

УДК 615.322.015.11:004.434:5].012:615.451.16.074

ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ СВОЙСТВ ИЗВЕСТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ.

СООБЩЕНИЕ I. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ, ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ДЕЗАГРЕГАНТОВ НА ОСНОВЕ ИЗВЕСТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2013 Погребняк А.В.

pspa2007@yandex.ru

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России,
г. Пятигорск

Среди методов поиска лекарственных препаратов особое место занимает изучение новых областей применения известных лекарственных препаратов. Преимуществом данного подхода является существенная экономия ресурсов, поскольку известные препараты хорошо изучены и изменение области их применения не требует широких исследований, сопровождающих внедрение на фармацевтический рынок новых веществ. В настоящей работе показано расширение области применения известных препаратов на примере поиска перспективных дезагрегантов в ряду известных лекарственных препаратов с использованием методов молекулярного моделирования, квантовой химии и многомерного статистического анализа.

Ключевые слова: молекулярное моделирование, новые свойства известных лекарственных препаратов, прогноз биологической активности, дезагреганты.

Введение

Поиск новых лекарственных средств является одной из важнейших проблем современной науки. До недавнего времени основным методом поиска являлся синтез новых веществ и их фармакологический скрининг. Из известных химических соединений, число которых превышает 60 млн., доступны для исследования более 15 млн., однако их фармакологический скрининг является дорогостоящим и не может быть реализован практически.

В то же время, в последние 50 лет большое развитие получает виртуальный скрининг, который стал возможным благодаря возросшей доступности вычислительных ресурсов. Следует отметить, что для эффективного использования этого метода необходимы данные расчётов геометрического и электронного строения молекул и оценка его влияния на биологическую активность веществ.

Этот метод в определённой степени может компенсировать высокую стоимость и трудоёмкость тотального фармакологического скрининга, на который расходуется большая часть средств, затрачиваемых на создание нового оригинального лекарственного вещества. При этом следует отметить, что более 98% веществ отсеиваются на этапе предварительного скрининга. Использование виртуального анализа позволяет снизить издержки данной стадии.

Помимо указанного выше, компьютерный анализ может быть использован для выявления фармакологического действия, ранее не описанного, для уже применяемых лекарственных веществ. Такой подход выгодно отличается от общепринятого - «сначала синтез, потом исследование». Для известных веществ изучена фармакокинетика, фармакодинамика, токсичность и поэтому эти вопросы не требуют дополнительного исследования.

Это особенно актуально по отношению к некоторым заболеваниям, для лечения которых поиск новых лекарственных веществ требует больших усилий и финансовых затрат. К таким заболеваниям относятся, в том числе, нарушения кровообращения, часто связанные с повышенным тромбообразованием.

На сегодняшний день наиболее широко применяемым антиагрегантным препаратом остаётся ацетилсалициловая кислота, при этом она не лишена ряда существенных недостатков: резистентность к препарату, серьёзные побочные эффекты при длительном применении.

Наиболее перспективной группой антиагрегантов являются блокаторы гликопротеиновых рецепторов Pb/IIIa , анализ механизмов действия которых и разработка его математической модели даёт возможность поиска новых дезагрегантов и, в частности, блокаторов гликопротеиновых рецепторов Pb/IIIa .

Поиск новых дезагрегантов среди известных препаратов с помощью компьютерного прогнозирования в значительной степени позволит ускорить решение поставленной задачи.

Следует отметить, что процесс выбора препарата лечащим врачом включает в себя анализ сопутствующих заболеваний и риска развития осложнений, поэтому наличие у препарата активности, снижающей риск развития тромбоза, является дополнительным аргументом в пользу его выбора, а работы, посвящённые решению этой проблемы, имеют высокую актуальность.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что поиск новых дезагрегантов с помощью компьютерного прогнозирования является актуальной проблемой для фармацевтической науки и практики, а также хорошим испытательным полигоном для группы методов, объединяемых названием «молекулярное моделирование».

Материалы и методы

Основной целью исследования являлся поиск ранее неизвестных антиагрегантных свойств у уже применяемых препаратов, поэтому изначально было необходимо определить состав выборки соединений, входящих в группу «применяемые лекарственные средства».

Общее количество лекарственных препаратов, используемых в мировой практике, явно превышает 100 тыс. (с учётом комбинаций), из них в России зарегистрировано 15 280 [1]. Стоит учесть, что одно и то же химическое соединение в виде фармацевтической продукции может иметь несколько сотен наименований: парацетамол — 448 наименований, ацетилсалициловая кислота — 165 наименований (без учёта лекарственных форм, содержащих это вещество в составе сложной смеси).

