Волгоградский государственный медицинский университет

П. М. Васильев

Консенсусный поиск *in silico* бифункциональных производных бензимидазола с антидиабетической активностью

百花齐放

Пусть цветут все цветы ...

Конфуций

Консенсусный

Ансамблевый

Комитетный

Метод принятия решения на основе оценок, полученных несколькими способами

Необходимость консенсуса

Шесть проекций

Двенадцать проекций

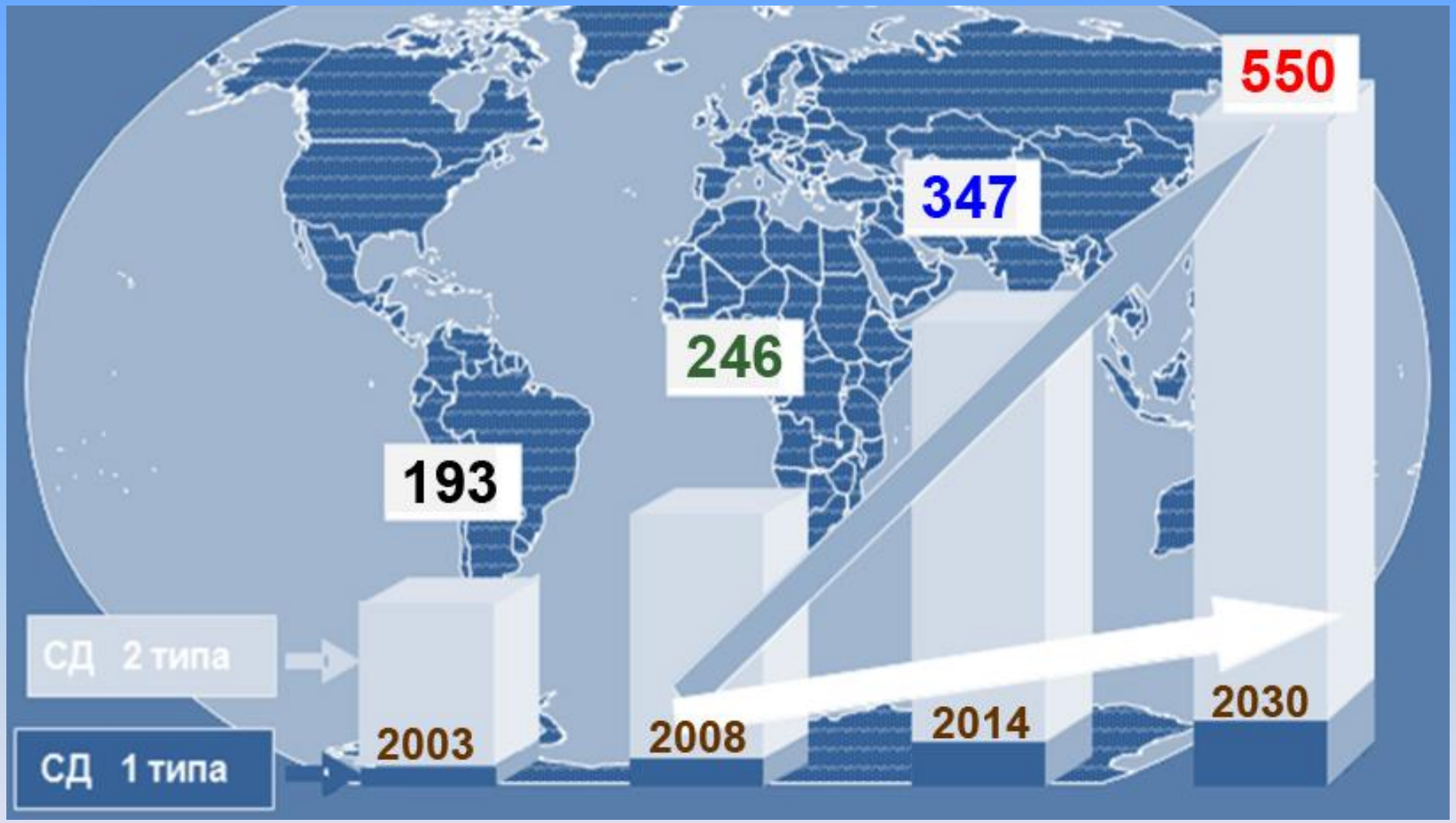
Преимущества консенсуса

1. **Err = 0.2 – 20 %**
   Ошибка одного метода прогноза

2. **Err = 0.2 · 0.2 = 0.04 – 4 %**
   Совпадение результатов прогноза двумя методами

3. **Err = $(0.2)^3$ = 0.008 – 0.8 %**
   Совпадение результатов прогноза тремя методами

