

УДК 615.213:54.057:547.79.

## ВИКОРИСТАННЯ КОМП'ЮТЕРНОЇ ПРОГРАМИ PASS ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ

Перехода Л.О.

Національний фармацевтичний університет,  
61002, м. Харків, вул.Пушкінська, 53  
E-mail: medchem@ukrfa.kharkov.ua

Емпіричний підхід до синтезу нових фармакологічно активних сполук є мало продуктивним і характеризується низькою ефективністю з точки зору кінцевих результатів. На разі існують можливості значного підвищення ефективності досліджень у галузі синтезу нових фармакологічно активних сполук шляхом використання сучасних комп'ютерних технологій. Методами докінгу та комп'ютерного прогнозування за допомогою програми PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), відібрано 11 груп сполук, похідних 1,2,3(1,2,4)-тріазолу, 1,3,4-оксадіазолу та 1,3,4-тіадіазолу для синтезу та подальшого скринінгу як перспективних антиконвульсантів. Теоретично доведена ймовірність переважно ГАМК-ергічного механізму дії для 8 груп похідних та глутаматергічного механізму дії для 3 груп похідних п'ятичленних ди(три)азагетероциклів.

**Ключові слова:** ди(три)азагетероцикли, докінг, антиконвульсант, комп'ютерна програма PASS.

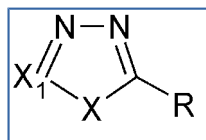
**Введення.** Пріоритетним напрямком розвитку конструювання ліків у теперішній час є інтеграція методів органічної хімії та фармакології. Методи комп'ютерного моделювання акумулюють останні досягнення, засновані на застосуванні передових математико-статистичних алгоритмів, достовірність передбачень яких становить близько 80% [1-3].

Використання комп'ютерних технологій, що враховують вклад окремих структурних фрагментів в біологічну активність та передбачають взаємодію потенційних ліків з молекулами біомішеней, надає змогу синтезувати десятки речовин замість тисяч та зменшує кількість експериментів на лабораторних тваринах за рахунок чого значно збільшується економічна ефективність створення нових лікарських засобів. А враховуючи той факт, що моделі дослідження протисудомної активності (зокрема, коразолова, тіосемікарбазидна, стрихнінова та ін.), є найбільш жорсткими експериментальними моделями фармакологічного скринінгу взагалі, що в основному спричиняють загибель тварин та викликають їх страждання, використання комп'ютерних технологій для пошуку потенційних антиконвульсантів має економічну та соціальну доцільність та є вельми актуальним для фармацевтичної науки.

### Матеріали і методи

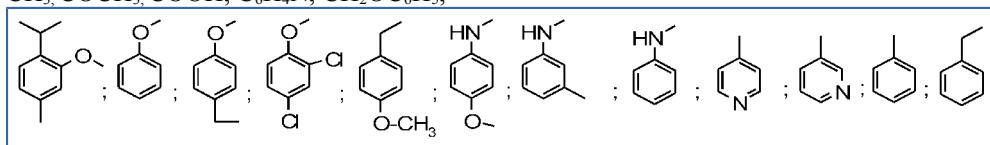
П'ятичленні ди(три)азагетероцикли посідають одне з центральних місць в органічній хімії, як в теоретичному, так і прикладному аспектах. Наявність декількох реакційних центрів робить їх цінними субстратами в синтезі нових гетероциклічних систем та дозволяє цілеспрямовано переходити до сполук заданої будови. З точки зору пошуку нових антиконвульсантів, похідні п'ятичленних ди(три)азагетероциклів мають значні переваги, оскільки вони є структурно подібними до циклічної конформації нейромедіаторів – ГАМК( $\gamma$ -аміномасляної) та глутамінової кислот, а також є сполуками з нескладним і малостадійним синтезом базових гетероциклів та наявністю протисудомної дії [4-6].