В области фармации индивидуальное вещество, входящее в состав лекарства, именуется «субстанцией». Очевидно, что субстанций на порядок меньше, чем лекарственных препаратов из-за того, что большинство препаратов сложносоставные, а также имеют разные торговые названия при одинаковом или примерно одинаковом составе. На самом деле, имело место транслитерирование (или не совсем удачный перевод) слова «substance» («вещество»), но затем это понятие было закреплено законом и дискуссия прекратилась.

В свете вышесказанного, отбор химических структур производился нами в соответствии с Системой международных непатентованных названий (МНН) ВОЗ для фармацевтических субстанций [2].

В последний сводный перечень МНН для фармацевтических субстанций включены более 8 000 МНН (из них в России применяются 2619 [3]). По нашим собственным оценкам, в отечественной медицинской практике одновременно используются менее 1 500 индивидуальных химических соединений.

Так как отобранные соединения используются нами в качестве обучающей выборки (для каждой молекулы необходимо провести расчёт дескрипторов), то к ним предъявляются дополнительные требования.

При отборе соединений, включаемых в общую базу данных, нами учитывалось, что время квантово-химического расчёта растёт в геометрической прогрессии с увеличением числа атомов в системе, а по достижении ими определённого количества самосогласованное решение попросту недостижимо.

В этой связи в исходный набор были включены соединения, содержащие в молекуле до 100 неводородных атомов, или имеющие общее количество атомов не более 300. Самой «большой» структурой т.о. является ангиотензинамид (1031 а.е.м., 74 тяжелых атома); за ним с большим отрывом следует амфотерицин (924 а.е.м.). Самой «маленькой» молекулой является циклопропан (42 а.е.м.), и поэтому отсечение с данными границами не приводит ни к каким ограничениям. Вне расчёта остались структуры, подобные гепарину, белки и т.п., при этом прогностическая емкость обучающей выборки остаётся на одинаковом уровне. Здесь уместно вспомнить, что однородность массива и близость к нему пробного объекта – важный критерий объяснимости и воспроизводимости результата любого прогнозирования.

Итак, основными критериями отбора соединений явились: индивидуальность, синтетическое происхождение, применяемость препарата на территории России, соответствие требованиям расчета необходимых дескрипторов. В итоговый перечень используемых нами соединений вошло 1056 наименований, именно они в дальнейшем именуется «применяемые (известные) лекарственные средства».

Следующим этапом явилось формирование базы данных, описывающей отобранные молекулы набором молекулярных дескрипторов, необходимых и достаточных для прогноза биологической активности. Для первичной отрисовки структур нами использовался молекулярный редактор Accelrys Draw (до 2011 г. носил наименование Symyx Draw, до версии 2.3 – ISIS/Draw). Для научно-исследовательской работы программа предоставляется бесплатно, по академической лицензии (рис. 1).

Для сохранения двумерных рисунков и другой информации о молекулах обучающей выборки нами была разработана и зарегистрирована (свидетельство о регистрации в Роспатенте № 2010620288) база данных «DRUG». Описанным способом в состав БД «DRUG» первоначально была включена информация о 1056 соединениях, в последующем, для расширения обучающей выборки, общее число БАВ было доведено до 4609 соединений, 3243 из которых являются экспериментальными. Число видов проявляемой ими активности составляет 551, число биологических мишеней, на которые они воздействуют – 2474.

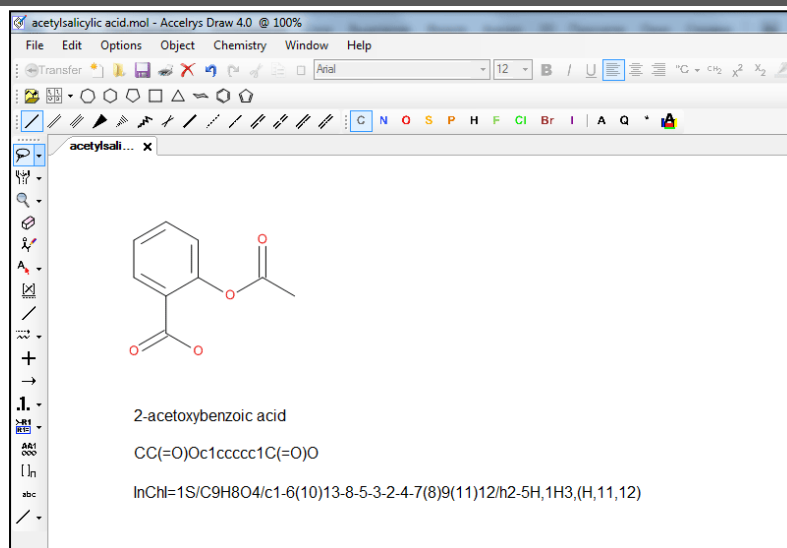


Рисунок 1 – Экранный снимок ПО «Accelrys Draw»

Таким образом, первоначальная информация о молекулярной структуре 1056 соединений была представлена в виде линейных нотаций (SMILES, InChI – двухмерное представление) и матрицы смежных расстояний (MDL Molfile – трехмерное представление). Последняя, если добавление структуры происходило не прямым указанием, вычислялась автоматически. В обоих случаях качество трехмерной структуры оказывалось неприменимым даже для вычисления топохимических дескрипторов.