Заболеваемость сахарным диабетом

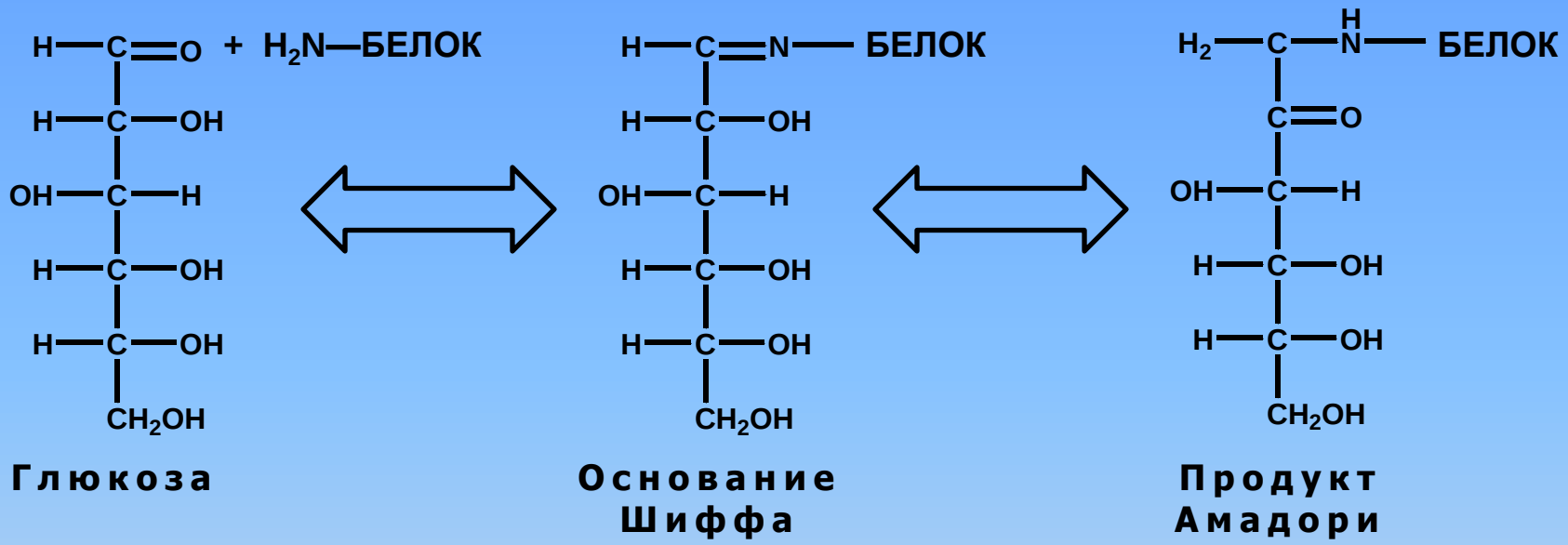


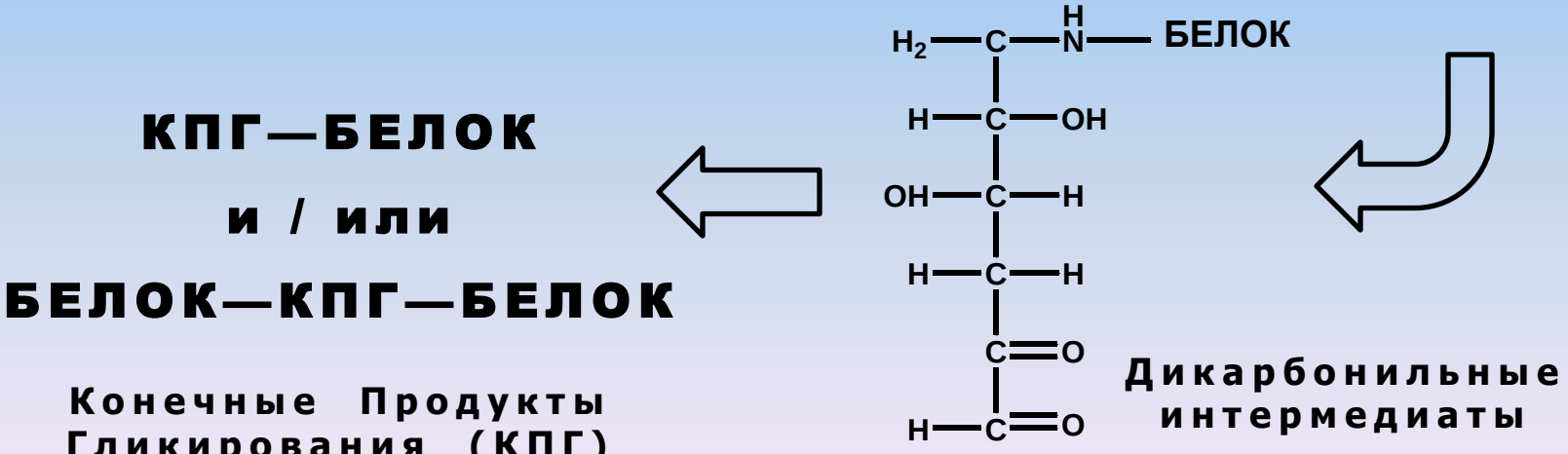
Россия 2013 г.: 4.0 млн. зарегистрированных больных;
12.5 млн. чел. по оценке ADF.

Цель исследования

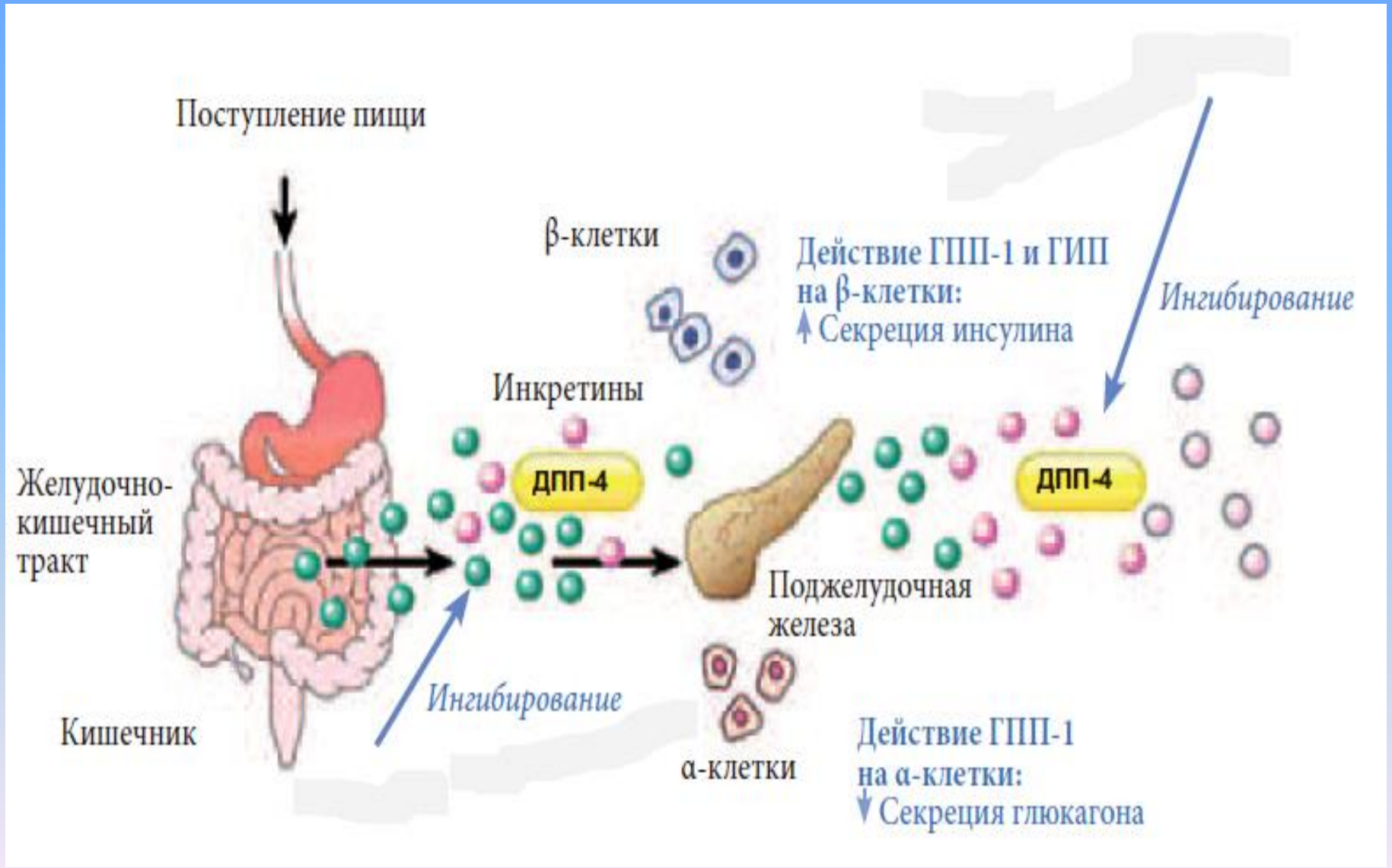
Поиск *in silico* и *in vitro* антидиабетических веществ с сочетанной антигликирующей и ингибирующей дипептидилпептидазу-4 активностью

