

БИОИНФОРМАТИКА

УДК 004.382.7:615

© Коллектив авторов

НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА. СООБЩЕНИЕ I. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ “СТРУКТУРА - ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ”

В.Р. Хайруллина¹, А.Д. Мухаметов^{1}, Л.А. Тюрина², Г.Г. Гарифуллина¹,
А.Я. Герчиков¹, Ф.С. Зарудий³*

¹Башкирский государственный университет, 450074 г. Уфа, ул. Фрунзе 32;
тел.: (3472) 736701; факс: (3472) 736701,
эл. почта: gerchikov@inbox.ru, muaza@mail.ru

²Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа;

³Институт органической химии уфимского научного центра РАН, г. Уфа

С использованием компьютерной системы SARD-21 (Structure Activity Relationship & Design) выявлены структурные признаки, характерные для высоко- и низкоэффективных нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (НПВЛС), и степень их влияния на противовоспалительные свойства. Сформирована модель прогноза эффективности противовоспалительного действия НПВЛС с уровнем достоверного распознавания 76 и 81% по двум методам. Выявленные структурные параметры могут быть с успехом применены для создания новых высокоэффективных НПВЛС, а также для модификации структур известных НПВЛС, с целью увеличения эффективности их противовоспалительного действия.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, теория распознавания образов, структура-свойство, циклооксигеназа.

ВВЕДЕНИЕ. На сегодняшний день известно свыше сотни нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (НПВЛС), различающихся как по структуре, так и по эффективности противовоспалительного действия и степени токсичности [1-4]. Установлено, что противовоспалительное действие НПВЛС в значительной степени обусловлено ингибированием фермента циклооксигеназы (ЦОГ), существующей в виде двух близких по структуре изомерных форм: ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [1]. Имеется множество работ, в которых обсуждается вклад каждой из изоформ ЦОГ в воспалительный процесс и терапевтическая эффективность НПВЛС, селективно ингибирующих эти изоформы [5]. Выявление различий в строении активных центров ЦОГ-1 и ЦОГ-2 а также того факта, что содержание ЦОГ-2 в тканях и органах повышается на фоне развития воспаления, послужило основанием для активного поиска и разработки НПВЛС, селективно ингибирующих активность этого фермента [5].

Механизм противовоспалительного действия НПВЛС в значительной степени связан с химическим взаимодействием структурных фрагментов НПВЛС с функциональными группами активных центров ЦОГ. Эффективность связывания определяется природой фармакофорных групп, а, следовательно, строением ингибиторов ЦОГ.

* - адресат для переписки

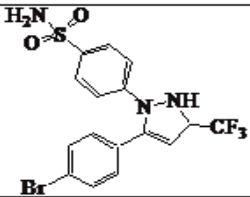
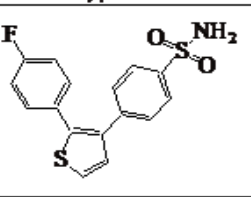
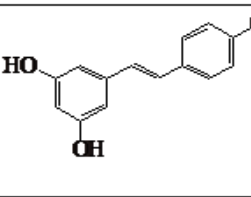
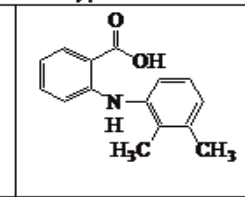
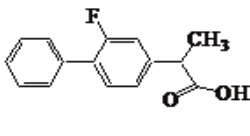
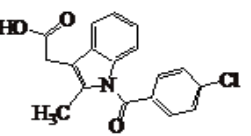
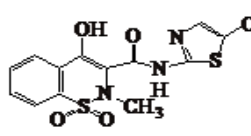
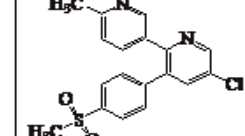
НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

Целью настоящей работы было выявление структурных фрагментов, ответственных за эффективное связывание молекул НПВЛС с активным центром циклооксигеназы, и создание на основе установленных закономерностей модели прогноза эффективности противовоспалительного действия НПВЛС. Для выполнения этой задачи была использована теория распознавания образов [6, 7], успешно реализованная в программном пакете SARD-21 (Structure Activity Relationship & Design) [8].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА. Анализ взаимосвязи “структура–эффективность противовоспалительного действия” выполнен с использованием программного пакета SARD-21 [8] и состоял из нескольких этапов:

1. Формирование обучающей выборки. Обучающая выборка сформирована на основе 99 соединений, классифицированных на две группы с альтернативными свойствами: ряд А содержит 52 эффективных противовоспалительных препарата, в ряд В включено 47 соединений, обладающих низкой эффективностью противовоспалительного действия. В качестве критерия при отнесении исходных соединений к классу высоко- или низкоэффективных использован параметр 50%-ного ингибирования изомерных форм циклооксигеназ (IC_{50}) [4, 9, 10]. Классификацию проводили исходя из результатов сопоставления ингибирующей активности различных НПВЛС относительно двух изоформ ЦОГ. К высокоэффективным были отнесены те из них, у которых константа ингибирования одной из изоформ циклооксигеназ не превышала 0,1 мкМ. К низкоэффективным отнесены те, для которых обе константы ингибирования превышали 1,0 мкМ (табл. 1).

Таблица 1. Типичные структуры НПВЛС обучающей выборки.

Класс высокоактивных соединений		Класс низкоактивных соединений	
			
17,7/ 0,0093* SC-558	0,087/ 4,3 Кеторофен	30/ 39 Ресвератрол	25/ 2,9 Метенамная кислота
			
0,076/ 5,5 Флурбипрофен	0,013/ 1,0 Индометацин	5,7/ 2,1 Мелоксикам	116/ 1,1 Эторикоксиб

Примечание: * Даны значения $IC_{50}(COX1)/ IC_{50}(COX2)$, мкМ [9, 11].

2. Представление структуры химического соединения на языке фрагментарных дескрипторов (ФД). Полное дескрипторное описание исследуемых групп соединений проводили на базе соответствующих процедур системы с использованием трех типов ФД: 1) исходные фрагменты, в том числе элементы циклических систем и сами циклические системы; 2) субструктуры из нескольких химически связанных исходных фрагментов; 3) логические функции (конъюнкции, дизъюнкции, строгие дизъюнкции) на основе дескрипторов первого и второго типов.

Для формирования логических сочетаний использовано 35 фрагментарных признаков первого, 58 признаков второго и 69 признаков третьего типа.

3. Оценка информативности всех признаков. Характер влияния описывают при помощи коэффициента информативности (r), который изменяется от -1 до $+1$. Чем больше абсолютное значение r , тем выше вероятность влияния данного признака на проявление анализируемого свойства (“+” — положительное, “-” — отрицательное).

4. Формирование математической модели распознавания и прогноза и ее апробация на соединениях с известным противовоспалительным действием. Полное дескрипторное описание исследуемых групп соединений, содержащее 1009 признаков, является избыточным. С использованием экспериментально подобранных эвристических критериев 3/3 (т.е. признак должен встречаться в трех структурах своего ряда и одна структура для распознавания должна содержать минимум три признака) проведено сокращение его размерности до оптимального уровня и определены наиболее значимые факторы – решающий набор признаков (РНП). Критериями включения признаков в РНП являются максимальная информативность, минимальная взаимозависимость и оптимальное узнавание распознаваемых объектов. Модели распознавания и прогноза представляют собой логические уравнения типа $C=F(S)$, где C – свойство (активность), F – правила распознавания (алгоритм распознавания образов, по которому производится классификация исследуемых соединений, - геометрический или метод “голосования”), S -набор распознающих структурных параметров (РНП).

Распознавание структур и прогноз эффективности противовоспалительного действия проводили с использованием двух методов теории распознавания образов: а) геометрического, основанного на определении расстояний до гипотетических эталонов в классе высоко- и низкоэффективных структур обучения и расстояния до идеальной структуры в многомерном пространстве РНП с использованием евклидовой метрики, б) метода голосования, основанного на сравнении числа положительных и отрицательных признаков, входящих в РНП и описывающих каждую анализируемую структуру.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Применив вышеописанный алгоритм к исследованию соединений обучающей выборки, нами были сформированы математические модели противовоспалительной активности. Они представляют собой сочетание правил классификации и решающего набора структурных параметров. При автоматическом отборе в рамках алгоритма в РНП (табл. 2) вошли фрагментарные признаки и их логические сочетания, потенциально ответственные за противовоспалительную активность (ПВА).