З огляду на все вищезазначене, здається вельми доцільним здійснювати конструювання перспективних антиконвульсантів обравши як основні фармакофори для формування віртуальних структур п'ятичленні ди(три)азагетероцикли загальної формули:



де  $X=NH, O, S$ ;  $X_1=N, CH$ , або  $C-R^1$

$R, R_1= CH_2C_6H_4Cl, SO_2C_6H_4Et, SO_2C_6H_4 t-Bu, SCH_2COC_6H_5, SCH_2CONHC_6H_5, CH_3, COCH_3, COOH, C_6H_4N, CH_2OC_6H_5,$



Зокрема ми вважали доцільним введення фрагментів, здатних збільшувати ліпофільність молекули, і як наслідок – поліпшувати проникнення речовин крізь гемато-енцефалічний бар'єр (заміщена тіогрупа, галогени, естерні, алкільні та арильні фрагменти), а також блокування гідрофільних груп (амінної, карбоксильної тощо). Особлива увага була приділена нами бензильному радикалові, що вже зарекомендував себе як один з ключових фармакофорів для наявності протисудомної активності. **На основі означених підходів нами було змодельовано 50 груп (507 гіпотетичних сполук): 12 груп гіпотетичних структур похідних 1,2,3-тріазолу(1H) (151 сполука), 11 груп гіпотетичних структур похідних 1,2,4-тріазолу (4H) та анельованих тріазолопіримідинів (149 сполук), 17 груп гіпотетичних сполук похідних 1,3,4-оксадіазолу (113 сполук) та 10 груп гіпотетичних структур похідних 1,3,4-тіадіазолу (94 сполуки).**

За допомогою програми PASS була визначена ймовірність прояву структурами протисудомної активності [7-9]. Програма PASS генерує MNA-дескриптори (Multilevel 1 Neighborhoods of Atoms - багаторівневе атомне оточення), за наявністю яких далі розраховуються 2 оцінки вірогідності приналежності до класу "активних" ("to be active") Pa та "неактивних" ("to be inactive") Pi сполук для кожного з прогнозованих видів активності.

Одним із найперспективніших методів віртуального скринінгу є молекулярний докінг, який дозволяє оцінити афінитет певної сполуки до даної біологічної мішені, тобто виявити інгібітор того чи іншого ферменту чи білку.

Метою подальшої роботи була оцінка афінитету (енергії зв'язування) похідних 1,2,3(1,2,4)-тріазолу, 1,3,4-оксадіазолу та 1,3,4-тіадіазолу до протисудомних мішеней; пошук найнижчих значень скорингових функцій; порівняння їх зі скоринговими функціями відомих антиконвульсантів та виявлення перспективних груп сполук, що можуть селективно інгібувати фермент ГАМК-АТ, ГАМК<sub>A</sub>, NMDA - або глутаматний рецептори. Молекулярний докінг використовувався нами для аналізу двох типів взаємодій прогнозованих сполук похідних

1,2,3(1,2,4)-тріазолу, 1,3,4-окса(тіа)діазолу з біосубстратом: ліганд-рецептор та ліганд-фермент (враховуючи різні механізми виникнення судом). Докінгові дослідження гіпотетичних сполук проведені з використанням програмного пакету SCIGRESS (Fujitsu, Fukuoka, Japan (ліцензія 742F6852C191)) [10].

Кристалграфічні моделі тривимірної структури білків ГАМК<sub>A</sub> рецептора (PDB код 1 GNU) [11], глутаматного рецептора Glu-1 (PDB код 1EWK) [12], Glu-N1 NMDA рецептора (PDB код 3Q41) [13] та фермента ГАМК-АТ (ГАМК амінотрансферази) (PDB код 1OHW) [14] одержано нами із Protein Data Bank (www.rcsb.org).

Об'єктами дослідження стали 507 сполук похідних 1,2,3(1,2,4)-тріазолу, 1,3,4-оксадіазолу та 1,3,4-тіадіазолу, а також відомі антиконвульсанти Фенобарбітал, Ацедіпрол, Карбамазепін, Вігабатрин, Ламотриджин, Габапентин, Бензобарбітал.

Етапи проведення молекулярного докінгу за допомогою програмного пакету SCIGRESS були наступними:

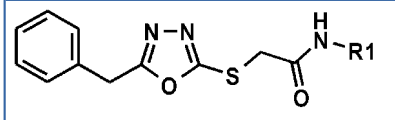
1. Вибір протисудомних біомішеней та визначення їх активних сайтів.
2. Проведення 3D-оптимізації структур відомих антиконвульсантів (метод молекулярної механіки MM+, напівемпіричний квантово-механічний метод PM3) та гіпотетичних сполук з віртуальної бази.
3. Проведення жорсткого 3D молекулярного докінгу з використанням функції Fast Dock.

