Биомедицинская химия, 2015 том 61, вып. 2, с. 286-297.

УДК 615.322 + 544.165
©Коллектив авторов

ВОЗМОЖНОСТИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ОЦЕНКИ СКРЫТОГО ПОТЕНЦИАЛА ФИТОКОМПОНЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ИЗ ТРАДИЦИОННОЙ ИНДИЙСКОЙ МЕДИЦИНЫ АЮРВЕДА

А.А. Лагунин[1,2], Д.С. Дружиловский[1], А.В. Рудик[1], Д.А. Филимонов[1], Д. Гаванде[3], К. Суреш[3], Р. Гоел[3], В.В. Поройков[1,2]*

[1]Научно-исследовательский институт имени В.Н. Ореховича,
119121 Москва, ул. Погодинская, 10; тел.: 7 (499) 246-09-20; факс: 7 (499) 245-08-57;
эл. почта: vladimir.poroikov@ibmc.msk.ru
[2]Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
[3]Департамент фармацевтических наук и исследований лекарств, Университет Пенджаба,
Патиала-147002, Индия

Исследована применимость разработанных нами компьютерных программ PASS и PharmaExpert к анализу спектров биологической активности достаточно сложных и разнообразных по структуре фитокомпонентов лекарственных растений, как по-отдельности, так и в комбинациях. С этой целью была создана база данных, содержащая известную информацию о структурных формулах и биологической активности 1906 фитокомпонентов 50 лекарственных растений из традиционной индийской медицины (ТИМ) Аюрведа (ayurveda.pharmaexpert.ru). Обучающая выборка программы PASS была пополнена информацией о структуре и биологической активности 946 природных соединений; проведены обучение и валидация, позволившие оценить качество прогноза PASS. Показано, что различия между значениями средней точности прогноза при кросс-валидации с разбиением выборки на 20 частей (94,467%) и при скользящем контроле с исключением по одному (94,605%) незначительны, что свидетельствует о хорошей прогностической способности программы. Результаты прогноза спектров биологической активности для всех включенных в нашу базу данных фитокомпонентов в 83,5% случаев совпали с известными экспериментальными данными. Предсказанные с высокой вероятностью дополнительные виды активности указывают на перспективные направления дальнейших исследований отдельных фитокомпонентов лекарственных растений. С помощью компьютерной программы PharmaExpert мы выполнили анализ результатов прогноза для комбинаций фитокомпонентов, содержащихся в отдельных лекарственных растениях ТИМ. На основе этого анализа установлено, что комбинация фитокомпонентов растения *Passiflora incarnata* может обладать ноотропным, противосудорожным и антидепрессантным эффектами. Полученные в экспериментах на мышиных моделях результаты подтвердили наличие прогнозируемых видов биологической активности у экстрактов *Passiflora incarnata*.

Ключевые слова: SAR, PASS, PharmaExpert, компьютерный прогноз, Аюрведа, лекарственные растения, фитокомпоненты, биологическая активность.

DOI: 10.18097/PBMC20156102286

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в поиске и создании новых лекарственных препаратов широко используются методы биоинформатики и компьютерного конструирования лекарств [1]. С их помощью идентифицируют наиболее перспективные макромолекулы-мишени; проводят поиск и конструирование прототипов новых лекарств, взаимодействие которых с фармакологическими мишенями приводит к нормализации патологических процессов; осуществляют оптимизацию фармакодинамических и фармакокинетических характеристик найденных соединений с целью получения лекарственных веществ [2-4].

С начала 90-х годов в ИБМХ проводятся инициированные академиком А.И. Арчаковым работы по созданию методов компьютерного конструирования лекарств и их применению к поиску и дизайну лекарственных веществ с требуемыми свойствами [5-14]. В рамках этих исследований

* - адресат для переписки

нами разработаны компьютерные программы PASS для прогноза спектров биологической активности органических соединений по структурной формуле [15-19] и PharmaExpert для анализов результатов прогноза PASS и поиска веществ с требуемыми профилями биологической активности [20, 21]. С помощью компьютерных программ PASS и PharmaExpert выявлено значительное число фармакологических веществ из различных химических классов, обладающих разнообразными видами биологической активности [19].

Природные соединения используются в народной медицине в течение нескольких тысячелетий, занимая в настоящее время более 30% мирового фармацевтического рынка. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в конце XX века около 80% населения земли в той или иной степени использовали природные соединения для лечения. Как показал проведённый в 2007 году анализ [22], в период с 1981 по 2006 год на основе природных соединений было получено около 70% оригинальных базовых структур новых лекарств (New Chemical Entities). Огромное количество эмпирических данных о фармакологических свойствах природных соединений накоплено в традиционной индийской медицине (ТИМ) Аюрведа, первые упоминания о которой датируются 1 тысячелетием до н.э. Развитие методов определения химического состава природных продуктов, используемых в народной медицине, позволило во многих случаях выявить основные действующие соединения (фитокомпоненты). Природные соединения обладают более высоким химическим разнообразием по сравнению с веществами, полученными синтетическим путём, однако лишь небольшая часть их фармакологического потенциала используется современной медициной [23]. Использование разработанных нами компьютерных программ PASS и PharmaExpert для оценки спектров биологической активности природных соединений из лекарственных растений позволяет провести более глубокий анализ их возможных применений в медицине.

Целью данной работы являлось изучение перспектив использования разработанных нами ранее компьютерных методов анализа взаимосвязей “структура-активность” как для отдельных фитокомпонентов, так и для экстрактов лекарственных растений, что позволило определить точность прогноза известных видов биологической активности, предсказать новые фармакотерапевтические эффекты и определить на этой основе направления дальнейших экспериментальных исследований.

МЕТОДИКА

Программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances)

Компьютерная программа PASS (версия 2012) позволяет по структурной формуле вещества предсказывать примерно 4000 видов биологической активности [15, 19] на основе анализа взаимосвязей “структура-активность” для веществ обучающей выборки, содержащей около 250000 органических соединений с известной биологической активностью. Типы прогнозируемых видов биологической активности включают в себя: фармакологические эффекты; механизмы действия; побочное действие и специфическую токсичность; взаимодействие с нежелательными мишенями; влияние на лекарственный метаболизм, генную экспрессию и белки-транспортеры. Средняя точность прогноза составляет около 95% при скользящем контроле с исключением по одному и при кросс-валидации со случайным разбиением выборки на 20 частей. Главным назначением программы PASS является прогноз спектров активности новых, ранее неизученных, веществ. Поэтому общим принципом реализации прогноза PASS является исключение из базы знаний вещества со структурой молекулы, эквивалентной структуре молекулы вещества, спектр биологической активности которого прогнозируется, что повышает объективность результатов прогноза. Кроме того, нами показана высокая статистическая устойчивость метода, что обеспечивает возможность прогноза биологической активности новых веществ, несмотря на неполноту информации в обучающей выборке [24].