Реакция Майяра

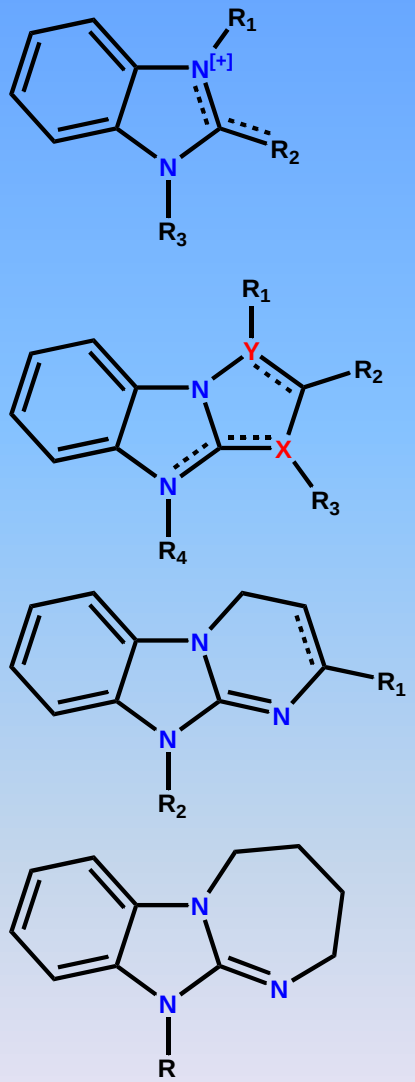




Функционирование дипептидилпептидазы-4

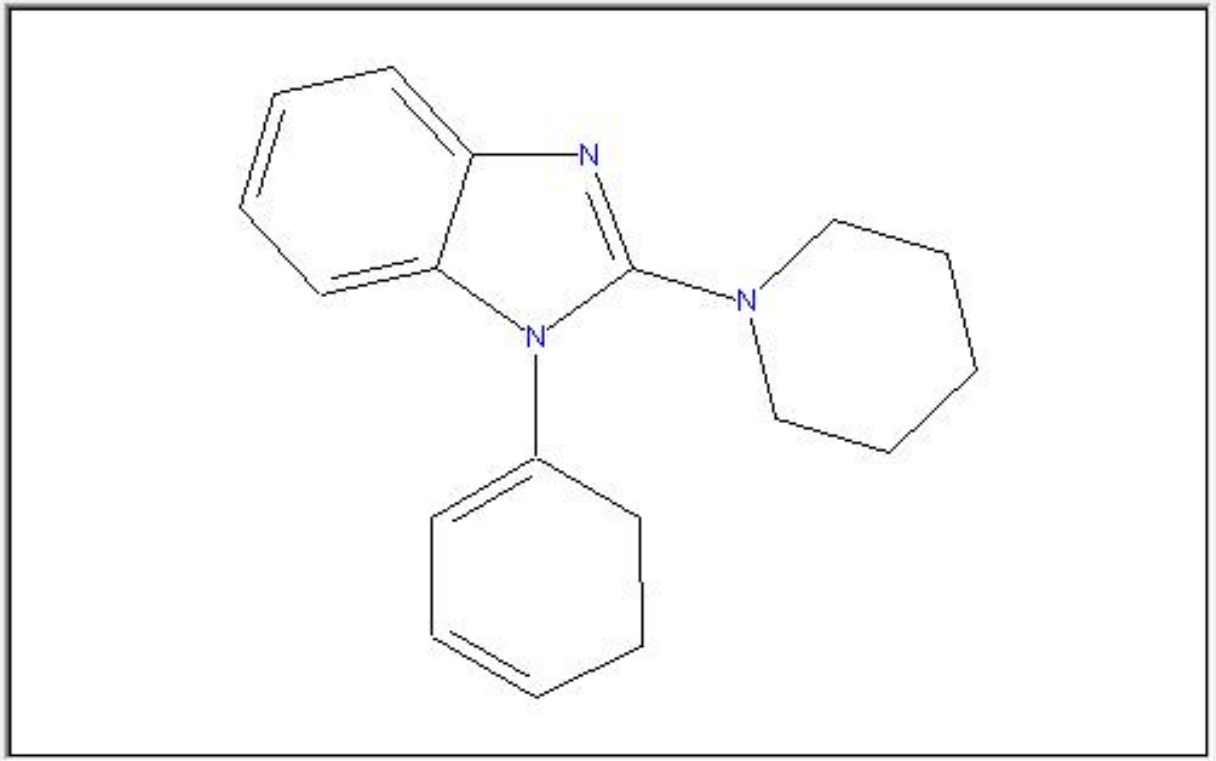


Производные бензимидазола



Tested Substances v01 05 February 2016

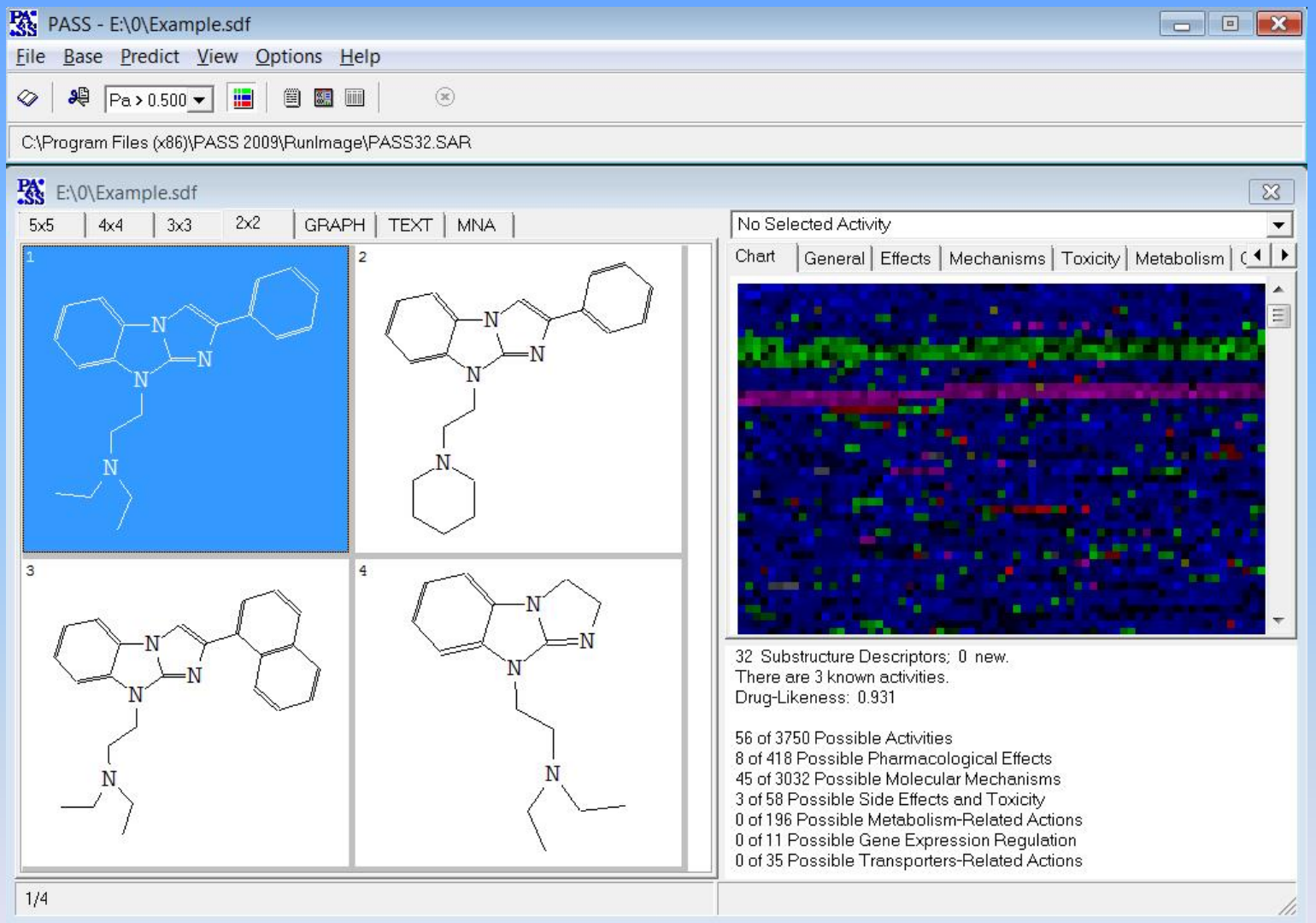
Structure



Mol_ID	Code	Brutto formula	Mol weight
44	AZH-0100	$C_{18}H_{21}N_3$	279.3

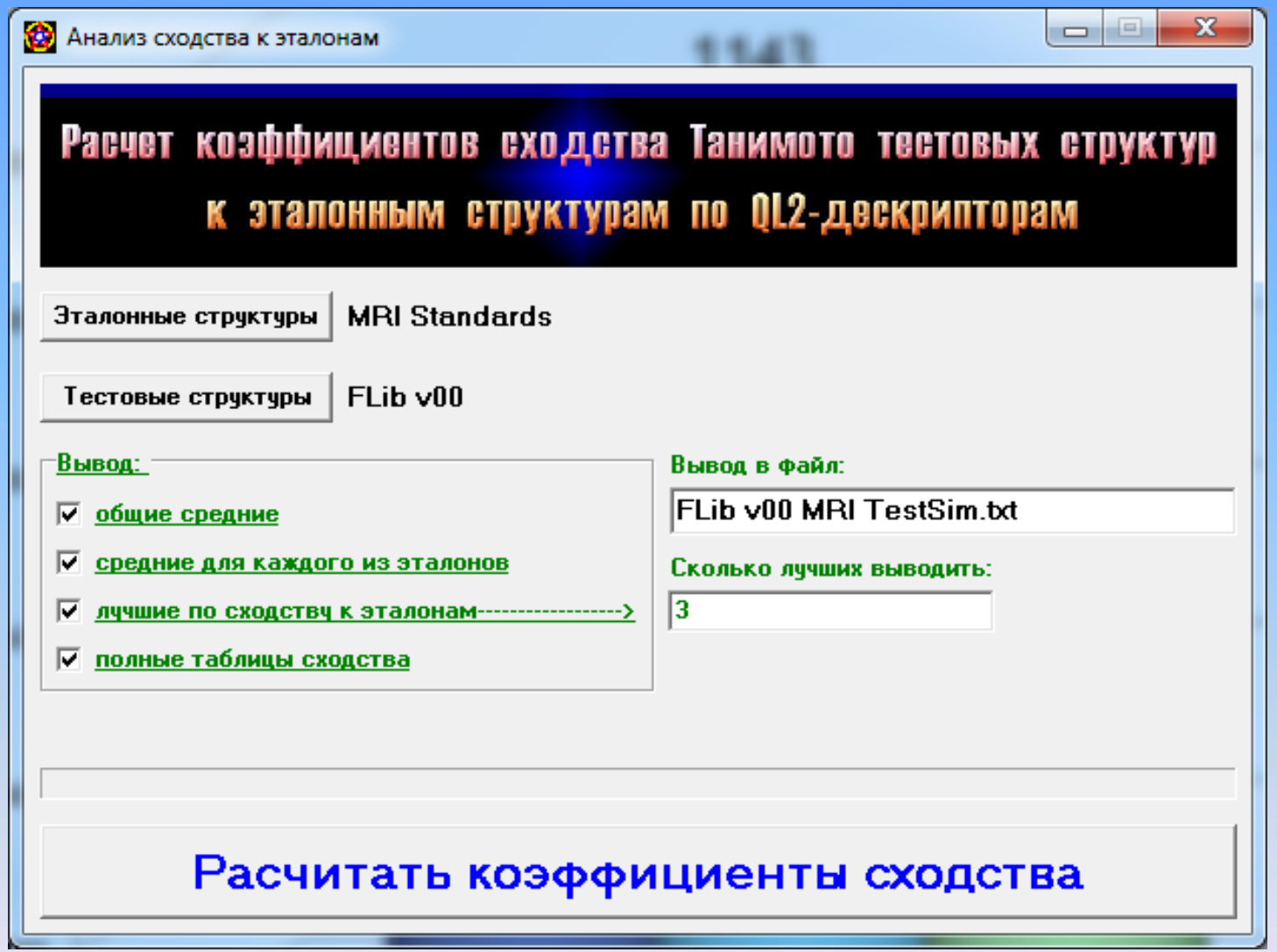
Фокусированная библиотека, 100 структур

Система PASS



$P_a / P_i \Rightarrow Ind$

Информационная технология «Микрокосм»



$T_{QL} \rightarrow Ind$

Эталоны – референсные ингибиторы

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2015620157

Ингибиторы реакции Мейларда

Правообладатель: *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Васильев Павел Михайлович (RU), Спасов Александр Алексеевич (RU), Кузнецова Валентина Андреевна (RU)*

Заявка № 2014621769
Дата поступления 12 декабря 2014 г.
Дата государственной регистрации
в Реестре баз данных *29 января 2015 г.*

Врио руководителя Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Л.Л. Кирий

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2015620158

Ингибиторы дипептидилпептидазы-4

Правообладатель: *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

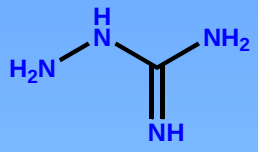
Авторы: *Васильев Павел Михайлович (RU), Спасов Александр Алексеевич (RU), Чепляева Наталья Ивановна (RU), Литвинов Роман Александрович (RU)*

Заявка № 2014621771
Дата поступления 12 декабря 2014 г.
Дата государственной регистрации
в Реестре баз данных *29 января 2015 г.*

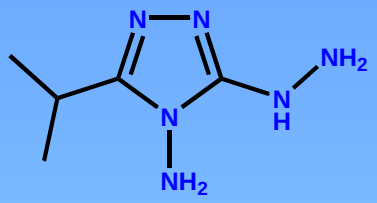
Врио руководителя Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Л.Л. Кирий