В качестве элементов сложных дескрипторов в совокупности признаков решающего набора, характеризующих активные ПВС, присутствуют: сульфоновая группа, бром, хлор, паразамещенный арил, группы с “подвижным водородом” (табл.2, признак 7: $\{(-OH)\#(-NH-)\#(-H_het)\}$).

Полученная модель позволяет не только выявлять соединения, обладающие ПВА, но и ранжировать их по силе противовоспалительного действия. Тестирование её на исследуемой выборке, а также структурах исходного ряда показало, что при данных условиях достигнут максимальный уровень прогноза, как для соединений обучения (83 и 86%) по методам “голосования” и геометрического подхода, так и для исследуемых структур (81 и 76%, табл. 3). Результаты прогноза свидетельствуют о применимости созданной математической модели для дальнейших исследований, дизайна и прогноза ПВА новых соединений.

При формировании РНП дополнительно выявлен характер влияния индивидуальных циклических и ациклических структурных признаков на проявление ПВА. Функциональные группы, характерные для высоко- и низкоэффективных НПВЛС, представлены на рисунке 1. На рисунках 2 и 3 приведены азот-, кислород-, галоген- и серосодержащие субструктурные признаки эффективных НПВЛС. В таблице 4 приведены циклические фрагменты эффективных НПВЛС и соответствующие им коды.

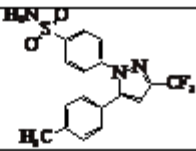
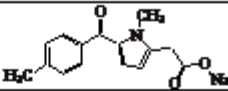
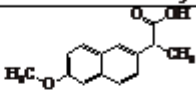
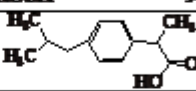
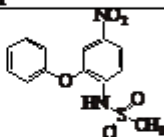
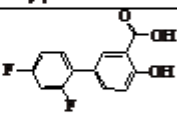
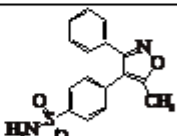
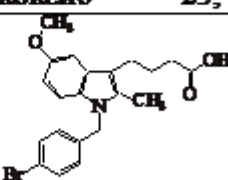
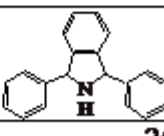
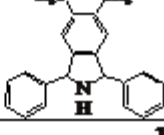
НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

Таблица 2. Решающий набор признаков.

№ признака	Содержимое признака	г
1	$\{(>C=C<)-(-Cl)\}! \{(>SO_2)-(1,4\text{-дизам.бензол})\}!$ $\{(>C=C<)-(-Br)\}$	0,504
2	$\{(-NH_2)-(>SO_2)\}! \{(>C=C<)-(-Cl)\}! \{(>C=C<)-$ $(-Br)\}$	0,497
3	$(-Cl)! (-NH_2)! (-Br)$	0,465
4	$\{(>SO_2)-(1,4\text{-дизам.бензол})\}\# \{(>C=C<)-$ $(2,3\text{-дизам.тиофен})\}\# \{(>C=O)-(1,4\text{-дизам.бензол})\}$	0,422
5	$(1,4\text{-дизам. бензол})! (>CH-)! (-S-)$	0,362
6	$(1,3,5\text{-тризам. -1Н пиразол})\# (1,3,4\text{-тризам.бензол})\#$ $(1,1,2,3,4\text{-пентазам. -1,2,3,4-тетрагидро-1a}^4 \text{ тиено [2,3-e][1,2] тиазин})$	0,314
7	$(-OH)\# (-NH-)\# (-H_het)$	0,307
8	$(>C=O) \# (1,2,3,5\text{-тетразам. -1Н-индол})\#$ $(1,1,2,3,4\text{-пентазам. -1,2,3,4-тетрагидро-1a}^4 \text{ тиено [2,3-e][1,2] тиазин})$	-0,346
9	$(-O-)\# (-N=C<)\# (>N-)$	-0,297
10	$(1,2,3,4,5\text{-пентазам. -2,5-дигидро-1Н-пиррол})\#$ $(2,3\text{-дизам. тетрагидро 2Н-фуран})\# (-CH_2-)$	-0,277
11	$\{(-OH)-(>C=O)-(>C=C<)\}$	-0,239
12	$\{(-OH)-(>C=C<)\}$	-0,217
13	$\{(>C=O)-(>C=C<)\}$	-0,205
14	$(F)\# (-H_het) \# (>N-)$	-0,202

Примечание: !-знак дизъюнкции, #-знак строгой дизъюнкции.