Входной информацией является SDF файл с информацией о структурных формулах анализируемых молекул [25], выходная информация, наряду с информацией о структуре химического соединения, содержит также список прогнозируемых для него видов биологической активности с оценками вероятности: Pa – наличие активности; Pi – отсутствия активности. Значимыми результатами предсказания активности считаются те, для которых величина Pa-Pi>0. Чем выше эта величина, тем более вероятно подтверждение предсказанной активности в эксперименте и тем больше соединение похоже на “обобщённый образ” активных соединений в обучающей выборке.

Поскольку известно, что многие природные соединения обладают более сложной структурой и большим химическим разнообразием по сравнению с веществами, полученными методами органического синтеза, для повышения качества прогноза компьютерной программы PASS мы решили пополнить обучающую выборку PASS информацией о природных соединениях. Была создана выборка из 946 структур природных соединений с 1724 записями о 251 биологической активности; 290 из 946 структур природных соединений и 965 из 1724 записей о биологической активности, добавленных в обучающую выборку PASS, оказались новыми по отношению к уже имеющейся информации. В результате проведенного обучения была создана база знаний SAR Base программы PASS со следующими характеристиками: число соединений в обучающей выборке – 250697; число прогнозируемых видов активности – 4446. Различия между значениями средней точности прогноза при кросс-валидации

с разбиением выборки на 20 частей (94,467%) и при скользящем контроле с исключением по одному (94,605%) незначительны, что свидетельствует о хорошей прогностической способности программы.

Более подробно используемый в PASS метод анализа взаимосвязей структура-активность и прогноза активности новых соединений описан в наших публикациях [18, 19].

Программа PharmaExpert

Компьютерная программа PharmaExpert использует в качестве входной информации результаты прогноза спектров биологической активности, полученные с помощью компьютерной программы PASS. Программа предназначена для анализа причинно-следственных взаимосвязей между предсказанными видами биологической активности, оценки возможных положительных и отрицательных фармакокинетических и фармакодинамических межлекарственных взаимодействий, поиска соединений с несколькими механизмами действия (мультитаргетных препаратов) [4, 26, 28]. PharmaExpert включает в себя базу знаний о более чем 12 тысячах известных взаимосвязей между биологическими активностями [4], что дает возможность на основе известных данных о причинно-следственных и ассоциативных зависимостях визуализировать взаимосвязи между различными видами биологической активности, а также осуществлять отбор соединений с заданным набором видов биологической активности (виртуальный скрининг). В рамках настоящей работы мы модифицировали PharmaExpert, чтобы обеспечить анализ межлекарственных взаимодействий множества фитокомпонентов, входящих в состав отдельных лекарственных растений, либо их комбинаций (в прежней версии программа позволяла анализировать межлекарственные взаимодействия только попарных комбинаций органических соединений). На основе модуля межлекарственного взаимодействия PharmaExpert была также реализована возможность анализа потенциального взаимодействия комбинаций экстрактов лекарственных растений с целью выявления наиболее перспективных с точки зрения эффективности (присутствие аддитивных/синергетических терапевтических эффектов) и безопасности (отсутствие аддитивных/синергетических токсических эффектов).

База данных по 50 лекарственным растениям из Аюрведы

Согласно существующим оценкам, число лекарств растительного происхождения, широко используемых в Индии различными школами Аюрведы, составляет около 700 [28]. При этом названия препаратов в различных регионах Индии существенно отличаются, что обусловлено наличием 21 официального языка и большого количества диалектов. Это создаёт значительные сложности в установлении ботанической принадлежности используемых в ТИМ лекарств. Для исследования мы отобрали 50 хорошо известных и широко используемых в Аюрведе лекарственных растений на основе следующих критериев: (1) использование в ТИМ; (2) наличие адекватных данных фитохимического анализа и структурных формул фитокомпонентов; (3) наличие данных о фармакологической активности растительных экстрактов. Список отобранных лекарственных растений и число входящих в их состав природных соединений (фитокомпонентов) приведены в таблице 1. Была создана доступная через Интернет база данных (ayurveda.pharmaexpert.ru), содержащая информацию о медицинских применениях отдельных растений и их комбинаций, структурных формулах входящих в их состав 1906 фитокомпонентов, установленных сведениях об их биологической активности.

Получен прогноз спектров биологической активности с использованием программы PASS для фитокомпонентов входящих в состав каждого растения, и результаты сохранены в виде отдельных файлов. Каждый из таких файлов можно рассматривать в качестве виртуального аналога экстракта растения, суммарный “спектр биологической активности” которого был в дальнейшем проанализирован с помощью программы PharmaExpert для выявления потенциальных аддитивных/синергетических фармакологических эффектов, обусловленных межлекарственным взаимодействием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты прогноза спектров биологической активности фитокомпонентов, входящих в состав пятидесяти лекарственных растений, используемых в ТИМ (см. табл. 1) были проанализированы с помощью компьютерной программы PharmaExpert и сопоставлены с данными об известных терапевтических применениях исследуемых соединений. Было показано, что 83,5% предсказаний подтверждается известными фармакотерапевтическими эффектами при пороге по вероятности наличия активности Pa>0,7 (табл. 1).

Гистограмма сравнения числа предсказанных (чёрный цвет) известных терапевтических эффектов и числа не предсказанных (серый цвет) известных терапевтических эффектов для каждого растения, построенная на основе таблицы 1, представлена на рисунке 1.

В таблице 2 в качестве примера приведены структурная формула и прогнозируемый спектр биологической активности для главного фитокомпонента растения *Curcuma longa* – куркумина.

