

УДК 544.165
DOI 10.17513/snt.39792

QSAR-ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЪЮГАТОВ γ -КАРБОЛИНОВ С ПРОИЗВОДНЫМИ КАРБАЗОЛА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Раздольский А.Н., Казаченко В.П., Страхова Н.Н., Григорьев В.Ю.

Институт физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук, Черноголовка, e-mail: rasd@ipac.ac.ru

Целью данного исследования являлось создание QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) моделей ингибиторной активности конъюгатов γ -карболинов с производными карбазола по отношению к бутирилхолинэстеразе (BChE). Эти соединения сочетают в себе γ -карболиновый фрагмент димебона и фрагменты производных карбазола. Такая структура конъюгатов позволяет им одновременно выступать селективными ингибиторами BChE и селективными блокаторами NMDA (N-methyl-D-aspartate) рецепторов. QSAR-поиск новых активных препаратов среди соединений, действующих одновременно на несколько биологических мишеней, является актуальным научным направлением в настоящее время. Пространственное строение молекул описывалось дескрипторами на базе оригинального метода – спектра межатомных внутримолекулярных взаимодействий (СМВВ). Для этих расчетов использовалась программа MOLTRA. Метод молекулярной механики, в параметризации MM2, использовался для нахождения молекул с наименьшей энергией. Для этого использовалась компьютерная программа Cache Worksystem Pro. Нахождение значимой связи между структурой веществ и их свойствами осуществлялось посредством применения множественной линейной регрессии (программа SVD). Отобранные регрессионные уравнения обладали хорошими статистическими характеристиками. Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы при отборе кандидатов в новые лекарственные средства для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: QSAR, конъюгаты γ -карболинов и фенотиазина, BChE, MOLTRA, НУВОТ, СМВВ

Работа выполнена в рамках Государственного задания Института физиологически активных веществ РАН 2023 года (тема № FFSN-2021-0004).

QSAR STUDY OF CONJUGATES OF γ -CARBOLINES WITH CARBAZOL DERIVATIVES AS BUTYRYLCHOLINESTERASE INHIBITORS

Rasdolsky A.N., Kazachenko V.P., Strakhova N.N., Grigorev V.Y.

Institute of Physiologically Active Compounds of the Federal State Budgetary Institution of Science, Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, e-mail: rasd@ipac.ac.ru

The aim of this study was to create QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) models of the inhibitory activity of γ -carbolines conjugates with carbazole derivatives in relation to butyrylcholinesterase (BChE). These compounds combine the γ -carboline fragment of dimebon and fragments of carbazole derivatives. This structure of the conjugates allows them to simultaneously act as selective BChE inhibitors and selective blockers of NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptors. QSAR search for new active drugs among compounds acting simultaneously on several biological targets is an actual scientific direction at the present time. The spatial structure of molecules was described by descriptors based on an original method – the spectrum of interatomic intramolecular interactions (SIII). For these calculations, the MOLTRA program was used. The molecular mechanics method, in the MM2 parametrization, was used to find the molecules with the lowest energy. For this, the computer program Cache Worksystem Pro was used. Finding a significant relationship between the structure of substances and their properties was carried out through the use of multiple linear regression (program SVD). The selected regression equations had good statistical characteristics. The results obtained can be further used in the selection of candidates for new drugs for the treatment of neurodegenerative diseases.

Keywords: QSAR, γ -carbolines and phenothiazine conjugates, BChE, MOLTRA, НУВОТ, СМВВ

The work was carried out within the framework of the State assignment of the Institute of Physiologically Active Substances of the Russian Academy of Sciences in 2023 (topic No. FFSN-2021-0004).

Разработка новых химических препаратов, с целью облегчения состояния больных при нейродегенеративных заболеваниях, является важным и актуальным направлением современной медицинской химии. Прежде всего, это относится к болезни Альцгеймера (БА) – наиболее часто встречающемуся типу деменции у пожилых людей. По состо-

янию на 2020 год во всем мире насчитывалось около 50 миллионов человек с БА [1]. Этой болезнью страдают около 6% людей в возрасте 65 лет и старше [2].