Отдельную проблему корректности 3D-модели молекул представляло наличие теоретического множества возможных конформеров (детальный обзор содержится в работе [4]). Мы ее решали путем поиска наиболее энергетически стабильных положений. Первичный набор возможных конформеров получали путем его генерации в программе Marvin (<http://www.chemaxon.com/product/conformer.html>).

Дальнейший анализ заключался в поиске конформеров с минимальным значением энергии методом молекулярной механики в силовом поле MM+ (адаптация поля MM2 разработчиками HyperChem) пакета HyperChem 8.07 (академическая лицензия).

Следует отметить, что для молекул средней величины, имеющих в своем составе связи со свободным вращением, поиск минимально энергетической конформации представляет нетривиальную задачу. Однако, наши расчеты показывают, что большинство молекулярных дескрипторов мало чувствительны к незначительным конформационным изменениям, таким, как вращение вокруг углерод-углеродной связи. Таким образом, для большинства молекул исходного набора углубленный анализ заселенности конформеров не проводился, так как использование его результатов не привело бы к качественному изменению ситуации и не повлияло бы на окончательные результаты прогнозирования биологической активности.

Первоначально каждая построенная нами дескрипторная модель соединения включала более 2000 молекулярных дескрипторов, объединенных при помощи программы DRUG в единую систему (результаты расчетов из DRAGON [5], GAUSSIAN, HyperChem [6], MOPAC). Для повышения качества и удобства дальнейшего исследования нами было принято решение об уменьшении размерности пространства. Для этой цели использовались два метода: метод главных компонент (англ. Principal component analysis, PCA) и линейный коэффициент корреляции (коэффициент корреляции Пирсона).

По результатам проведения процедуры уменьшения размерности пространства нами были получены 140 дескрипторов. Координаты точек соединений, соответствующие значениям в пространстве этих дескрипторов, использовались для итогового расчета степени близости между веществами. Таким образом, в дальнейшем нами использовалось 140-мерное пространство.

Проблему «выбросов» (резких отклонений от закона нормального распределения) мы решали на этапе отбора соединений для реперной базы, ограничив выборку по молекулярной массе, которая является ключевым показателем, коррелирующим с максимально большим числом дескрипторов. На рис. 2 приведена диаграмма рассеяния выборки по значению молекулярной массы.

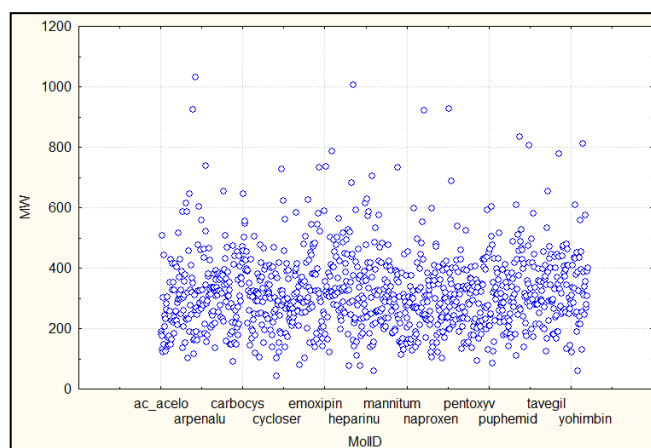


Рисунок 2 – Диаграмма рассеяния выборки по молекулярной массе

Одним из достоинств предлагаемого нами метода является то, что при попадании в прогностическую выборку элементов, сильно отличающихся от основного облака данных, они не искажают результат прогноза, а лишь выпадают из него сами. Это достигается благодаря тому, что алгоритм основан на геометрическом сравнении расстояний между «суммой признаков» каждого из соединений, а не на обучении системы путем связывания значений дескрипторов конкретного вещества с проявляемой им фармакологической активностью.

В отличие от большинства обучаемых систем, важной для нашего метода проблемой является неоднородность значений дескрипторов. Все рассчитанные значения заданы в рациональном пространстве. Это означает, что они имеют разный физический смысл, измерены в разных шкалах и несопоставимы между собой по диапазонам значений.

Рациональное пространство дескрипторов неоднородно и непосредственно не допускает введения в нем метрик для формальной оценки степени сходства или различия сравниваемых объектов. Действительно, если значения одной переменной измеряются в тысячах и изменяются в пределах десяти, в то время как другая переменная в среднем равна нулю и изменяется в пределах единицы, то вклад последней будет пренебрежительно малым.