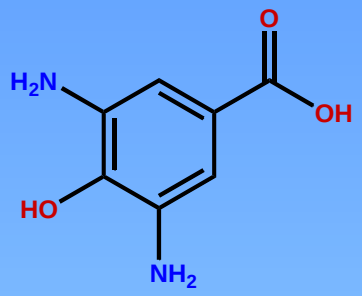
Референсные ингибиторы реакции Майяра



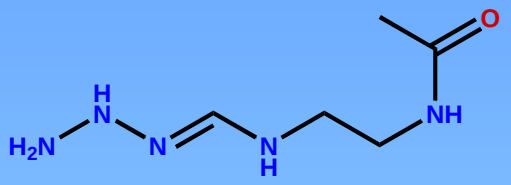
Аминогуанидин



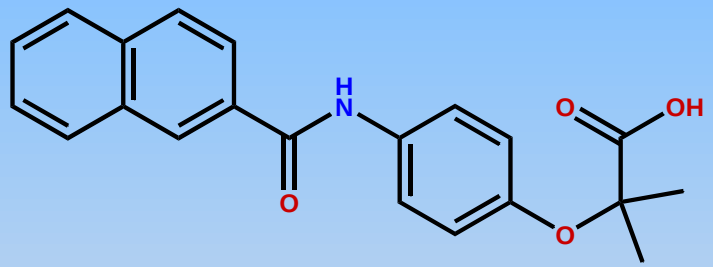
ALT-462



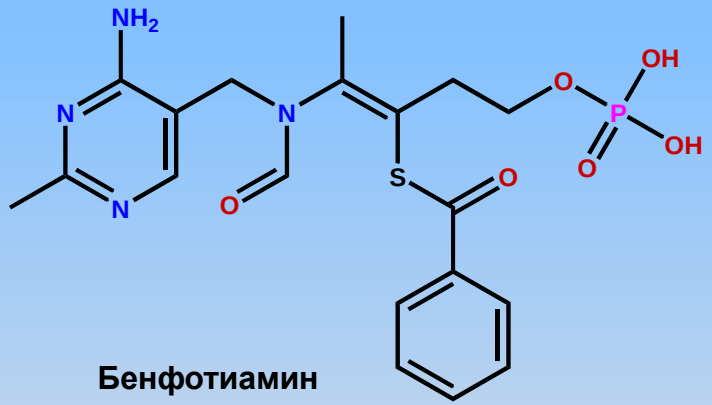
ALT-486



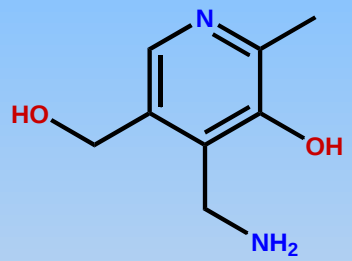
ALT-496



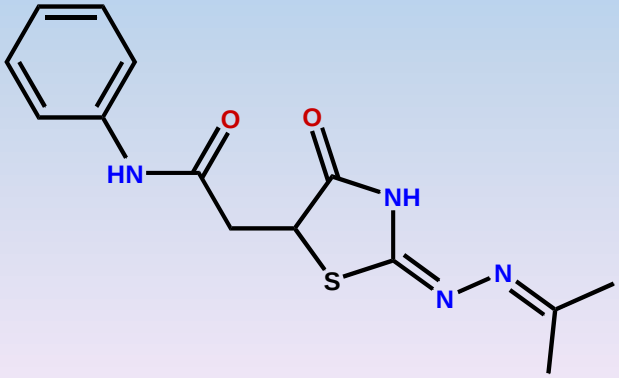
LR-9



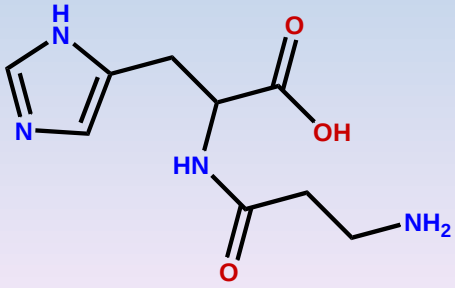
Бенфотиамин



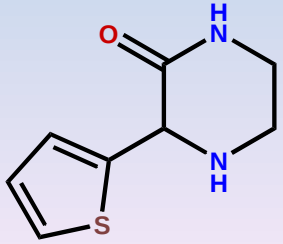
Пиридоксамин



OPB-9195

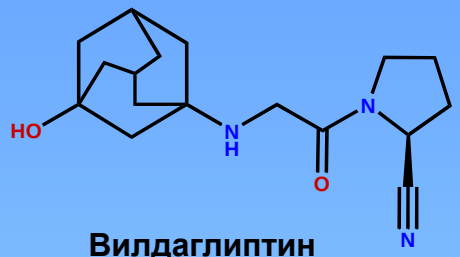


Карнозин

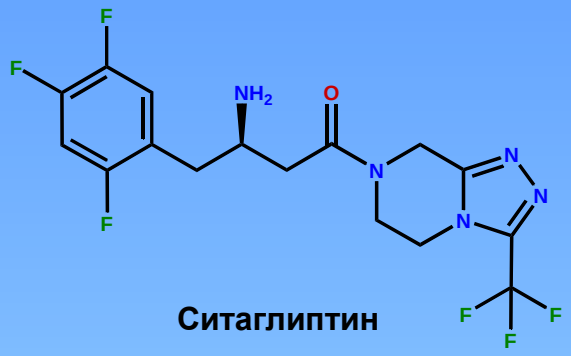


Тенилсетам

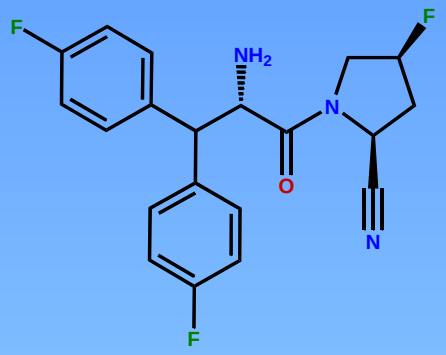
Референсные ингибиторы ДПП-4



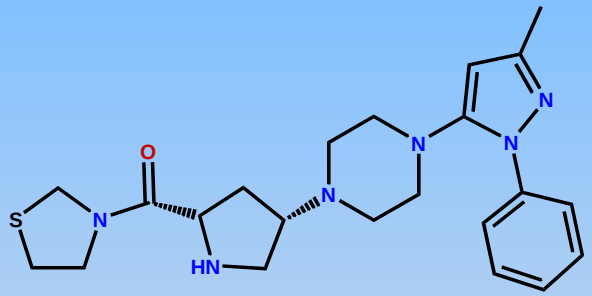
Вилдаглиптин



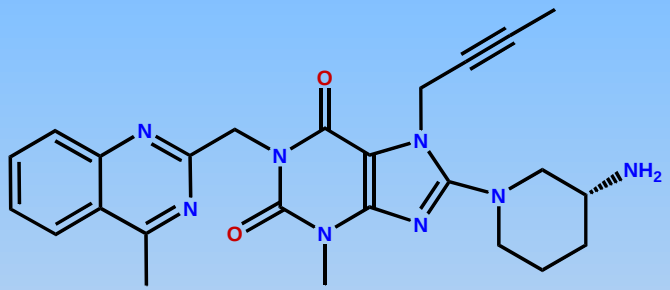
Ситаглиптин



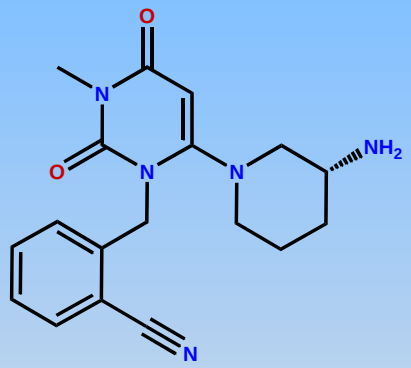
Денаглиптин



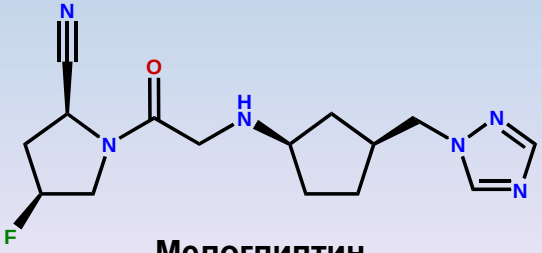
Тенеглиптин



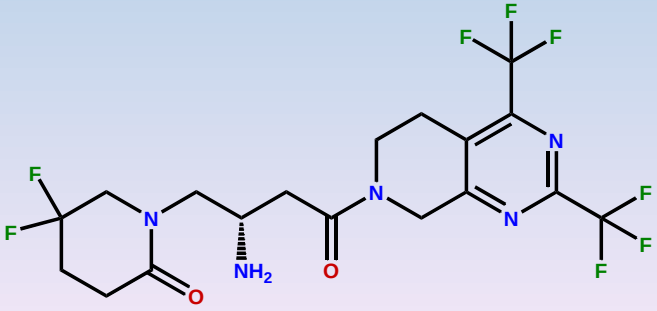
Линаглиптин



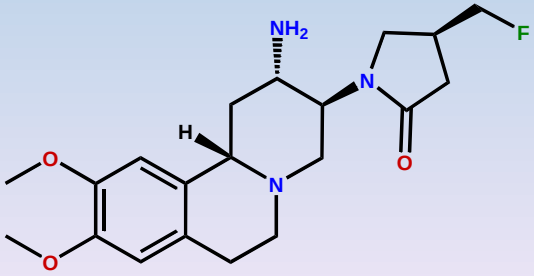
Алоглиптин



Мелоглиптин



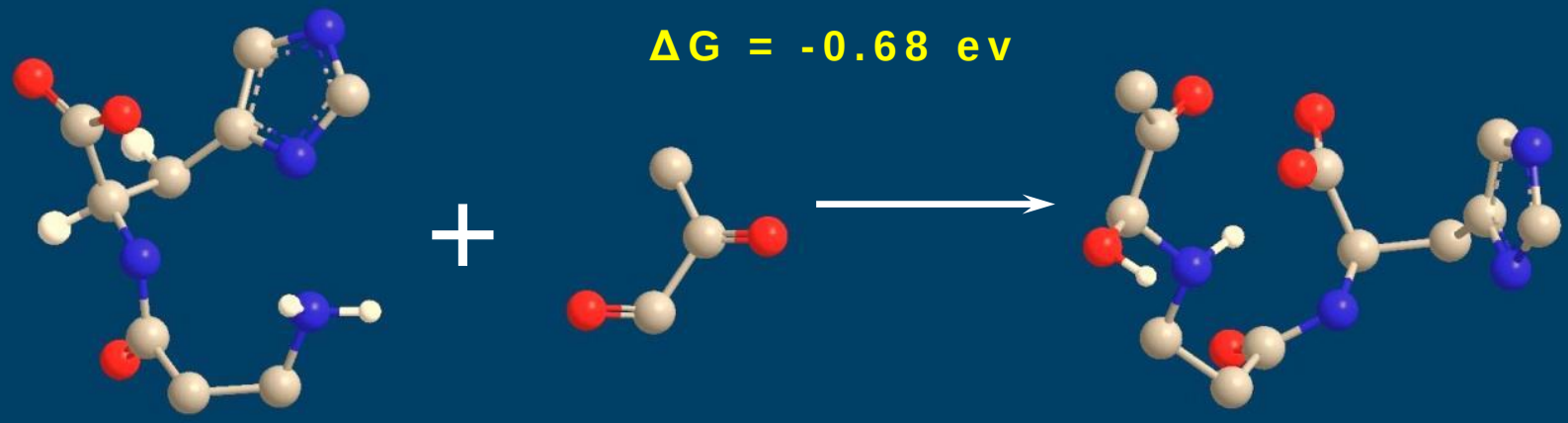
Гемиглиптин



Кармеглиптин

Квантово-химическое QSAR-моделирование

Карнозин



$$Act = 44.540 + 60.168 \cdot \Delta G - 12.601 \cdot \Delta E_{HOMO}$$
$$0.00157 \qquad 0.0237$$