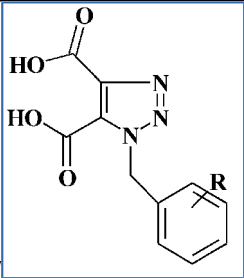
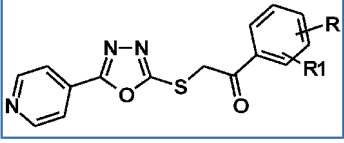
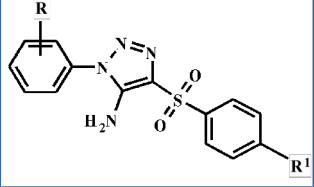
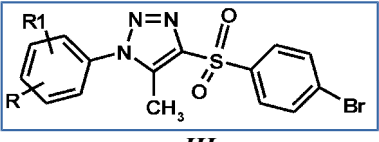
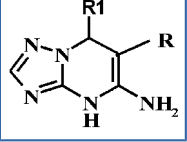
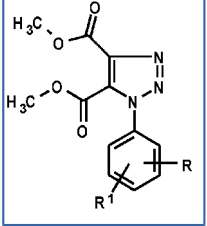
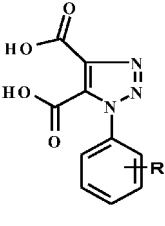
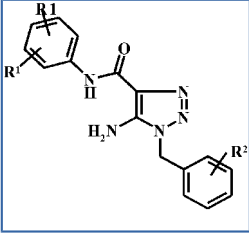
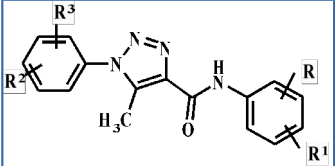
Для всіх структур сформованої нами віртуальної бази та відомих антиконвульсантів оцінено якість та енергію зв'язування досліджуваних структур з молекулами біомішеней: протеїну 1GNU ГАМК<sub>A</sub> рецептора, протеїну 1EWK глутаматного рецептора Glu-1, протеїну 3Q41GluN1 NMDA рецептора та протеїну 1OHW фермента ГАМК-АТ.

### Результати та їх обговорення

Підсумовуючи одержані результати комп'ютерного PASS-прогнозу, ми дійшли до висновку, що перспективними антиконвульсантами можуть бути 10 з 50 груп сполук (індекс активності сполук (Pa) від 0.5 до 0.84). (Табл. 1.)

Таблиця 1. Перспективні групи сполук, за результатами PASS-прогнозу

Групи сполук	PASS-прогноз (Pa, Pi)	Групи сполук	PASS-прогноз (Pa, Pi)
 <p style="text-align: center;"><b>I</b></p>	<p>Pa =0,51-0.6 Pi=0,010-0,129</p>		<p>Pa =0,5-0.6 Pi=0,03-0,33</p>

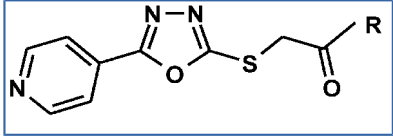
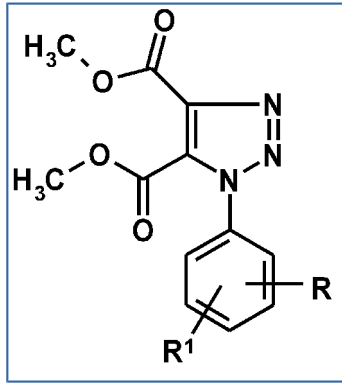
			
	Pa = 0,51-0,6 Pi = 0,0118-0,129		Pa = 0,5-0,6 Pi = 0,02-0,22
	Pa = 0,5-0,6 Pi = 0,08-0,109		Pa = 0,541- 0,677 Pi = 0,010-0,012
	Pa = 0,575-0,841 Pi = 0,08-0,09		Pa = 0,601-0,81 Pi = 0,01-0,11
	Pa = 0,601-0,609 Pi = 0,03-0,32		Pa = 0,507-0,844 Pi = 0,02-0,29

У результаті докінгу одержано ряд значень скорингових функцій Consensus (табл.2), що дало змогу оцінити афінитет гіпотетичних сполук до протисудомних біомішеней та виявити перспективні

групи сполук, що можуть селективно інгібувати NMDA, ГАМК<sub>A</sub>- або глутаматний рецептори та фермент ГАМК-АТ у порівнянні з відомими протисудомними засобами [15].