Для преодоления этой проблемы рациональное пространство подвергается нормировке (стандартизации) – преобразованию всех значений таким образом, чтобы они попадали в сопоставимые по величине интервалы.

При нормировании пространства мы ориентировались не на экстремальные значения дескрипторов – минимумы и максимумы – а на типичные, т.е. статистические характеристики данных, такие как среднее и дисперсия. Такой подход позволяет избежать скопления основного числа значений нормированной переменной в окрестностях нулевого значения. Недостатком такого подхода является то, что нормированные величины не принадлежат гарантированно единичному интервалу $[-1;1]$, более того, максимальный разброс значений заранее не известен. Однако эти недостатки не являются ограничениями для работы нашего алгоритма.

Для прогнозирования биологической активности нами использовано очевидное допущение, что у молекул со сходным видом биологической активности будет сходный набор дескрипторов, рассчитанных по «реальной» трехмерной структуре молекулы. Нельзя не упомянуть принцип подобия свойств, сформулированный Johnson и Maggiora: подобные химические соединения обладают подобными свойствами [7].

Таким образом, если рассчитана совокупность дескрипторов для молекул «А» и «В» с заведомо известным биологическим действием, то расчет этой же совокупности дескрипторов для новой молекулы «С» позволит определить расстояние последней до молекул «А» и «В» в n -мерном пространстве дескрипторов (где n – их общее количество). Оценивая эти расстояния, можно полагать, что если «цифровой отпечаток» молекулы «С» ближе к молекуле «А», то и вероятность проявления молекулой «С» «А»-подобного действия существенно повышается.

Для пояснения работы алгоритма на рис. 3 представлено взаимное расположение трех отмеченных точек (А,В,С) в трехмерном пространстве. При прогнозировании нами используется 140-мерное пространство (по числу дескрипторов на каждую молекулу).

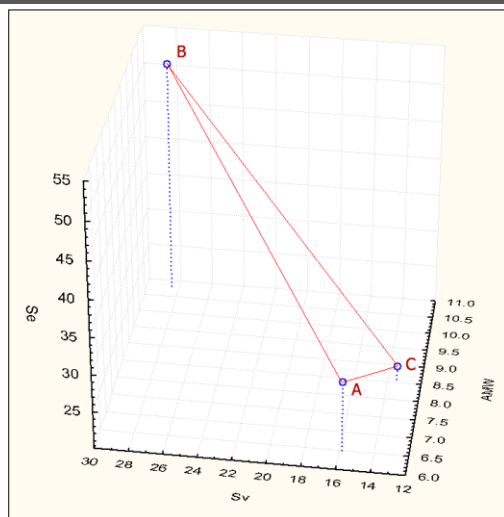


Рисунок 3 – Расположение точек A, B, C в трехмерном пространстве

Может показаться, что данный алгоритм можно реализовать без привлечения кластерного анализа – на основе анализа матриц расстояний в n -мерном пространстве. Однако тогда будет трудно однозначно определить границы возможного проявления активности и сделать правильные выводы при возникновении ситуации, когда согласно матрице расстояний ближайшей к молекуле «А» и к молекуле «В» является молекула «С».

Для задач хемоинформатики обычно используются следующие алгоритмы кластеризации: k -means (k -средних), k ближайших соседей (k -nearest neighbor algorithm, kNN), нейронная сеть Кохонена. Учитывая высокое качество входных данных (существенно повышается после проведения факторного анализа – сокращения числа переменных, за счет удаления коррелирующих значений), задача кластеризации является тривиальной, поэтому все перечисленные методики дают хорошие результаты.

Выделение групп препаратов по квантово-химической структуре осуществлено на основании результатов кластерного анализа методом k -средних [8].

Кластерный анализ позволяет выделить из общей совокупности группы объектов сходные по определенному набору МД. В основе метода лежит анализ матрицы дистанций в многомерном пространстве дескрипторов исследуемых объектов. Выделение групп является итерационной процедурой, направленной на оптимизацию качества классификации, оцениваемого по межгрупповому, внутригрупповому и общему разбросам.

Метод k -средних позволяет получить классификацию с изначально заданным числом групп. Для предварительного определения оптимального количества кластеров нами была проведена серия кластерных анализов с определением качества классификации. Качество классификации оценивалось по внутригрупповому разбросу (сумма квадратов евклидовых дистанций до центра кластера), так как общий разброс является константой, а межгрупповой – функцией общего и внутригруппового:

$$S = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} d^2(X_{ij}, M) \quad B = \sum_{i=1}^m n_i d^2(m_i, M) \quad W = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} d^2(X_{ij}, m_i)$$

$$S = W + B,$$

где S – общий разброс; B – межгрупповой разброс; W – внутригрупповой разброс; m – количество кластеров; n_i – численность i -го кластера; X_{ij} – j -й член i -го кластера; M – общий центр масс; m_i – центр масс i -го кластера; $d(x_1, x_2)$ – евклидова дистанция между точками x_1 и x_2 .