N=10 R=0.911 s=4.11 $F_{2,7}$=17.0 p=0.0021

Act —> Ind

Программа AutoDock Vina

$\Delta E \rightarrow Ind$

Расчет индекса перспективности

PASS

$P_a/P_i < 1$	Ind = 0
$1 \leq P_a/P_i < 10$	Ind = 1
$10 \leq P_a/P_i < 100$	Ind = 2
$P_a/P_i \geq 100$	Ind = 3

Microcosm

$ОКС < ОКС_{Мин}$	Ind = 0
$ОКС_{Мин} \leq ОКС < ОКС_{Сред}$	Ind = 1
$ОКС_{Сред} \leq ОКС < ОКС_{Макс}$	Ind = 2
$ОКС \geq ОКС_{Макс}$	Ind = 3

Докинг

$\Delta E < \Delta E_{Мин}$	Ind = 0
$\Delta E_{Мин} \leq \Delta E < \Delta E_{Сред}$	Ind = 1
$\Delta E_{Сред} \leq \Delta E < \Delta E_{Макс}$	Ind = 2
$\Delta E \geq \Delta E_{Макс}$	Ind = 3

QM QSAR

$Act < 1$	Ind = 0
$1 \leq Act < 6.3$	Ind = 1
$6.3 \leq Act < 25.0$	Ind = 2
$Act \geq 25.0$	Ind = 3

Расчет функции принадлежности

$$F_m = \frac{\sum_{i=1}^{N} Ind_i + L_C + 0.01}{3N + L_C + 0.02}$$

N **– число методов прогноза**

Ind$_i$ **– оценка перспективности соединения методом *i***

L_C **– ранг консенсуса**

0.01, 0.02 – параметры несмещенности

Типы прогнозного консенсуса

1. **Полный консенсус ранга *L* – FC*L***

   Все L+1 оценок положительные

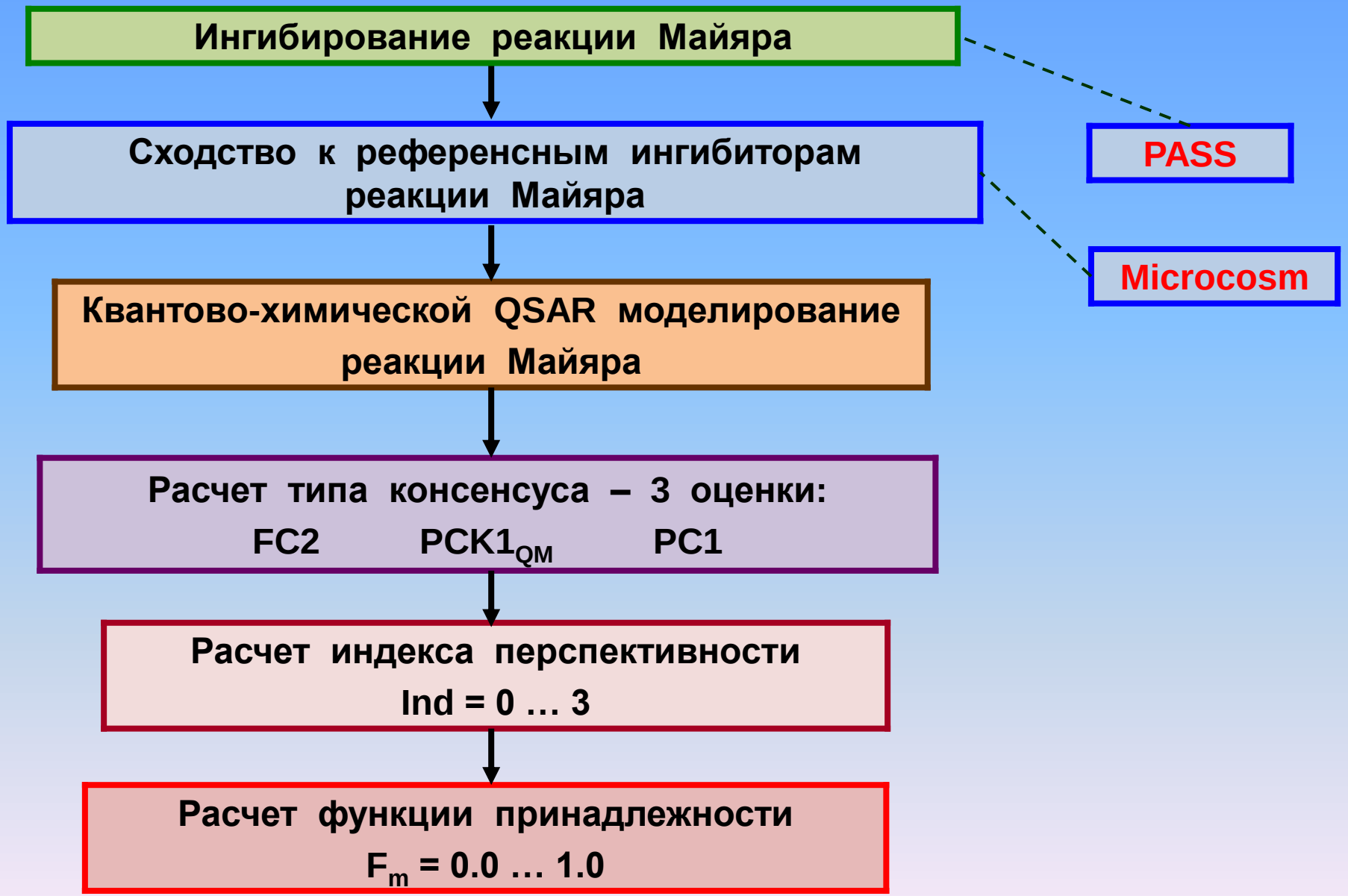
2. **Частичный ключевой консенсус ранга *M* по докингу или квантовой химии – PCKM_{Dock} PCKM_{QM}**