Как можно видеть из представленных данных, большинство предсказанных видов биологической активности подтверждено известными экспериментальными данными. В то же время, некоторые из предсказанных видов активности (*Carminative*, *Vasoprotector* и др.) ранее не были известны, что указывает направления дальнейших исследований этого соединения.

Таблица 1. Статистика сравнения известных и предсказанных фармакотерапевтических эффектов для фитокомпонентов 50 лекарственных растений из ТИМ.

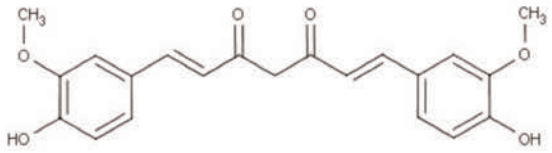
N	Название растения	Главные компоненты	Ncpds	Nact (Pa>0,7)	N_{known}	$N_{know\ pred}$	N_{known}/ $N_{know\ pred}$
1	*Achyranthes aspera* Linn (Amaranthaceae)	Achyranthine	18	692	32	28	0,875
2	*Acorus calamus* (Acoraceae)	Alpha-asarone	44	601	21	16	0,762
3	*Adhatoda zeylanica* Medic. (Acanthaceae)	Visicine	2	134	20	8	0,4
4	*Aegle marmelos* (Rutaceae)	Skimmianine, Marmelosin	32	467	31	30	0,968
5	*Aerva lanata* L. (Amaranthaceae)	Aervine	9	218	14	10	0,714
6	*Allium sativum* (Amaryllidaceae)	Allicin	67	759	28	26	0,929
7	*Aloe vera* (Xanthorrhoeaceae)	Aloin, Aloe-emodin	31	413	17	16	0,941
8	*Alpinia galanga* (Zingiberaceae)	Galangin	17	436	13	12	0,923
9	*Alstonia scholaris* L. (Apocynaceae)	Ditamine, Echitamine	49	161	30	25	0,833
10	*Andrographis paniculata* (Acanthaceae)	Andrographolide	70	649	24	17	0,708
11	*Argyreia speciosa* (L.f.) (Convolvulaceae)	Quercetin	8	515	16	12	0,75
12	*Asparagus racemosus* Willd. (Asparagaceae)	Shatavarin	15	144	23	15	0,652
13	*Azadirachta indica* (Meliaceae)	Nimbin	220	542	21	21	1
14	*Bacopa monnieri* L. (Scrophulariaceae)	Bacosides A & B	28	74	29	9	0,31
15	*Berberis vulgaris* L. (Berberidaceae)	Berberine	6	81	20	12	0,6
16	*Boerhavia diffusa* L. (Nyctaginaceae)	Liriodendrin	20	572	20	18	0,9
17	*Cassia tora* L. (Nyctaginaceae)	Cinnamaldehyde	29	478	16	14	0,875
18	*Centella asiatica* (Apiaceae)	Brahmoside, Asiaticoside	26	512	19	15	0,789
19	*Crocus sativus* L. (Iridaceae)	Crocin, Safranal	44	729	20	15	0,75
20	*Curcuma longa* (Zingiberaceae)	Curcumin	41	279	18	13	0,722
21	*Emblica officinalis* L. (Phyllanthaceae)	Emblicanin A & B	2	40	21	12	0,571
22	*Ficus religiosa* L. (Moraceae)	Linosterol, beta-sitosterol	5	656	18	16	0,889
23	*Ginkgo biloba* (Ginkgoaceae)	Quercetin	59	787	19	15	0,789
24	*Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae)	Glycyrrhizin	108	839	11	10	0,909
25	*Hemidesmus indicus* L. (Apocynaceae)	Coumarin	25	327	10	9	0,9
26	*Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae)	Hibiscine (delphinidin-3-glucoxyloside)	6	605	14	13	0,929
27	*Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae)	Hyperforin, Hypericin	40	511	8	7	0,875
28	*Lathyrus sativus* L. (Leguminosae)	Agmatine	10	479	1	1	1
29	*Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae)	6R-hydroxy-adoxosid	62	558	11	10	0,909
30	*Moringa oleifera* Lam. (Moringacae)	Niaziminin A & B	64	652	20	18	0,9
31	*Nardostachys jatamansi* (Valerianaceae)	Jatamansone	19	218	11	10	0,909
32	*Nigella sativa* L. (Ranunculaceae)	Carvone	36	757	7	7	1
33	*Ocimum sanctum* (Labiateae)	Ursolic acid	6	280	19	15	0,789
34	*Panax Ginseng* (Araliaceae)	Ginsenoside	139	779	21	20	0,952
35	*Passiflora incarnate* (Passifloraceae)	Harman, Harmine, Apigenin	9	283	9	7	0,778

Таблица 1. Продолжение.

N	Название растения	Главные компоненты	Ncpds	Nact (Pa>0,7)	N_{known}	$N_{know\ pred}$	N_{known}/ $N_{know\ pred}$
36	*Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae)	Phyllanthin	13	160	11	11	1
37	*Piper longum* L. (Piperaceae)	Piperine	27	643	19	17	0,895
38	*Psidium guajava* L. (Myrtaceae)	Guajanoic acid	33	893	12	10	0,833
39	*Psoralea corylifolia* (Fabaceae)	Psoralen	48	351	15	13	0,867
40	*Punica granatum* L. (Lythraceae)	Pellentrine	46	702	6	6	1
41	*Sida cordifolia* (Malvaceae)	Ephedrine	12	316	4	4	1
42	*Terminalia arjuna* (Roxb.) (Combretaceae)	Arjunglucosides I-III	35	462	11	11	1
43	*Terminalia chebula* (Combretaceae)	Chebulic Acid	20	493	4	2	0,5
44	*Tinospora cordifolia* (Menispermaceae)	Tinosporin	25	149	16	12	0,75
45	*Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae)	Trigonelline	38	581	11	11	1
46	*Valeriana officinalis* (Valerianaceae)	Actinidine	49	376	10	6	0.6
47	*Vitex negundo* L. (Verbenaceae)	Viridiflorol	28	762	11	10	0,909
48	*Withania somnifera* L. (Solanaceae)	Withanolide A	120	313	20	18	0.9
49	*Zanthoxylum armatum* (Rutaceae)	Linalool	6	473	7	7	1
50	*Zingiber officinalis* (Zingiberaceae)	Gingerols	169	732	10	10	1
	В среднем						0,835

Примечание: Ncpds - число известных соединений соответствующего растения, для которых выполнялся прогноз PASS; Nact (Pa>0,7) - число предсказанных активностей с порогом Pa>0,7 для всех соединений соответствующего растения; N_{known} - число известных терапевтических эффектов; $N_{know\ pred}$ - число известных терапевтических эффектов предсказанных правильно.