Таблиця 2. Результати молекулярного докінгу

	Скорингова функція Consensus		
Кристаліграфічні моделі протеїнів Сполуки	1GNU	1OHW	1EWK
<i>I</i>	-90.04	-27.930	-38.039

	-90.01	-18.074	-36.672
<b>II</b>	-97.685 -93.436	-27.094 -25.610	-28.004 -25.964
<b>III</b>	-97.685 -96.522	 -28.098  19.147	-24.410 -14.000
<b>IV</b>	-98.004 -97.052	-39.762 -37.930	-63.673 -60.278
<b>V</b>	-98.147 -97.673	-38.098 -36.452	-37.930 -30.455
<b>VII</b>	-96.025 -93.052	-29.074 -25.107	-34.647 -34.742
<b>IX</b>	-67.626 -60.299	-57.980 -50.341	-58.328 -57.890
<b>X</b>	-99.050 -99.014	-55.167 -53.094	-50.079 -49.932
<b>XI</b>	-95.610 -91.626	-38.004 -29.817	-48.004 -40.135
<b>XII</b>	-96.436 -94.751	-29.626 -23.762	-35.100 -30.139
<b>VIII</b>	-57.103 -54.611	-27.626 -20.456	-53.037 50.391
Фенобарбітал	-99.817	-25.010	-45.194
Бензобарбітал	-89.767	-17.626	-45.178
Депакін	-40.626	-49.623	-40.651
Габапентин	-23.037	-25.619	-17.583
Ламотриджин	-10.061	-17.626	-59.861
Вігабатрин	-13.037	-50.032	-23.037

Процес класифікації лігандів, які наймовірніше, будуть сприятливо взаємодіяти з конкретним рецептором, на основі передбачення вільної енергії зв'язування показав, що для 11 з 50 груп сполук прогнозується наявність протисудомної активності, що говорить про новий скафолд серед відомих інгібіторів протисудомних біомішеней 1GNU та 1OHW та 1EWK.

Молекулярний докінг дозволив виділити 8 перспективних груп сполук, що можуть селективно інгібувати ГАМК<sub>A</sub>. А саме:

- аніліди 1-арил-5-метил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4-карбонової кислоти;
- диметилкові естери 1-арил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4,5-дикарбонової кислоти;

- аніліди 5-(*R*-феніламіно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти;
- ариламиди 1-бензил-5-аміно-1,2,3-тріазол(1*H*)-4-карбонової кислоти;
- аніліди та гетериламіди 5-*R*-бензил -1,3,4-оксадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти;
- похідні 1-арил-4-арилсульфоніл-5-аміно-1,2,3-тріазолу(1*H*);
- 5-(*n*-метилізопропіл) феноксиметил-1,3,4-оксадіазол-2-ілтіо-1-фенони;
- аміди 5-*R*-піридил -1,3,4-оксадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти.

Слід відзначити, що одна з вищезазначених груп – аніліди 1-арил-5-метил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4-карбонової кислоти є перспективною групою, що показала також високу афінність (скорингові функції

нижчі ніж для вігабатрину та ацедіпролу) до протеїнів ферменту ГАМК-АТ (PDB код 1OHW). Теоретичну ймовірність глутаматергічного механізму дії показують найнижчі значення скорингових функцій в порівнянні з ламотриджином, що одержані для протеїнів GluR1 AMPA глутаматних метаботропних рецепторів (PDB код 1EWK) для таких груп похідних:

- похідні [1,2,4]тріазоло[1,5-а]піримідину;
- диметиллові естери 1-арил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4,5-дикарбонових кислот;
- 1-бензил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4,5-дикарбонові кислоти.

Афінність до протеїну GluN1 NMDA рецептора 3Q41 не виявила ні одна з досліджуваних груп сполук (порівнювали зі скоринговою функцією ацедіпролу - інгібітору Glu-N1 NMDA рецептора).