Таблица 3. Результаты тестирования РНП на экзаменационной выборке.

№	Структура	Литер. данные	Геом.	Голос.
1		А	А	А
	Целекоксиб 1,2/ 0,83*			
2		А	А	В
	Толметин 0,35/ 0,82			
3		В	В	В
	Напроксен 9,3/ 28			
4		В	В	В
	Ибупрофен 7,6/ 7,2			
5		В	В	В
	Нимесулид 1,0/ 1,9			
6		В	В	В
	Дифлунисал 11,3/ 8,2			
7		А	А	А
	Вальдекоксиб 25,4/ 0,89			
8		А	А	-
	- 50/ 0,006			
9		В	А	В
	- 2500/ 32,4			
10		В	А	В
	- 1000/ 3,1			

Примечание: * Даны значения IC₅₀(COX1)/ IC₅₀(COX2), мкМ.

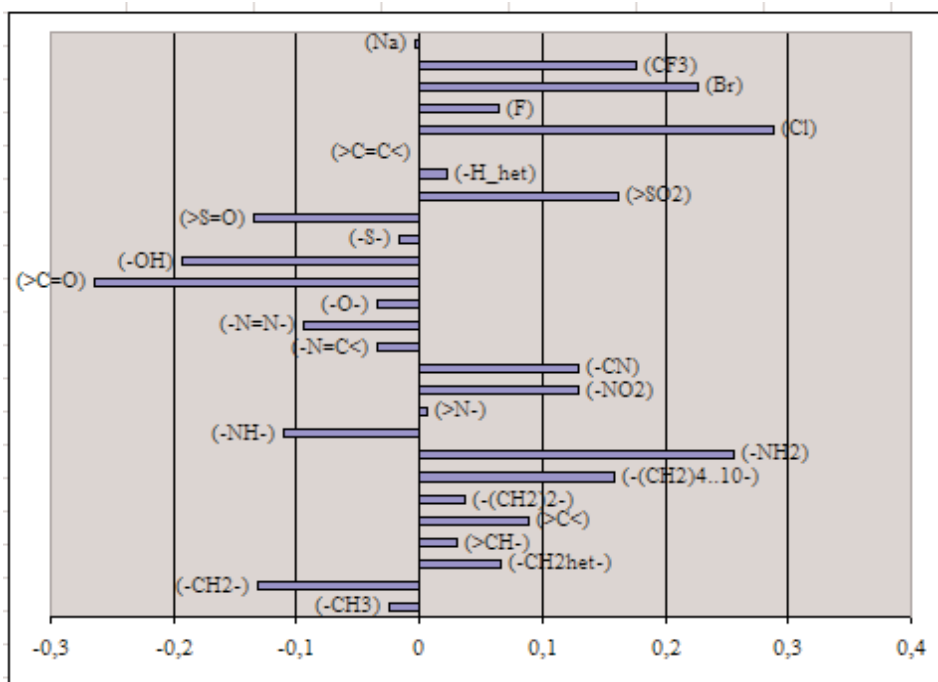


Рисунок 1.

Влияние отдельных функциональных групп на эффективность противовоспалительного действия.