Таблица 2. Прогнозируемый спектр биологической активности для фитокомпонента *Curcuma longa* - куркумина.



Pa	Pi	Прогнозируемая активность	Экспериментальное подтверждение
0,946	0,001	Preneoplastic conditions treatment	[29]
0,935	0,004	Mucositis treatment	[30]
0,863	0,005	Apoptosis agonist	[29]
0,846	0,002	Choleretic	[31]
0,833	0,003	Carminative	Не изучено
0,814	0,004	Antimutagenic	[32]
0,773	0,005	Antihypercholesterolemic	[31]
0,731	0,013	Fibrinolytic	[40]
0,709	0,015	Antiinflammatory	[41]
0,697	0,007	Chemopreventive	[29]
0,688	0,005	Radiosensitizer	[42]
0,678	0,012	Vasoprotector	Не изучено
0,685	0,029	Antineoplastic	[29]

На основе анализа результатов компьютерного прогноза для фитокомпонентов можно определить новые потенциальные области применения не только отдельных фитокомпонентов, но и экстрактов лекарственных растений. Например, в таблице 3 приведены предсказанные с высокой вероятностью, ранее не известные, фармакотерапевтические эффекты всех фитокомпонентов *Achyranthes aspera* L.

Как видно из приведённых в таблице 3 данных, для 18 фитокомпонентов этого растения прогнозируются виды активности, связанные с антацидным эффектом; для 14 – с противоопухолевым (по отношению к раку кожи) эффектом, для 11 – с лечением фобий, и т.д.

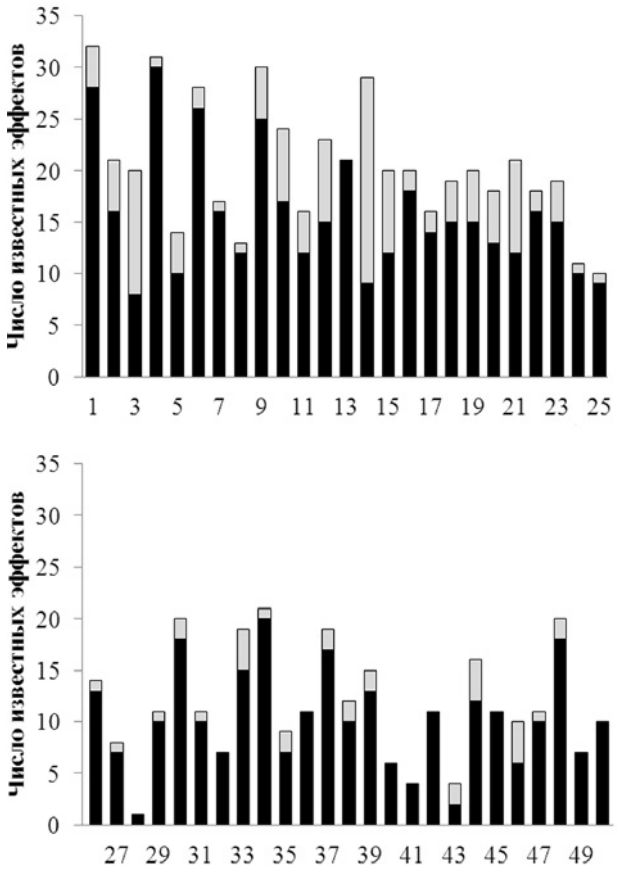


Рисунок 1. Доля известных терапевтических эффектов (чёрный цвет) для 50 лекарственных растений, предсказанных программой PASS.

В дальнейшем для более детального анализа было выбрано 13 терапевтических эффектов фитокомпонентов лекарственных растений, представляющих интерес для последующих экспериментальных исследований. С использованием программы PharmaExpert при пороге Pa>0,5 был проведён анализ наличия 13 отобранных терапевтических эффектов в прогнозируемых спектрах биологической активности для фитокомпонентов 50 исследуемых лекарственных растений (табл. 4).

На основе представленных в таблице 4 данных можно составить комбинации растений, для которых целесообразно провести экспериментальное исследование соответствующих терапевтических эффектов. Например, для фитокомпонентов *Alstonia scholaris* L. (Apocynaceae), *Allium Sativum* (Amaryllidaceae) и *Panax Ginseng* (Araliaceae) был предсказан антигипертензивный эффект, поэтому целесообразно изучить их совместное использование для терапии артериальной гипертензии в комбинации, согласно прогнозу, обладающей аддитивным/синергетическим эффектом. На рисунке 2 приведена гистограмма по числу лекарственных растений, для которых были предсказаны соответствующие активности.

Таблица 3. Новые возможные терапевтические области применения экстрактов *Achyranthes aspera* Linn. Fa, Amaranthaceae.

Действие	**N**
Антацидное	18
Противоопухолевое (рак кожи)	14
Лечение фобий	11
Иммуностимулятор (ВИЧ)	10
Стимулятор функций почек	9
Противовирусное (Арбовирус)	8
Протектор слизистой оболочки	8
Лечение заболеваний печени	7
Лечение воспаления слизистой оболочки	6
Антипротозойное (Лейшмании)	6
Иммуносупрессант	6
Антикарциногенное	6
Антивирусное (Вирус гриппа)	6
Противозудное	6
Противогрибковое	6
Сердечно-сосудистый аналептик	6
Кровоостанавливающее	6
Вазопротективное	6
Гепатопротективное	6
Противоядное	6
Противоязвенное	6

Примечание: N - количество фитокомпонентов, для которых с вероятностью более 70% прогнозируется соответствующий эффект.