Множество молекулярных объектов задействованы в развитии болезни Альцгеймера. Это определяет большой выбор мишеней для QSAR-поиска лекарств, облегчающих

течение заболевания. В настоящее время используются: донепезил, галантамин, ривастигмин (ингибиторы ацетилхолинэстеразы) и мемантин (неконкурентный блокатор NMDA-подтипа глутаматных рецепторов) [3]. Поиск новых перспективных соединений связан с разработкой препаратов, способных действовать одновременно на разные основные мишени, вовлеченные в патогенез заболевания.

Для этого требуются усилия многих научных коллективов, врачей клинической практики, огромные финансовые и временные затраты. Снижение издержек возможно при использовании модельных экспериментов или расчетных методов оценки и отбора перспективных соединений. Примеры положительной практики расчетного метода QSAR описаны в литературе [4].

Наша предыдущая работа [5] была посвящена созданию компьютерных моделей активности конъюгатов γ -карболинов и фенотиазина по отношению к ингибированию бутирилхолинэстеразы. Выбор соединений был обусловлен тем, что они одновременно являются селективными ингибиторами BChE и блокаторами NMDA рецепторов [6]. С учетом того, что некоторые производные карбазола (например, аминотетрагидрокарбазолы) способны к модификации течения БА [7], перспективным направлением выглядит модификация конъюгатов путем замены фенотиазиновых фрагментов на карбазольные фрагменты.

Целью настоящей работы явилось создание компьютерных моделей активности

конъюгатов γ -карболинов и карбазолов по отношению к ингибированию бутирилхолинэстеразы.

Материалы и методы исследования

Выборка соединений для обучения содержала 15 веществ (рис. 1, табл.). Она была сформирована на основе работы [8]. В таблице представлены данные по ингибированию бутирилхолинэстеразы (ЕС 3.1.1.8 из лошадиной сыворотки). В качестве меры ингибирующей активности использовали $\log(1/IC_{50})$, где IC_{50} (мкМ) – концентрация вещества, вызывающая 50% ингибирование BChE.

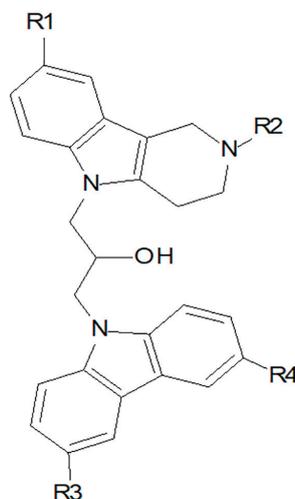


Рис. 1. Конъюгаты γ -карболинов и производных карбазола

Ингибиторная активность конъюгатов γ -карболинов с производными карбазола по отношению к BChE

Номер	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ , мкМ	log(1/IC ₅₀)
1	H	CH ₃	H	H	3.40 ± 0.04	-0,53
2	H	C ₂ H ₅	H	H	2.19 ± 0.05	-0,34
3	CH ₃	CH ₃	H	H	3.44 ± 0.34	-0,54
4	CH ₃	C ₂ H ₅	H	H	6.11 ± 0.08	-0,79
5	F	CH ₃	H	H	3.14 ± 0.02	-0,50
6	F	C ₂ H ₅	H	H	4.05 ± 0.03	-0,61
7	H	CH ₃	Cl	Cl	3.48 ± 0.69	-0,54
8	CH ₃	CH ₃	Cl	Cl	16.4 ± 1.6	-1,21
9	CH ₃	C ₂ H ₅	Cl	Cl	12.5 ± 0.8	-1,1
10	F	CH ₃	Cl	Cl	1.93 ± 0.03	-0,29
11	F	C ₂ H ₅	Cl	Cl	33.4 ± 2.2	-1,52
12	H	CH ₃	Br	Br	2.69 ± 0.25	-0,43
13	H	C ₂ H ₅	Br	Br	21.6 ± 2.10	-1,33
14	CH ₃	C ₂ H ₅	Br	Br	3.16 ± 0.21	-0,50
15	F	CH ₃	Br	Br	1.18 ± 0.06	-0,07