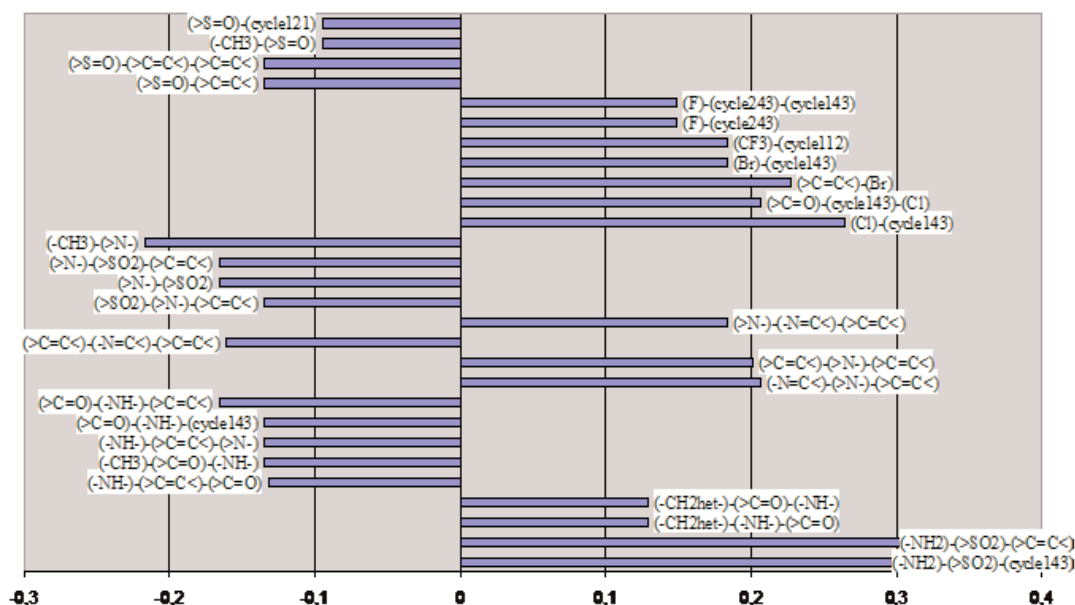


Рисунок 2.

Влияние сульфоксид-, галоген- и азот- содержащих признаков на эффективность противовоспалительного действия. Здесь и далее цифрами обозначены коды циклических фрагментов, структурные формулы которых приведены в таблице 4.

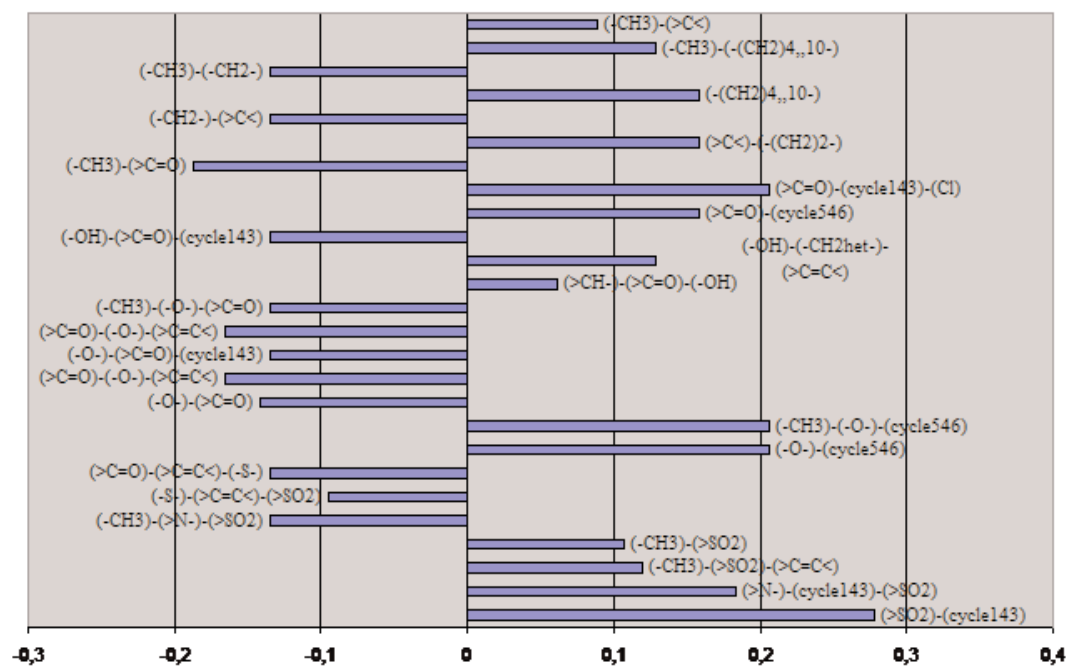


Рисунок 3.