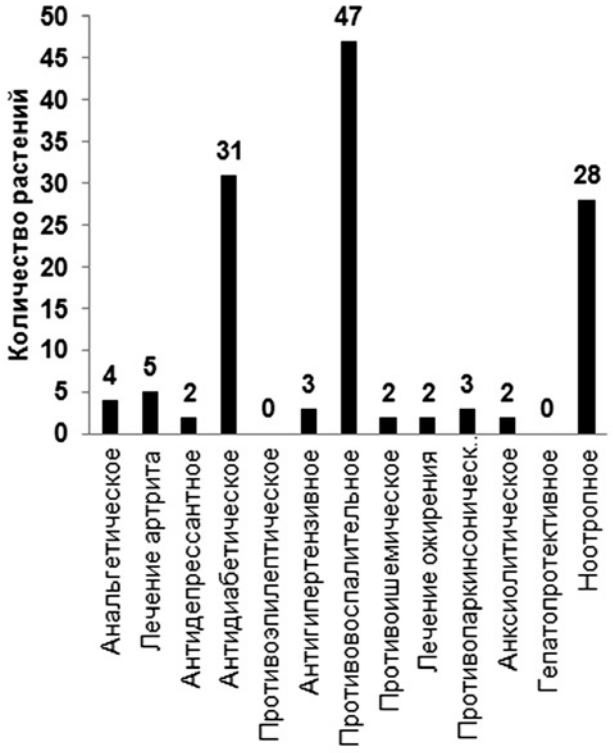


Рисунок 2. Количество лекарственных растений, для которых были предсказаны целевые терапевтические эффекты.

Таблица 4. Количество фитокомпонентов с предсказанной активностью.

Растение	**A1**	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**A11**	**A12**	**A13**
Acorus calamus		1		2			22						1
Aegle marmelos							14		1				1
Aerva lanata L.							4						2
Achyranthes aspera L.				5			6						9
Adhatoda zeylanica Medic.													
Allium sativum	1			4		2	6						
Aloe vera				7			1						
Alpinia galanga							6						
Alstonia scholaris L.	4					2	3						
Andrographis paniculata		4		11			64						2
Argyreia speciosa				1			7						1
Asparagus racemosus Willd.							13						
Azadirachta indica	1						125						5
Bacopa monnieri L.			2				14						
Berberis vulgaris L.													1
Boerhavia diffusa L.		2		1			7						
Cassia tora L.				8			23						
Centella asiatica				2			21						5
Crocus sativus L.				5			27						2
Curcuma longa							27						7
Emblica officinalis L.							1						
Ficus religiosa L.							4						
Ginkgo biloba				1			35						3
Glycyrrhiza glabra L.		1		10			84						4
Hemidesmus indicus L.							14						1
Hibiscus sabdariffa L.				1			3						
Hypericum perforatum L.			12	3			12						1
Lathyrus sativus L.				1				1					2
Morinda citrifolia L.				1			34						
Moringa oleifera Lam.				9			12						
Nardostachys jatamansi	1						8						
Nigella sativa L.		2		2			14						3
Ocimum sanctum				2			3						1
Panax Ginseng				7		2	91						2
Passiflora incarnata				3			4						4
Phyllanthus amarus							6						
Piper longum L.							1						5
Psidium guajava L.				1			27			1			2
Psoralea corylifolia				2			34	1					
Punica granatum L.				2			34						4
Sida cordifolia				3			4		2				2
Terminalia arjuna				8			34						1
Terminalia chebula				3			17						
Tinospora cordifolia				1			20						
Trigonella foenum-graecum L.				5			32						4
Valeriana officinalis							16						
Vitex negundo L.				1			20						
Withania somnifera L.							24			4	1		3
Zanthoxylum armatum							2						
Zingiber officinalis				1			64						58

Примечание: A1 - Анальгетическое; A2 - Лечение артрита; A3 - Антидепрессантное; A4 - Антидиабетическое; A5 - Противоэпилептическое; A6 - Антигипертензивное; A7 - Противовоспалительное; A8 - Противоишемическое; A9 - Лечение ожирения; A10 - Противопаркинсоническое; A11 - Анксиолитическое; A12 - Гепатопротективное; A13 - Ноотропное.

Поскольку программа PASS позволяет прогнозировать биологическую активность на качественном уровне (наличие/отсутствие), оптимальные пропорции отдельных лекарственных растений в комбинации необходимо установить экспериментально с учётом содержания в них активных фитокомпонентов и величины проявляемых ими видов активности.

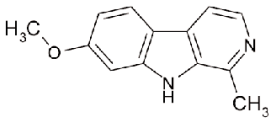
Рассмотрим растение *Passiflora incarnata*, в качестве примера практического применения результатов компьютерного прогноза спектра биологической активности фитокомпонентов, с целью новых терапевтических применений его экстракта. В созданной нами базе данных содержатся структурные формулы 9 фитокомпонентов *Passiflora incarnata*. Результаты прогноза показывают, что для большей части фитокомпонентов, включая главные фитокомпоненты растения, прогнозируются новые терапевтические эффекты (ноотропный, противосудорожный и антидепрессантный) и связанные с ними механизмы действия (табл. 5).

Наличие в прогнозе, как ноотропного, противосудорожного и антидепрессантного эффектов, так и взаимодействия с лекарственными мишенями, связанными с проявлением этих эффектов, свидетельствует о высокой вероятности подтверждения прогнозируемого действия в эксперименте.

Для экспериментальной валидации прогнозируемых эффектов, фармакологическое действие экстрактов *Passiflora incarnata* было исследовано на мышах в Отделе фармацевтических наук и исследований лекарств Пенджабского университета. Экстракт *Passiflora incarnata* содержал три основных компонента в следующих концентрациях: гармин (0,313±0,003 мкг/мл), гармалин (0,065±0,015 мкг/мл) и гармалол (2,090±0,051 мкг/мл). Экспериментальное тестирование осуществляли с использованием известных экспериментальных моделей на животных [36].

Пентилентетразоловая модель является одной из наиболее широко используемых моделей на животных для изучения механизма эпилептических приступов, эпилептогенеза, связанных с эпилепсией сопутствующих психических заболеваний и поиска новых лекарств для лечения эпилепсии. В данном исследовании, субпороговую дозу пентилентетразола (35 мг/кг) вводили через день внутрибрюшинно в течение 45 дней, индуцируя у мышей эпилептиформные припадки. Введение экстракта *Passiflora incarnata* значительно ($p<0,05$) снижало судорожный индекс на 5, 10 и 15 день по сравнению с контрольными животными [36]. Кроме того, в нейрохимических исследованиях обнаружено значительное ($p<0,05$) повышение уровня моноаминов и понижение уровня оксида азота у животных, которым вводили экстракт *Passiflora incarnata*, по сравнению с контрольной группой. Наблюдаемые нейрохимические изменения позволяют предположить, что терапевтический эффект экстракта *Passiflora incarnata* обусловлен модуляцией моноаминергического и NO сигнальных путей, возможно, за счёт предсказанного антагонизма по отношению к 5-HT3 рецепторам и/или торможением активности моноаминоксидазы.