Результаты и их обсуждение

Для апробации метода на антиагрегантной активности нами был выбран в качестве «вещества сравнения» тирофибан (рис. 4) – антиагрегант, механизм которого основан на блокировании гликопротеиновых рецепторов $Pb/IIIa$ на тромбоцитах.

Другие применяемые препараты этой группы были исключены по ряду причин: абциксимаб – представляет собой моноклональные антитела (макромолекулы белковой природы), поэтому расчёт невозможен из-за больших размеров. Эптифибатид – синтетический пептид с циклической структурой, содержащий шесть аминокислот и меркаптопропиононовый остаток ($C_{35}H_{49}N_{11}O_9S_2$). Расчёт также не может быть реализован из-за ограничений, накладываемых размерами объекта. Ближайший аналог тиро-

фибана по структуре – ламифибан, так как имеет показатели эффективности, близкие к таковым у тирофибана, но менее распространён на фармацевтическом рынке.

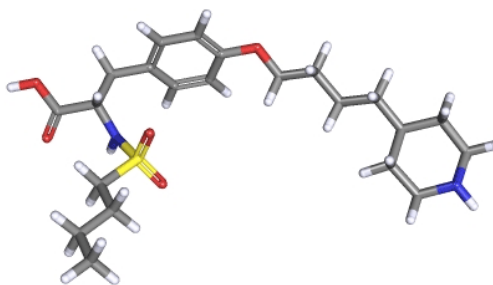


Рисунок 4 – Трёхмерное представление молекулы тирофибана

Одним из основных направлений современного виртуального скрининга является молекулярный докинг – метод, позволяющий оценить возможность образования комплекса «лиганд-белок» и оценить прочность возникающей связи. Основным условием применения метода является знание молекулярной структуры необходимых рецепторов, что является непреодолимым препятствием для применения данного метода как универсального средства прогноза биологической активности.

С другой стороны, молекулярные структуры, связывающиеся с рецептором, представляют собой его «комплементарный отпечаток». Образец такого отпечатка можно проиллюстрировать, например, распределением зарядов на атомах тирофибана.

Структуры, для которых доказано образование прочных связей с рецепторами, являются идеальными кандидатами для сравнительного подбора аналогов – их физико-химические дескрипторы описывают возможные превращения в среде организма и могут использоваться как «комплементарные отпечатки» рецептора.

Вещества, ближайшие к базовой структуре в дескрипторном пространстве, с определенной долей вероятности подвергаются *in vivo* похожим физико-химическим трансформациям и способны образовывать комплекс «лиганд-белок», аналогичный базовой структуре.

Таким образом, выполненное нами моделирование и расчёт физико-химических дескрипторов тирофибана дает научно обоснованный инструмент для поиска блокаторов гликопротеиновых Пб/Ша рецепторов в ряду других лекарственных препаратов.

Окончательным этапом работы являлся расчёт степени сходства молекул лекарственных веществ и дескрипторной модели рецептора Пб/Ша. Дескрипторная модель каждого соединения из выборки представлялась в виде точки в 140-мерном пространстве, где каждая ось (измерение) соответствовала одному из дескрипторов, а координата – его значению для данного соединения.

Например, ацетилсалициловой кислоте (А) и тирофибану (В) соответствовали точки с координатами:

А = (0.2468, -0.014, 0.036, 0.048, 0.5451, 0.0012, 0.5487, 0.258, 0.269, 0.4236, 0.8754, 0.2456, 0.3478, 0.6197, 0.5487, 0.7441, 0.4724, 0.5685, 0.3586, 0.2364, 0.3629, 0.02534, 0.3529, 0.2447, 0.6043, -0.1268, 0.4069, -0.1605, 0.7013, 0.7517, 0.2498, -0.0866, 0.7175, 0.411, 0.4828, 0.3804, 0.047, 0.0179, 0.6088, 0.8039, 0.7996, 0.6488, -0.0642, 0.7095, -0.1715, 0.6163, 0.2152, 0.7526, 0.7122, 0.7893, 0.4487, 0.2514, 0.0765, -0.0275, 0.3672, -0.1556, 0.0805, -0.0624, -0.0812, -0.0546, -0.1472, 0.4034, 0.0936, 0.8051, -0.022, 0.8113, 0.3491, 0.2598, -0.0073, 0.1214, 0.2273, -0.0441, -0.0662, 0.3979, -0.1711, -0.0029, 0.1778, 0.279, -0.0867, 0.0535, 0.2318, 0.5968, 0.5398, 0.5432, 0.8041, 0.0705, 0.6225, 0.0482, 0.2429, 0.7761, 0.2285, 0.3305, 0.3431, 0.5569, 0.2992, 0.5559, 0.5318, -0.1881, -0.0207, 0.7593, 0.1682, 0.4415, -0.1212, 0.3368, 0.0029, -0.0575, 0.5687, 0.4156, 0.4564, 0.7168, 0.704, -0.1482, 0.4772, 0.4073, 0.6298, 0.4448, 0.7126, 0.4158, 0.7279, 0.1191, 0.3554, 0.1199, 0.6845, -0.1379, -0.1596, 0.1473, 0.6528, 0.6071, 0.194, -0.2043, 0.5299, 0.597, 0.472, 0.6436, 0.0973, 0.7098, 0.8209, -0.1704, 0.2889, 0.4409)