   M+1 оценок положительные, одна из них обязательная (докинг или квантово-химическое моделирование)

3. **Частичный простой консенсус ранга *N* – PC*N***

   Любые N+1 оценок положительные

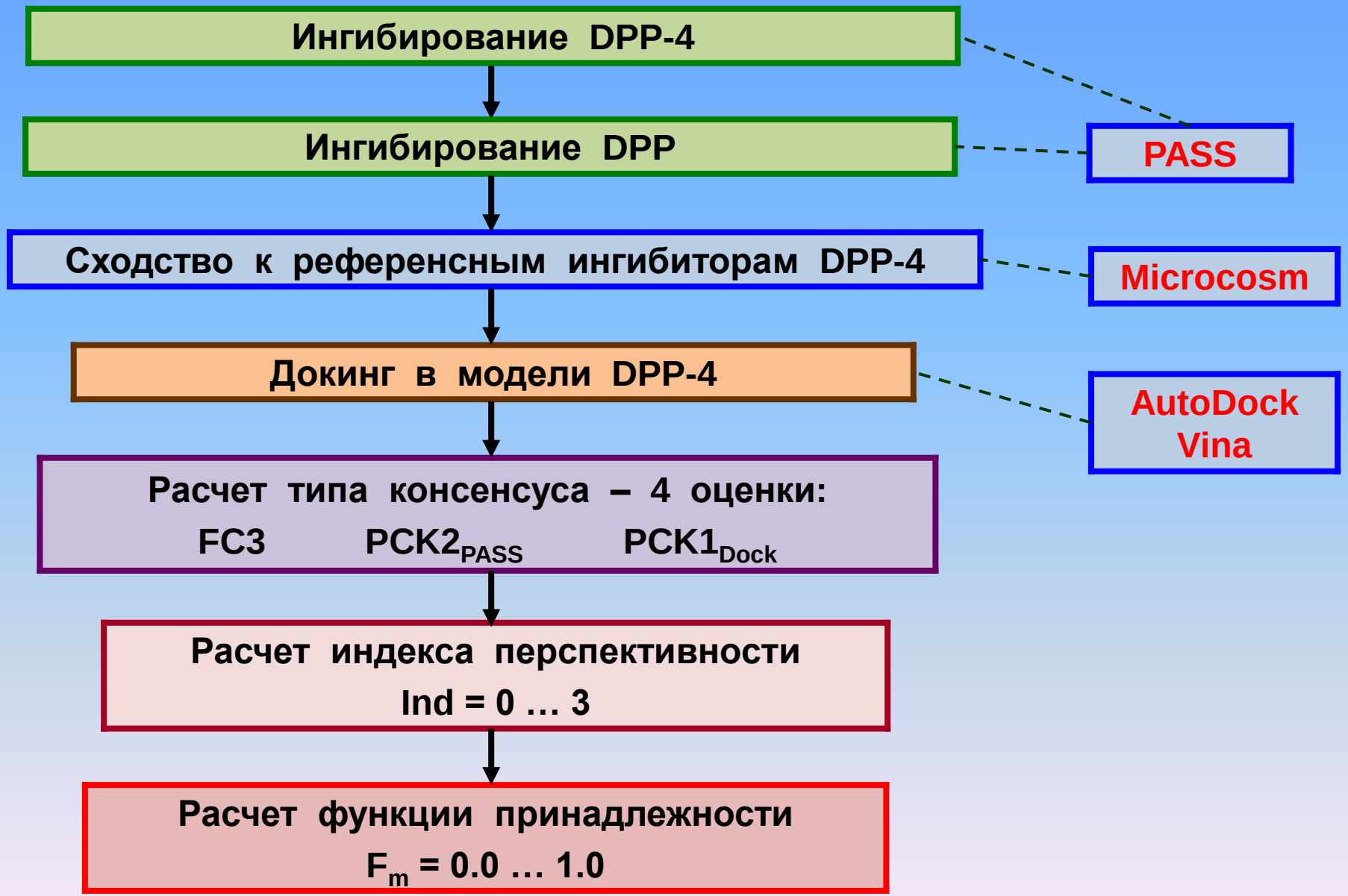
Консенсусный поиск MRI



Пример прогноза антигликирующей активности

Шифр	PASS		MC TestSim		QM		Cons	Ind_0	F_m
	P_a/P_i	Ind	T_{QL}	Ind	Act	Ind			
RUS-0192	136.0	3	0.172	2	13.8	2	FC2	2.33	0.818
RU-0233	0.17	0	0.181	3	12.1	2	$PCK1_{QM}$	1.67	0.600
AZH-0123	14.9	2	0.175	2	-4.7	0	PC1	1.33	0.445
KD-0070	0.88	0	0.192	3	0.0	0	S	1.00	0.167

Консенсусный поиск ингибиторов DPP-4



Пример прогноза ДПП-4 ингибирующей активности

Шифр	PASS				MC TestSim		Dock		Cons	Ind_0	F_m
	DPP-4		DPP								
	P_a/P_i	Ind	P_a/P_i	Ind	T_{QL}	Ind	ΔE	Ind			
AZH-0146	14.6	2	7.8	1	0.192	1	-8.34	2	FC3	1.50	0.600
RU-0669	6.9	1	0.98	0	0.216	1	-8.44	2	$PCK2_{PASS}$	1.00	0.429
AZH-0100	0.73	0	1.40	1	0.194	1	-8.38	2	$PCK1_{Dock}$	1.00	0.385
RU-0254	2.2	1	0.16	0	0.176	1	-6.25	0	PC1	0.50	0.167
KD-0022	0.73	0	0.14	0	0.148	0	-9.68	2	S	0.50	0.084

Тестирование антигликирующей активности

Антигликирующую активность новых соединений изучали *in vitro* в концентрации 10^{-4}М флуоресцентным методом в растворе 0,2% бычьего сывороточного альбумина и 18% глюкозы в буфере PBS (pH=7,4).