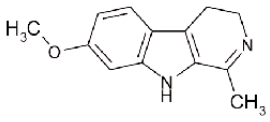
Таблица 5. Основные фитокомпоненты *Passiflora incarnata* для которых были предсказаны ноотропный, противосудорожный и антидепресантный эффекты с соответствующими наиболее вероятными механизмами действия (показаны курсивом).



Гармин (Harmine)

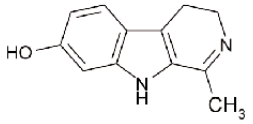
Результаты прогноза PASS:		
Pa	**Pi**	**Активность**
0,674	**0,045**	**Nootropic**
0,698	*0,004*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,557	*0,081*	*Nerve growth factor agonist*
0,469	*0,031*	*Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor*
0,499	*0,091*	*Calcium channel (voltage-sensitive) activator*
0,437	*0,072*	*Cyclic AMP agonist*
0,367	*0,030*	*Calcium channel activator*
0,279	*0,064*	*Adrenaline release stimulant*
0,225	*0,060*	*GABA receptor agonist*
0,116	**0,336**	**Anticonvulsant**
0,698	*0,004*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,629	*0,005*	*Cyclic AMP antagonist*
0,438	*0,038*	*Calmodulin antagonist*
0,374	*0,010*	*Benzodiazepine agonist partial*
0,253	**0,083**	**Antidepressant**
0,745	*0,023*	*5 Hydroxytryptamine release stimulant*
0,698	*0,004*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,557	*0,081*	*Nerve growth factor agonist*
0,414	*0,046*	*5 Hydroxytryptamine 7 antagonist*
0,351	*0,039*	*Imidazoline receptor agonist*
0,299	*0,031*	*GABA receptor agonist*
0,260	*0,014*	*MAO inhibitor*

Таблица 5. Продолжение.



Гармалин (Harmaline)

Результаты прогноза PASS:		
Pa	**Pi**	**Активность**
0,704	**0,036**	**Nootropic**
0,478	*0,052*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,443	*0,039*	*Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor*
0,347	*0,038*	*Calcium channel activator*
0,287	*0,058*	*Adrenaline release stimulant*
0,260	*0,104*	*Sigma receptor agonist*
0,269	**0,150**	**Anticonvulsant**
0,478	*0,052*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,440	*0,037*	*Calmodulin antagonist*
0,424	*0,126*	*Cyclic AMP antagonist*
0,394	*0,062*	*5 Hydroxytryptamine 7 antagonist*
0,344	**0,048**	**Antidepressant**
0,745	*0,023*	*5 Hydroxytryptamine release stimulant*
0,478	*0,052*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,388	*0,005*	*MAO inhibitor*
0,409	*0,027*	*Imidazoline receptor agonist*
0,394	*0,062*	*5 Hydroxytryptamine 7 antagonist*



Гармалол (Harmalol)

Результаты прогноза PASS:		
Pa	**Pi**	**Активность**
0,672	**0,046**	**Nootropic**
0,662	*0,005*	*5 Hydroxytryptamine 3A antagonist*
0,568	*0,044*	*Calcium channel (voltage-sensitive) activator*
0,409	*0,050*	*Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor*
0,330	*0,034*	*Adrenaline release stimulant*
0,245	**0,170**	**Anticonvulsant**
0,662	*0,005*	*5 Hydroxytryptamine 3 antagonist*
0,409	*0,050*	*Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor*
0,431	*0,116*	*Cyclic AMP antagonist*
0,425	*0,048*	*Calmodulin antagonist*
0,220	*0,139*	*GABA aminotransferase inhibitor*
0,209	**0,108**	**Antidepressant**
0,844	*0,011*	*5 Hydroxytryptamine release stimulant*
0,662	*0,005*	*5 Hydroxytryptamine 3 antagonist*
0,387	*0,005*	*MAO inhibitor*
0,400	*0,056*	*5 Hydroxytryptamine 7 antagonist*
0,261	*0,071*	*Imidazoline receptor agonist*
0,201	*0,138*	*Chloride channel activator*

Ухудшение когнитивных способностей и памяти является одними из основных сопутствующих симптомов, связанных с пентилентетразоловой моделью эпилепсии. У животных наблюдается значительное повышение ацетилхолинэстеразной (АХЭ) активности и уровня оксида азота, что может быть связано с возможным дефицитом памяти модельных животных. Экспериментальные результаты показывают, что введение экстракта *Passiflora incarnata* достоверно ($p<0,05$) снижает уровень АХЭ, оксида азота и вызывает улучшение памяти животных, по сравнению с контрольными животными [36]. Улучшение памяти при действии экстракта *Passiflora incarnata,* также может быть объяснено прогнозируемым блокирующим действием компонентов экстракта на 5-НТ3 рецепторы. Кроме того, блокада 5-НТ3 рецепторов приводит к стимуляции высвобождения ацетилхолина из холинергических нейронов, что может быть дополнительным механизмом, связанным с ноотропным эффектом [37].

Наблюдаемое депрессивно-подобное поведение у мышей в пентилентетразоловой модели, может быть связано со снижением уровня моноаминов в коре головного мозга и повышенном уровне оксида азота в гиппокампе [38]. Аналогичное наблюдение было отмечено и в нашем исследовании. Введение экстракта *Passiflora incarnata* также достоверно ($p<0,05$) уменьшает период неподвижности в тесте подвешивания за хвост [37] по сравнению с контрольными животными, что говорит об его антидепрессантном эффекте у животных в пентилентетразоловой модели. Этот эффект может быть обусловлен значительным ($p<0,05$) повышением уровней моноаминов в гиппокампе и коре головного мозга. Кроме того, установлено, что достоверно ($p<0,05$) снижается уровень оксида азота по сравнению с контрольной группой [38].