В = (0.2569, -0.002, 0.024, 0.035, -0.142, -0.017, 0.1463, -0.158, -0.1405, 0.2145, 0.374, -0.4782, -0.2419, -0.3261, 0.2475, -0.1245, -0.3269, -0.3264, -0.2475, -0.2584, -0.2814, -0.1286, -0.6473, -0.1722, 0.4364, 0.2193, 0.2347, -0.5694, 0.2031, 0.3024, -0.0194, -0.2124, 0.2445, -0.7336, -0.5368, -0.1908, 0.3516, 0.0467, 0.0877, 0.1818, 0.1885, 0.2523, -0.7414, -0.1748, -0.3357, -0.6992, -0.4363, 0.2805, -0.2558, 0.2344, -0.4693, -0.4869, -0.1879, -0.416, 0.1554, 0.1321, -0.5652, 0.0216, 0.3191, -0.7306, -0.0445, -0.0689, -0.1865, -0.1686, -0.046, 0.0331, -0.7279, -0.0629, -0.2888, 0.1163, -0.2497, -0.4688, 0, -0.2347, 0.1128, -0.7042, -0.1774, -0.692, 0.3327, 0.3233, 0.2988, -0.5052, -0.5322, -0.2577, -0.1647, -0.7453, -0.4941, 0.0266, 0.0327, -0.5435, 0.0524, -0.3803, 0.144, -0.5027, 0.2075, -0.2705, 0.2869, 0.236, -0.702, -0.3705, -0.0163, -0.1952, -0.0828, -0.3849, 0.3266, -0.3385, -0.3326, -0.2194, -0.2741, -0.3685, -0.2647, -0.3438, -0.1172, -0.0404, 0.155, -0.6504, -0.0293, -0.7077, 0.1327, -0.3652, -0.4948, -0.1835, 0.0109, -0.7193, 0.0703, -0.1501, -0.2334, -0.0114, -0.2827, -0.1789, -0.7504, -0.6675, -0.7426, -0.0768, -0.2959, 0.3405, 0.3411, 0.1279, -0.2475, -0.3015)

Расстояние между точками А и В можно найти по формуле:

$$R_{AB}^2 = \sum_{i=1}^N (x_{iB} - x_{iA})^2 = \sum_{i=1}^N \Delta x_{iAB}^2$$

$$R_{AB} = \sqrt{\sum_{i=1}^N \Delta x_{iAB}^2}$$

Для приведённых точек расстояние в 140-мерном пространстве составит 7.58105 (расчет не приводится из-за громоздкости). Учитывая, что мы работаем с «ближайшими соседями», а их плотность высока, все вычисленные евклидовы дистанции увеличивались на порядок и округлялись до третьего знака, т.о. расстояние между тирофибаном и АСК в данном пространстве составило 75.805.

Подобным образом было рассчитано расстояние от каждой точки ко всем другим точкам. На основе этих данных была построена матрица расстояний между точками дескрипторных моделей. Фрагмент результирующей матрицы приведён в табл. 1.

Таблица 1 – Фрагмент матрицы расстояний

	ac_aceo	ac_acy	ac_adeno	ac_amino	ac_ascor	ac_benzo	ac_etacr	ac_folic	ac_gluta	ac_lipoi
ac_aceo	0.000	11.130	26.129	8.754	12.600	13.443	19.301	20.949	12.407	6.132
ac_acy	11.130	0.000	29.273	9.585	10.164	5.451	19.738	22.828	11.678	9.846
ac_adeno	26.129	29.273	0.000	31.138	28.212	32.040	20.934	23.444	31.520	26.171
ac_amino	8.754	9.585	31.138	0.000	9.356	10.084	23.314	24.584	7.315	9.340
ac_ascor	12.600	10.164	28.212	9.356	0.000	10.904	20.926	25.729	7.651	11.831
ac_benzo	13.443	5.451	32.040	10.084	10.904	0.000	21.707	26.813	11.930	11.576
ac_etacr	19.301	19.738	20.934	23.314	20.926	21.707	0.000	25.316	22.667	17.823
ac_folic	20.949	22.828	23.444	24.584	25.729	26.813	25.316	0.000	26.518	22.167
ac_gluta	12.407	11.678	31.520	7.315	7.651	11.930	22.667	26.518	0.000	12.497
ac_lipoi	6.132	9.846	26.171	9.340	11.831	11.576	17.823	22.167	12.497	0.000