Влияние алкил-, кислород-, серосодержащих признаков на противовоспалительную эффективность.

Таблица 4. Циклические фрагменты, характерные для эффективных НПВЛС.

112*	116	121	143	243
322	546	579	586	588

Примечание: * Цифрами обозначены коды циклов при расчёте.

Установлено, что из фрагментарных признаков наибольший вклад в проявление ПВА вносят такие функциональные группы, как $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{NH}_2$, $>\text{SO}_2$, (рис. 1). Как свидетельствуют данные таблицы 4, из циклических фрагментов для эффективных НПВЛС характерны 1,4-ди- и 1,2,4,5-тетразамещенные ароматические системы. Анализ влияния субструктурных параметров на ПВА рассмотрен с учетом их принадлежности к различным функциональным группам. В соответствии с данными рисунков 2 и 3, вклад субструктурных дескрипторов в целевое свойство неоднозначен и меняется в зависимости от природы формирующих их фрагментов, а также способа их сочетания друг с другом. Определены наиболее значимые сочетания указанных выше функциональных групп.

В частности, установлено, что среди азотсодержащих признаков наибольшее влияние на ПВА оказывает сочетание первичной аминогруппы с сульфоновым фрагментом и 1,4-дизамещенным бензолом (рис. 2). Для эффективных соединений также характерны признаки, полученные в результате сочетания третичного азота с азометиновой и этиленовой группами (рис. 2). Интересно отметить, что способ сочетания фрагментов в этих признаках не влияет на целевое свойство.

Из галогенсодержащих признаков наибольший положительный вклад в ПВА показали хлор- и бромсодержащие ароматические фрагменты. Среди фторсодержащих признаков наибольшим положительным значением коэффициента информативности отличаются трифторметильная группа и ее сочетания с 1,3,5-тризамещенным 1Н-пиразолом (цикл 112, табл. 4), а также фрагменты, полученные в результате включения фтора в структуру 1,4- и 1,2,4,5-тетразамещенных ароматических фрагментов.

Индивидуально сульфоновая группа вносит положительный вклад в изучаемое свойство. Помимо отмеченного выше сочетания первичной аминогруппы с сульфоновым фрагментом высокую положительную оценку информативности показали сочетания сульфоновой группы с 1,4-дизамещенной ароматической системой и третичной аминогруппой. В то же время признаки, содержащие третичный атом азота, сульфоновую и этиленовую группы независимо от способа их связывания друг с другом имеют отрицательные значения информативности и не типичны для эффективных НПВЛС (рис. 2). Сульфоксидная группа как индивидуально, так и в составе агрегированных признаков характерна для низкоэффективных НПВЛС (рис. 2).

В соответствии с данными рисунка 3, введение полиметиленовых групп в молекулы НПВЛС будет способствовать увеличению липофильности соединений и в то же время усилит их терапевтическое действие.

Среди кислородсодержащих признаков высокой отрицательной оценкой информативности характеризуются гидроксильная и карбонильная группы (рис. 3). Отрицательный вклад в целевое свойство вносит и карбоксильная группа (сочетание $(>\text{C}=\text{O})-(\text{-OH})$). В целом, влияние этих функциональных групп на ПВА неоднозначно. Так, например, сочетание третичного атома углерода с карбоксильной группой положительно влияет на проявление противовоспалительных свойств, в то время как связывание карбоксильной группы с *n*- и *o*-замещенным бензолом не типично для эффективных соединений. Высокую положительную оценку информативности показывают сочетания карбонильной группы с циклами 1,2,3,5-тетразамещенным 1Н-индолом и 1,4-дизамещенным бензолом (цикл 546 и 143 соответственно, табл. 4).