Таким образом, результаты экспериментальных исследований подтвердили наличие прогнозируемых противосудорожного антидепрессантного, и ноотропного эффектов у экстрактов *Passiflora incarnata*, сопоставимых по выраженности с эффектами соединений сравнения [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эмпирический поиск веществ, обладающих необходимым профилем биологической активности, требует проведения химического синтеза и биологического тестирования тысяч разнообразных веществ, что сопряжено со значительными финансовыми и временными издержками. Применение современных рациональных методов компьютерного конструирования лекарств существенно повышает эффективность такого поиска.

Анализ взаимосвязей “структура-активность” фитокомпонентов экстрактов лекарственных растений позволяет оценить их действие с позиций современной фармакологии и теоретически обосновать возможности использования в клинической практике. Поскольку число известных фармакологических мишеней составляет несколько тысяч, а большинство природных соединений проявляет полифармакологическое действие, взаимодействуя с многими мишенями, компьютерные методы не имеют альтернативы в такого рода исследованиях [39].

В рамках проведенного нами исследования, показана высокая точность оценки известных фармакологических эффектов экстрактов лекарственных растений путём компьютерного прогноза спектров биологической активности 1906 фитокомпонентов 50 лекарственных растений, используемых в Аюрведе. Продемонстрирована возможность отбора новых терапевтических областей применения экстрактов лекарственных растений с целью дальнейшего экспериментального исследования на основе анализа прогнозируемых спектров биологической активности для фитокомпонентов растения *Achyranthes aspera*. С использованием программы PharmaExpert можно отбирать комбинации лекарственных растений, потенциально обладающие аддитивными/синергетическими терапевтическими эффектами. Проведённое исследование фитокомпонентов растения *Passiflora incarnata* представляет пример экспериментальной валидации используемых компьютерных методов для выявления скрытого (не известного ранее) терапевтического потенциала лекарственных растений. Созданный нами веб-ресурс (ayurveda.pharmaexpert.ru) может быть использован в качестве источника справочной информации о фармакологической активности отдельных фитокомпонентов и экстрактов 50 лекарственных растений, используемых в ТИМ. Наличие информации о структурных формулах 1906 фитокомпонентов даёт возможность использовать эти данные для виртуального скрининга потенциальных лекарственных соединений другими методами компьютерного конструирования лекарств. Представленные на нашем веб-ресурсе результаты прогноза спектров биологической активности для 1906 фитокомпонентов позволяют многочисленным исследователям планировать эксперименты для обнаружения новых фармакологических эффектов 50 лекарственных растений.

Не менее десяти из пятидесяти отобранных для исследования лекарственных растений, используемых в ТИМ, описаны также в российских справочниках по фармакогнозии [40]. К ним относятся: Аир болотный (*Acorus calamus*), Чеснок посевной (*Alium sativum*), Барбарис обыкновенный (*Berberis vulgaris*), Гинкго двулопастный (*Ginkgo biloba*), Гибискус сабдарифа (*Hibiscus sabderiffa*), Зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum*), Чернушка дамасская (*Nigella sativa*), Женьшень (*Panax ginseng*), Пажитник сенной (*Trigonella foenum-graecum*), Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis*). Таким образом, результаты проведенного нами исследования могут быть использованы не только в индийской, но и в российской медицинской практике.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ/DST № 11-04-92713-Инд_а/RUSP-1176.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Jorgensen W.L.* (2004) Science, **303**, 1813-1818.
2. *Ivanov A.S., Veselovsky A.V., Dubanov A.V., Skvortsov V.S.* (2006) in: Methods in Molecular Biology (Larson E., Richard S., eds.), **116**, Humana Press, pp. 389-431.
3. *Иванов А.С., Пройков В.В., Арчаков А.И.* (2003) Вестник РГМУ, №4, 19-23.
4. *Lagunin A.A., Goel R.K., Gawande D.Y., Priynka P., Gloriozova T.A. Dmitriev A.V., Ivanov S.M., Rudik A.V., Konova V.I., Pogodin P.V., Druzhilovsky D.S., Poroikov V.V.* (2014) Natural Product Reports, **31**, 1585-1611.
5. *Арчаков А.И., Иванов А.С.* (1996) Вестник РАМН, № 1, 60-63.
6. *Medvedev A.E., Ivanov A.S., Veselovsky A.V., Skvortsov V.S., Archakov A.I.* (1996) J. Chem. Inform. Comput. Sci., **36**, 664-671.