Структуры молекул описывали двумерными (2D) и трехмерными (3D) QSAR-дескрипторами. В качестве 2D-дескрипторов использовали 45 физико-химических характеристик, рассчитанных на базе компьютерного комплекса программ HYBOT [9]. Для расчета 3D-дескрипторов был проведен полный конформационный анализ с использованием программы Cache Worksystem Pro 6.0. Методика расчета дескрипторов на базе спектров межатомных внутримолекулярных взаимодействий (СМВВ) [10; 11] была описана в работе [5]. Для дальнейшего анализа использовали парные атом – атомные взаимодействия с участием: 1) Н-донор – Н-донор (DDF, DDE); 2) Н-акцептор – Н-акцептор (AAF, AAE); 3) Н-донор – Н-акцептор (DAF, DAE); 4) положительно заряженных атомов; 5) отрицательно заряженных атомов; 6) положительно и отрицательно заряженных атомов, а также стерические (Ван-дер-Ваальсовое) взаимодействия атомов (VDW).

Таким образом, для описания пространственной структуры каждого соединения с помощью СМВВ использовали $10 \times 10 = 1000$ дескрипторов СМВВ. Общее количество дескрипторов, использованных в работе, составляло 1045.

Отбор дескрипторов осуществлялся через анализ корреляционной матрицы. Для этого использовали итерационную процедуру [5]. В результате число дескрипторов сократилось с 1045 до 208. Для нахождения связи между структурой веществ и их ингибиторной активностью был привлечен метод множественной линейной регрессии, реализованный в программе SVD [12]. Применяли только внутреннее тестирование, на основе кросс-валидации с выбором по пять (10 итераций). Это обусловлено малой величиной обучающей выборки. Использовали статистические характеристики QSAR-моделей: n – число соединений; R^2 – коэффициент линейной корреляции; s – стандартное отклонение; FIT – модифицированный критерий Фишера [13]; R_p^2 – рандомизационный параметр [14]. Формирование моделей проводили с помощью полного перебора комбинаций из 1-3 дескрипторов. Лучшие модели были отобраны на основе статистики FIT. Для оценки области применимости (AD) использовали интервальный метод.

Результаты исследования и их обсуждение

Две лучшие регрессионные модели, представленные ниже:

$$\log(1/IC_{50}) = 1.78(\pm 0.54) - 22.0(\pm 5.6) AAF-40_{(7.8-8.0)} - 4.74(\pm 1.00) DAF-28_{(5.4-5.6)} - 0.424(\pm 0.102) VDW-57_{(11.2-11.4)} \quad (1)$$

$$n=15; R^2=0.794; s=0.21; FIT=1.77; R_{cv}^2=0.654; s_{cv}=0.28; FIT_{cv}=0.87; R_p^2=0.674$$

$$AD: AAF-40_{(7.8-8.0)} = 0.0005 \div 0.0606; DAF-28_{(5.4-5.6)} = 0.007 \div 0.217; VDW-57_{(11.2-11.4)} = 1.947 \div 5.138$$

где $AAF-40_{(7.8-8.0)}$ – интеграл спектра акцептор – акцепторных внутримолекулярных взаимодействий по типу водородной связи на интервале 7.8-8.0 ангстрема; $DAF-28_{(5.4-5.6)}$ – интеграл донор – акцепторных взаимодействий по типу водородной связи на интервале 5.4-5.6 ангстрем; $VDW-57_{(11.2-11.4)}$ – интеграл Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий на интервале 11.2-11.4 ангстрема.

$$\log(1/IC_{50}) = 7.81(\pm 1.25) - 0.263(\pm 0.047) VDW-27_{(5.2-5.4)} - 0.263(\pm 0.045) VDW-37_{(7.2-7.4)} + 0.219(\pm 0.078) VDW-66_{(13.0-13.2)} \quad (2)$$

$$n=15; R^2=0.812; s=0.20; FIT=1.99; R_{cv}^2=0.649; s_{cv}=0.28; FIT_{cv}=0.85; R_p^2=0.696$$

$$AD: VDW-27_{(5.2-5.4)} = 17.54 \div 21.93; VDW-37_{(7.2-7.4)} = 11.15 \div 15.88; VDW-66_{(13.0-13.2)} = 0.03 \div 3.01$$

где $VDW-27_{(5.2-5.4)}$, $VDW-37_{(7.2-7.4)}$, $VDW-66_{(13.0-13.2)}$ – интегралы спектра Ван-дер-Ваальсовых внутримолекулярных взаимодействий на интервалах 5.2-5.4; 7.2-7.4 и 13.0-13.2 ангстрема соответственно.