Група диметиллових естерів 1-арил-1,2,3-тріазол(1*H*)-4,5-дикарбонової кислоти згідно з результатами молекулярного докінгу може мати мультифакторний механізм дії. Згідно одержаних результатів кількість активних груп сполук за результатами PASS прогнозу дорівнює 10 (кількість сполук 168), за результатами молекулярного докінгу - 11 (кількість сполук 190). Співпадають результати прогнозування для 8 груп сполук.

#### Висновки

1. Відібрано 11 груп сполук, похідних 1,2,3(1,2,4)-тріазолу, 1,3,4-оксадіазолу та 1,3,4-тіадіазолу для синтезу та подальшого скринінгу як перспективних антиконвульсантів;
2. Теоретично доведена ймовірність переважно ГАМК-ергічного механізму дії для 8 груп похідних та глутаматергічного механізму дії для 3 груп похідних п'ятичленних ди(три)азагетероциклів.

#### References

1. Dimitrov S., Dimitrova N., Parkerton T., / Base-line model for identifying the bioaccumulation potential of chemicals, SAR QSAR Environ. Res. -2005.-16. P. -531-554
2. GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>C</sub> Receptors: Molecular Modelling and QSAR Analysis of Selective Ligands /Palyulin V.A., Chupakhin V.I., Osolodkin D.I., Radchenko E.V., Zefirov N.S. //17th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships. Uppsala, Sweden. - 2008. - P.29-34
3. Oprea T. I. Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective / T. I. Oprea, A. M. Davis, S. J. Teague // J. Chem. Inf. Comput. Sci. - 2001. - Vol. 41, № 11. - P. 1308-1315.
4. Triazolines - XXVII.  $\Delta^2$  - 1,2,3-triazoline anticonvulsants: Novel „built-in” heterocyclic prodrugs with a unique „dual-action” mechanism for impairing excitatory amino acid L-glutamate neurotransmission / P. K. Kadaba, P. J. Stevenson, I. Pnane et al. // Bioorg. Med. Chem. - 1996. - Vol. 4, № 2.- C. 165-178.
5. Kadaba PK, Dixit T. Aminoalkylpyridines (AAPs), triazoline metabolite analogues, as anticonvulsants

highly effective in the MES test. //Curr Med Chem. - 2003 -10(20). - P. 2109-2021.

6. 1,5-Diarylsubstituted 1,2,3-triazoles as potassium channel activators. VI. / Biagi G., Calderone V., Giorgi I. // Farmaco. - 2004. - Vol. 59, № 5. - P. 397-404.
7. Filimonov D.A., Poroikov V.V., in: Chemoinformatics Approaches to Virtual Screening.
8. Alexandre Varnek and Alexander Tropsha, Eds. Cambridge (UK): RSC Publishing. - 2008. P.182-216.
9. Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. QSAR Modelling of Rat Acute Toxicity on the Basis of PASS Prediction. Molecular Informatics.- 2011.- 30, № (2-3). P.241-250.
10. Anzali S. Discriminating between drugs and nondrugs by prediction of activity spectra for substances (PASS) / S.Anzali, G.Barnickel, B.Cezanne et al. // J. Med. Chem. - 2001. - Vol.4, № 16. - P. 2432 - 2437.
11. Victoriya Georgiyants. Synthesis, docking studies, and biological evaluation of anti-ulcer activity of 4-allyl-5-(4-R1)-phenylthiomethyl-1,2,4-triazole-3-ilmercaptoacetic acid derivatives/ Victoriya Georgiyants, Lina Perekhoda, Narzullo Saidov at all // Eur. Chem. Bull.- 2014.-Vol.3, №5. -P. 466-471
12. Poroikov V. Computer-aided prediction of biological activity spectra. Application for finding and optimization of new leads. Rational Approaches to Drug Design / Poroikov V., Filimonov D. // Ed. by H.-D. Holtje, W.Sipl. - Barcelona: Prous Science, 2001. - P. 403 - 407.
13. Knight D. The X-ray crystal structure and putative ligand-derived peptide binding properties of gamma-aminobutyric acid receptor type A receptor-associated protein/ D.Knight, R Harris, MS McAlister et al. // J Biol Chem.- 2002. - Vol. 277, №7. - P. 5556-5561.
14. Kunishima N. Crystal structure of metabotropic glutamate receptor subtype 1 complexed with glutamate Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor./ Kunishima N., Shimada Y., Tsuji Y et al. // Nature.- 2000. - Vol. 407. - P. 971-977.
15. Storici P. Structures of gamma-aminobutyric acid (GABA) aminotransferase, a pyridoxal 5'-phosphate, and [2Fe-2S] cluster-containing enzyme, complexed with gamma-ethynyl-GABA and with the antiepilepsy drug vigabatrin /Storici P., De Biase D., Bossa, F et al.// J.Biol.Chem.- 2004. - Vol. 279. - P. 36.
16. Michael D. Clift, Richard B. Silverma. Synthesis and Evaluation of Novel Aromatic Substrates and Competitive Inhibitors of GABA Aminotransferase // Bioorg Med Chem Lett.- 2008. - Vol. 18, №10. - P. 3122-3125.