Достоверность полученных результатов можно продемонстрировать на примере структур известных НПВЛС. Так, экспериментальное соединение SC-558 (табл. 1), которое оказывает высокий противовоспалительный эффект, содержит в своей структуре такие высокоинформативные признаки, как $(-\text{NH}_2)-(>\text{SO}_2)-(1,4\text{-дизам. бензол})$, $(>\text{C}=\text{C})-(\text{-Br})$, $(1, 4\text{-дизамещ. бензол})-(\text{Br})$, $(-\text{CF}_3)$ и других (рис. 1, 2). Аналогично, эффективность известного НПВП капрофена (табл. 1) обусловлена присутствием в нём фрагментов $(-\text{NH}_2)-(>\text{SO}_2)-(1,4\text{-дизам. бензол})$; $(-\text{F})$; $(1,4\text{-дизамещ. бензол})$ (рис. 1, 2; табл. 4).

Ресвератрол, содержащий в своей структуре три гидроксильные группы, значительно уступает по эффективности противовоспалительного действия двум вышеназванным соединениям (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.

Заключение: Результаты изучения взаимосвязи “структура-эффективность противовоспалительного действия” в ряду НПВЛС позволяют проводить виртуальный скрининг различных природных и синтетических веществ на наличие противовоспалительной активности (ПВА), предсказать возможные направления модификации уже известных и активно используемых НПВЛС с целью усиления их противовоспалительного действия, а также предложить ценные практические рекомендации к синтезу новых эффективных соединений.

Выводы:

1. Выявлены циклические и ациклические структурные признаки, характерные для эффективных НПВЛС.
2. На базе этих признаков сформирована модель прогноза эффективности противовоспалительного действия с уровнем достоверного распознавания 76 и 81% по двум методам.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках проекта “Развитие научного потенциала высшей школы” (2006-2008 годы) и Роснауки (Госконтракт № 02.438.11.7003).

ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов Е.Л. (2000) Нестероидные противовоспалительные препараты (Перспективы применения в медицине), Анко, Москва.
2. Brooks P., Day R. (1993) N. Engl. J. Med., **324**, 1716–1725.
3. Насонов Е.Л. (2002) РМЖ, **10** (4), 206–212.
4. Laurel J., Benjamin D. (2002) Mediators of Inflammation, **11**, 275–286.
5. Лазарева Д.Н., Муфазалова Н.А., Муфазалов Ф.Ф., Самигуллина Л.И., Рафикова Э.А. (2005) Нестероидные противовоспалительные препараты, Здравоохранение Башкортостана, Уфа.
6. Кадыров Ч.Ш., Тюрина Л.А., Симонов В.Д., Семенов В.А. (1989) Машинный поиск препаратов с заданными свойствами, Фан, Ташкент.
7. Стьюпер Э., Брюггер У., Джурс П. (1982) Машинный анализ связи химической структуры и биологической активности, Мир, М.
8. Кирлан В.В. (2003) Прогноз и молекулярный дизайн гетероорганических соединений с комплексом заданных свойств. Автореф. дисс. канд. хим. наук, БашГУ, Уфа.
9. Dannhardt G., Kiefer W. (2001) Eur. J. Med. Chem., **36**, 109–126.
10. Raichurkar A.V., Kulkarni V.M. (2003) I.E.J.M.D., **2**, 242–261.
11. Warner T.D., Giuliano F., Vojnovic J. et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA Pharmacology, **96**, 7563–7568.

Поступила: 27. 07. 2006.

**NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS. DECLARATION I.
A STUDY OF INTERRELATION “STRUCTURE – THE EFFECTIVENESS
OF ANTI-INFLAMMATORY ACTION”**

V.R. Khayrullina¹, A.D. Mukhametov¹, L.A. Tjurina², G.G. Garifullina¹, A.J. Gerchikov¹, F.S. Zarudiy³

¹Bashkortostan State University, Frunze ul., 32, Ufa, 450074 Russia; tel./fax: (+7 3472) 73-67-01;
e-mail: gerchikov@inbox.ru

²Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia

³Institute of Organic Chemistry, Ufa Science Centre of RAS, Ufa, Russia

Using the computer system SARD-21 (Structure Activity Relationship & Design) the structural features typical for high- and low- effective nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were analyzed. This information has been used for the model for prediction of anti-inflammatory effectiveness of medicines with 76% and 81% level of recognition by two methods. New data can be used for creating new highly effective NSAIDs, and for increasing effectiveness of already known components.

Key words: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, theory of shape recognition, structure-activity, cyclooxygenase.