментальных данных с результатами теоретического отнесения ингибиторов р38 MAP-киназы к двум классам показало, что действительно данный подход позволяет классифицировать структуры соединений с различными механизмами действия. Выделены конформеры молекул, отвечающие за связывание лекарственного средства с рецептором. Сравнение найденных структур с шаблоном (молекулой, для которой имеются данные РСА комплекса с р38 MAP-киназой) показало их максимальное сходство. Для соединений, действующих по одному из механизмов, проведен детальный анализ биологической активности. Определена ориентация наиболее активных конформеров в р38 MAP-киназе. Сопоставление результатов расчетной ориентации с данными РСА показали хорошее согласие между ними. Выявлены активные центры рецептора, взаимодействие с которыми лекарственного препарата приводит к блокированию рецептора. Получены уравнения взаимосвязи биологической активности с параметрами взаимодействия лекарственного препарата с рецептором.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант N 01-03-96414) и суперкомпьютерной программы СКИФ Союзного Государства России и Белоруссии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. (2000) *Nucl. Acids Res.*, **28**, 235 - 242.
2. Doweyko A. M. (1988) *J. Med. Chem.*, **31**, 1396-1406.
3. Santagati M., Chen H.M., Santagati A., Modica M., Guccione S., Uccello Barretta G., Balzano F. (2000) in: *Molecular modelling and prediction of bioactivity* (K. Gundertofte & F.S. Jorgensen eds.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 433-439.
4. Morris G.M., Goodsel D.S., Huey R., Olson A.J. (1996) *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **9**, 1-5.
5. Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. (1996) *J. Mol. Biol.*, **261**, 470-489.
6. Grant J.A., Gallardo M.A., Pickup B.T. (1996) *J. Comput. Chem.*, **17**, 1653 - 1666.
7. Cosgrove D.A., Bayada D.M., Johnson A.P. (2000) *J. Comput.-Aided Mol. Design.*, **14**, 573-591.
8. Bersuker I.B., Bahceci S., Boggs J.E., Pearlman R.S. (1999) *J. Comput.-Aided Mol. Design.*, **13**, 419-434.
9. Iwase K., Hirano S. J. (1999) *Comput.-Aided Mol. Design.*, **13**, 499-512.
10. Potemkin V. A., Bartashevich E. V., Grishina M. A., Guccione S. (2001) in: *Rational Approaches to Drug Design. Proceedings of the 13th European Symp. on Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR 2000* (H.-D. Holtje and W. Sippl eds.) Prous Science Publishers, Barcelona, pp. 349 - 353.
11. Потемкин В.А., Гришина М.А., Белик А.В., Чупахин О.Н. (2002) *Хим.-фарм. журн.*, **36**(1), 22 - 25.
12. Mikuchina K., Potemkin V., Grishina M., Laufer S. (2002) *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **335**(1), C74.
13. Grishina M. A., Potemkin V. A., Rusinov G.L., Bartashevich E. V., Guccione S., Perspicace S., Chupakhin O.N. (2002) in: "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, 48.
14. Потемкин В.А., Арсламбеков Р.М., Барташевич Е.В., Гришина М.А., Белик А.В., Перспека С., Гуччионе С. (2002) *Журн. структ. химии*, **43**, 1134 - 1138.
15. Гришина М.А., Потемкин В.А., Арсламбеков Р.М., Белик А.В. (2002) Первая Национальная Конференция "Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины". Тез. Докл., Научный и учебный методический центр, М., с. 22 - 23.
16. Потемкин В.А., Барташевич Е.В., Белик А.В. (1998) *Журн. физ. химии.*, **72**, 650-656.

## COMBINED APPROACH FOR ANALYSIS OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF COMPOUNDS

M.A. Grishina<sup>1</sup>, V.A. Potemkin<sup>1</sup>, K.M. Mikuchina<sup>2</sup>, G.V. Pozhilenkova<sup>1</sup>, S. Laufer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chelyabinsk State University

ul. Br. Kashirinykh 129, Chelyabinsk, 454021, Russia; tel: +7 (3512) 419 012;

fax: +7 (3512) 420 925; e-mail: maria\_grishina@csu.ru

<sup>2</sup>Universitat Tübingen

A new technology considering the conformational flexibility of receptor and ligand molecules has been proposed for analysis and prognosis of biological activity of compounds. In the case of several mechanisms responsible for biological action this approach allows to classify the drugs, to determine their orientation in the receptor pockets, to find active receptor centers, to carry out the relationships between biological activity and parameters of interaction of the ligand molecules with the receptor. This approach has been tested using the set of p38 MAP-kinase inhibitors. These compounds have been classified according to mechanisms of their action. Conformers responsible for the interaction of the drugs with the receptor have been found and after that oriented in the p38 MAP-kinase. Computed orientation is in a good agreement with X-ray data. Active receptor centers interacting with the drugs and leading to the receptor deactivation have been found. The relationships between biological activities and parameters of interaction of the drugs with the receptor have been obtained.

**Key words:** multi-conformational analysis, biological activity, 3D-QSAR, molecular docking