UDC 615.213:54.057:547.79.

#### THE APPLICATION OF PASS-COMPUTER PROGRAMME AND MOLECULAR DOCKING FOR THE SEARCH OF NEW ANTICONVULSANTS Perekhoda L.O.

**Introduction.** Currently the priority goal of designing drugs is the integration of the methods of organic chemistry and pharmacology. The application of computer programmes which can predict interaction of



potential drugs with molecules of biological targets makes possible to decrease the number of experiments on laboratory animals. Thereby the economic efficiency of production of new medicines increases. Models of the research the anticonvulsant activity (in particular, korazol, thiosemikarbazid, strychnine, etc.) are the most rigid experimental models of pharmacological screening, which basically entails the pains of laboratory animals or their death. The application of computer programmes in the research of potential anticonvulsants has economic and social desirability and high level of importance for the pharmaceutical science and health care. The most perspective methods of research are the virtual screening, molecular docking. These methods allow to evaluate the affinity of a substance to a specific biological target, i.e. to identify an inhibitor of a particular enzyme or protein.

**Material and methods.** We have carried out the construction of 50 groups substances (507 hypothetical structures). We have chosen the five-membered di(three)azaheterocycle as basic pharmacophores to form virtual structures because firstly their structure is similar to cyclic conformation of neurotransmitter and secondly according to the literature perspective anticonvulsants had already found among these derivatives. Computer prediction of pharmacological activity for all compounds of virtual database was performed using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) computer programme. Results obtained by PASS-computer programme showed prospects of search the anticonvulsants among 10 groups of derivatives di(three)azaheterocycles (probable activity (Pa) of substances of these groups are from 0.5 to 0.84). In order to determine the potential anticonvulsant activity of 1,2,3(1,2,4)triazole, 1,3,4-oxa(thia)diazole we investigated the mechanisms of action that involve the interaction of the ligand NMDA-, GAMK<sub>A</sub>- or glutamate receptors and GABA-AT ligand-enzyme. We have performed docking research for our structures and for known anticonvulsants using the Fast Dock method, in which both protein and ligand are rigid (Software SCIGRESS; Fujitsu, Fukuoka, Japan). We have evaluated affinity of the investigated structures with molecules biotargets: GABA<sub>A</sub> receptor protein (PDB code 1GNU), glutamate receptor protein Glu-1 (PDB code 1EWK), GluN1 NMDA receptor protein (PDB code 3Q41) and protein enzyme GABA-AT (PDB code 1OHW).

**Results and discussion.** As a result, we have obtained the values of scoring functions Consensus, which enabled to evaluate affinity compounds and biological anticonvulsant targets and identify 11 perspective groups of compounds (number of compounds 190) that can selectively inhibit NMDA, a GABA - or glutamate receptors and GABA aminotransferase enzyme in comparison with known anticonvulsant drugs. The number of active groups of the results PASS prediction according to the obtained results is 10 (the number of compounds 168). It should be noted that result of docking research coincided with the results of PASS prediction for eight groups of compounds.

## Conclusion

1. Eleven groups of compounds derivatives of 1,2,3(1,2,4)-triazols, 1,3,4-oxadiazoles and 1,3,4-thiadiazoles was selected for further screening as perspective anticonvulsants;
2. GABA-ergic mode of action for 8 groups of derivatives and glutamatergic mode of action for 3 groups of derivatives five-membered di(three)azaheterocycle was predicted.

**Keywords:** docking, anticonvulsant activity, PASS computer program, di (three) azaheterocycle.