Отметим, что обе QSAR-модели имеют удовлетворительные статистические характеристики. Также нужно подчеркнуть, что в лучшие финальные модели (1) и (2) вошли только 3D-дескрипторы, т.е. они яв-

ляются в нашем случае более информативными и адекватными по сравнению с использованными 2D-дескрипторами. Путем расчета MLR-моделей на основе нормированных дескрипторов были оценены отно-

сительные вклады коэффициентов. Согласно модели (1) основной вклад в ингибирование BChE дают атомы, находящиеся на расстоянии 7.8-8.0 ангстрема и проявляющие акцептор – акцепторные взаимодействия (вклад 36.5%), а также атомы, находящиеся на расстоянии 5.4-5.6 ангстрема и проявляющие донор – акцепторные взаимодействия по типу водородной связи (вклад 38.5%). Менее значимый вклад (25.0%) вносят Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия атомов на расстоянии 11.2-11.4 Å. При этом следует

отметить, что рассмотренные выше дескрипторы характеризуются только отрицательным вкладом в активность. Согласно модели (2) активность может быть описана только с помощью Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий атомов, находящихся на расстояниях 5.2-5.4; 7.2-7.4 и 13.0-13.2 Å. Важно подчеркнуть, что в модели (2) дескрипторы вносят разнонаправленный вклад в активность: VDW-27 (39.8%) и VDW-37 (40.7%) понижают активность, а VDW-66 (19.5%) повышает активность.

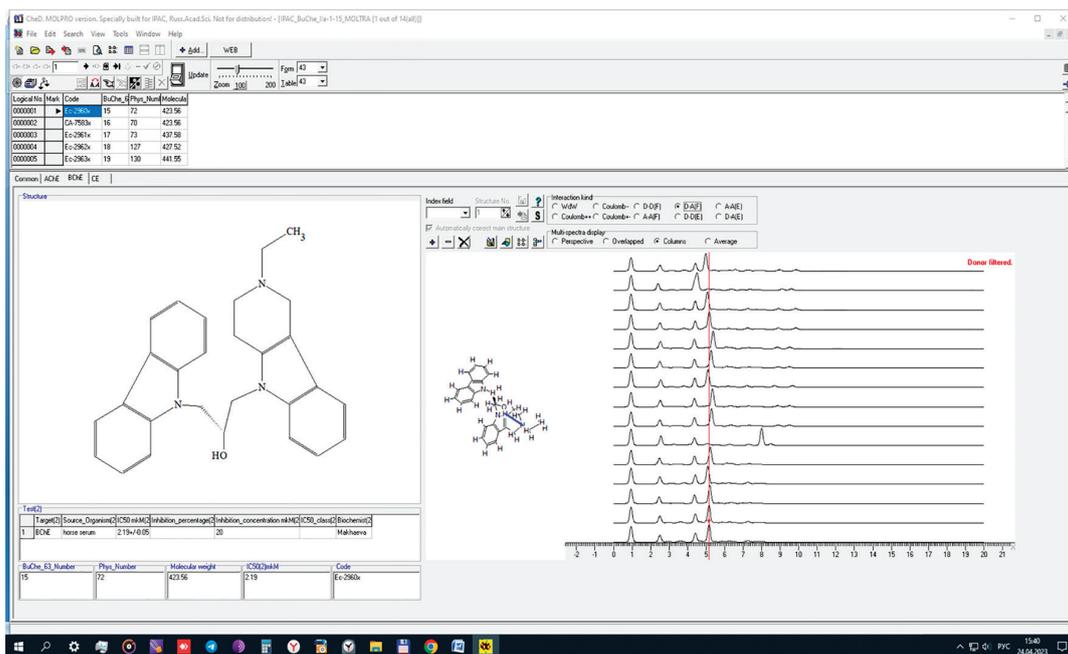


Рис. 2. DAF (донорно-акцепторные) спектры (СМВВ) конъюгатов γ -карболинов и карбазолов