После добавления веществ смесь инкубировали при 60°С в течение 1 сут. (Jedsadayanmata A., 2005).

Показателем ингибирующей активности служило отношение интенсивности флуоресценции опытной и контрольной проб.

Веществом сравнения служил аминогуанидин.

Тестирование ДПП-4 ингибирующей активности

ДПП-4 ингибирующую активность соединений в концентрации 10^{-4}М изучали методом планшетного скрининга при 405нм с помощью прибора для считывания планшетов на плазме крови человека в присутствии субстрата реакции, содержащего связанный р-нитроанилин (Yogisha S. et al., 2010).

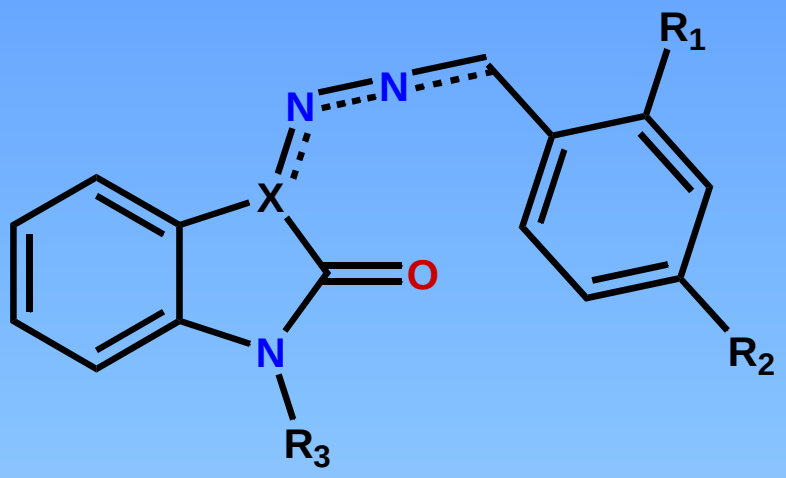
Мерой ингибирующей активности служило отношение светопропускания опытной и контрольной проб.

Препаратом сравнения служил вилдаглиптин.

Эффективность поиска

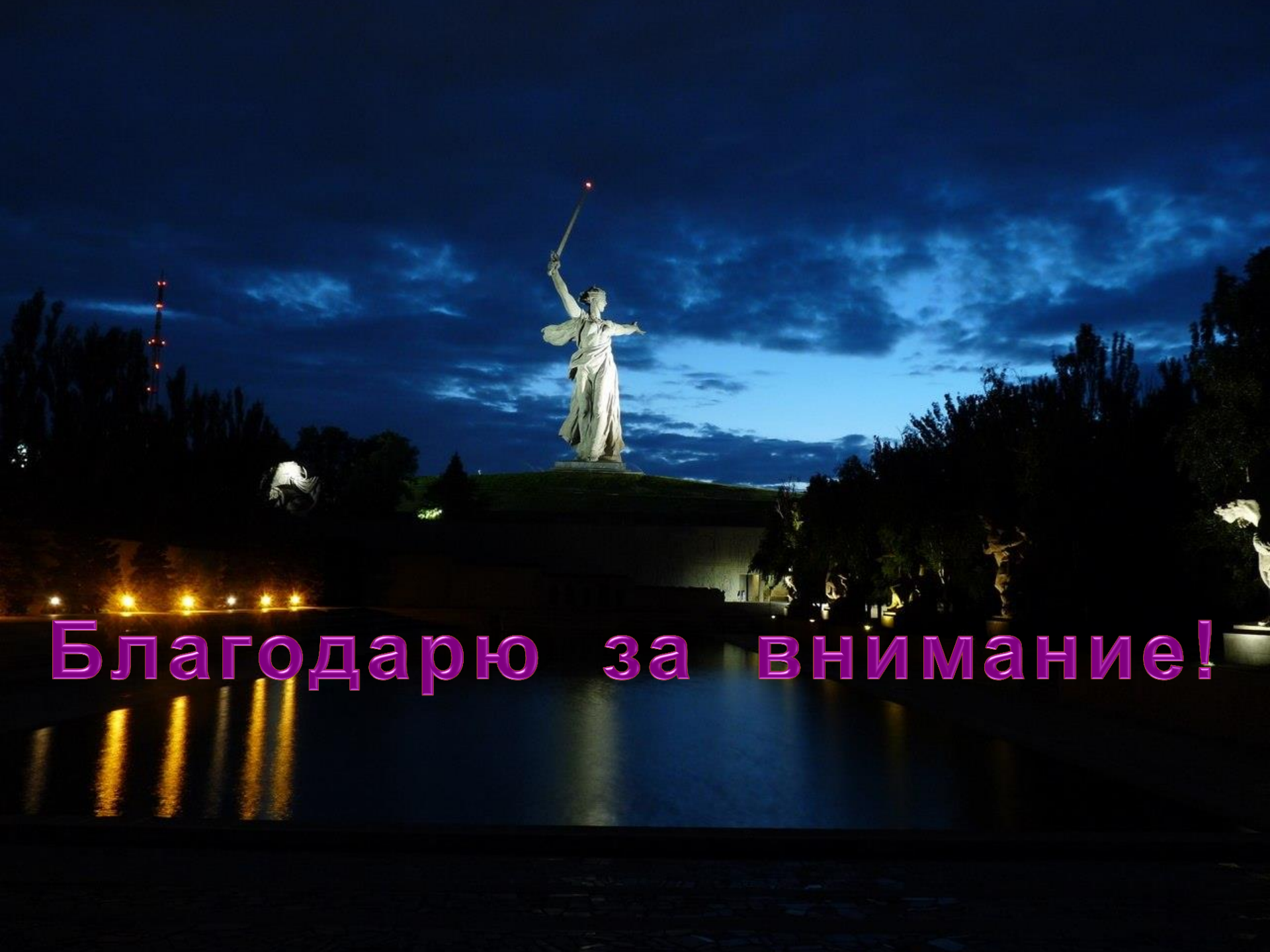
Условие	N
Всего	100
Предложены по прогнозу для синтеза (хотя бы одна положительная оценка)	74
В том числе по прогнозу с двойной активностью	58
Синтезировано и экспериментально изучено	27
Найдено бифункциональных веществ	11
(MRI >> Ref) & (DPP-4 > 20%)	2
Точность поиска	40.7 %

Бифункциональный скаффолд



Шифр	Антигликирующая активность		DPP-4 ингибирующая активность	
	IC_{50}, мкМ	K_{Ref}, раз	$\Delta(10^{-4}M)$, %	K_{Ref}, %
LOSLP-0002	46.8	16.3	20.5	23
LOSLP-0011	227	3.4	29.0	33
Аминогуанидин	765	1.0	—	—
Вилдаглиптин	—	—	88.6	100

Исследование выполнено
на кафедре фармакологии
ВолгГМУ
за счет гранта РНФ
(проект № 14-25-00139)


Благодарю за внимание!