7. *Filimonov D., Poroikov V., Borodina Yu., Gloriozova T.* (1999) J. Chem. Inf. Comput. Sci., **39**, 666-670.
8. *Дубанов А.В., Иванов А.С., Арчаков А.И.* (2001) Вопр. мед. химии, **47**, 353-367.
9. *Veselovsky A.V., Ivanov Yu.D., Ivanov A.S., Archakov A.I., Lewi P., Janssen P.* (2002) J. Mol. Recognit., **15**, 405-422.
10. *Соболев Б.Н., Пройков В.В., Оленина Л.В., Колесанова Е.Ф., Арчаков А.И.* (2003) Биомед. химия, **49**, 309-332.
11. *Veselovsky A.V., Ivanov A.S., Medvedev A.E.* (2004) Neurotoxicology, **25**, 37-46.
12. *Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V.* (2011) Molecular Informatics, **30**, 241–250.
13. *Stulov S.V., Mankevich O.V., Novikov R.A., Tkachev Y.V., Timofeev V.P., Dugin N.O., Pozdnev V.F., Fedyushkina I.V., Scherbinin D.S., Veselovsky A.V., Misharin A.Y.* (2013) Steroids, **78**, 521-527.
14. *Иванов С.М., Лагунин А.А., Захаров А.В., Филимонов Д.А., Пройков В.В.* (2014) Биомед. химия, **60**, 7-16.
15. *Филимонов Д.А., Пройков В.В., Караичева Е.И., Казарян Р.К., Будунова А.П., Михайловский Е.М., Рудницких А.В., Гончаренко Л.В., Буров Ю.В.* (1995) Экспер. клин. фармакол., **58**, 56-62.
16. *Filimonov D.A., Poroikov V.V.* (1996) in: Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use, BIOS Scientific Publishers, Oxford (UK), pp. 47-56.
17. *Филимонов Д.А., Пройков В.В., Глориозова Т.А., Лагунин А.А.* (2006) Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ PASS № 2006613275 от 15 сентября 2006 г., Москва, Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.
18. *Filimonov D.A., Poroikov V.V.* (2008) in: Chemoinformatics Approaches to Virtual Screening (Varnek A., Tropsha A., eds.), RSC Publishing, Cambridge (UK). pp. 182-216.
19. *Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Глориозова Т.А., Рудик А.В., Дружиловский Д.С., Погодин П.В., Пройков В.В.* (2014) Химия гетероциклических соединений, №3, 483-499.
20. *Poroikov V., Lagunin A., Filimonov D.* (2005) in: QSAR and Molecular Modelling in Rational Design of Bioactive Molecules (Esin Aki Sener, Ismail Yalcin, eds.). CADD & D Society, Ankara (Turkey), pp. 514-515.
21. *Лагунин А.А., Пройков В.В., Филимонов Д.А., Глориозова Т.А.* (2006) Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ PharmaExpert №2006613590 от 16 октября 2006 г., Москва, Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.
22. *Newman D.J., Cragg G.M.* (2007) J. Natur. Prod., **70**, 461-477.
23. *Ehrman T.M., Barlow D.J., Hylands P.J.* (2007) J. Chem. Inf. Mod., **47**, 254-263.
24. *Poroikov V.V., Filimonov D.A., Borodina Yu., Lagunin A.A., Kos A.* (2000) J. Chem. Inform. Comput. Sci., **40**, 1349-1355.
25. *Dalby A., Nourse J.G., Hounshell W.D., Gushurst A.K.I., Grier D.L., Leland B.A., Laufer J.* (1992) J. Chem. Inform. Model., **32**, 244-255.
26. *Lagunin A., Filimonov D.A., Poroikov V.V.* (2010) Cur. Phar. Des., **16**, 1703-1717.
27. *Zakharov A., Lagunin A.* (2014) In: Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine (Gorb L., Kuz'min V., Muratov E., eds.) Springer, p. 325-367.
28. *Viswanathan M.V., Unnikrishnan P.M., Komatsu K., Fushimi H., Basnet P.* (2003) Ind. J. Tradit. Knowledge, **2**, 159-169.
29. *Goel A., Jhurani S., Aggarwal B.B.* (2008) Mol. Nutr. Food Res., **52**, 1010-1030.
30. *Barasch A., Elad S., Altman A., Damato K.* (2006) Support Care Cancer, **14**, 528-532.
31. *Deters M., Klabunde T., Meyer H., Resch K., Kaever V.* (2003) Planta Med., **69**, 337-343.
32. *Biswas J., Sinha D., Mukherjee S., Roy S., Siddiqi M., Roy M.* (2010) Hum. Exp. Toxicol., **29**, 513-524.
33. *Ameye L.G, Chee W.C.C.* (2006) Arthritis Res. Ther., **8**, R127.
34. *Itokawa H., Shi Q., Akiyama T., Morris-Natschke S.L., Lee K.-H.* (2008) Chinese Medicine **3**, 11.
35. *Aravindan N., Madhusoodhanan R., Ahmad S., Johnson D., Herman T.S.* (2008) Cancer Biol. Ther., **7**, 569-576.
36. *Goel R.K., Gawande D., Lagunin A., Randhawa P., Mishra A., Poroikov V.* (2015) Planta Medica, in press. DOI: 10.1055/S-0035-1545884
37. *Han D., Yamada K., Senzaki K., Xiong H., Nawa H., Nabeshima T.* (2000) J. Neurochem., **74**, 792-798.
38. *Ramamoorthy R., Radhakrishnan M., Borah M.* (2008) Behav. Pharmacol., **19**, 29-40.
39. *Rollinger J.M., Schuster D., Danzl B., Schwaiger S., Markt P., Schmidtke M., Gertsch J., Raduner S., Wolber G., Langer T., Stuppner H.* (2009) Planta Medica, **75**, 195–204.
40. *Куркин В.А.* (2007) Фармакогнозия. Самара: ГОУВПО "СамГМУ Росздрава", 1239 с.

Поступила: 16. 02. 2015.

COMPUTER EVALUATION OF HIDDEN POTENTIAL OF PHYTOCHEMICALS OF MEDICINAL PLANTS OF THE TRADITIONAL INDIAN AYURVEDIC MEDICINE

A.A. Lagunin[1,2], D.S. Druzhilovsky[1], A.V. Rudik[1], D.A. Filimonov[1], D. Gawande[3], K. Suresh[3], R. Goel[3], V.V. Poroikov[1,2]

[1]Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; tel.: 7 (499) 246-09-20; fax: 7 (499) 245-08-57;
e-mail: vladimir.poroikov@ibmc.msk.ru
[2]Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova Str., Moscow, 117997 Russia
[3]Department of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, Punjabi University, Patiala-147002 India

Applicability of our computer programs PASS and PharmaExpert to prediction of biological activity spectra of rather complex and structurally diverse phytocomponents of medicinal plants, both separately and in combinations has been evaluated. The web-resource on phytochemicals of 50 medicinal plants used in Ayurveda was created for the study of hidden therapeutic potential of Traditional Indian Medicine (TIM) (http://ayurveda.pharmaexpert.ru). It contains information on 50 medicinal plants, their using in TIM and their pharmacology activities, also as 1906 phytocomponents. PASS training set was updated by addition of information about 946 natural compounds; then the training procedure and validation were performed, to estimate the quality of PASS prediction. It was shown that the difference between the average accuracy of prediction obtained in leave-5%-out cross-validation (94,467%) and in leave-one-out cross-validation (94,605%) is very small. These results showed high predictive ability of the program. Results of biological activity spectra prediction for all phytocomponents included in our database are in good correspondence with the experimental data. Additional kinds of biological activity predicted with high probability provide the information about most promising directions of further studies. The analysis of prediction results of sets of phytocomponents in each of 50 medicinal plants was made by PharmaExpert software. Based on this analysis, we found that the combination of phytocomponents from *Passiflora incarnata* may exhibit nootropic, anticonvulsant and antidepressant effects. Experiments carried out in mice models confirmed the predicted effects of *Passiflora incarnata* extracts.

Key words: SAR, PASS, PharmaExpert, computational prediction, Ayurveda, medicinal plants, phytocomponents, biological activity.