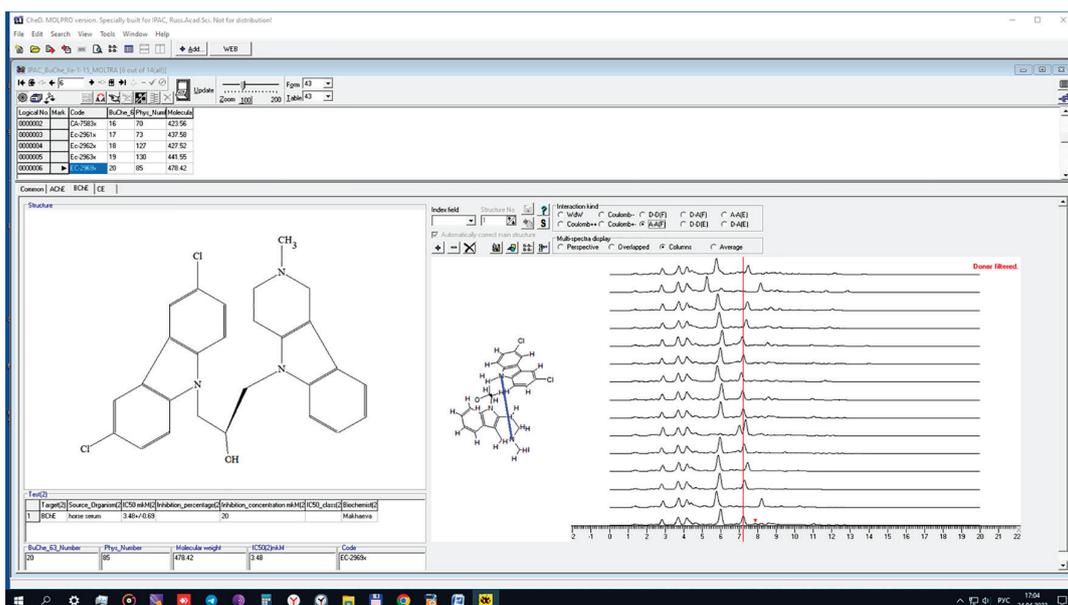


Рис. 3. AAF (акцептор – акцепторные) спектры (СМВВ) конъюгатов γ -карболинов и карбазолов

Рисунки 2 и 3 иллюстрируют вклады в изучаемую активность тех атомов конъюгатов, которые формируют донор – акцепторные и акцептор – акцепторные внутримолекулярные взаимодействия (модель (1)). На этих рисунках показаны результаты работы программы 3D-MOLTRA: слева – 2D-структура конъюгата, в центре его 3D-структура, а справа представлены 15 DAF спектров всех молекул выборки, расположенные колонкой (рис. 2), или 15 AAF спектров (рис. 3). Основной вклад в дескриптор DAF-28^(5.4-5.6) СМВВ вносят донор – акцепторные взаимодействия атомов Н гидроксильной группы и азота шестичленного насыщенного кольца γ -карболина, а основной вклад в AAF-40^(7.8-8.0) СМВВ вносят акцептор – акцепторные взаимодействия азота карбазола и азота насыщенного цикла γ -карболина.

Выводы

Для конъюгатов γ -карболинов и карбазолов заряд-зарядовые СМВВ не существенны, в отличие от конъюгатов γ -карболинов и фенотиазинов.

Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия СМВВ важны в обоих типах конъюгатов. Однако диапазон расстояния, на котором расположены взаимодействующие атомы, несколько отличен (конъюгаты γ -карболинов и фенотиазинов: 5.8-6.0 Å, конъюгаты γ -карболинов и карбазолов: 5.2-5.4; 7.2-7.4 и 13.0-13.2 Å).

Важные акцептор – акцепторные взаимодействия СМВВ несколько отличаются для разных типов конъюгатов. Если для конъюгатов γ -карболинов и карбазолов важны взаимодействия атома азота карбазола и атома азота насыщенного цикла γ -карболина (7.8-8.0 Å), то для конъюгатов γ -карболинов и фенотиазинов на первый план выходят AAF между атомом азота шестичленного насыщенного цикла γ -карболина и атомом кислорода карбонильной группы (7.6-7.8 Å), а также AAF между атомом серы фенотиазина и атомом кислорода карбонильной группы (5.0-5.2 Å).