С использованием матрицы евклидовых расстояний проведена процедура кластеризации, по результатам которой последовательно формировались и выделялись фрагменты, привязанные к «молекуле сравнения» тирофибану (МС). В результате была определена и сформирована группа веществ, максимально близких к тирофибану по совокупности топологических, физико-химических и квантово-химических дескрипторов. В таблице 2 приведен список первых сорока веществ, находящихся максимально близко к тирофибану в 140-мерном пространстве рассчитанных дескрипторов.

Таблица 2 – Ближайшие соседи МС в дескрипторном пространстве

№	Лекарственный препарат	Отн. расст.	№	Лекарственный препарат	Отн. расст.
1	моэксиприл	7.906	21	лизиноприл	12.391
2	рамиприл	8.206	22	периндоприл	12.463
3	латанопрост	9.245	23	пропафенон	12.613
4	сальметерол	9.486	24	гликвидон	12.964
5	алпростадил	9.843	25	дизопирамид	12.976
6	цилазаприл	10.413	26	дилтиазем	13.469
7	правастатин	10.416	27	пиритрамид	13.505
8	мизопростол	10.481	28	тианептин	13.610
9	глибенкламид	10.484	29	гидроксизин	13.629
10	пропанидид	11.081	30	этализин	13.909
11	динопростон	11.186	31	силденафил	13.945
12	дистигмина бромид	11.284	32	окселадин	13.999
13	эналаприл	11.510	33	карбокромен	14.080
14	талинолол	11.513	34	флувастатин	14.104
15	пентоксифиллин	11.632	35	цетиризин	14.127
16	динопрост	11.738	36	гексопреналин	14.229
17	цизаприд	11.916	37	нафтидрофурил	14.311
18	лефрадафибан	11.952	38	бетаксолол	14.425
19	пипотиазин	11.982	39	мексидол	14.436
20	тамсулозин	12.134	40	хенофальк	14.461

После формирования массива ближайших соседей МС по матрице расстояний нами был проведён рациональный анализ и отбор перспективных для проведения фармакологических испытаний молекул.

В первую очередь была собрана более подробная информация по каждому из соединений (включение в перечни, ограничивающие оборот, стоимость, доступность на рынке, широта распространения, выпускаемые лекарственные формы, показания к применению и т.д.). Из списка были исключены антиагреганты (алпростадил, пентоксифиллин, лефрадафибан) и лекарственные препараты, для которых это свойство известно (гликвидон).

Наличие такого количества «попаданий» позволило сделать предварительные выводы о качестве прогноза. Были исключены простагландины и статины, как вещества, оказывающие влияние на систему кровообращения, в целом, и агрегацию – в частности (латанопрост, правастатин, мизопростол, динопростон, динопрост, флувастатин) и бета-адреноблокаторы (талинолол, бетаксолол). Также были исключены соединения с высокой стоимостью и непригодной для дальнейшего исследования лекарственной формой (сальметерол – аэрозоль).

Положительными критериями служили: рекомендация к применению препарата ВОЗ, включение его в список «Жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты», низкая стоимость, хорошая сочетаемость текущих показаний к применению с антиагрегантной активностью.

По итогам рационального анализа было отобрано шесть соединений-лидеров (табл. 3). Эти вещества и были использованы в дальнейшем исследовании.

Как источник субстанций нами были использованы монокомпонентные лекарственные препараты (табл. 4).

Таблица 3 – Соединения лидеры

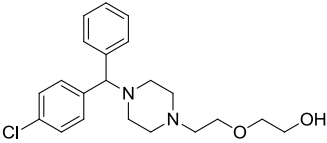
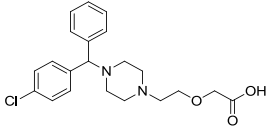
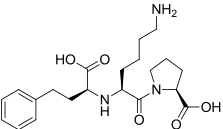
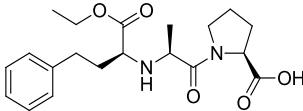
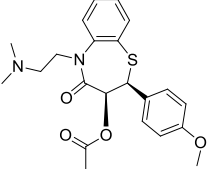
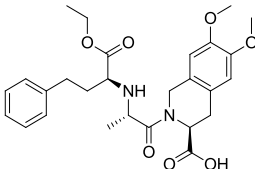
Гидроксизин	Цетиризин
	