Список литературы

- Breijyeh Z., Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment // *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 5789. DOI: 10.3390/molecules25245789.
- Burns A., Iliffe S. Alzheimer's disease // *British Medical Journal*. 2009. Vol. 338. P. b158. DOI: 10.1136/bmj.b158.
- Бачурин С.О. Препараты для лечения болезни Альцгеймера по данным клинических испытаний и основные тенденции в подходах к поиску новых лекарственных средств // *Журнал неврологии и психиатрии*. 2016. Т. 8. С. 77-87.
- Neves B.J., Braga R.C., Melo-Filho C.C., Moreira-Filho J.T., Muratov E.N., Andrade C.H. QSAR-based virtual screening: advances and applications in drug discovery // *Frontiers in Pharmacology*. 2018. Vol. 9. P. 1275. DOI: 10.3389/fphar.2018.01275.
- Раздольский А.Н., Казаченко В.П., Страхова Н.Н., Раевская О.Е., Григорьев В.Ю. QSAR моделирование ингибиторной активности конъюгатов γ -карболинов и фенотиазина по отношению к бутирилхолинэстеразе // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022. № 3 (117). С. 86-90. DOI: 10.23670/IRJ.2022.117.3.013.
- Makhaeva G.F., Lushchekina S.V., Boltneva N.P., Sokolov V.B., Grigoriev V.V., Serebryakova O.G., Vikhareva E.A., Aksinenko A.Yu., Barreto G.E., Aliev G., Bachurin S.O. Conjugates of γ -carbolines and phenothiazine as new selective inhibitors of butyrylcholinesterase and blockers of NMDA receptors for Alzheimer Disease // *Scientific Reports*. 2015. Vol. 5. P. 13164. DOI: 10.1038/srep13164.
- Honamejad K., Daschner A., Gehring A.P., Szybinska A., Giese A., Kuznicki J., Bracher F., Herms J. Identification of tetrahydrocarbazoles as novel multifactorial drug candidates for treatment of Alzheimer's disease // *Translational Psychiatry*. 2014. Vol. 4. P. e489. DOI: 10.1038/tp.2014.132.
- Makhaeva G.F., Sokolov V.B., Shevtsova E.F., Kovaleva N.V., Lushchekina S.V., Boltneva N.P., Rudakova E.V., Aksinenko A.Y., Shevtsov P.N., Neganova M.E., Dubova L.G., Bachurin S.O. Focused design of polypharmacophoric neuroprotective compounds: Conjugates of γ -carbolines with carbazole derivatives and tetrahydrocarbazole // *Pure and Applied Chemistry*. 2017. Vol. 89. P. 1167-1184. DOI: 10.1515/pac-2017-0308.
- Раевский О.А., Григорьев В.Ю., Трепалин С.В. НУВОТ (Hydrogen Bond Thermodynamics) // *Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 990090 (1999)*. Федеральная служба по интеллектуальной собственности, Москва.
- Novikov V.P., Raevskii O.A. Representation of molecular structure in the form of a spectrum of interatomic distances for a study of the relationship of structure to biological activity // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 1982. Vol. 16. P. 379-386. DOI: 10.1007/BF00762059.
- Trepalin S.V., Razdolskii A.N., Raevskii O.A. Software package for computer-aided design of effective physiologically active compounds, based on two-dimensional and three-dimensional physicochemical descriptors // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2000. Vol. 34. P. 650-653. DOI: 10.1023/A:1010499601434.
- SVD. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.imsl.com> (дата обращения 30.09. 2023).
- Kubinyi H. Variable selection in QSAR studies. I. An evolutionary algorithm // *Quantitative Structure Activity Relationships*. 1994. Vol. 13. P. 285-294. DOI: 10.1002/qsar.19940130306.
- Mitra I., Saha A., Roy K. Exploring quantitative structure-activity relationship studies of antioxidant phenolic compounds obtained from traditional Chinese medicinal plants // *Molecular Simulation*. 2010. Vol. 36. P. 1067-1079. DOI: 10.1080/08927022.2010.503326.