Лизиноприл	Эналаприл
	
Дилтиазем	Моэксиприл
	

Таблица 4 – Лекарственные препараты, производители и серия

Атаракс (МНН: гидроксизин) лекарственная форма: таблетки 25мг	ЮСБ Фарма СА, Бельгия серия: 0000064450
Дилтиазем (МНН: дилтиазем) лекарственная форма: таблетки 90 мг	АЛКАЛОИД АО, Республика Македония серия: 26591 0210
Лизиноприл (МНН: лизиноприл) лекарственная форма: таблетки, 5 мг	ЗАО «Северная звезда», Россия серия: 40610
Моэкс (МНН: моэксиприл) лекарственная форма: таблетки 15 мг	Шварц Фарма Продакшинз ГмбХ, Германия серия: 2964101
Цетрин (МНН: цетиризин) лекарственная форма: таблетки, 10 мг	Д-р Редди'с Лабораторис Лтд., Индия серия: V000425
Эналаприл (МНН: эналаприл) лекарственная форма: таблетки, 5 мг	РУП «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь серия: 000853

Учитывая сложность и многокомпонентность системы гемостаза и поставленные задачи, в эксперименте следовало ограничить системные физиологические влияния гормонов, выделяемых в ответ на повреждение, так и собственно сосудистую реакцию. Поэтому, следуя поставленным задачам, влияние соединений-лидеров на скорость свертывания проводили методом коагулографии. Этот метод позволяет ограничить влияние факторов, выделяемых длительное время после повреждения, а также эффектов, связанных с активирующим влиянием склерозированного эндотелия, но учесть эффект суммарного взаимодействия тромбоцитарных и ферментативных факторов после их высвобождения из сосудистого русла.

Изучение влияния исследуемых веществ на процесс свертывания крови проводили на коагулографе Н-334, предназначенном для исследования системы свертывания крови в клинико-диагностических лабораториях больниц, поликлиник, операционных, в работе центров по борьбе с тромбозомическими заболеваниями. По записи на диаграмме определяли начало и конец свертывания, продолжительность свертывания крови.

Активность применяемых препаратов распределилась следующим образом в порядке уменьшения: моэксиприл →эналаприл →дилтиазем →лизиноприл. Данная последовательность обнаруживает выраженную корреляцию с расчетными величинами: моэксиприл - 7.9; эналаприл - 11.5; лизиноприл - 12.4; дилтиазем - 13.5.

Выводы

Данные эксперимента подтверждают точность результатов работы алгоритма прогнозирования в случае четырёх препаратов. Разработанный программный комплекс DRUG позволяет осуществлять направленное расширение спектра биологической активности известных лекарственных препаратов и их химических модификаций. Результаты фармакологических испытаний свидетельствуют о том, что данные препараты могут быть рекомендованы к дальнейшим углублённым исследованиям.

Литература

1. Стенограмма выступления министра здравоохранения и социального развития РФ Голиковой Т.А. на заседании Президиума Правительства Российской Федерации 10.02.2011 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://premier.gov.ru/events/news/14116/>. – Загл. с экрана.
2. Лошаков Л.А. Система международных и национальных непатентованных названий лекарственных средств // Вестн. Росздравнадзора. – 2008. – №6. – С. 31-33.
3. Михайлова Д.О. Государственная политика в сфере лекарственного обеспечения. Форум «Национальная лекарственная политика» 10 декабря 2010 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.minzdravsoc.ru/events/pharmaconference/Doklady_na_plenarnoj_sessii_D.O._Mihajlova_Gosudarstvennaya_politika_v_sfere_lekarstvennogo_obespecheniya.pdf. – Загл. с экрана.
4. Расчетные методы конформационного анализа углеводов / А.Г. Гербст и соавт. // Биоорганич. химия. – 2007. – Т.33, №1. – С. 28-43.
5. Dragon: software for the calculation molecular descriptors. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.talete.mi.it/products/dragon_description.htm. – Загл. с экрана.
6. HyperChem Professional - official website [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.hyper.com/?tabid=360>. – Загл. с экрана.
7. Johnson, M.A. Concepts and applications of molecular similarity / M.A. Johnson, G.M. Maggiora. – NY: Wiley, 1990. – 393 p.
8. MacQueen J.B. Some Methods for Classification and Analysis of MultiVariate Observations. – Berkeley, California: Univ. California Press, 1967. – Vol. 1. – 325 p.

Погребняк Андрей Владимирович – кандидат фармацевтических наук, доктор химических наук, заведующий отделом информационных технологий Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: квантовая химия, молекулярное моделирование, прогнозирование биологической активности химических соединений. E-mail: psra2007@yandex.ru.